



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **69491** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
G01N 33/53 (2006.01)
A61B 5/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 13689	(72) Винахідник(и): Шпонька Ігор Станіславович (UA), Ковтуненко Олександр Васильович (UA), Пославська Олександра Володимирівна (UA), Тимчук Сергій Миколайович (UA), Березнюк Дмитро Володимирович (UA)
(22) Дата подання заявки: 21.11.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.04.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.04.2012, Бюл.№ 8	(73) Власник(и): Шпонька Ігор Станіславович, вул. Мандриківська, 143, кв. 153, м. Дніпропетровськ, 49044 (UA), Ковтуненко Олександр Васильович, Донецьке шосе, 1, кв. 211, м. Дніпропетровськ, 49080 (UA), Пославська Олександра Володимирівна, Шаховий проїзд, 46, м. Дніпропетровськ, 49008 (UA), Тимчук Сергій Миколайович, вул. Кожем'яки, 9, кв. 85, м. Дніпропетровськ, 49083 (UA), Березнюк Дмитро Володимирович, вул. Мандриківська, 149, кв. 18, м. Дніпропетровськ, 49094 (UA)
	(74) Представник: Білозуб Володимир Володимирович, реєстр. №280

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ РОТОГЛОТКИ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку ротоглотки включає біопсію пухлин, фіксування зразків у нейтральному формаліні, парафіні, виготовлення з них гістологічних препаратів, забарвлення гематоксиліном, еозином, формування зрізів, їх імуногістохімічне дослідження, мікроскопію та оцінку. Додатково використовують маркер епідермального фактора росту HER-2/neu, маркер росту ендотелію судин VEGF, маркер міжклітинної адгезії E-кадгерин і поліклональне антитіло ММП-9.

UA 69491 U

Корисна модель належить до діагностики, зокрема, до вимірів з прогностичною ціллю, та може бути використана в медицині, здебільшого, в пато-, онко- або отоларингології під час доклінічного дослідження прогностично сприятливих або несприятливих імунотипів плоскоклітинних раків, агресії метастазів у регіональних лімфатичних вузлах та їх чутливості до променевої та хімічної терапії, на основі інтерпретації значень прогностичних критеріїв за результатом аналізу реакції пухлинних тканин на застосовувані маркери.

Відомий спосіб прогнозування виникнення рецидиву і метастазів у хворих на рак гортані, що включає забір проби крові, перед початком лікування, виділення плазми, її дослідження та оцінку, де під час дослідження плазми визначають загальну протеолітичну та еластолітичну активності, концентрації α_2 -макроглобуліну, як інгібітора протеїназ, і фібриногену, а за оцінкою їхніх значень, прогнозують можливість рецидивування або метастазування злоякісних новоутворень гортані у післяопераційному періоді, якщо знаходять перевищення нормативних значень показників протеолізу та фібриногену, або зниження рівня α_2 -макроглобуліну, відповідно [1]. Але попри прийнятній біохімічній активності та метастатичного потенціалу досліджуваних субстанцій плазми крові, інформативність, а від так і об'єктивність відомого способу при його використанні є не досить високою, що стримує призначення комбінованої хіміопроменевої терапії на ранніх етапах лікування, переважно, при неоперабельних формах раку. До того ж, плазма крові не відбиває статус конкретного органа, системи, або замаскованих в них ракових клітин й частіше характеризує стан організму в цілому.

