



УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **87981**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 33/49 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2013 11380	(72) Винахідник(и):	Бойчук Сергій Іванович (UA), Дєдков Анатолій Григорович (UA), Стаховський Едуард Олександрович (UA), Волков Ігор Борисович (UA), Югінова Людмила Григорівна (UA), Ковальчук Павло Анатолійович (UA), Костюк Віктор Юрійович (UA)
(22) Дата подання заявки:	26.09.2013	(73) Власник(и):	НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ, вул. Ломоносова, 33/43, м Київ, 03022 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.02.2014		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.02.2014, Бюл.№ 4		

(54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ КІСТКОВИХ МЕТАСТАЗІВ У ОНКОЛОГІЧНИХ ХВОРИХ

(57) Реферат:

Спосіб ранньої діагностики кісткових метастазів у онкологічних хворих включає визначення рівня метаболітів кісткової тканини в сироватці крові. При цьому що у хворих на нирковоклітинний рак визначають рівень тартратрезистентної кислої фосфатази - 5b, і при підвищенні дискримінаційного рівня констатують наявність кісткових метастазів або ризик їх виникнення.

UA 87981 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме - онкології, і може бути використана для ранньої діагностики кісткових метастазів у хворих на нирковоклітинний рак.

Кістки скелета є однією з найчастіших локалізацій метастазів у онкологічних хворих. Визначення рівня пухлинних маркерів широко застосовують в діагностиці для оцінки ефективності протипухлинної терапії та в динаміці спостереження за онкологічними хворими, прогнозу перебігу неопластичного процесу [1]. Особливу увагу надають визначенню прогностичних факторів виникнення кісткових метастазів раку нирки [2]. У 25-30 % пацієнтів на нирковоклітинний рак (НКТ) первинну пухлину діагностують одночасно з кістковими метастазами, а у частини хворих кісткові метастази (КМ) є інколи єдиним проявом захворювання [3, 4].

Остеосцинтиграфія, яка є "золотим стандартом" діагностики КМ, не завжди дозволяє виявляти нові метастатичні вогнища [5]. В зв'язку з цим активно розробляють неінвазивні методи діагностики метастазів в кістки на основі маркерів кісткового ремоделювання. Відомо, що підвищення рівня серологічного маркеру кісткової резорбції - Bone TRAP 5b, лужної фосфатази, сироваткового кальцію свідчать про розвиток метастатичного ураження кісткової тканини [6]. Збільшення вмісту Bone TRAP 5b в крові при розвитку кісткових метастазів можна виявити за 2-6 міс. до їх сцинтиграфічного підтвердження.

Найвідомішим біохімічним показником в діагностиці метастазів в кістки скелета є визначення концентрації лужної фосфатази в сироватці крові, однак специфічність та чутливість даного маркера достатньо низька [7].

Як найближчий аналог вибрано спосіб оцінки кісткового метастазування (Пат. № 60184, UA, 7 МПК G01N 33/48. Спосіб біохімічної оцінки кісткового метастазування шляхом визначення рівня добової екскреції з сечею метаболітів кісткової тканини / заявник і патентовласник Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМН України (UA). - № 2003021735; заявл. 27.02.2003; опубл. 15.09.2009. Бюл. № 9) за яким визначали рівень гідроксипроліну з наступним встановленням вмісту в крові та сечі мінеральних компонентів кісткової тканини - неорганічного фосфору і загального кальцію. При значеннях екскреції гідроксипроліну з сечею не менше ніж 448,0 мкмоль/доб., загального кальцію у крові в межах 3,4-4,0 ммоль/л, неорганічного фосфору у добовій сечі - 57,6-80,0 ммоль/доб. констатували наявність кісткових метастазів.

Позитивним в найближчому аналогу є те, що оцінка рівня кісткового метаболізму проводиться комплексно, з урахуванням декількох показників мінерального матриксу.

