



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 89999

(13) U

(51) МПК

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 13771**

(22) Дата подання заявки: **27.11.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.05.2014**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.05.2014, Бюл.№ 9**

(72) Винахідник(и):
**Слонімска Олена Михайлівна (RU),
Щепотін Ігор Борисович (UA),
Брагіна Ольга Дмитрівна (RU),
Зав'ялова Марина Вікторівна (RU),
Крячок Ірина Анатоліївна (UA),
Перельмутер Володимир Михайлович
(RU),
Вторушин Сергій Володимирович (RU),
Дорошенко Артем Васильович (RU),
Тарабановська Наталія Анатоліївна (RU)**

(73) Власник(и):
**ФЕДЕРАЛЬНА ДЕРЖАВНА БЮДЖЕТНА
УСТАНОВА "НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ
ІНСТИТУТ ОНКОЛОГІЇ" СИБІРСЬКОГО
ВІДДІЛЕННЯ РОСІЙСЬКОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК,
пер. Кооперативный, 5, г. Томск, 634050,
Российская Федерация (RU),
НАЦІОНАЛЬНИЙ ІНСТИТУТ РАКУ,
вул. Ломоносова, 33/43, м. Київ, 03022 (UA)**

**(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ НЕОАД'ЮВАНТНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ У ХВОРИХ
ОПЕРАБЕЛЬНИМ БАЗАЛЬНОПОДІБНИМ ТРИПЛ-НЕГАТИВНИМ РАКОМ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ**

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування ефективності неоад'ювантної хіміотерапії у хворих операбельним базальноподібним трипл-негативним раком молочної залози включає визначення рецепторного статусу пухлини за допомогою імуногістохімічного дослідження біопсійного матеріалу, додаткове визначення експресії CK5/6 і EGFR1 та рівня EGFR1 і на основі отриманих даних прогнозування ефективності неоад'ювантної хіміотерапії у хворих операбельним базальноподібним трипл-негативним раком молочної залози.

UA 89999 U

Корисна модель належить до медицини, а саме - до клінічної онкології, і стосується способу прогнозування ефективності неoad'ювантної хіміотерапії у хворих операбельним базальноподібним трипл-негативним раком молочної залози (PM3).

Не викликає сумнівів той факт, що трипл-негативний рак (ТНР) є неоднорідним типом PM3, гетерогенність якого характеризується такими параметрами: гістологічний тип (інфільтративні/рідкісні форми раку), рівень проліферативної активності (високий/низький), наявність або відсутність мутації гена BRCA1, різний генний набір (claudin low, базальноподібний, мезенхімальний підтипи та ін.) [1]. Подібний розподіл дозволяє говорити про різний прогноз у хворих ТНР.

У 2004 році було створено спосіб типування за допомогою імуногістохімічної (ІГХ) панелі [2], який на сьогодні є "золотим стандартом". Використання даної панелі допомагає розподілити ТНР на базальноподібний і небазальноподібний підтипи, що мають різний прогноз. Так, небазальноподібний підтип характеризується сприятливим результатом захворювання, базальноподібний несприятливим [3]. Панель передбачає визначення негативного потрійного рецепторного статусу (PE-, РП-, Her-2/neu-), експресію базального цитокератину 5/6 і епідермального фактора росту EGFR1 та має високі показники чутливості (76 %) і специфічності (100 %) [4].

Незважаючи на гетерогенність ТНР, єдиним прийнятим методом системного впливу для цієї категорії хворих є хіміотерапія [5]. Використовується широкий спектр цитотоксичних препаратів (антрацикліни, таксани, препарати платини, капецитабін), проте єдиних стандартів лікування для даного підтипу на сьогодні немає. Тому особливу увагу приділяють проведенню неoad'ювантної хіміотерапії (НАХТ). Такий підхід дозволяє, перш за все, оцінити чутливість пухлини до проведеного лікування і досягти у певної кількості пацієнтів повної морфологічної регресії (ПМР) [6], що особливо важливо при ТНР, який характеризується несприятливим і агресивним перебігом [7]. Тільки така відповідь пухлини асоціюється з успішним результатом лікування. Це явище отримало назву "трипл-негативного" парадоксу [8].

З цих позицій актуальним є пошук параметрів, використання яких надало б можливість прогнозувати ефективність хіміотерапії у хворих базальноподібним ТНР молочної залози.