Найбільш близьким аналогом є спосіб прогнозування клінічного перебігу раку гортані, що включає біопсію пухлин, фіксування зразків у нейтральному формаліні, парафіні, виготовлення з них гістологічних препаратів, забарвлення гематоксиліном, еозином, формування зрізів, їх імунотехімічне дослідження, з використанням моноклонального антитіла Ki-67, як маркера проліферативної активності, мікроскопію та оцінку, у відповідності з яким, під час імунотехімічного дослідження визначають загальну кількість клітин з пофарбованими і не пофарбованими ядрами, рівні експресії онкосупресорних генів p53, як ключових регуляторів апоптозу та контролерів цілісності геном, bcl-2, як регулятора клітинної смерті та блокатора апоптозу, цитокератинів AE1/AE3 і 19, як маркерів епітеліального диференціювання клітин, а під час оцінки результатів, по реакції онкосупресорних генів p53 і/або bcl-2 на активацію моноклональними антитілами Ki-67 і/або на цитоплазматичне фарбування, визначають онкологічний статус пухлини, по експресії онкосупресорних генів p53 і bcl-2 - імунотехімічний статус, по реакції ядер пухлинних клітин на моноклональне антитіло Ki-67 - проліферативну активність, за підвищенням експресії цитокератинів AE1/AE3 і 19 - форми раку, у залежності від розмірів, інтенсивності збільшення, частоти метастазування, рецидиву пухлин і рівня інвазії - ступені гістологічного диференціювання раку, при виявленні порушень функцій онкосупресорних генів p53 і/або α_2 і реакції понад 10 % ядер пухлинних клітин на моноклональні антитіла Ki-67 і/або на цитоплазматичне фарбування онкологічний статус пухлини кваліфікують позитивним, імунотехімічний статус - негативним, якщо експресія онкосупресорних генів p53 і/або bcl-2 перевищує норму, а проліферативну активність - високою, якщо понад 30 % ядер пухлинних клітин реагує на їх активацію моноклональним антитілом Ki-67, встановлюють високодиференційовану форму раку, якщо спостерігають підвищення експресії цитокератинів AE1/AE3 в клітині та пригнічення стану проміжних мікротрубочок і філаментів, встановлюють низько-диференційовану форму раку, якщо спостерігають підвищення експресії цитокератину CK19 в клітині та пригнічення простих епітеліїв, усвідомлюють ступені гістологічного диференціювання раку, за рівнями і спектром експресії фракцій цитокератинів AE1/AE3 і 19 у клітині та прогнозують несприятливий перебіг процесу, щонайменше за погіршенням будь-яких 2 параметрів, у комбінації проліферативної активності онкологічного або імунотехімічного статусів, і морфологічний варіант раку, з урахуванням форм і ступенів його гістологічного диференціювання [3]. Найближчий аналог допускає перевернення об'єктивності шляхом збільшення інтенсивності демаскування ракових клітин на ділянці зацікавленості, розширенню числа інформативних маркерів і посиленню інтерпретаційних можливостей. Натомість, його інформативні властивості поширені лише на рак гортані, позбавлені оцінки факторів росту ендотелію судин, експресії інших прогностичних маркерів, насамперед, параметрів міжклітинної адгезії та тканинної інвазії, наявності інфекції, викликані ВПЛ, відомостей, щодо впливу останньої на експресію онкогенів супресорів, що інформує про недостатню об'єктивність прогностичного результату.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку ротоглотки, застосування якого сприяло б шляхом дослідження молекулярних властивостей пухлин та інтерпретації імунотехімічних реакцій покращенню об'єктивності кінцевого результату та розширенню меж переважного використання.

Поставлена задача вирішується тим, що при використанні у відомому способі прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку ротоглотки, що включає біопсію пухлин, фіксування зразків у нейтральному формаліні, парафіні, виготовлення з них гістологічних препаратів, забарвлення гематоксиліном, еозином, формування зрізів, їх імуногістохімічне дослідження, з використанням моноклонального антитіла Ki-67, як маркера проліферативної активності, мікроскопію та оцінку, відповідно до корисної моделі, при імуногістохімічному дослідженні додатково використовують маркер епідермального фактора росту HER-2/neu, маркер росту ендотелію судин VEGF, маркер міжклітинної адгезії E-кадгерин і поліклональне антитіло ММП-9, як показник інвазії тканин, а під час імуногістохімічного дослідження спостерігають реакцію 1000 сусідніх пухлинних клітин на використовувані маркери при 200^x мікроскопічному збільшенні мікроскопа, де визначають низьку або високу проліферативну активність досліджуваних клітин, за реакцією на Ki-67 менше чи більше 330-340 досліджуваних клітин, відповідно, а якщо виявляють високу проліферативну активність, то прогнозують ріст пухлинного генезису, або, за реакцією на маркер HER-2/neu, визначають за шкалою повне 3+, не повне 2+, ледве помітне 1+ або відсутнє забарвлення мембран 0+, відповідно, щонайменше, у 100 досліджуваних клітинах, та прогнозують високу активацію рецепторів, гіперекспресію, підвищену продукцію факторів росту або мутацію, відповідно, або, за реакцією на маркер VEGF, з використанням шкали, визначають позитивний статус пухлин 2+ досліджуваних клітин або здатність останніх до прояву рецидивів раннього регіонарного метастазування 3+, і прогнозують онкогенез сприятливого або несприятливого імунофенотипу, відповідно, або, оцінюючи реакцію досліджуваних клітин на E-кадгерин, визначають збережену або втрачену міжклітинну адгезію, якщо спостерігають забарвлення мембран у більше або у менше 750 сусідніх пухлинних клітинах, і прогнозують можливість дисоціації злоякісних клітин або високу вірогідність метастазування, відповідно, або, оцінюючи цитоплазматичну реакцію на поліклональне антитіло ММП-9 шляхом напівкількісного аналізу цифрових мікрофотографій за допомогою шкали, визначають негативну, слабку, помірну або високу інтенсивності забарвлення досліджуваних клітин за 0-20, 21-50, 51-100 або ≥ 101 умовними балами, і прогнозують можливість негативного, слабого, помірного або високого метастазування пухлин, відповідно.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності істотних ознак заявленої корисної моделі з покращенням об'єктивності кінцевого результату та розширенням меж переважного використання полягає в наступному.