Недоліком найближчого аналога є недостатня специфічність методу, необхідність забору крові та сечі, залежність показників від функціонального стану печінки та нирок.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалити спосіб ранньої діагностики кісткових метастазів у онкологічних хворих оцінити шляхом визначення концентрації тартратрезистентної кислої фосфатази (TRAP-5b) в сироватці крові у хворих на нирковоклітинний рак, що дасть можливість діагностувати кісткові метастази на доклінічному етапі.

Поставлена задача вирішується таким чином:

У хворого з підозрою на кісткові метастази або наявними кістковими метастазами проводять натще забір крові в кількості 2,0 мл в будь-який час доби. Кров протягом 2-х наступних годин цетрифугують. 1,0 мл свіжої плазми заморожують при температурі -20 °С. Плазма, що зберігалась у пробірках з гепарином або цитратом для аналізів не придатна. Кількісне визначення активної ізоформи 5-b тартратрезистентної кислої фосфатази (TRAP-5b) в зразках плазми або сироватці крові проводять методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою моноклональних антитіл, специфічних для TRAP-5b остеокластів. Довжина хвилі вимірювання 405 нм. Діапазон вимірювання - 0,5-10 Од/л. Чутливість 0,5 Од/л. Референтні значення маркера складають: дискримінаційний рівень у жінок до 45 років становить 1,1-3,9 Од/мл, у жінок 45-55 років - 1,1-4,2 Од/мл, в період постменопаузи - 1,4-4,2 Од/мл, у чоловіків - 1,5-4,7 Од/мл.

В кровотоці циркулюють дві форми тартратрезистентної фосфатази, відомі як TRAP 5a і TRAP 5b. В процесі резорбції кістки білок TRAP 5b секретується остеокластами, а TRAP 5a має макрофагальне походження. Остеокласти секретують TRAP 5b у вигляді активного фермента, який інактивується та розпадається на фрагменти в кровотоці. Таким чином, активний TRAP 5b не накопичується в крові при печінковій та нирковій недостатності. Добові коливання для сироваткової TRAP 5b не характерні.

За заявленим способом на базі науково-дослідних відділень онкоортопедії та пластичної і реконструктивної онкоурології Національного інституту раку був проведений моніторинг лікування та раннє виявлення кісткових метастазів нирковоклітинного раку у 60 хворих.

Прикладами реалізації заявленого способу є витяги з історій хвороб двох пацієнтів.

I. Хвора О., 1963 р. н., історія хвороби № 34567. Клінічний діагноз: рак правої нирки, T2N0M0, II-ст, II-клінічна група. При первинному клініко-рентгенологічному обстеженні (комп'ютерна томографія (КТ) органів грудної, черевної порожнини, тазу; остеосцинтиграфії кісток з ^{99m}Tc), визначенні комплексу біохімічних показників, метастазів у внутрішні органи та кістки не виявлено. 01.02.12 була проведена операція - радикальна нефрадреналектомія справа. Патогістологічне заключення операційного матеріалу № 890/12 від 09.02.12 - нирковоклітинний, світлоклітинний рак, Фурман-3.

Враховуючи агресивність видаленої пухлини (низькодиференційований рак - G-3) проведено дослідження крові на рівень TRAP 5b, який виявився високим - 5,8 ОД/мл., що свідчить про загрозу метастазування в кістки. Для профілактики хворій призначено бісфосфонати (золендронна кислота 4 мг внутрішньовенно/крапельно щомісячно).

На фоні лікування щоквартально проводилось дослідження рівня TRAP 5b (3 міс. - 5,2 ОД/мл., 6 міс. - 4,8 ОД/мл., 9 міс. - 4,5 ОД/мл., 12 міс. - 3,7 ОД/мл.).

Через рік бісфосфонати були відмінені. Хвора спостерігається протягом 1,5 року, без рецидиву та віддалених метастазів в кістки та внутрішні органи.

II. Хворий М., 1934 р. н., історія хвороби № 12012. Клінічний діагноз: рак лівої нирки, стан після хірургічного лікування, множинні метастази в кістки скелета, pT2NxM1, IV-ст., II-клінічна група. 23.03.11 була проведена операція - радикальна лівостороння нефректомія. Патогістологічне заключення № 3943-50/11 від 30.03.11 - нирковоклітинний, світлоклітинний рак, Фурман-4.

