



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **136693** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/50 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2019 02958	(72) Винахідник(и): Думанський Юрій Васильович (UA), Бондар Олександр Вадимович (UA), Роша Лариса Григорівна (UA), Пацков Андрій Олександрович (UA)
(22) Дата подання заявки: 25.03.2019	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.08.2019	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.08.2019, Бюл.№ 16	(73) Власник(и): ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, пров. Валіховський, 2, м. Одеса, 65082 (UA)

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ МОЖЛИВОСТІ ЕФЕКТИВНОГО КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ ІЗ МІСЦЕВОРОЗПОВСЮДЖЕНИМИ ФОРМАМИ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування можливості ефективного комплексного лікування хворих із місцеворозповсюдженими формами раку молочної залози МР РМЗ, в якому шляхом імуногістохімічного дослідження білків системи репарації геному визначають показник мікросателітної нестабільності МСН новоутворення до проведення неoad'ювантної селективної внутрішньоартеріальної поліхіміотерапії СВАПХТ і при значеннях МСН>30 % прогнозують чутливість МР РМЗ до лікування.

UA 136693 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до онкології, і може використовуватися для найбільш оптимального підбору неoad'ювантної поліхіміотерапії (ПХТ) у складі комплексного лікування місцеворозповсюджених форм раку молочної залози (MP PM3).

5 В основі канцерогенезу більшої частини онкологічної патології лежить екзогенне або ендогенне пошкодження структури ДНК або порушення репарації цих пошкоджень з формуванням та накопиченням негативних мутацій у генах, що відповідають за ріст та диференціювання здорової клітини. Відомі два незалежних патогенетичних шляхи розвитку генетичної нестабільності [1].

10 Перший шлях - найбільш розповсюджений і виявлений у більшості випадків онкопатології - називається хромосомною нестабільністю і об'єднує цілий спектр геномної та хромосомної патології: делеція, інверсія, дуплікація, транслокація; анеуплоїдія та втрата гетерозиготності.

Пухлини, що розвиваються внаслідок активації другого шляху, характеризуються порушенням механізму репарації неспарених пар дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК). В результаті мутації в геномі клітин пухлини накопичуються зі значно більшою швидкістю, ніж у нормальному стані.

15 Система репарації неспарених основ ДНК (mismatch repair system-MMR) є епігенетичною системою спадковості, яка представлена набором взаємопов'язаних внутрішньоядерних білків, що контролюються 6 генами: MSH2, MLH1, PMS2, MSH3, MSH6 і MLH3. Задачею MMR є розпізнавання і видалення неправильно спарених основ, утворених в результаті екзогенно- та ендогенно-індукованих порушень структури ДНК. У клітинах з недостатністю даної системи репарації відзначена більш висока частота мутацій зі зсувом рамки зчитування, що характеризується ранньою появою стоп-кодону та інактивацією гена, в порівнянні з нормальними клітинами [2].

20 Функціональна послідовність роботи системи MMR представлена таким чином: на першому етапі відбувається ідентифікація пошкодженого локусу ДНК білковим комплексом MutS protein homolog 2 (MSH₂), після чого ініціюється приєднання комплексів білків MLH₁/PMS₂ і MLH₁/MLH₃, які, в свою чергу, залучають до участі в процесі усунення помилок екзо- та ендонуклеази, що здійснюють видалення зміненої ділянки. Відновлення нуклеотидної структури ланцюга ДНК відбувається за участі системи ДНК-полімераз [3]. Генетичним біомаркером описаних порушень репаративної системи є показник мікросателітної нестабільності (MCH).

25 В основу корисної моделі поставлена задача вдосконалення способу визначення ефективності комплексного лікування хворих із MP PM3 шляхом імуногістохімічного дослідження білків системи репарації геному використовують показник мікросателітної нестабільності (MCH) новоутворення до проведення неoad'ювантної селективної внутрішньоартеріальної поліхіміотерапії (СВАПХТ), і при значеннях MCH>30 % прогнозують чутливість MP PM3 до лікування.