Властивості маркера епідермального фактора росту HER-2/neu [3] сприяють надмірній стимуляції сигнальних шляхів клітинного поділу.

Маркер росту ендотелію судин VEGF [4] при вирішенні поставленої задачі дозволяє визначити здатність пухлини до розвитку рецидивів, раннього регіонарного метастазування, з можливістю встановлення показань до використання блокаторів рецепторів, зв'язаних з пригніченням факторів росту ендотелію судин VEGF.

Маркер міжклітинної адгезії E-кадгерин [5] - визначає метастатичний та інвазивний потенціал пухлини.

Поліклональне антитіло ММП-9, як показник інвазії тканин, [6] - використовується для оцінки ймовірності метастазування в регіональні лімфатичні вузли та відповіді на хіміотерапію.

Поряд із цим, дослідження матричних металопротеїназ дозволяє виявити рівень протеолітичної активності пухлини й ступінь деградації позаклітинного матриксу з протеогліканів, глікопротеїнів та філаментів. Оцінка ґрунтується на тім, що підвищення протеолітичної активності шляхом активації колагенази IV типу (ММП-9) надає малігнізованим клітинам інвазивні властивості, де позитивні пухлини за реакцією на нього визначають показання до терапевтичного використання "Маристомату" як інгібітора матричних металопротеїназ. Оцінка реакції на маркер міжклітинної адгезії E-кадгерин, що експресується на базальній та бокових поверхнях епітеліоцитів дозволяє оцінити ступінь дисоціації малігнізованих клітин, що втратили міжклітинні контакти та виходять з первинного пухлинного вузла, коли початковий етап метастатичного каскаду починається з втрати кадгерин-катенинового комплексу, за відсутністю або послабленням імуногістохімічного забарвлення. Оцінка реакції на маркер росту ендотелію судин VEGF інформує про неоваскуляризацію пухлини, адже ангіогенні фактори викликають проліферацію, міграцію ендотелію капілярів, які підтримують трофіку і процес метастазування. Реакція на маркер епідермального фактора росту HER-2/neu відображає активність сигнальних шляхів для активації поділу злоякісних пухлин при дослідженні епітеліальних пухлин, що допускає призначення таргетної терапії на основі "Герцептину", як інгібітора епідермального фактора росту.

На відміну від найближчого аналога, інтенсивність забарвлення оцінюють шляхом напівкількісного аналізу, де у одному і тому ж зрізі виявляють рівні інтенсивності забарвлення

нормальних епітеліальних і малігнізованих клітин, різниці між ними і оцінюють дійсний рівень інтенсивності імуногістохімічної реакції, чим виключають вплив лабораторного процесу на результати дослідження. Поряд із цим, вираження оцінних критеріїв у балах інтенсивності забарвлення і числа пухлинних клітин, що зреагували на маркери більш детально відбиває різні етапи канцерогенезу та клінічний перебіг, що збільшує інформативність, інтерпретацію більшої кількості вихідних параметрів, а відтак і об'єктивність прогнозування, з можливістю оцінки проліферативної активності, міжклітинної адгезії, тканинної інвазії, неоваскуляризації та кількості рецепторів епідермального фактора росту.

