

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2738167

**Способ определения эффективности химиотерапии
препаратами платины при раке яичников III-IV стадии**

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное
учреждение "Национальный медицинский исследовательский
центр онкологии" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2020119701

Приоритет изобретения 08 июня 2020 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 09 декабря 2020 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 08 июня 2040 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/53 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020119701, 08.06.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.06.2020

Дата регистрации:
09.12.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.06.2020

(45) Опубликовано: 09.12.2020 Бюл. № 34

Адрес для переписки:

344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63,
НМИЦ онкологии, Ишониной О.Г.

(72) Автор(ы):

Франциянц Елена Михайловна (RU),
Моисеенко Татьяна Ивановна (RU),
Якубова Дарья Юрьевна (RU),
Черярина Наталья Дмитриевна (RU),
Меньшенина Анна Петровна (RU),
Вереникина Екатерина Владимировна (RU),
Адамян Мери Людвиговна (RU),
Ишонина Оксана Георгиевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2350966 C1, 27.03.2009. RU
2416096 C2, 10.04.2011. RU 2403065 C2,
10.11.2010. WO 2016/106340, 30.06.2016.
MARKMAN M. et al. Phase 2 trial of single-agent
gemcitabine in platinum-paclitaxel refractory
ovarian cancer. Gynecol. Oncol. 2003 Sep;
90(3):593-6, PMID: 13678730, реферат.

(54) Способ определения эффективности химиотерапии препаратами платины при раке яичников III-IV стадии

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к онкологии, и может быть использовано для раннего определения эффективности противоопухолевого лечения рака яичников III-IV стадии. Способ включает выполнение операции полного или оптимального/субоптимального циторедуктивного объема после проведения больным раком яичников III-IV стадии заболевания 3 курсов неоадьювантной полихимиотерапии с применением препаратов платины. Производят забор фрагмента ткани первичной злокачественной опухоли, а также метастатически пораженных сальника и брюшины

в объеме 100-120 мг, готовят 10% гомогенат ткани на забуференном физиологическом растворе pH 7.4, определяют в образцах уровень белка HE-4. При его значении 170,0-186,6 пмоль/л в ткани первичной злокачественной опухоли, в ткани метастатически пораженного большого сальника 153,1-175,5 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 128,7-149,7 пмоль/л прогнозируют эффективность послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме. При значении этого показателя в ткани первичной злокачественной опухоли в пределах 1667,6-1976,2

пмоль/л, в ткани метастатически пораженного большого сальника 1109,6-1307,0 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 1429,2-1693,4 пмоль/л прогнозируют отсутствие эффективности послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме. Использование

изобретения позволяет оценить эффективность неоадьювантной полихимиотерапии препаратами платины при раке яичников по уровням онкомаркера Не-4 в тканях первичной и метастатической опухолях для прогнозирования эффективности последующих курсов платиносодержащей химиотерапии. 4 пр.

RU 2 7 3 8 1 6 7 C 1

RU 2 7 3 8 1 6 7 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11)
(51) Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)

2 738 167⁽¹³⁾ **C1**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 33/53 (2020.08)

(21)(22) Application: **2020119701, 08.06.2020**

(24) Effective date for property rights:
08.06.2020

Registration date:
09.12.2020

Priority:

(22) Date of filing: **08.06.2020**

(45) Date of publication: **09.12.2020** Bull. № 34

Mail address:
**344037, g. Rostov-na-Donu, 14-ya liniya, 63,
NMITS onkologii, Ishoninoj O.G.**

(72) Inventor(s):

**Frantsiyants Elena Mikhajlovna (RU),
Moiseenko Tatyana Ivanovna (RU),
Yakubova Darya Yurevna (RU),
Cheryarina Natalya Dmitrievna (RU),
Menshenina Anna Petrovna (RU),
Verenikina Ekaterina Vladimirovna (RU),
Adamyan Meri Lyudvikovna (RU),
Ishonina Oksana Georgievna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe
uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij
issledovatel'skij tsentr onkologii" Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR DETERMINING THE EFFECTIVENESS OF CHEMOTHERAPY WITH PLATINUM PREPARATIONS IN III-IV STAGE OVARIAN CANCER**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to oncology, and can be used for early detection of efficacy of antitumour treatment of ovarian cancer III-IV stage. Method involves complete or optimal/suboptimal cytoreductive volume following 3 courses of non-adjuvant polychemotherapy with platinum preparations for patients with ovarian cancer III-IV stage. Tissue fragment of the primary malignant tumor, as well as the metastatically involved omentum and peritoneum in volume of 100-120 mg are sampled, tissue 10% homogenate is prepared in a buffered physiological saline of pH 7.4, protein HE-4 level is determined in the samples. If its value is 170.0-186.6 pmol/l in primary malignant tissue, in tissue of metastatic diseased omentum 153.1-175.5 pmol/l and in tissue of metastatically involved peritoneum 128.7-149.7 pmol/l effectiveness of postoperative

chemotherapy with platinum preparations used in neoadjuvant mode is predicted. If the value in the primary malignant tissue within range of 1667.6-1976.2 pmol/l, in tissue of metastatically involved greater omentum 1109.6-1307.0 pmol/l and in tissue of metastatically involved peritoneum 1429.2-1693.4 pmol/l absence of efficacy of postoperative chemotherapy with platinum preparations used in neoadjuvant mode is predicted.