30 Мікросателіти, класифіковані як VNTR (variable number of tandem repeats), є ділянками ДНК, що складаються з коротких (довжиною до 5 пар) нуклеотидних репрізів (DNA motifs), що циклічно повторюються від 5 до 50 разів. Їхніми характерними особливостями є високий рівень індивідуальних варіацій. Зміни в довжині мікросателітних послідовностей клітин пухлин або абсолютна чи відносна недостатність білків системи MMR були названі "мікросателітною нестабільністю" (MCH). На основі діагностичної панелі з 510 мікросателітів розрізняють 3 типи MCH: MSI-H (high) - "високий рівень" - пошкодження понад 30 % мікросателітів; MSI-L (low) - "низький рівень" - зміни довжини менше 30 % маркерів; MSS - мікросателітна стабільність [4].

45 При цьому відзначається сильна зворотна кореляція між рівнем MCH та ступенем злоякісності і схильністю до метастазування серед пухлин різних локалізацій. Поставлена задача вирішується тим, що, згідно з корисною моделлю, у способі прогнозування ефективності комплексного лікування хворих із місцеворозповсюдженими формами раку молочної залози шляхом імуногістохімічного дослідження білків системи репарації геному визначають показник мікросателітної нестабільності MCH новоутворення до проведення неoad'ювантної селективної внутрішньоартеріальної поліхіміотерапії СВАПХТ, і при значеннях MCH>30 % прогнозують чутливість MP PM3 до лікування.

Спосіб виконується наступним чином.

55 До дослідження залучено 30 пацієнток з первинно неоперабельними формами раку молочної залози T_{4A-D}N₀₋₃M₀, що отримували комплексне лікування на базі Донецького обласного протипухлинного центру та Університетської клініки Одеського національного медичного університету в період 2009 по 2015 рр. На неoad'ювантному етапі усім пацієнткам проведено 2-3 курси регіонарної або 3-4 курси системної поліхіміотерапії для циторедукції та досягнення пухлиною операбельного стану.

Вибірка була стандартизована за віковими та клінічними параметрами. Віковий склад: [27-42 роки], середній вік - 34 ± 7.2 років. Усім пацієнткам проведено ІГХ дослідження МСН в рамках розширеного діагностичного пошуку поряд з рутинними лабораторними та інструментальними дослідженнями організму та морфологічними дослідженнями біопсійного матеріалу. Після аналізу отриманих даних усі пацієнтки розподілені на 2 групи.

До першої досліджуваної групи увійшли 15 пацієток (50 %) з неоперабельними формами МР РМЗ, яким як неоад'ювантний курс була проведена селективна внутрішньоартеріальна поліхіміотерапія - СВАПХТ. Показник МСН виявився високим (MSI-H) у 8 (53 %) пацієток, низьким (MSI-L) у 6 (40 %) пацієток; мікросателітна стабільність зафіксована у 1 пацієнтки (7 %).

До другої досліджуваної групи увійшли 15 пацієток (50 %), з неоперабельними формами МР РМЗ, яким як неоад'ювантний курс була проведена системна поліхіміотерапія - СПХТ. Показник МСН виявився високим (MSI-H) у 7 (46 %) пацієток, низьким (MSI-L) у 6 (40 %) пацієток; мікросателітна стабільність зафіксована у 2 пацієток (14 %).

Переважає кількість пацієток першої групи отримала 2-3 курси неоад'ювантної ПХТ (M = 2.6), другої групи - 3-4 курси (M = 3.27). Оцінка лікувального патоморфозу (за даними морфологічного дослідження матеріалу біоптатів):

Перша група: лікувальний патоморфоз 1 ст. - у 1 (6 %) пацієнтки; 2 ст. - у 2 (14 %) осіб; 3 ст. - у 10 (66 %) пацієток; 4 ст. - у 2 (14 %) пацієнтки.

Друга група: лікувальний патоморфоз 1 ст. - у 2 (14 %) пацієток; 2 ст. - у 6 (40 %) пацієток; 3 ст. - у 7 (40 %) пацієток; 4 ст. - у жодної пацієнтки.

При детальному дослідженні виявлено, що вищі значення МСН корелюють з кращими результатами лікувального патоморфозу пухлини: в обох групах найгіршу чутливість до хіміотерапії (1 ст.) продемонстрували пацієнтки з мікросателітною стабільністю геному, найкращу (3 та 4 ст.) - пацієнтки з мікросателітною нестабільністю > 30 %: 2 хворих з MSI-H у першій групі мали 4 ст. лікувального патоморфозу після 2 курсів СВАПХТ, ще 6 осіб - 3 ст. після 2-3 курсів; у другій групі всі 7 пацієток з MSI-H мали 3 ст. лікувального патоморфозу після 3 курсів СПХТ. У 6 хворих з MSI-L після системної ПХТ, а також у решти пацієток 1 групи вдалося досягти 2 ст. морфологічних змін пухлини.