Найближчим аналогом обрано спосіб прогнозування ефективності неoad'ювантної хіміотерапії у хворих трипл-негативним раком (Ki-67 can be used for further classification of triple negative breast cancer into two subtypes with different response and prognosis / B. Keam, S.A. Im, L. Kyung-Hun [et al.] // Breast Cancer Research.-2011. - Vol. 13. -- P. R22), суть якого полягає у використанні маркера клітинної проліферації Ki-67 як предиктора ефективності НАХТ у хворих операбельним ТНР молочної залози. Високий рівень проліферативної активності (14 % і вище) достовірно асоціюється з високою ефективністю НАХТ і досягненням ПМР.

Позитивним у найближчому аналізі є те, що було запропоновано новий критерій прогностичної оцінки ефективності НАХТ.

Недоліком найближчого аналога є те, що для прогнозування ефективності НАХТ використовується тільки один параметр Ki-67, без урахування показників чутливості і специфічності, а аналіз результатів щодо всієї групи хворих ТНР проводиться без урахування її гетерогенності.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб прогнозування ефективності неoad'ювантної хіміотерапії у хворих операбельним базальноподібним трипл-негативним раком молочної залози шляхом використання нових маркерів, що дасть можливість точніше оцінювати чутливість пухлини до проведеного лікування.

Поставлена задача вирішується таким чином.

У хворих операбельним базальноподібним трипл-негативним раком молочної залози до хірургічного втручання визначають рецепторний статус пухлини за допомогою імуногістохімічного дослідження біопсійного матеріалу з виявленням негативної ядерної експресії до рецепторів стероїдних гормонів - естрогену і прогестерону, негативної ядерної експресії до рецепторів естрогену і прогестерону і негативної мембранної експресії HER2/neu, рівня маркера клітинної проліферації Ki-67, а також експресії СК 5/6 і EGFR1 та оцінкою рівня EGFR1. Низьким рівнем EGFR1 вважають показники до 10 %, високим - 10 % і вище. Очікувану ефективність НАХТ у хворих операбельним базальноподібним ТНР молочної залози обчислюють за допомогою регресійного аналізу з побудовою рівняння логістичної регресії:

$$Y = (42,8 - 1,86 \times {}_1 - 9,3 \times {}_2 - 2,14 \times {}_3 + 3,19 \times {}_4) (1), \text{ де:}$$

Y - очікувана ефективність неoad'ювантної хіміотерапії;

42,8 - значення коефіцієнта регресії вільного члена;

X_1 - підтипи базальноподібного трипл-негативного раку (1 - з експресією тільки СК 5/6, 2-3 експресією тільки EGFR1, 3 - з експресією СК 5/6 і EGFR1), 1,86 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки;

5 X_2 - рівень експресії EGFR1 в біопсійному матеріалі (1 - високий рівень, 2 - низький рівень), 9,3 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки;

X_3 - рівень експресії Ki-67 в біопсійному матеріалі (1 - низький рівень, 2 - високий рівень), 2,14 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки;

X_4 - схема хіміотерапії (1-FAC, 2 - C AX), 3,19 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки.

Значення ймовірності відповіді пухлини на проведення HAXT визначають за формулою:

10 $P = e^Y / (1 + e^Y) (2)$, де:

P - значення ймовірності розвитку ознаки;

Y - значення рівняння регресії;

e - математична константа, що дорівнює 2,72.

При $P < 0,5$ прогнозують низьку ефективність, а при $P > 0,5$ високу ефективність HAXT.

15 Безпосередню ефективність HAXT оцінюють за шкалою RECIST на підставі даних клінічного огляду, результатів УЗД молочних залоз і мамографії. Під час аналізування ефективності HAXT у хворих операбельним базальноподібним ТНР молочної залози з урахуванням ознак, які увійшли до прогностичної моделі, встановлено, що краща відповідь на передопераційну хіміотерапію досягнута в підгрупі пацієнтів з експресією тільки EGFR1 (таблиця 1), при високому рівні експресії EGFR1 (таблиця 2), високій проліферативній активності (таблиця 3) і при застосуванні схеми HAXT з включенням капецитабіну (таблиця 4). Чутливість заявленого способу становить 90 %, специфічність 65 %. За отриманими даними будують прогностичну модель ефективності HAXT у хворих операбельним базальноподібним ТНР молочної залози.