EFFECT: use of the invention enables assessing the efficacy of the neoadjuvant polychemotherapy with platinum preparations in ovarian carcinoma by the levels of the tumor marker He-4 in the tissues of primary and metastatic tumors to predict the effectiveness of subsequent courses of platinum-containing chemotherapy.

1 cl, 4 ex

Способ относится к медицине, а точнее, к онкологии и может быть использован для раннего определения эффективности противоопухолевого лечения рака яичников III-IV стадии.

Рак яичников (РЯ) является распространенным и фатальным гинекологическим злокачественным новообразованием (см. Lisio, M.A., Fu, L., Goyeneche, A., Gao, Z.H., & Telleria, C.(2019). High-Grade Serous Ovarian Cancer: Basic Sciences, Clinical and Therapeutic Standpoints. International journal of molecular sciences, 20(4), 952. <https://doi.org/10.3390/ijms20040952>).

До настоящего времени не существует эффективного скрининга и способов ранней диагностики этого заболевания. Вследствие отсутствия специфических симптомов раннего начала болезни, более 70% случаев РЯ диагностируются на поздней стадии и имеют плохой прогноз. Даже после усовершенствования многих методов хирургического лечения и химиотерапии, общая пятилетняя выживаемость больных РЯ все еще не превышает 47% (см. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA Cancer J. Clin. 2019;69:7-34. doi: 10.3322/caac.21551. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]).

Возраст больных РЯ варьирует, но чаще болезнь возникает у женщин старше 45 лет, средний возраст больных РЯ 63-64 года. Женщины моложе 40 лет, как правило, поражаются герминогенными опухолями яичника, в отличие от женщин более старших возрастных групп, где эпителиальные опухоли являются наиболее распространенными. По степени распространенности менее 15% РЯ диагностируются в I стадии, когда 5-летняя выживаемость составляет 92%. Пятилетняя выживаемость при запущенном эпителиальном раке яичника составляет приблизительно 30%. Эти цифры при сопоставлении подчеркивают статус рака яичников как значительного источника заболеваемости и смертности среди женского населения планеты (см. Lisio, M.A., Fu, L., Goyeneche, A., Gao, Z.H., & Telleria, C. (2019). High-Grade Serous Ovarian Cancer: Basic Sciences, Clinical and Therapeutic Standpoints. International journal of molecular sciences, 20 (4), 952. <https://doi.org/10.3390/ijms20040952>).

Современное состояние хирургии и химиотерапии приводит к высокой частоте полных ремиссий, однако частота рецидивов также высока. Для большинства пациенток болезнь, в конечном итоге, становится непрерывной чередой бессимптомных периодов и эпизодов рецидива. Различные целевые подходы к лечению и биологические препараты, которые в настоящее время находятся в стадии разработки, обещают превратить рак яичников в контролируемое хроническое заболевание (см. Cortez A.J., Tudrej P. Kujawa K.A. Lisowska K.M. Advances in ovarian cancer therapy // Cancer chemotherapy and pharmacology. - 2018. - V.81, №1.- P. 17-38).

Современная химиотерапия эпителиального рака яичников основывается на применении производных платины: цисплатине или, позднее, на его менее токсичном аналоге - карбоплатине (см. Ho G.Y., Woodward N., Coward J.I. Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies // Crit Rev Oncol Hematol. - 2016. - №102. - P. 37-46). Обнаружение высокой активности паклитаксела (Таксола), активного компонента дерева *Taxus brevifolia*, против рака яичников внесло коррективы в первоначальные рекомендации относительно первой линии терапии РЯ и сделало три цикла комбинации карбоплатина с паклитакселом наиболее оптимальной установкой («золотой стандарт») в лечении эпителиального рака яичников (Kumar S, Mahdi H, Bryant C, Shah JP, Garg G, Munkarah A. Clinical trials and progress with paclitaxel in ovarian cancer. Int J Womens Health. 2010; 2:411-427.[PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]).

В последние годы были проведены исследования по изучению снижения выраженных проявлений токсичности паклитаксела (например, алопеция и нейротоксичность) и

других таксанов, комбинированных с карбоплатином, в частности, полусинтетического доцетаксела. Результаты этих исследований представили доказательства того, что комбинация карбоплатина с доцетакселом может использоваться у пациенток с высоким риском нейротоксичности (ценой большей миелосупрессии), но у других пациенток карбоплатин в сочетании с паклитакселом все же следует рассматривать как основной вариант инициальной полихимиотерапии.

