

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2293329

СПОСОБ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

Патентообладатель(ли): **Ростовский научно-исследовательский онкологический институт МЗ РФ (RU), Сидоренко Юрий Сергеевич (RU), Вереникина Екатерина Владимировна (RU), Франциянц Елена Михайловна (RU), Неродо Галина Андреевна (RU)**

Автор(ы): **см. на обороте**

Заявка № 2005106002

Приоритет изобретения **03 марта 2005 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации **10 февраля 2007 г.**

Срок действия патента истекает **03 марта 2025 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам



Б.П. Симонов



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2005106002/15, 03.03.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 03.03.2005

(43) Дата публикации заявки: 10.08.2006

(45) Опубликовано: 10.02.2007 Бюл. № 4

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: БЕРДИНСКИХ Н.К. и др. Определение экскреции полиаминов в диагностике злокачественных опухолей и для оценки эффективности лечения онкологических больных. Методические рекомендации. Киев. 1980. RU 94026026 A1 27.04.1997. SU 1805393 A1 30.03.1993. СУХИНА О.М. и др. Влияние лучевой и химиотерапии на липидный и липопротеиновый спектр сыворотки крови (см. прод.)

Адрес для переписки:

344037, г.Ростов-на-Дону, 14 линия, 63,
 Ростовский научно-исследовательский
 онкологический институт МЗ РФ

(72) Автор(ы):

Сидоренко Юрий Сергеевич (RU),
 Вереникина Екатерина Владимировна (RU),
 Франциянц Елена Михайловна (RU),
 Неродо Галина Андреевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Ростовский научно-исследовательский
 онкологический институт МЗ РФ (RU),
 Сидоренко Юрий Сергеевич (RU),
 Вереникина Екатерина Владимировна (RU),
 Франциянц Елена Михайловна (RU),
 Неродо Галина Андреевна (RU)

(54) СПОСОБ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к онкологии. Сущность способа: у больных раком яичников после проведения надвлагалищной ампутации матки с придатками исследуют отделяемое из брюшной полости, определяют уровень активности прекалликреина и калликреина, вычисляют коэффициент отношения первого показателя ко второму. Исследование проводят до начала и после проведения лечения циклофосфаном. При повышении значения

коэффициента относительно исходного лечение определяют как эффективное, а при снижении или неизменности значения коэффициента - как неэффективное. Применение способа позволяет повысить точность диагностики, дает возможность назначения индивидуального специфического лечения, а также проведения необходимой коррекции лечения, что позволяет уменьшить токсические побочные проявления неэффективной противоопухолевой терапии. 1 табл.

(56) (продолжение):

больных раком яичника. Украинский радиологический журнал. 1998, №4, с.429-431, реф. Найдено из БД VINITI.RU. [Найдено 15.03.2006]. [он-лайн]. COLEMAN S. et al. Recovery of CDS T-cell function during systemic chemotherapy in advanced ovarian cancer. Cancer Res. 2005, Aug. 1; 65(15), p.7000-7006, реф. Найдено из БД PubMed, PMID 16061686. [он-лайн].



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **2005106002/15, 03.03.2005**

(24) Effective date for property rights: **03.03.2005**

(43) Application published: **10.08.2006**

(45) Date of publication: **10.02.2007 Bull. 4**

Mail address:

**344037, g.Rostov-na-Donu, 14 linija, 63,
Rostovskij nauchno-issledovatel'skij
onkologicheskij institut MZ RF**

(72) Inventor(s):

**Sidorenko Jurij Sergeevich (RU),
Verenikina Ekaterina Vladimirovna (RU),
Frantsijants Elena Mikhajlovna (RU),
Nerodo Galina Andreevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Rostovskij nauchno-issledovatel'skij
onkologicheskij institut MZ RF (RU),
Sidorenko Jurij Sergeevich (RU),
Verenikina Ekaterina Vladimirovna (RU),
Frantsijants Elena Mikhajlovna (RU),
Nerodo Galina Andreevna (RU)**

(54) METHOD FOR ESTIMATING ANTITUMOR THERAPY EFFECTIVENESS IN TREATING PATIENTS FOR OVARIAN CARCINOMA

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: method involves analyzing exudate from abdominal cavity after having done amputation of uterus and uterine appendages. Prekallikrein and kallikrein activity level is determined and the ratio coefficient of the former to the latter index is to be calculated. Study is carried out before and after treatment

with cyclophosphane. The coefficient value being found greater than the initial value, the treatment is judged to be effective. The coefficient value remaining unchanged or becoming less than the initial value, the treatment is considered to be ineffective.

EFFECT: high accuracy of diagnosis; enhanced effectiveness in carrying out therapy correction.