Таблиця 1

Ефективність HAXT у хворих трипл-негативним раком
залежно від наявності експресії тільки EGFR1 та експресії СК 5/6 і EGFR1

Ефективність підгрупи	Повна регресія	Часткова регресія	Стабілізація	Прогресування
EGFR1	11 (69 %)	10(58 %)	2 (33 %)	1 (33 %)
СК5/6 та EGFR1	5(31 %)	7 (42 %)	4 (67 %)	2 (67 %)
P	0,01	0,01	0,01	0,3

25

Таблиця 2

Ефективність HAXT у хворих трипл-негативним раком з урахуванням рівня експресії EGFR1

Ефективність EGFR1 %	Повна регресія	Часткова регресія	Стабілізація	Прогресування
Менше 10 %	4 (25 %)	1 (6 %)	0	0
10 % і більше	12(75 %)	15 (94 %)	6(100 %)	3 (100 %)
P	0,0041	0,0000	0,3	0,3

Таблиця 3

Ефективність HAXT у хворих трипл-негативним раком з урахуванням рівня Ki-67

Ефективність Ki-67 %	Повна регресія	Часткова регресія	Стабілізація	Прогресування
Менше 14 %	5(31 %)	7 (44 %)	0	1 (34 %)
14 % і більше	11(69 %)	9 (56 %)	6(100 %)	2 (66 %)
P	0,01	0,2	0,3	0,2

Таблиця 4

Ефективність НАХТ у хворих трипл-негативним раком залежно від схеми хіміотерапії

Ефективність схема	Повна регресія	Часткова регресія	Стабілізація	Прогресування
CAX	15(79 %)	8 (40 %)	3 (43 %)	0
FAC	4(21 %)	12(60 %)	4 (57 %)	3 (100 %)
P	0,0005	0,1	0,3	0,3

Пропоновані критерії способу оцінки ефективності НАХТ відібрані в результаті аналізу клінічних спостережень на основі вивчення матеріалу біопсії 49 хворих операбельним базальноподібним ТНР молочної залози (T2-3N0-2M0), які отримали по 2-4 курси передопераційної хіміотерапії на базі відділення загальної онкології ФГБУ НДІ онкології СВ РАМН в період 2007-2013 рр. Середній вік пацієнток складав (48,0±9,6) років.

Отриманий до початку лікування біопсійний матеріал пухлини аналізували з вивченням вищевказаних гістохімічних параметрів. Передопераційне лікування проводилося з використанням 2-х схем хіміотерапії - FAC і CAX. Після курсів НАХТ проводився хірургічний етап лікування в обсязі секторальної резекції, аксильної лімфаденектомії або радикальної мастектомії. Ад'ювантна терапія в кількості 2-4 курсів проводилася за схемою FAC, променева терапія призначалася за показаннями.

Переконливим доказом ефективності застосування запропонованого способу є витяги з історій хвороби 4-х хворих:

1. Хвора К., 48 років, діагноз: базальноподібний трипл-негативний рак молочної залози, стадія T3N0M0. У передопераційному періоді проведено 2 курси хіміотерапії за схемою FAC (1), отриманий ефект склав 2 %. При ретроспективному імуногістохімічному дослідженні біопсійного матеріалу в тканині первинної пухлини визначався негативний рецепторний статус (ER-, РП-, Her-2/neu-), наявність експресії як CK 5/6, так і EGFR1 (3). Пухлина характеризувалася високим рівнем експресії EGFR1 (2) і низьким рівнем Ki-67(1).

Очікувана ефективність передопераційної хіміотерапії, розрахована за пропонованим рівнянням регресії, склала 20,72:

$$Y = 42,8 - 1,86 \times 1 - 9,3 \times 2 - 2,14 \times 3 + 3,19 \times 4 = 42,8 - 1,86 \times 3 - 9,3 \times 2 - 2,14 \times 2 + 3,19 \times 1 = 20,72$$

Значення ймовірності ефективності хіміотерапії за формулою 2 склало:

$$P = e^Y / (1 + e^Y) = 2,7220,72 / (1 + 2,7220,72) = 0,08 \quad (p < 0,5).$$

Очікувана ефективність НАХТ була низька і склала 8 %, що відповідало даним, отриманим після проведення НАХТ, ефективність якої склала 2 % (стабілізація).