Стандартным методом лечения рака яичников является максимальное циторедуктивное хирургическое пособие с последующей химиотерапией на основе препаратов платины. Подтверждение диагноза, а также стадирование заболевания проводится во время операции.

Согласно рекомендациям группы гинекологической онкологии (GOG), оптимальная циторедукция была ранее определена как пангистерэктомия, оментэктомия, тазовая лимфаденэктомия и максимальное удаление метастазов, после которого остаются опухолевые узлы, каждый из которых не превышает размеров 1 см. Впоследствии большой многофакторный анализ показал улучшение выживаемости без прогрессирования заболевания и общей выживаемости для группы пациенток без остаточных опухолей, по сравнению с группами, с так называемой оптимальной (между 0,1 и 1 см) и субоптимальной циторедукцией (более 1 см) ($p < 0,0001$). Таким образом, в соответствии с рекомендациями ESGO по лечению рака яичников 2017 года, целью первичной операции является достижение полной резекции макроскопически определяемых опухолевых очагов - полная циторедукция (см. ESGO. Guidelines EsoGO. Advanced (stage III-IV) ovarian cancer surgery. Quality indicators. Complete report. Prague: ESGO; 2017).

После операции больным РЯ назначают курсы системной адъювантной/лечебной полихимиотерапии с включением препаратов платины и таксанов каждые 21 день в течение шести циклов (химиотерапия первой линии). У пациенток со стадией IA/IB и опухолями G1/G2 химиотерапия может быть исключена (см. Basta A., Bidzinski M., Bienkiewicz A., Blecharz P., Bondar L., Jach R., Knapp P., Kojs Z., Kotarski J., Markowska J., Misiek M., Sznurkowski J., Wicherek L., Sawicki W., Timorek A., Bahyrycz J., Madry R. Recommendation of the Polish society of oncological gynaecology on the diagnosis and treatment of epithelial ovarian cancer // Oncol Clin Pract. - 2015. V.11, - №5. - P.11). На поздних стадиях (III-IV) полная циторедукция, как правило, невозможна. Наиболее распространенной причиной является поражение брыжейки тонкой кишки и диссеминация в области капсулы печени. Пациенток с исходно нерезектабельными поражениями РЯ или из-за тяжелого состояния больных вначале лечат индукционной (неоадъювантной) химиотерапией. После трех циклов химиотерапии, если есть ответ на лечение, может быть проведена интервальная циторедуктивная операция, затем химиотерапия продолжается до шести циклов (см. Basta A., Bidzinski M., Bienkiewicz A., Blecharz P., Bondar L., Jach R., Knapp P., Kojs Z., Kotarski J., Markowska J., Misiek M., Sznurkowski J., Wicherek L., Sawicki W., Timorek A., Bahyrycz J., Madry R. Recommendation of the Polish society of oncological gynaecology on the diagnosis and treatment of epithelial ovarian cancer // Oncol Clin Pract. - 2015. V.11, - №5. - P.11).

Результат лечения оценивается после завершения химиотерапии первой линии. Оценка ответа на лечение проводится на основе результатов визуализации и в соответствии с критериями RECIST 1.1 (критерии оценки ответа в солидных опухолях). Большинство пациенток адекватно реагируют на химиотерапию первой линии, достигая полной ремиссии, однако у многих вскоре развивается рецидив. Для пациенток с остаточной опухолью < 1 см риск рецидива оценивается в 60-70%; для больных с остаточной

опухолью большого объема риск оценивается в 80-85% (см. Foley O.W., Rauh-Hain J.A., del Carmen M.G. Рецидивирующий эпителиальный рак яичников: обновленная информация о лечении // Онкология (Williston Park). - 2013. - №27. - P. 288-294).

Следовательно, пациентки с полной ремиссией должны подвергаться регулярному обследованию. Повышение уровня онкомаркера СА125 в сыворотке крови может служить ранним признаком рецидива заболевания, однако, если оно не сопровождается клиническими симптомами, не рекомендуется начинать вторую линию химиотерапии.

Существует мнение, что пациентки с рецидивами заболевания, установленными на основе только повышения уровня СА125, могут участвовать в клинических испытаниях (см. Friedlander M., Trimble E., Tinker A., Alberts D., Avall-Lundqvist E., Brady M., Harter P., Pignata S., Pujade-Lauraine E., Schouli J., Vergote I., Beale P., Bekkers R., Calvert P., Copeland L., Glasspool R., Gonzalez-Martin A., Katsaros D., Kim J.W., Miller B., Provencher D., Rubinstein L., Atri M., Zeiment A., Bacon M., Kitchener H., Stuart G.C.E., Inter Grp G.C. Clinical trials in recurrent ovarian cancer // Int J Gynecol Cancer. - 2011. - V. 21, №4. - P. 771-775).