1 tbl

Изобретение относится в медицине, а именно к онкологии, и может быть использовано для контроля эффективности лечения больных раком яичников.

Известен способ оценки эффективности лечения больных раком пищевода, основанный на изучении ряда иммунологических, биохимических и гематологических параметров (Рубцов В.Р. Консервативное лечение местнораспространенного рака пищевода. Автореф. дис...докт. мед. наук. Л., 1989).

Принцип метода состоит в том, что после окончания курса химио-иммуно-лучевого лечения анализируют выбранные показатели гормонального и иммунологического статуса, изменения которых происходит в результате применения терапии у больных с полной либо с неполной регрессией опухоли пищевода. Проводится градация значения всех признаков, максимально отличающихся в весе для различных классов. В результате вычисления информативности каждого признака для прогнозирования полной регрессии опухоли пищевода после химио-иммуно-лучевого лечения отбирали 10 наиболее информативных показателей. Ими оказались: 1. размер опухоли по длине органа; 2. экскреция с мочой свободных 17-ОКС; 3. уровень активности ТТГ в сыворотке крови; 4. уровень активности АКТГ; 5. уровень активности тироксина; 6. уровень активности ЛГ; 7. количество лейкоцитов; 8. процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов; 9. процентное содержание лимфоцитов; 10. общее число Е-РОК.

Для прогнозирования жизни больных раком пищевода в течение двух лет в решающее правило вошли: 1. тетрагидрокортизон; 2. ТТГ; 3. СТГ; 4. трийодтиронин; 5. кортизол; 6. процентное содержание сегментоядерных нейтрофилов; 7. процентное содержание моноцитов; 8. абсолютное число моноцитов; 9. общее число Е-РОК; 10. процентное значение РБТ на ФГА. После получения значений каждого из указанных признаков у конкретного больного производится алгебраическое сложение прогностических коэффициентов, соответствующих градациям, в которые попадают значения признаков больного. Для удобства в работе оба правила преобразованы к значению порога, равного 0. Если полученные суммы оказываются больше нуля, то у больного прогнозируется благоприятный исход с полной регрессией опухоли и продолжительностью жизни не менее двух лет. Если полученная сумма будет меньше 0, то прогноз лечения следует расценивать как неблагоприятный.

Однако применение известного способа ограничивают и затрудняют такие его недостатки, как необходимость математического вычисления прогностических критериев с обязательным использованием таблиц, предлагаемых автором, что может явиться причиной субъективной ошибки; длительность и сложность технического выполнения ряда гормональных исследований; невозможность получения прогностического решения в течение одного дня, что исключает амбулаторное применение данного способа.

Известен способ оценки эффективности лечения больных по уровню экскреции полиаминов с мочой (Берлинских Н.К., Залеток С.П., Зиневич А.К., Евтушенко А.В. Определение экскреции полиаминов в диагностике злокачественных опухолей и для оценки эффективности 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 сначала 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 ограничивает и затрудняет такой его недостаток, 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.

Целью изобретения является ускорение и упрощение контроля эффективности лечения.

Поставленная цель достигается тем, что у больных раком гениталий после выполнения операции в объеме надвлагалищной ампутации матки с придатками и установления дренажной системы по способу, предложенному Сидоренко Ю.С. (патент №2069991 бюл. №34 опубл. 10.12.96 г.) с выведением трубки через цервикальный канал и микроиригатора через задний свод, после проведения химиотерапии собирают отделяемое из дренажа, выведенного из цервикального канала, определяют в нем активность прекалликреина и калликреина, вычисляют соотношение первого ко второму и при повышении этого показателя прогнозируют наступление клинического эффекта от проводимого лечения, а в случае снижения показателя, либо его неизменности, прогнозируют отсутствие такового.

Анализ известных способов определения эффективности противоопухолевой терапии дает основания говорить о новизне предлагаемого способа, который представлен соотношением объективных показателей исследования в отделяемом из брюшной полости через дренажную трубку уровней прекалликреина и калликреина до и после проведения химиотерапии.

В отличие от прототипа предлагаемый "Способ оценки эффективности противоопухолевой терапии больных раком яичников" осуществляется в течение 1 рабочего дня и дает возможность проводить коррекцию лечебных воздействий в соответствии с исследуемой объективной реакцией организма на это воздействие.

Разработанный способ обладает изобретательским уровнем, так как явным образом не следует для специалиста из известного уровня развития медицины и оценки эффективности противоопухолевой терапии. В известных источниках информации России, стран СНГ и за рубежом подобный способ не обнаружен.

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

Способ осуществляется следующим образом.