II. Хвора П., 51 рік, діагноз: базальноподібний трипл-негативний рак молочної залози, стадія T2N1M0. У передопераційному періоді проведено 4 курси хіміотерапії за схемою FAC (1), отриманий ефект склав 4 %. При ретроспективному імуногістохімічному дослідженні біопсійного матеріалу в тканині первинної пухлини визначався негативний рецепторний статус (ER-, РП-, Her-2/neu-), наявність експресії тільки CK 5/6 (1). Пухлина характеризувалася низьким рівнем Ki-67 (1).

Очікувана ефективність передопераційної хіміотерапії, розрахована за пропонованим рівнянням регресії, склала 38,29:

$$Y = 42,8 - 1,86 \times 1 - 9,3 \times 2 - 2,14 \times 3 + 3,19 \times 4 = 42,8 - 1,86 \times 3 - 9,3 \times 0 - 2,14 \times 1 + 3,19 \times 1 = 38,29$$

Значення ймовірності ефективності хіміотерапії за формулою склало:

$$P = e^Y / (1 + e^Y) = 2,72^{38,29} / (1 + 2,72^{38,29}) = 0,42 \quad (p < 0,5).$$

Очікувана ефективність НАХТ була низька і склала 42 %, що відповідало даним, отриманим після проведення НАХТ, ефективність якої склала 4 % (стабілізація).

III. Хвора В., 51 рік, діагноз: базальноподібний трипл-негативний рак молочної залози, стадія T2N0M0. У передопераційному періоді проведено 4 курси хіміотерапії за схемою CAX (2), отриманий ефект склав 100 %. При ретроспективному імуногістохімічному дослідженні біопсійного матеріалу в тканині первинної пухлини визначався негативний рецепторний статус (ER-, РП-, Her-2/neu-), наявність експресії тільки EGFR1 (2). Пухлина характеризувалася низьким рівнем експресії EGFR1 (1) і високим рівнем Ki-67(2).

Очікувана ефективність передопераційної хіміотерапії, розрахована за пропонованим рівнянням регресії, склала 31,88:

$$Y = 42,8 - 1,86 \times X_1 - 9,3 \times X_2 - 2,14 \times X_3 + 3,19 \times X_4 =$$

$$42,8 - 1,86 \times 2 - 9,3 \times 1 - 2,14 \times 2 + 3,19 \times 2 = 31,88$$

Значення ймовірності ефективності хіміотерапії за формулою 2 склало:

$$P = e^Y / (1 + e^Y) = 2,723 \cdot 1,88 / (1 + 2,723 \cdot 1,88) = 1,0 \quad (p > 0,5).$$

Очікувана ефективність НАХТ склала 100 %, що відповідало даним, отриманим після проведення НАХТ, ефективність якої склала 100 % (повна морфологічна регресія).

IV. Хвора Б., 58 років, діагноз: базальноподібний трипл-негативний рак молочної залози, стадія T2N0M0. У передопераційному періоді проведено 4 курси хіміотерапії за схемою САХ (2), отриманий ефект склав 89 %. При ретроспективному імуногістохімічному дослідженні біопсійного матеріалу в тканині первинної пухлини визначався негативний рецепторний статус (ER-, PR-, Her-2/neu-), наявність експресії тільки EGFR1 (2). Пухлина характеризувалася високим рівнем експресії EGFR1 (2) і низьким рівнем Ki-67(1).

Очікувана ефективність передопераційної хіміотерапії, розрахована за пропонуванним рівнянням регресії, склала 24,89:

$$Y = 42,8 - 1,86 \times X_1 - 9,3 \times X_2 - 2,14 \times X_3 + 3,19 \times X_4 =$$

$$42,8 - 1,86 \times 2 - 9,3 \times 2 - 2,14 \times 1 + 3,19 \times 2 = 24,89.$$

Значення ймовірності ефективності хіміотерапії за формулою 2 склало:

$$P = e^Y / (1 + e^Y) = 2,7224,89 / (1 + 2,7224,89) = 0,99 \quad (p > 0,5).$$

Очікувана ефективність НАХТ була висока і склала 99 %, що практично відповідало даним, отриманим після проведення НАХТ, ефективність якої склала 89 % (часткова регресія).