Устойчивость к химиотерапии является сложной проблемой при лечении пациенток с эпителиальным раком яичников. В то время как большинство (80%) больных женщин первоначально положительно реагируют на химиотерапию первой линии препаратами платины и таксанами, рецидивы заболевания встречаются у 60-85% пациенток. У больных с платинорезистентным РЯ было показано, что один агент паклитаксел дает объективный ответ только в 22-30%. В случаях заболевания, устойчивого как к платине, так и к паклитакселу, доступны другие варианты химиотерапии, такие как: пегилированный липосомальный доксорубин (PLD), топотекан и гемцитабин. Однако не всегда ясно, каким пациенткам показаны резервные варианты химиотерапии (см. Foley O.W., Rauh-Hain J.A., del Carmen M. G. Рецидивирующий эпителиальный рак яичников: обновленная информация о лечении // Онкология (Williston Park). - 2013. - №27. - P. 288 - 294). В конечном итоге, несмотря на то, что схемы с несколькими лекарственными препаратами сопровождаются более высокой токсичностью, они значительно эффективнее, чем лечение одним цитостатиком. Углубленное изучение факторов, способствующих возникновению устойчивости к терапии на основе платины и таксана, будет полезно при принятии решений о вариантах лечения больных раком яичников (см. Ribeiro, J. R., Schorl, C, Yano, N., Romano, N., Kim, K.K., Singh, R.K., & Moore, R. G. (2016). FIE4 promotes collateral resistance to cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer cells. Journal of ovarian research, 9(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s13048-016-0240-0>).

Основным препятствием в лечении больных раком яичников является развитие химиорезистентности. Устойчивость к химиотерапии может быть, как исходной, так и приобретенной. Характерные паттерны экспрессии генов, которые несут хеморазрушающие опухолевые клетки, способствуют внутренней устойчивости. Приобретенная устойчивость является следствием различных изменений, вызванных воздействием химиотерапевтических агентов (см. Koti M, Siu A., Clement I., Bidarimath M., Turashvili G., Edwards A., Rahimi K., Mes-Masson A.M., Squire J.A. A distinct pre-existing inflammatory tumour microenvironment is associated with chemotherapy resistance in high-grade serous epithelial ovarian cancer. Br. J. Cancer. 2015; 112:1215-1222. doi: 10.1038/bjc.2015.81. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]).

В развитии резистентности к препаратам платины в карциноме яичника вовлечены различные механизмы, включая повышенный отток лекарственного средства, пониженное поглощение лекарственного средства, инактивацию лекарственного средства, повышенную репарацию ДНК и сниженный апоптотический ответ (см. Savant, S. S., Sriramkumar, S., & O'Hagan, H. M. (2018). The Role of Inflammation and Inflammatory

Mediators in the Development, Progression, Metastasis, and Chemoresistance of Epithelial Ovarian Cancer. *Cancers*, 10(8), 251. <https://doi.org/10.3390/cancers10080251>).

Несколько недавних исследований показали, что воспаление способствует развитию как исходной, так и приобретенной устойчивости. Один тип исходной внутренней устойчивости под влиянием воспаления называется лекарственной устойчивостью, опосредованной окружающей средой (EMDR). В EMDR факторы и клетки, присутствующие в воспалении, активируют разнообразные сигнальные события, временно защищая опухолевые клетки от апоптоза в ответ на цитостатические агенты (см. Meads M.B., Hazlehurst L.A., Dalton W.S. The bone marrow microenvironment as a tumor sanctuary and contributor to drug resistance. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14:2519-2526. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-2223. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]).

Другой тип устойчивости, вызванной цитокинами, хемокинами и факторами роста, секретируемыми клетками фибробластов в опухолевой строме, называется лекарственной устойчивостью, опосредованной растворимым фактором (SFM-DR). Было показано, что злокачественные ткани эпителиального рака яичников имеют уровень активной формы кислорода (АФК) на 96% выше, чем у нормальных контролей (см. Cohen S., Mehrabi S., Yao X., Millingen S., Aikionbare F.O. Reactive Oxygen Species and Serous Epithelial Ovarian Adenocarcinoma // *Cancer Res. J.* - 2016. - №4. - P. 106 -114). Приобретенная химиорезистентность является основной причиной неудачи лечения рака яичников. Как наличие злокачественного асцита, так и приобретенная химиорезистентность связаны с уменьшением выживаемости больных раком яичников (см. Kim, S., Lee, M., Dhanasekaran, D.N., & Song, Y.S. (2018). Activation of LXRα/p by cholesterol in malignant ascites promotes chemoresistance in ovarian cancer. *BMC cancer*, 18(1), 1232. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5152-5>).

Известен способ оценки эффективности лечения больных по уровню экскреции полиаминов с мочой (см. Берлинских Н.К. Залеток С.П. и др. лечения онкологических больных. Методические рекомендации. Киев. 1980. 12 с).

