



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **71346**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 15605**

(22) Дата подання заявки: **29.12.2011**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.07.2012**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.07.2012, Бюл.№ 13**

(72) Винахідник(и):

**Бакурова Олена Михайлівна (UA),
Борзенко Берта Георгіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.
ГОРЬКОГО,**

пр. Ілліча, 16, м. Донецьк-3, 83003 (UA)

(54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ПУХЛИННОГО ПРОЦЕСУ

(57) Реферат:

Спосіб ранньої діагностики пухлинного процесу шляхом одержання сироватки крові та визначення спектрофотометричним методом активності тимідинфосфорилази (ТФ). Визначають анаболічну активність ТФ, і, якщо вона більше ніж в 2 рази перевищує контрольну активність у відповідній віковій групі, діагностують розвиток пухлинного процесу.

UA 71346 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до онкології, та може бути використана для формування груп підвищеного онкологічного ризику серед хворих на передракові стани, для індивідуального моніторингу та ранньої діагностики рецидивів, а також для визначення ефективності хіміотерапії.

Відомо спосіб ранньої діагностики раку [1] шляхом поляризаційного інтерферометрування крові людини. Оцінку патологічних змін в організмі людини проводять за рахунок оцінки висококогерентного лінійно та циркуляторно поляризованого випромінювання з довжиною хвилі 0,6328 мкм в опромінюючому пучку.

Недоліком способу є його недостатня інформативність тому, що при визначенні відмінностей у розподілі фаз у зображенні плазми крові людини неможливо визначити, що саме лежить в основі вивчаючих параметрів, та як це пов'язано з пухлинним процесом в організмі обстежуваних. Також не зрозуміло, чи є такі зміни в плазмі крові специфічними саме для онкологічних хвороб, а не наприклад для хронічного запалення чи якогось системного захворювання.

Найбільш близьким по технічній суті вирішуваної задачі є спосіб діагностики раку, що включає визначення сироваткової катаболічної активності тимідинфосфорилази (ТФ) [2]. При зниженні її активності в 2,7-3,3 рази в порівнянні з віковою контрольною групою діагностують наявність пухлинного процесу.

Недоліком цього є те, що зміни проліферації тканин при їх пухлинній трансформації діагностують, визначаючи активність катаболічної реакції, яка зворотно корелює із змінами проліферації тканин. Не враховують анаболічну активність маркера раку (ТФ), яка безпосередньо лежить в основі підвищення її активності в пухлинах та паралельно і в сироватці крові хворих на рак, оскільки при цьому утворюється попередник нуклеотиду, рівень якого лімітує швидкість синтезу ДНК, отже і процес поділу клітин і тканинного росту [3]. Це знижує ефективність та діагностичну цінність способу.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб ранньої діагностики пухлинного процесу, в якому забезпечується підвищення точності за допомогою визначення анаболічної активності тимідинфосфорилази (ТФ) в сироватці крові, що прямо корелює з проліферативною активністю тканин.

Поставлена задача вирішується тим, що визначають анаболічну активність ТФ і, якщо вона більше ніж в 2 рази перевищує контрольну активність у відповідній віковій групі, діагностують розвиток пухлинного процесу.

Новим в способі, що заявляється є те, що для ранньої діагностики пухлинного процесу спектрофотометричним методом визначають анаболічну активність тимідинфосфорилази (ТФ), якщо вона більше ніж в 2 рази перевищує контрольну активність у відповідній віковій групі, діагностують пухлинний процес. Визначення активності ТФ використовують для індивідуального моніторингу у пацієнтів з передраковими станами, що належать до груп підвищеного онкоризiku, або для ранньої діагностики рецидиву пухлини у онкологічних хворих.

Розробка способу, що заявляється, стала можливою завдяки встановленому авторами науковому факту, що існує зв'язок між анаболічною активністю ТФ в тканинах та її активністю в сироватці крові [4]. Також є зв'язок між її активністю та стадією пухлинного процесу [5]. Наші дослідження добре узгоджуються з іншими, в яких доведено не тільки зв'язок між ТФ та особливостями пухлинного росту, а й кореляцію із специфічними показниками проліферативної активності - Ki-67, PSNA [6, 7]. Спосіб, що заявляється, добре відтворюється в паралельних дослідженнях, є високочутливим, має низьку вартість. Це дає можливість для його широкого впровадження та підвищення ефективності ранньої діагностики раку.

Реалізують спосіб ранньої діагностики пухлинного процесу таким чином. З ліктьової вени шприцом набирають 1 мл крові в пробірку с 0,1 мл 3,8 % розчину цитрату натрію, центрифугують 15 хв. при 1200 g. Клітини крові (еритроцити, лімфоцити та тромбоцити) осідають на дно, відбирають верхньо-середній шар сироватки. Для визначення анаболічної активності ТФ застосовують модифікацію спектрофотометричного методу, пропонуваного раніше [8]. Суть модифікації полягає в тому, що в експериментальну та контрольну пробірки до тиміну в інкубаційну суміш додають косубстрат - дезоксирибонуклеозид у співвідношенні 1:2. Оскільки активність цього ферменту змінюється в залежності від віку, отримані дані порівнюють з анаболічної активністю тимідинфосфорилази сироватки крові здорових людей відповідної вікової групи. При підвищенні активності в 2 рази та більше, діагностують наявність пухлинного процесу.

Конкретні приклади реалізації способу, що заявляється.