Проліферативну активність досліджуваних клітин кваліфікують низькою чи високою, за реакцією на Ki-67 менше чи більше 330-340 досліджуваних клітин, відповідно, а якщо виявляють високу проліферативну активність, то прогнозують ріст пухлинного генезису.

Кількість та якість рецепторів епідермального фактора росту оцінюють за наявністю мембранної реакції на маркер HER-2/neu, визначаючи за використовуваною шкалою повне 3+, не повне 2+, ледве помітне 1+ або відсутнє забарвлення мембран 0+, відповідно щонайменше у 100 досліджуваних клітинах, та прогнозують високу активацію рецепторів, гіперекспресію, підвищену продукцію факторів росту або мутацію, відповідно.

За цитоплазматичною реакцією на маркер VEGF, з використанням шкали, оцінюють неоваскулярицію, де визначають позитивний статус пухлин 2+ досліджуваних клітин або здатність останніх до прояву рецидивів раннього регіонарного метастазування 3+, і прогнозують онкогенез сприятливого або несприятливого імунофенотипу, відповідно.

Міжклітинну адгезію в епітеліальному пласті оцінюють за мембранною реакцією пухлинних клітин на моноклональне антитіло Е-кадгерин. При цьому, визначають збережену чи втрачену міжклітинну адгезію, якщо спостерігають забарвлення мембран у більше або у менше 750 сусідніх пухлинних клітинах, і прогнозують можливість дисоціації злоякісних клітин або високу вірогідність метастазування, відповідно.

Здатність до тканинної інвазії перевіряють за інтенсивністю цитоплазматичної реакції на поліклональне антитіло ММП-9, оцінюючи її шляхом напівкількісного аналізу цифрових мікрофотографій за допомогою шкали, визначають негативну, слабку, помірну або високу інтенсивності забарвлення досліджуваних клітин за 0-20, 21-50, 51-100 або ≥ 101 умовними балами, і прогнозують можливість негативного, слабого, помірного або високого метастазування пухлин, відповідно.

Наведені відомості підтверджують, що застосовані приймання розширюють уявлення про молекулярні властивості плоскоклітинних раків орофарингеальної області. Шляхом дослідження молекулярних властивостей пухлин та інтерпретації імуногістохімічних реакцій досягають покращення об'єктивності на 65-70 % і розширення меж переважного використання найближчого аналогу, поширюючи властивості останнього на оцінку станів тканин ротової порожнини і глотки щонайменше. При цьому, вірогідність прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинних раків орофарингеальних областей за цих умов становить 0,96-0,98, що інформує про високий рівень інформативності.

Додаткові переваги запропонованої корисної моделі над найближчим аналогом зв'язуються з можливістю визначення прогностично сприятливих і несприятливих імунофенотипів саме плоскоклітинних раків орофарингеальної області. Так, при збільшенні експресії ММП-9, VEGF або зниженні експресії Е-кадгерину констатують високу вірогідність до метастазування, гіперекспресії/ампліфікації HER-2/neu, що констатує наявність високоагресивного перебігу захворювання й свідчить про резистентність організму хворого до медикаментозної та променевого лікування, за виключенням таргетної терапії на основі "Герцептину".

Відомості, що підтверджують можливість відтворення способу прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку ротоглотки, з можливістю перевернення заявленого технічного результату, полягають в наступному.

Для здійснення способу прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку ротоглотки залучають ротаційний мікротом "Microm" фірми "Microm International GmbH" (Німеччина), мікроскоп DLME фірми "Leica" (Німеччина), моноклональне антитіло Ki-67 (клон SP6), Е-кадгерин (клон EP700Y), VEGF (клон VG1), Her-2/neu (клон SP3), поліклональне антитіло MMP-9 (92 kDa Collagenase IV) виробництва "Lab Vision Corporation" (Великобританія).