Метод основан на экстракции полиаминов из мочи н-бутанолом, затем фракционировании их при помощи электрофореза на бумаге и количественном определении колориметрическим методом. Для этого мочу больного собирают в течение 24 ч. Затем 20 мл мочи выдерживают при 4°C в течение 18-24 ч. В ампулы наливают 3-5 мл мочи и равный объем 6 н. HCl, запаивают и помещают на 14-16 ч в термостат с температурой 120°C. После окончания гидролиза проводят экстракцию н-бутанолом. С помощью универсальной индикаторной бумаги доводят pH мочи сперва до 9,0, а затем - до 9,5-10,0. При этом контролируют pH по pH-метру. В течение двух часов н-бутаноловую фракцию встряхивают на шутель-аппарате, после чего выпаривают на кипящей водяной бане. Сухой остаток растворяют в 0,2 мл 0,1 н. HCl и в количестве 20 мкл наносят на полосу хроматографической бумаги, помещенную в прибор для электрофореза, и в течение 40 мин проводят электрофорез. Электрофореграммы высушивают в термостате при 70°C в течение 20 мин, затем обрызгивают из распылителя нингидриновым красителем и снова помещают в термостат при 70°C на 20 мин для проявления окраски. Окрашенные пятна, которые соответствуют индивидуальным полиаминам, вырезают, помещают в химические пробирки, заливают элюирующим раствором и убирают на 25 мин в темное место. После чего проводят измерение величины поглощения растворов на спектрофотометре при длине волны 505 нм. Количество полиаминов определяют по калибровочной кривой, построенной по стандартным полиаминам.

Однако применение этого способа ограничивают и затрудняют такие его недостатки,

как длительность проведения исследования, которое затягивается на 4-5 суток. По этой же причине он не может быть использован для коррекции применяемой специфической терапии. Кроме того, применение указанного метода требует большого количества оборудования и реактивов, что влечет за собой большие затраты.

- 5 Известен способ определения биологической агрессивности рака для оценки индивидуального прогноза течения заболевания и назначения адекватной терапии (см. Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Франк Г.А. Уточняющая диагностика рака некоторых локализаций с использованием иммуногистохимических маркеров // Практическое пособие. Москва. - 2006. - 16 с). Метод основан на изучении количества
10 и локализации одного из основных составляющих межклеточного матрикса - гликопротеида тенасцина, обладающего антиадгезивными свойствами, матричных металлопротеиназ (ММР) и их ингибиторов.

- Для иммуногистохимического исследования материал фиксируют нейтральным формалином в течение 24 часов, заливают в парафин, готовят срезы толщиной 4 мкм,
15 которые наносят на высокоадгезивные свойства и высушивают при температуре 37°C. Используют моноклональные антитела к ММР1, ММР2, ММР9, TIMP1 и 2 (NovoCastr), тенасцину, бета-катенину и Е-кадгерину (Dako). Восстановление антигенной активности проводят в миниавтоклаве «2100 Retrieval») (Pick Cell) при температуре 121°C в течение 20 мин и последующем остывании 60 мин. Восстановление проводят в нитратном буфере
20 рН 6,0 для антител к ММР1, кадгерина и катенина и в ЭДТА-буфере рН 8,0 для остальных антител. В качестве детекционной системы применяли систему «En Vision») (Dako), в качестве хромогена использовали диаминобензидин. Интенсивность реакции оценивали полуколичественным способом по балльной шкале от 0 до 3+.

- Авторы проводили исследования на операционном материале протокового рака
25 молочной железы, рака легкого и рака мочевого пузыря. Полученные результаты показали возможность оценки индивидуальной агрессивности опухоли, позволили оценить клинически еще не реализованную биологическую агрессивность опухоли, ее инвазивный и метастатический потенциал. Полученные в результате исследования индивидуальные характеристики опухоли, по мнению авторов, должны учитываться
30 для оценки индивидуального прогноза течения заболевания и назначения адекватной терапии. Проведение уточняющей морфологической диагностики с использованием панели антител позволят определять индивидуальные параметры карциномы разных локализаций и гистологических типов и поможет в определении индивидуального прогноза течения заболевания и выбора адекватной тактики лечения.

- 35 Однако применение этого способа ограничивают и затрудняют такие его недостатки, как длительность проведения исследования. Поэтому он не может быть использован для коррекции объема оперативного вмешательства при раке яичников и назначения специфической терапии в ближайшие сутки после операции. Кроме того, применение
40 указанного метода требует большого количества оборудования и реактивов, что влечет за собой большие затраты.

Задачей изобретения является определение эффективности платиносодержащей послеоперационной химиотерапии за счет оценки эффекта неоадьювантной химиотерапии по уровню онкомаркера Не-4 в тканях опухоли.

- Техническим результатом изобретения является разработка способа, позволяющего
45 оценить эффективность неоадьювантной полихимиотерапии (НАПХТ) препаратами платины при раке яичников по уровням онкомаркера Не-4 в тканях первичной и метастатической опухолях для прогнозирования эффективности последующих курсов платиносодержащей химиотерапии.