17.02.12 при контрольному клініко-рентгенологічному обстеженні (комп'ютерній томографії органів грудної, черевної порожнини, тазу; остеосцинтиграфії кісток з ^{99m}Tc) виявлено множинні метастази в кістки. Проведено дослідження крові на рівень TRAP 5b, який виявився високим - 7,0 ОД/мл. Для лікування хворому призначено бісфосфонати (золендронна кислота 4 мг внутрішньовенно/крапельно щомісячно).

На фоні лікування щоквартально проводилось дослідження рівня TRAP 5b кожні 3 місяці (3 міс. - 5,9 ОД/мл., 6 міс. - 4,8 ОД/мл., 9 міс. - 4,5 ОД/мл., 12 міс. - 3,2 ОД/мл.). Хворий спостерігається протягом 2 років. При клініко-рентгенологічному обстеженні відмічається часткова регресія та стабілізація вогнищ метастатичного ураження в кістках.

Впровадження заявленого способу дозволить:

- здійснювати ранню діагностику порушень кісткового метаболізму у хворих на нирковоклітинний рак, які передують деструктивним метастатичним змінам;
- забезпечити підвищення точності ранньої діагностики метастатичних процесів у кісткову тканину;

- підвищити чутливість способу;

- дозволить проводити моніторинг ефективності лікування бісфосфонатами.

Джерела інформації:

1. Порханова Н.В. Значение биомаркеров для формирования групп риска и ранней диагностики опухолей (на примере рака яичников и рака молочной железы) / Н.В. Порханова // Практическая онкология. - 2011. - Т. 12, № 4. - С. 155-165.

2. Primitive and bone metastatic renal carcinoma cells promote osteoclastogenesis through endothelial cells / E. Cenni, F. Perut, D. Granchi [et al.] // Anticancer research. - 2006. - Vol. 26. - P. 3065-3070.

3. Bone formation and resorption markers as diagnostic tools for bone metastases evaluation / E. Galliera, A. Luzzati, G. Perrucchini [et al.] // Int. J. Biol. Markers. - 2012. - Vol. 27, № 4. - P. e395-e399.

4. Семенова А.И. Мониторинг эффективности лечения и выявления рецидивов с помощью биомаркеров / А.И. Семенова // Практическая онкология. - 2011. - Т. 12, № 4. - С. 171-177.

5. Снеговой А.В. Значение биомаркеров для определения тактики лечения и прогноза злокачественных опухолей / А.В. Снеговой, Л.В. Манзюк // Практическая онкология. - 2011. - Т. 12, № 4. - С. 166-170.

6. Differential expression of tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5a and 5b by tumor and stromal cells in human metastatic bone disease / S. Zenger, W. He, B. Ek-Rylander [et al.] // Clin. Exp. Metastasis. - 2011. - Vol. 28. - P. 65-73.

7. Сергеева Н.С. Общие представления о серологических биомаркерах и их месте в онкологии / Н.С. Сергеева, Н.В. Маршутина // Практическая онкология. - 2011. - Т. 12, № 4. - С. 147-154.

8. Пат. № 60184, UA, 7 МПК G01N 33/48. Спосіб біохімічної оцінки кісткового метастазування шляхом визначення рівня добової екскреції з сечею метаболітів кісткової тканини / заявник і

патентовласник Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМН України (UA). - № 2003021735; заявл. 27.02.2003; опубл. 15.09.2009. Бюл. № 9 (найближчий аналог).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб ранньої діагностики кісткових метастазів у онкологічних хворих, що включає визначення рівня метаболітів кісткової тканини в сироватці крові, який **відрізняється** тим, що у хворих на нирковоклітинний рак визначають рівень тартратрезистентної кислоти фосфатази - 5b, і при підвищенні дискримінаційного рівня констатують наявність кісткових метастазів або ризик їх виникнення.

10

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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