Суть. Спосіб прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку здійснюють у наступній послідовності. Під час фарингоскопії виконують біопсію тканини. Узяті ділянки пухлин фіксують у нейтральному забуференому 10 % формаліні та заливають парафіном. Після певної підготовки, виготовлення та рутинного забарвлення гістологічного препарату за допомогою гематоксилін-еозину, зрізи піддають послідовному імуногістохімічному дослідженню, з

використанням моноклонального антитіла Ki-67, Е-кадгерину, VEGF, Her-2/neu та поліклонального антитіла MMP-9.

Під час імуногістохімічного дослідження спостерігають реакцію 1000 сусідніх пухлинних клітин на використовувані маркери при 200^x мікроскопічному збільшенні мікроскопа. За реакцією на Ki-67 менше чи більше 330-340 досліджуваних клітин визначають низьку або високу проліферативну активність досліджуваних клітин, відповідно. При високій проліферативній активності прогнозують ріст пухлинного генезису. За реакцією на маркер HER-2/neu за допомогою шкали визначають повне 3+, неповне 2+, ледве помітне 1+ або відсутнє забарвлення мембран 0+, відповідно щонайменше у 100 досліджуваних клітинах. При цьому прогнозують високу активацію рецепторів, гіперекспресію, підвищену продукцію факторів росту або мутацію, відповідно. За реакцією на маркер VEGF, за допомогою шкали визначають позитивний статус пухлин 2+ досліджуваних клітин або їх здатність до прояву рецидивів раннього регіонарного метастазування 3+, і прогнозують онкогенез сприятливого або несприятливого імунофенотипу, відповідно. За реакцією досліджуваних клітин на Е-кадгерин, визначають збережену або втрачену міжклітинну адгезію, якщо спостерігають забарвлення мембран у більше або у менше 750 сусідніх пухлинних клітинах, і прогнозують можливість дисоціації зл�якісних клітин або високу вірогідність метастазування, відповідно. Шляхом напівкількісного аналізу цифрових мікрофотографій, оцінюючи цитоплазматичну реакцію на поліклональне антитіло ММР-9, за допомогою шкали визначають негативну, слабку, помірну або високу інтенсивності забарвлення досліджуваних клітин за 0-20, 21-50, 51-100 або >101 умовними балами, і прогнозують можливість негативного, слабого, помірного або високого метастазування пухлин, відповідно.

Таким чином, сукупність ознак запропонованої корисної моделі за даними експресії залучених маркерів дозволяє з'ясувати молекулярні властивості плоскоклітинного раку ротоглотки, знайти ступені його гістологічного диференціювання та рівні інвазії, з збільш високою (на -65-70 %) об'єктивністю ($p=0,96-0,98$).

Заявлений спосіб був апробований в умовах ОКЛ ім. І.І. Мечникова. Його використання у більшості випадків призводило до корекції здійснюваної терапії і радикальних змін схем лікування. Переведення хворих на індивідуалізовану форму терапії покращувало ефективність лікування, знижувало токсичність хіміотерапії, скорочувало як терміни лікування, так і чисельність побічних ускладнень.

Приклад 1. Хворий О.В. Чорнорот, 57 років, перебував у ЛОР-онкологічному відділенні обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова м. Дніпропетровська з приводу лікування: раку ротоглотки III ст., II кл. гр. (T3N0M0).

30.05.06 р. у хворого брали пробу тканин ротоглотки шляхом фарингоскопії, яка досліджували за стандартним морфологічним методом забарвлення, з використанням гематоксиліну, еозину та імуногістохімічним шляхом, з використанням моноклональних антитіл до Ki-67 (клон SP6), Е-кадгерину (клон EP700Y), VEGF (клон VG1), Her-2/neu (клон SP3) та поліклонального антитіла MMP-9 (92kDa Collagenase IV), виробництва "Lab Vision Corporation" (Великобританія). Оцінюючи експресії маркерів визначали проліферативну активність, міжклітинну адгезію, тканинну інвазію, неоваскуляризацію та кількість рецепторів епідермального фактора росту. Імуногістохімічний статус: Ki-67 65 %, пухлина швидко росте й чутлива до променевої терапії; Е-кадгерин 45 %, втрата міжклітинної адгезії, високий ризик метастазування; VEGF 2+, помірна васкуляризація, ризик метастазування; Her-2/neu 2+, помірна кількість рецепторів епідермального фактора росту, низька чутливість до хіміотерапії, ризик метастазування, MMP-9, 86 балів - висока здатність до деградації строми та інвазії. Висновок № 2371: плоскоклітинний помірно-диференційований рак, за Ki-67 висока проліферативна активність (65 %), за Е-кадгерином втрачена міжклітинна адгезія (45 %), за VEGF помірна реакція (2+), за Her-2/neu помірна реакція (2+), за MMP-9 висока експресія (86 балів).