Технический результат достигается тем, что после проведения больным раком яичников III-IV стадии заболевания 3 курсов неоадьювантной полихимиотерапии с применением препаратов платины, выполнения операции полного или оптимального/субоптимального циторедуктивного объема, производят забор фрагмента ткани
 5 первичной злокачественной опухоли, а также метастатически пораженных сальника и брюшины в объеме 100-120 мг, готовят 10% гомогенат ткани на забуференном физиологическом растворе pH 7.4, определяют в образцах уровень белка HE-4 и при его значении 170,0-186,6 пмоль/л в ткани первичной злокачественной опухоли, в ткани метастатически пораженного большого сальника 153,1-175,5 пмоль/л и в ткани
 10 метастатически пораженной брюшины 128,7-149,7 пмоль/л прогнозируют эффективность послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме, а при значении этого показателя в ткани первичной злокачественной опухоли в пределах 1667,6-1976,2 пмоль/л, в ткани метастатически пораженного большого сальника 1109,6-1307,0 пмоль/л и в ткани метастатически
 15 пораженной брюшины 1429,2-1693,4 пмоль/л прогнозируют отсутствие эффективности послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме.

Анализ известных способов определения эффективности неоадьювантной противоопухолевой терапии дает основания говорить о новизне предлагаемого
 20 «Способа определения эффективности химиотерапии препаратами платины при раке яичников III-IV стадии», который представлен исследованием уровня опухолевого маркера HE-4 в ткани удаляемой злокачественной опухоли яичников, метастатически пораженных большого сальника и брюшины после проведения неоадьювантной химиотерапии у больных раком яичников III-IV стадии. Изучение клеточных маркеров,
 25 характеризующих биологические свойства опухоли, в данном случае HE-4, позволяет определить адекватность использования применяемого платиносодержащего лечения для каждой конкретной больной и определить тактику дальнейшего ведения пациенток.

Разработанный «Способ определения эффективности химиотерапии препаратами платины при эпителиальном раке яичников III-IV стадии» обладает изобретательским
 30 уровнем, так как явным образом не следует для специалиста из известного уровня развития медицины и оценки эффективности химиотерапии препаратами платины. В известных источниках информации России, стран СНГ и за рубежом подобный способ не обнаружен.

Изобретение является промышленно применимым, так как оно может быть
 35 многократно воспроизведено в лечебных учреждениях онкологического профиля, располагающих биохимическими лабораториями.

Способ осуществляется следующим образом.

Больным III-IV стадией рака яичников проводят 3 курса НАПХТ препаратами карбоплатин (AUC 5-6) + паклитаксел (175 мг/м^2) с интервалом в 21 день по стандартной
 40 методике. Хирургическое вмешательство всем больным было выполняют в стандартно рекомендуемом объеме: пангистерэктомия, оментэктомия и оптимальное/субоптимальное удаление метастазов РЯ в пределах брюшной полости.

Интраоперационно производят забор фрагмента ткани первичной злокачественной опухоли, а также метастатически пораженных сальника и брюшины в объеме 100-120
 45 мг, готовят 10% гомогенат ткани на забуференном физиологическом растворе pH 7.4, определяют в образцах уровень белка HE-4.

При значении этого показателя 170,0-186,6 пмоль/л в ткани первичной злокачественной опухоли, в ткани метастатически пораженного большого сальника

153,1-175,5 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 128,7-149,7 пмоль/л прогнозируют эффективность послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме.

При значении этого показателя в ткани первичной злокачественной опухоли в пределах 1667,6-1976,2 пмоль/л, в ткани метастатически пораженного большого сальника 1109,6-1307,0 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 1429,2-1693,4 пмоль/л прогнозируют отсутствие эффективности послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме.

Основными объективными признаками оценки эффекта лечения служили непосредственные результаты лечения (регрессия опухоли после НАПХТ) и продолжительность безрецидивного периода.

Авторами ретроспективно сопоставлены результаты лечения (по длительности безрецидивного лечения) и уровни онкомаркера Не-4 в тканях первичной злокачественной опухоли яичника, в ткани метастатически пораженного большого сальника и метастатически пораженной брюшины (взяты интраоперационно) у 41 больной раком яичников III-IV стадиями. У всех больных после НАПХТ достигнута частичная регрессия опухоли. Однако, длительность безрецидивного периода варьировала в значительных пределах (от 4,5 до 19 месяцев). Показатели Не-4 в тканях первичной опухоли и метастазах в брюшину и большой сальник заставили критично оценить эффект НАПХТ и выявили пациенток с признаками резистентности к проводимому платиносодержащему лечению.

При уровне Не-4 в пределах 170,0-186,6 пмоль/л в ткани первичной злокачественной опухоли, в ткани метастатически пораженного сальника 153,1-175,5 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 128,7-149,7 пмоль/л отмечен безрецидивный период более 18 месяцев (платиночувствительность); при уровне Не-4 в пределах 1667,6-1976,2 пмоль/л в ткани первичной злокачественной опухоли, в ткани метастатически пораженного сальника 1109,6-1307,0 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 1429,2-1693,4 пмоль/л продолжительность безрецидивного периода не превышала 6 месяцев (платинорезистентность).