За фактом досягнення 3-4 ступенів лікувального патоморфозу за критерієм χ^2 Пірсона статистична перевага на користь результатів лікування серед пацієток першої групи має переконливі значення (χ^2 Пірсона = 3.589, $p = 0.059$ за критичних значень 3.841 та 0.05 - відповідно).

Для першої групи: середня тривалість життя хворих 3.4 ± 0.9 роки, загальна 3-річна виживаність - 10 пацієток (66 %). Досягнення можливості проведення оперативного лікування - 13 пацієток (86.7 %). Віддалені метастази у період 36 місяців після проведення оперативного лікування - 5 пацієток (33 %).

Для другої групи: середня тривалість життя хворих 2.3 ± 1.0 роки, загальна 3-річна виживаність - 6 пацієток (40 %). Досягнення можливості проведення оперативного лікування - 9 пацієток (60 %). Віддалені метастази у період 36 місяців після проведення оперативного лікування - 5 пацієток (33 %).

При детальному дослідженні виявлено, що всі 10 пацієток, у яких спостерігалися метастатичні процеси за період спостереження, мали низький рівень МСН або МСС.

Отже, показник мікросателітної нестабільності є перспективним показником чутливості пухлини до лікування для розробки унікальних програм спеціалізованої онкологічної допомоги з урахуванням індивідуальних особливостей організму пацієнта та маркерного профілю новоутворення для уникнення неефективних уніфікованих методів лікування на основі емпіричного підходу.

При референтних значеннях МСН > 30 % спосіб СВАПХТ є більш ефективним методом неоад'ювантного ведення пацієнтів з первинно неоперабельними формами раку молочної залози та має кращі результати за результативністю гальмування та реверсії прогресування пухлинного росту. В той же час, низький рівень МСН свідчить про нижчу чутливість до хіміотерапії та про вищу схильність до гематогенного метастазування, тому при МСН < 30 % СПХТ є більш доцільним методом неоад'ювантного ведення пацієток.

Таким чином, за запропонованим способом з високим ступенем достовірності можна ефективно оцінювати біологічні властивості пухлини, передбачати перебіг захворювання (сприятливий або несприятливий), визначати схильність пухлини до метастазування (висока або низька), шляхи розповсюдження пухлини (поетапний або метастатичний) та вибирати оптимальну тактику неоад'ювантної ПХТ (регіонарна або системна) у складі комплексного протипухлинного лікування.

Джерела інформації:

1. Cortes-Ciriano I., Lee S, Park W.Y., Kim T.M., Park P.J. A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers. *Nature Communications*. June 2017. 8:15180. <https://doi.org/doi:10.1038/ncomms15180>.
- 5 2. Siah S.P., Siah S.P., Quinn D.M., Bennett, G.D., Casey G., Flower R.L., Rudzki Z. Microsatellite instability markers in breast cancer: A review and study showing MSI was not detected at 'BAT 25' and 'BAT 26' microsatellite markers in early-onset breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*. April 2000. 60(2): 135-42. <https://doi.org/doi:10.1023/A:1006315315060>.
- 10 3. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews. Genetics*. June 2004. 5 (6): 435-45. <https://doi.org/doi:10.1038/nrg1348>.
4. Li Y.C., Korol A.B., Fahima T., Nevo E. Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Molecular Biology and Evolution*. June 2004. 21 (6): 991-1007. <https://doi.org/doi:10.1093/molbev/msh073>.

15

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб прогнозування можливості ефективного комплексного лікування хворих із місцеворозповсюдженими формами раку молочної залози МР РМЗ, в якому шляхом імуногістохімічного дослідження білків системи репарації геному визначають показник мікросателітної нестабільності МСН новоутворення до проведення неoad'ювантної селективної внутрішньоартеріальної поліхіміотерапії СВАПХТ і при значеннях МСН>30 % прогнозують чутливість МР РМЗ до лікування.

20

Комп'ютерна верстка В. Юкін

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

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