Оцінюючи отримані данні, визначали високу швидкість росту пухлини, помірну васкуляризацію, малу чутливість пухлини до будь-яких видів хіміотерапії, чутливість до променевої терапії, високу здатність до деградації строми (активна інвазія) та високий ризик регіонарного метастазування (вірогідність рецидиву та метастазування - 98 % впродовж 1 року).

Приклад 2. Хворий В.Ф. Сальник, 78 років, перебував у ЛОР-онкологічному відділенні обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова м. Дніпропетровська з приводу лікування: раку ротоглотки III ст., II кл.гр., з метастазами в л/в шиї (T3N1M0).

25.01.07 у хворого брали пробу тканин ротоглотки шляхом фарингоскопії, яку досліджували за стандартним морфологічним методом забарвлення, з використанням гематоксиліну, еозину та імуногістохімічним шляхом, з використанням моноклональних антитіл Ki-67 (клон SP6), Е-

кадгерину (клон EP700Y), VEGF (клон VG1), Her-2/neu (клон SP3) та поліклонального антитіла MMP-9 (92kDa Collagenase IV). Інтерпретуючи дані експресії маркерів визначали проліферативну активність, міжклітинну адгезію, тканинну інвазію, неоваскуляризацію та кількість рецепторів епідермального фактора росту. Імуногістохімічний статус: Ki-67 25 % пухлина росла повільно, була нечутливою до променевої терапії; Е-кадгерин 15 %, втрата міжклітинної адгезії, високий ризик метастазування; VEGF 3+, висока васкуляризація, ризик метастазування та рецидивів, чутливість до хіміотерапії; Her-2/neu 1+, низька кількість рецепторів епідермального фактора росту; помірна чутливість до хіміотерапії; MMP-9, 60 балів - помірна здатність до деградації строми та інвазії. Висновок №2371: плоскоклітинний помірно-диференційований рак, за Ki-67 низька проліферативна активність (65 %), за Е-кадгерином втрачена міжклітинна адгезія (15 %), за VEGF - сильна реакція (3+), за Her-2/neu слабка реакція (1+), за MMP-9 помірна експресія (60 балів)

Оцінюючи отримані данні, визначили низьку швидкість росту пухлини, високу васкуляризацію, помірну чутливість пухлини до хіміотерапії, низьку чутливість до променевої терапії, помірну здатність до деградації строми та високий ризик регіонарного метастазування. Пацієнту було рекомендовано проведення внутріартеріальної поліхіміотерапії.

Таким чином, запропонований спосіб прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку ротоглотки, сприяє покращенню об'єктивності кінцевого результату на 65-70 % ($p > 0,96-0,98$) та розширенню меж переважного використання. За рахунок дослідження прогностично значущих клініко-морфологічних критеріїв, імуногістохімічних маркерів, як ознак пухлинного процесу, їх систематизації та отримання уявлень щодо біологічних, клінічних і морфологічних властивостей ракових клітин спосіб розв'язує проблеми прогнозування рецидивів пухлин і регіонарних метастазів, з можливістю використання отриманих результатів в ефективній профілактиці локально розповсюджених форм раку орофарингеальної області, у т.ч. і серед прогностично несприятливих хворих, на ранніх етапах терапії, що підвищує їх виживання.

Джерела інформації:

1. Пат. 61639 України, МПК А61К 38/43, А61К38/55, G01N33/49. Спосіб прогнозування виникнення рецидиву і метастазів у хворих на рак гортані / Кизим О. Й., Голобородько О. П., Клись Ю. Г., Зайцева Н.В., Верьовка С. В. (Україна); Ін-т отоларингології ім. О. С. Коломійченка (Україна). - № 201015865; заявл. 29.12.10; опубл. 25.07.11.