Приводим примеры клинического наблюдения.

Пример №1. Больная Н. 67 лет, госпитализирована в гинекологическое отделение РНИОИ в январе 2018 года с асцитной формой рака яичников III стадии заболевания, кл. гр. 2.

По данным гинекологического осмотра, УЗИ, СРКТ у больной обнаружен опухолевый конгломерат в малом тазу размерами 12×16 см, метастаз в задний свод, большой сальник, выраженный асцит. При пункции заднего свода влагалища получена асцитическая жидкость с фрагментами опухоли - цитологический анализ: клетки папиллярной серозной карциномы. Учитывая асцитный вариант РЯ, консилиум рекомендовал больной проведение 3 курсов НАПХТ по схеме карбоплатин (AUC 6) + паклитаксел 175 мг/м² с интервалом в 21 день.

Проведение 3 курсов НАПХТ сопровождалось выраженным эффектом лечения: резорбировался асцит, опухолевый конгломерат в малом тазу сократился до размеров 5×7 см, уменьшились размеры метастазов в заднем своде и в большом сальнике.

В марте 2018 года больной выполнено хирургическое лечение в объеме пангистерэктомии, оментэктомии, удаления остаточных метастазов с париетальной брюшины малого таза и латеральных каналов брюшной полости. Резидуальная опухоль = 0. Морфологическое исследование: в яичниках - отдельные разрозненные группы серозной карциномы G 2 с резкими дистрофическими изменениями (патоморфоз III

степени), в большом сальнике - метастазы серозной карциномы, в отдельных участках опухолей с брюшины - на фоне некроза - фрагменты карциномы.

Уровень маркера Не-4 в первичной опухоли яичников составил 170 пмоль/л; в метастазах с париетальной брюшины - 128,7 пмоль/л; в большом сальнике - 153,1 пмоль/л. Учитывая выраженный клинический ответ, консилиум рекомендовал продолжить АГТХТ по прежней схеме 6 курсами с интервалом 21 день. Лечение закончила в сентябре 2018 года. Клиническая ремиссия длится по настоящее время (19 месяцев).

Пример №2. Больная Р. 58 лет, обратилась в РНИОИ в марте 2018 года. После комплексного обследования установлен диагноз: «Рак яичников IV ст., полисерозитная форма, мтс в плевру, гр. 2». Диагноз верифицирован при цитологическом исследовании асцитической жидкости - цитологический анализ: клетки карциномы серозно-папиллярного строения.

При цитологическом исследовании плеврального выпота: метастазы рака папиллярного строения. УЗИ и СРКТ обнаружили опухолевый конгломерат в полости малого таза, включающий матку, придатки и метастатический узел в задней своде общими размерами 15×11 см, множественные метастазы по брюшине и большом сальнике до 6 см в диаметре, асцит, правосторонний плеврит до 4 ребра.

Больной рекомендовано провести 3 курса НАПХТ по схеме карбоплатин (AUC 6) + паклитаксел 175 мг/м² с интервалом в 21 день. НАПХТ завершилась наступлением частичной регрессии на фоне снижения уровня Не-4 в крови: резорбция асцита и плеврита, по данным СРКТ уменьшение опухолевого конгломерата в малом тазу до 8×6 см, канцероматоз брюшины, в большом сальнике отдельные метастатические очаги не более 2 см в диаметре.

В мае 2018 года больной выполнена операция в объеме пангистерэктомии, оментэктомии, удаления метастатических очагов с париетальной брюшины. Объем резидуальной опухоли более 1 см. Морфологическое исследование: в яичниках, большом сальнике и фрагментах париетальной брюшины - G 2 серозно-папиллярная аденокарцинома.

Уровень маркера Не-4 в первичной опухоли - 186,6 пмоль/л; в большом сальнике - 175,5 пмоль/л, в ткани метастатически пораженной брюшины - 149,7 пмоль/л. Учитывая выраженный клинический ответ, консилиум рекомендовал продолжить АПХТ по прежней схеме 6 курсами с интервалом 21 день. Лечение завершено в октябре 2018 года. Констатирована клиническая ремиссия, длящаяся по настоящее время (18 месяцев).

Пример №3. Больная М., 56 лет, обследована в РНИОИ в сентябре 2017 года, по данным комплексного обследования установлен диагноз: «Рак яичников St III гр. 2». Процесс верифицирован цитологически при трансвагинальной пункции - цитологический анализ: клетки карциномы яичника. При УЗИ и СРКТ в малом тазу и брюшной полости определялись множественные опухолевые узлы от 10×8 см до 4 см, метастатическое поражение брюшины.

Больной проведено 3 курса НАПХТ по схеме карбоплатин (AUC 5) + паклитаксел 175 мг/м² с частичным эффектом: в брюшной полости определялся метастатически измененный большой сальник; в малом тазу инфильтрация заднего свода. По данным СРКТ сохранились метастатические очаги по брюшине.