Приклад 1. В хірургічне відділення ДОКТМО ім. Калініна, м. Донецька був госпіталізований хворий Б. 60-ти років з попереднім діагнозом: Виразкова хвороба (ВХ), активна фаза, виразка

шлунка, ускладнена кровотечею. Разом із загальноклінічними дослідженнями при госпіталізації спектрофотометричним методом визначено анаболічну активність тимідинфосфорилази (ТФ) в сироватці крові: 46,46 нмоль/хв./мг. В нормі у відповідній віковій групі (60-69 років) сироваткова активність анаболічної ТФ складає - 23,28±2,15 нмоль/хв./мг. Отже, анаболічна активність ТФ у хворого Б. в 2 рази вища за норму, що дозволило запідозрити рак. З даних анамнезу, що підвищують вірогідність розвитку раку при ВХ шлунка, була наявність в анамнезі з 1967 року виразки дванадцятипалої кишки. Останні 5 років хворіє на виразку шлунка. Двічі спостерігалися кровотечі, проходив курс консервативної терапії. Зараз під час гастроскопії у хворого виявлена виразка шлунку до 3,5 см в діаметрі, краї виразки нерівні, щільні. Біопсія: фібриноїдний некроз, інфільтрація лейкоцитами, пептична виразка. В дрібному фрагменті - легка дисплазія. Було виконано резекцію шлунку по Більрот І. Гістологічний висновок: в препараті аденокарцинома, раковий лімфангоїт. Заключний діагноз: Рак шлунку. Т3N2M0.

Приклад 2. Хворий Т., 59 р. Госпіталізований в Донецький обласний протипухлинний центр з діагнозом: периферійний рак лівої легені, T₂N₁M₀ стадія. Пухлинний процес було виявлено під час планової флюорографії. Спектрофотометричним методом визначено анаболічну активність тимідинфосфорилази в сироватці крові - 67,27 нмоль/хв./мг. В нормі у відповідній віковій групі (50-59 років) сироваткова активність анаболічної ТФ складає 28,71±3,05 нмоль/хв./мг. Отже на ранній стадії раку її активність в 2,3 рази вища за норму.

Перевагою способу, що заявляється, є те, що внаслідок визначення анаболічної активності тимідинфосфорилази (ТФ) спектрофотометричним методом забезпечується підвищення точності пропонованого способу. Спосіб простий у виконанні, не потребує спеціальних умов для проведення. Набори реактивів мають малу коштовність. Спектрофотометр СФ-46 є стандартним обладнанням клінічних лабораторій. Реалізація способу здійснюється за годину, 20 хвилин з яких потрібні для отримання сироватки. Одночасно може бути проведено до п'яти досліджень.

Лабораторні випробування способу, що заявляється, проведені у 60 хворих на рак різних локалізацій (шлунка, кишечнику, легенів) залежно від віку, а також у 36 умовно здорових осіб у віці від 30 до 69 років, які склали групу контролю.

Таким чином досягають підвищення діагностичної точності і ефективності пропонованого способу. Все це робить перспективним вживання способу в практичній медицині для індивідуального моніторингу у пацієнтів з передраковими станами, тобто з підвищеним онкоризиком, або для ранньої діагностики рецидиву пухлини у онкологічних хворих.

Джерела інформації:

1. UA 43761, A61B 5/00. Спосіб ранньої діагностики і диференціації стадії раку. Оуб.25.08.2009, Бюл. №16.
2. UA 48550 A, A61B 10/00. Спосіб діагностики рака. Оубл. 15.08.2002, Бюл. № 8.
3. O'Neil, K.L., Grigsby R.V., Fairbairn D.W. Thymidine Kinase: the future in breast cancer prognosis // The Breast.-1995.- V. 4, № 2.- P.79-83.
4. Б.Г. Борзенко, Е.М. Бакурова „Нарушение метаболизма предшественников ДНК в слизистой оболочки желудка как показатель вероятного озлока-чествления язвы этого органа" // Вопр. Онкол.-2008. - Том 2. - С. 184-187.
5. Б.Г. Борзенко, А.А. Горбачев, Ю.В. Уманський та ін. Активность ферментов метаболизма ДНК в сыворотке крови больных раком молочной железы // Вопр. Онкол.-1990. - Т. 36, № 1. - С. 17-23.
6. Dong P., Sakata K., Miyajima Y. The predictive value of p53, Ki-67 and angiogenetic factors in primary hypopharyngeal carcinoma // Kurume Med. J.-2001. - Vol.48, №4. - P. 261-266.
7. Expression of granulocyte colony-stimulating factor receptor and platelet-derived endothelial cell growth factor in oral and oropharyngeal precancerous lesions / Sunaga H., Fujieda S., Tsuzuki H. et al. // Anticancer Res.-2001. - Vol.21, № 4B. - P. 2901-2906.
8. UA 3105, МКИ А 61В 10/00. Спосіб визначення індивідуальної хіміочутли-вості пухлин шлунка до 5-фторурацилу та його попередників. Оубл. 15.10. 2004, Бюл. № 10.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб ранньої діагностики пухлинного процесу шляхом одержання сироватки крові та визначення спектрофотометричним методом активності тимідинфосфорилази (ТФ), який **відрізняється** тим, що визначають анаболічну активність ТФ, і якщо вона більше ніж в 2 рази перевищує контрольну активність у відповідній віковій групі, діагностують розвиток пухлинного процесу.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601