2. Пат. 18143 України, МПК А61В10/02, G01N33/531. Спосіб прогнозування клінічного перебігу раку гортані / Ковтуненко О. В., Шпонька І. С., Тимчук С. М., Березнюк В. В., Гриценко П. О., Бондарева В. О, Дорохова О. В. (Україна). - № 200606965; заявл. 22.06.06; опубл. 16.10.06.

3. Пат. 92957 України, МПК А61В 10/00, G01N 33/48. Спосіб прогнозування інвазивної та метастатичної активності раку молочної залози / Микитенко Д. О. (Україна). - № 200901031; заявл. 10.06.09; опубл. 27.12.10.

4. Носов Д.А. Механизмы регуляции внутриклеточной передачи сигнала и апоп-тоза: успехи и неудачи целенаправленной терапии / Д. А. Носов // Сборник трудов VIII Российского онкологического конгресса.-2004. - С. 61-65.

5. Expression of E-cadherin, a-catenin, and b-catenin in the process of lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma / N. Tanaka, T. Odajima, K. Ogil [et al.] // British journal of cancer.- 2003. - Vol. 89. - P. 557-563.

6. Expressions of matrix metalloproteinases in early-stage oral squamous cell carcinoma as predictive indicators for tumor metastases and prognosis / Akihiro Katayama, Nobuyuki Bandoh, Kan Kishibe [et al.] // Clinical cancer research.-2004. - Vol. 10. -P. 634-640.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування клінічного перебігу плоскоклітинного раку ротоглотки, що включає біопсію пухлин, фіксування зразків у нейтральному формаліні, парафіні, виготовлення з них гістологічних препаратів, забарвлення гематоксиліном, еозином, формування зрізів, їх імуногістохімічне дослідження, з використанням моноклонального антитіла Ki-67, як маркера проліферативної активності, мікроскопію та оцінку, який **відрізняється** тим, що, при імуногістохімічному дослідженні додатково використовують маркер епідермального фактора росту HER-2/neu, маркер росту ендотелію судин VEGF, маркер міжклітинної адгезії Е-кадгерин і поліклональне антитіло ММР-9, як показник інвазії тканин, а під час імуногістохімічного дослідження спостерігають реакцію 1000 сусідніх пухлинних клітин на використовувані маркери при 200^x мікроскопічному збільшенні мікроскопа, де визначають низьку або високу проліферативну активність досліджуваних клітин, за реакцією на Ki-67 менше чи більше 330-340

- досліджуваних клітин, відповідно, а якщо виявляють високу проліферативну активність, то прогнозують ріст пухлинного генезису, або, за реакцією на маркер HER-2/neu, визначають за шкалою повне 3+, неповне 2+, ледве помітне 1+ або відсутнє забарвлення мембран 0+, відповідно щонайменше у 100 досліджуваних клітинах, та прогнозують високу активацію
- 5 рецепторів, гіперекспресію, підвищену продукцію факторів росту або мутацію, відповідно, або, за реакцією на маркер VEGF, з використанням шкали, визначають позитивний статус пухлин 2+ досліджуваних клітин або здатність останніх до прояву рецидивів раннього регіонарного метастазування 3+, і прогнозують онкогенез сприятливого або несприятливого імунофенотипу, відповідно, або, оцінюючи реакцію досліджуваних клітин на Е-кадгерин, визначають збережену
- 10 або втрачену міжклітинну адгезію, якщо спостерігають забарвлення мембран у більше або у менше 750 сусідніх пухлинних клітинах, і прогнозують можливість дисоціації злоякісних клітин або високу вірогідність метастазування, відповідно, або, оцінюючи цитоплазматичну реакцію на поліклональне антитіло ММП-9 шляхом напівкількісного аналізу цифрових мікрофотографій за допомогою шкали, визначають негативну, слабку, помірну або високу інтенсивності
- 15 забарвлення досліджуваних клітин за 0-20, 21-50, 51-100 або ≥ 101 умовними балами, і прогнозують можливість негативного, слабкого, помірного або високого метастазування пухлин, відповідно.

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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