В ноябре 2017 года больной выполнена операция в объеме пангистерэктомии, оментэктомии, удаления метастатических очагов с париетальной брюшины. Объем резидуальной опухоли 1 см. Морфологическое исследование: в яичниках, маточных трубах, большом сальнике и метастатических очагах с брюшины - G 3 серозная цистаденокарцинома, очаги некроза, гистиоцитоза.

Уровень маркера Не-4 в первичной опухоли - 1667,6 пмоль/л; в большом сальнике - 1109,6 пмоль/л; в метастазах с париетальной брюшины - 1429,2 пмоль/л. Больной было продолжено лечение: АПХТ по прежней схеме 6 курсами с интервалом в 21 день. Лечение завершено в апреле 2018 года.

5 Продолжительность ремиссии составила лишь 4,5 месяца. Выставлен диагноз: платинорезистентный рецидив рака яичников St III гр 2. В дальнейшем схема лечения была изменена.

Пример №4. Больная К. 61 года, в РНИОИ онкологии в июне 2018 года после комплексного обследования установлен диагноз: «Рак яичника III ст., асцитная форма, 10 кл. гр. 2». Диагноз верифицирован при цитологическом исследовании асцитической жидкости - цитологический анализ: клетки карциномы серозно-папиллярного строения. УЗИ и СРКТ обнаружили опухолевидно измененные яичники до 5-6 см в диаметре, множественные метастазы по брюшине и большому сальнику до 4 см, асцит.

Больной рекомендовано провести 3 курса НАПХТ по схеме карбоплатин (AUC 6) 15 + паклитаксел 175 мг/м² с интервалом в 21 день. НАПХТ завершилась наступлением частичной регрессии: прекратилось накопление асцита, по данным СРКТ произошло уменьшение опухолевого поражения яичников, брюшины, большого сальника. В сентябре 2018 года больной выполнена операция в объеме пангистерэктомии, оментэктомии, удаления метастатических очагов с париетальной брюшины. Объем 20 резидуальной опухоли менее 1 см. Морфологическое исследование: в яичниках, большом сальнике и фрагментах париетальной брюшины - G 2 папиллярная цистаденокарцинома с признаками некроза и фиброза.

Уровень маркера Не-4 в первичной опухоли - 1976,2 пмоль/л; в большом сальнике - 1307,0 пмоль/л, в ткани метастатически пораженной брюшины - 1693,4 пмоль/л. 25 Учитывая выраженный клинический эффект от проведенной неоадьювантной химиотерапии, консилиум рекомендовал продолжить АПХТ по прежней схеме 6 курсами с интервалом в 21 день. Лечение завершено в январе 2019 г. Продолжительность ремиссии составила лишь 5 месяцев. Выставлен диагноз: платинорезистентный рецидив рака яичников St III гр2. В дальнейшем схема лечения была изменена.

30 Техничко-экономическая эффективность «Способ определения эффективности химиотерапии препаратами платины при раке яичников III-IV стадии» заключается в том, что на этапе хирургического лечения был найден критерий повышенного контроля и оценки эффективности неоадьювантной полихимиотерапии у больных раком яичников, 35 каким является опухолевый маркер НЕ-4. При этом уровень Не-4 в ткани рака яичников, метастатически пораженных большим сальнике и брюшине служит информативным лабораторным тестом для необходимости смены линии химиотерапии в послеоперационном периоде.

Клиническое применение предлагаемого способа позволит уже на этапе хирургического вмешательства выделять группы больных с резистентностью к 40 выбранной схеме химиотерапии с целью своевременного изменения схемы, отказа от платиносодержащих препаратов и продолжения лечения.

(57) Формула изобретения

Способ определения эффективности химиотерапии препаратами платины при раке 45 яичников III-IV стадии, заключающийся в том, что после проведения больным раком яичников III-IV стадии заболевания 3 курсов неоадьювантной полихимиотерапии с применением препаратов платины, выполнения операции полного или оптимального/субоптимального циторедуктивного объема, производят забор фрагмента ткани

первичной злокачественной опухоли, а также метастатически пораженных сальника и брюшины в объеме 100-120 мг, готовят 10% гомогенат ткани на забуференном физиологическом растворе pH 7.4, определяют в образцах уровень белка HE-4 и при его значении 170,0-186,6 пмоль/л в ткани первичной злокачественной опухоли, в ткани
5 метастатически пораженного большого сальника 153,1-175,5 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 128,7-149,7 пмоль/л прогнозируют эффективность послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме, а при значении этого показателя в ткани первичной злокачественной опухоли в пределах 1667,6-1976,2 пмоль/л, в ткани метастатически
10 пораженного большого сальника 1109,6-1307,0 пмоль/л и в ткани метастатически пораженной брюшины 1429,2-1693,4 пмоль/л прогнозируют отсутствие эффективности послеоперационной химиотерапии препаратами платины, применяемыми в неоадьювантном режиме.

15

20

25

30

35

40

45