Собирают содержимое, выделяемое из дренажной трубки, выведенной через цервикальный канал. Проводят в нем определение калликреина и прекалликреина по методу Пасхиной Т.С. и Кринской А.В. (Упрощенный метод определения калликреиногена и калликреина в сыворотке (плазме) крови человека в норме и при некоторых патологических состояниях. // Вопр. мед. химии, 1974. - Т.20. - вып.6. - С.660-663.)

Для этого 0,25 мл отделяемого разводили в 3 раза 0,02 М фосфатным буфером pH 7,0 и добавляли к 3 мл суспензии ДЭАЭ-сефадекса А-50, уравновешенного тем же буфером. Смесь осторожно перемешивали, добавляли через 10 мин еще 3 мл 0,02 М калий-натрий фосфатного буфера pH 7,0, содержащего 0,05 М хлорид кальция, снова перемешивали и через 2 мин переносили на фильтр. Фильтрат собирали в мерную пробирку и доводили объем до 5 мл 0,02М фосфатным буфером. Для определения активности калликреина к 1 мл фильтрата добавляли 1 мл 0,05 М трис-HCl буфера pH 8,0 и 1 мл $1,5 \times 10^{-3}$ М раствора БАЭЭ в этом же буфере. В контрольную пробу брали 2 мл трис-HCl буфера pH 8,0 и 1 мл

раствора субстрата. Прирост оптической плотности измеряли в кюветах (1 см) СФ-26 при 253 нм в течение 15 мин, делая отсчеты каждые 5 мин. Для определения активности прекалликреина к 1 мл неадсорбированной фракции добавляли 0,8 мл 0,05 М трис-НСl буфера рН 8,0 и 0,1 мл 0,1% раствора трипсина в 0,002 М НСl. Пробы перемешивали и через 2 мин добавляли 0,1 мл 2% раствора овомукоида в 0,05 М трис-НСl буфера рН 8,0 для инаktivирования трипсина. Через 15 мин к пробе добавляли 1 мл $1,5 \times 10^{-10}$ М раствора БАЭЭ. Активность пробы измеряли по приросту оптической плотности при 253 нм в течение 15 мин, делая отсчеты каждые 5 мин. После этого вычисляли соотношение активности прекалликреина к активности калликреина: $K = \text{АПК} / \text{АК}$, где

АПК - активность прекалликреина;

АК - активность калликреина.

Для доказательства приводим выписку из историй болезни, подтверждающих клинический эффект лечения предлагаемым способом.

Пример клинического применения №1.

Больная Ф., 1942 года рождения, ист. болезни №17237/0, поступила в гинекологическое отделение РНИОИ 5.11.02 г. с диагнозом: рак яичников III стадии. При поступлении объективно: бледность кожных покровов, одышка, слабость. При пальпации живота определяется бугристая опухоль, доходящая верхней границе до пупка, эпигастральная область пальпируется, отдельно пальпируется бугристая опухоль - метастатически измененный большой сальник. Больной была произведена лапаротомия. Оперативное вмешательство произведено в объеме надвлагалищной ампутации матки с придатками, экстирпация большого сальника. Непосредственно после ампутации матки с придатками со стороны брюшной полости в канал культи шейки матки сверху вниз во влагалище провели дренажную трубку диаметром 0,7 см и длиной 50 см. Трубку со стороны влагалища зажимом протянули до выхода из него. Верхний конец трубки со стороны брюшной полости в конечном положении отставал от верхнего края культи шейки матки так, что после ее ушивания трубка располагалась над линией швов на 2 см. Дренирование через цервикальный канал сочеталось с микроирригатором, выведенным через задний свод. Для лучшей фиксации дренажных трубок использовали горизонтальную пережимку - лигатуру, которая, опираясь на заднюю стенку культи шейки матки, удерживала дренажи в заданном направлении. Ушивание культи шейки матки проводили отдельными кетгутовыми швами. Далее произвели перитонизацию. Гистологический анализ удаленного препарата №668651-4: умеренно дифференцированная папиллярная аденокарцинома; №668655 - в просвете маточной трубы раковые железы; №668656 - хронический сальпингит; №668657 - атрофический эндометрит; №668658 - в большом сальнике метастазы рака.

До начала лечения было взято отделяемое из катетера, выведенного через цервикальный канал, и определена активность прекалликреина и калликреина, вычислен коэффициент их соотношения. Величина коэффициента соотношения $K = \text{АПК} / \text{АК}$ был равен 4,3. Через микроирригатор, выведенный через задний свод, проведена химиотерапия циклофосфаном в дозе 6800 мг. После завершения курса лечения при выписке величина коэффициента составила 12,2. Больной в плановом порядке через полтора месяца повторно провели курс химиотерапии. Величина коэффициента составляла 14,1. Признаков активации процесса не обнаружено, больная находится в III клинической группе.