Таким чином, пропонуваний спосіб прогнозування ефективності НАХТ дозволяє обґрунтовано планувати передопераційне лікування у хворих базальноподібним ТНР молочної залози з урахуванням сукупного аналізу значущих для прогнозування ефективності лікування імуногістохімічних параметрів і застосовуваної схеми хіміотерапії. Це сприяє індивідуалізації підходу до вибору хіміотерапії у даній категорії пацієнтів та поліпшенню її результатів.

Джерела інформації:

1. Stratifying triple-negative breast cancer: which definition(s) to use? / B. Adamo, K.A. Carey [et al.] // Breast Cancer Research.-2011. - Vol. 13. -P. 1-3.

2. Immunohistochemical and Clinical Characterizaation of the Basal-like Subtype of Invasive Breast Carcinoma / T.O. Nielsen, F.D. Hsu, K. Jensen [et al.] // Clinical Cancer Research.-2004. - Vol. 10. - P. 5367-5374.

3. Triple-negative breast cancer: Distinguishing between Basal and Nonbasal Subtypes / E.A. Rakha, S.E. Elsheikh [et al.] // Clinical Cancer Research.-2009. -Vol. 15, № 7. -P. 2302-2310.

4. Choo J.R. Biomarkers for Basal-like Breast Cancer / J.R. Choo, T.O. Nielsen // Cancers.-2010. - Vol. 2. - P. 1040-1065.

5. Isakoff S.J. Triple-Negative Breast Cancer: Role of Specific Chemotherapy Agents / S.J. Isakoff // Cancer J.-2010. - Vol. 16, № 1. - P. 53-61.

6. Amos K.D. Triple-negative Breast Cancer: An Update on Neoadjuvant Clinical Trial / K.D. Amos, B. Adamo, K.A. Carey // International J. Breast Cancer.-2012.-Vol. 2012.-P. 1-7.

7. TNBCtype: A Subtype Tool for Triple-Negative Breast Cancer / Xi. Chen, J. Li [et al.] // Cancer Informatics.-2012. - Vol. 11. - P. 147-155.

8. Triple-negative breast cancer: disease entity or title of convenience? / L. Carey, W. Eric [et al.] // Clinical Oncology.-2010. - Vol. 7. - P. 683-689.

9. Ki-67 can be used for further classification of triple negative breast cancer into two subtypes with different response and prognosis / B. Keam, S-A. Im [et al.] // Breast Cancer Research.-2011. - Vol. 13. - P. R22 (найближчий аналог).

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування ефективності неoad'ювантної хіміотерапії у хворих операбельним базальноподібним трипл-негативним раком молочної залози, що включає визначення рецепторного статусу пухлини за допомогою імуногістохімічного дослідження біопсійного матеріалу, який **відрізняється** тим, що додатково визначають експресію CK5/6 і EGFR1 та рівень EGFR1 і на основі отриманих даних прогнозують ефективність неoad'ювантної хіміотерапії у хворих операбельним базальноподібним трипл-негативним раком молочної залози з використанням формули:

$$Y = (42,8 - 1,86 X_1 - 9,3 X_2 - 2,14 X_3 + 3,19 X_4), \text{ де:}$$

Y - очікувана ефективність неoad'ювантної хіміотерапії;

42,8 - значення коефіцієнта регресії вільного члена;

X_1 - підтипи базальноподібного трипл-негативного раку (1 - з експресією тільки CK 5/6, 2-3 експресією тільки EGFR1, 3 - з експресією CK 5/6 і EGFR1), 1,86 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки;

5 X_2 - рівень експресії EGFR1 в біопсійному матеріалі (1 - високий рівень, 2 - низький рівень), 9,3 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки;

X_3 - рівень експресії Ki-67 в біопсійному матеріалі (1 - низький рівень, 2 - високий рівень), 2,14 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки;

X_4 - схема хіміотерапії (1 - FAC, 2 - CAH), 3,19 - значення коефіцієнта регресії цієї ознаки, а значення ймовірності відповіді пухлини на проведення НАХТ визначають за формулою:

10 $P = e^Y / (1 + e^Y)$ (2), де:

P - значення ймовірності розвитку ознаки;

Y - значення рівняння регресії;

e - математична константа, що дорівнює 2,72 і при $P < 0,5$ прогнозують низьку ефективність, а при $P > 0,5$ - високу ефективність НАХТ.

15

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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