Пример клинического применения №2.

Больная М., 1932 года рождения, ист. болезни №140/г, поступила в гинекологическое отделение РНИОИ 17.10.02 г. с диагнозом: рак яичников III стадии, клиническая группа 2. При поступлении жалобы на одышку, слабость, отсутствие аппетита. При пальпации живота определяется бугристая опухоль в проекции правых придатков и метастатически измененный большой сальник. Больной была произведено оперативное вмешательство в объеме надвлагалищной ампутации матки с придатками, экстирпация большого сальника. Непосредственно после ампутации матки с придатками со стороны брюшной полости в канал культи шейки матки сверху вниз во влагалище провели дренажную трубку диаметром 0,7 см и длиной 50 см. Трубку со стороны влагалища зажимом протянули до выхода из

него. Верхний конец трубки со стороны брюшной полости в конечном положении отставал от верхнего края культи шейки матки так, что после ее ушивания трубка располагалась над линией швов на 2 см. Дренирование через цервикальный канал сочеталось с микроирригатором, выведенным через задний свод. Для лучшей фиксации дренажных трубок использовали горизонтальную перемычку - лигатуру, которая, опираясь на заднюю стенку культи шейки матки, удерживала дренажи в заданном направлении. Ушивание культи шейки матки проводили отдельными кетгутовыми швами. Далее произвели перитонизацию. Гистологический анализ удаленного препарата №666531: низко дифференцированная серозная аденокарцинома; №666534 - текоматоз, белые тела; №666535 - атрофический эндометрит; №666536 - в большом сальнике метастазы рака.

До начала лечения было взято отделяемое из катетера, выведенного через цервикальный канал, и определена активность прекалликреина и калликреина, вычислен коэффициент их соотношения. Величина коэффициента соотношения $K = \text{АПК} / \text{АК}$ был равен 4,0. Через микроирригатор, выведенный через задний свод, проведена химиотерапия циклофосфаном в дозе 6800 мг. После завершения курса лечения при выписке величина коэффициента составила 3,1. Больной в плановом порядке через полтора месяца повторно провели курс химиотерапии. Величина коэффициента составляла 1,1. При этом у больной отмечены признаки активации злокачественного процесса.

Таким образом, данные клинического наблюдения коррелируют с показателями коэффициента K , который может служить критерием эффективности проводимой терапии.

Предлагаемым способом было проведено исследование 38 больных раком яичников до и после проводимой химиотерапии.

Таблица Уровни активности калликреина и прекалликреина и их соотношения (K) в отделяемом из брюшной полости больных раком яичников.			
Группы обследованных больных	Активность прекалликреина (усл. ед.)	Активность калликреина (усл. ед.)	Соотношение $K = \text{АПК} / \text{АК}$
Больные до начала лечения	296,4±9,2	73,5±4,4	4,1±1,1
Больные с клиническим эффектом	357,5±9,6 ¹	29,8±3,2 ¹	12,0±1,7 ¹
Больные без клинического эффекта	291,1±15,6 376,5±11,6 ¹	92,7±6,49 ¹ 188,4±6,6 ¹	3,1±0,9 2,0±0,1 ¹

Примечание: 1 - показатели достоверны по отношению к исходным значениям ($P \leq 0,05$).

Данные исследования представлены в таблице. Как видно из представленных данных, показатель K при эффективном лечении увеличивался относительно фоновых величин, тогда как при отсутствии клинического эффекта он либо не изменялся, либо снижался по сравнению с исходными данными, что подтверждено состоянием больных раком яичников.

Техническо-экономическая эффективность "Способа оценки эффективности противоопухолевой терапии больных раком яичников" заключается в том, что:

- удаётся индивидуализировать для каждого больного специфическое лечение и вносить необходимые коррективы;
- сокращается время проведения химиотерапии, так как не приходится терять время на проведение неэффективного лечения;
- уменьшаются токсические побочные проявления неэффективной противоопухолевой терапии;
- увеличивается продолжительность и улучшается качество жизни больных;
- удаётся объективизировать результаты специфической терапии.

Формула изобретения

Способ оценки эффективности противоопухолевой терапии, включающий биохимическое исследование биологического материала, отличающийся тем, что у больных раком яичников после проведения надвлагалищной ампутации матки с придатками исследуют отделяемое из брюшной полости, определяют уровень активности прекалликреина и калликреина, вычисляют коэффициент отношения первого показателя ко второму, исследование проводят до начала и после проведения лечения циклофосфаном, и при повышении значения коэффициента относительно исходного лечение определяют как эффективное, а при снижении или неизменности значения коэффициента - как

неэффективное.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50