



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **118024** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
A61K 38/00
G01N 33/483 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2016 09685</p> <p>(22) Дата подання заявки: 20.09.2016</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.07.2017</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.07.2017, Бюл.№ 14</p>	<p>(72) Винахідник(и): Ганусевич Ірина Іванівна (UA), Ковельська Антоніна Василівна (UA), Гуменюк Лілія Дмитрівна (UA), Меренцев Сергій Павлович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022, Україна (UA)</p> <p>(74) Представник: Васильєв Олексій Всеволодович, реєстр. №397</p>
--	--

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ МІНІМАЛЬНОЇ ЗАЛИШКОВОЇ ХВОРОБИ У ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА

(57) Реферат:

Спосіб прогнозування перебігу мінімальної залишкової хвороби у хворих на рак шлунка включає визначення кількості дисемінованих пухлинних клітин та концентрації активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 в кістковому мозку, причому додатково в пухлинній тканині визначають кількість пухлино-асоційованих адипоцитів, і при наявності в кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин і концентрацій активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 вищих, ніж відповідно 4,8 та 7,3 мкг/г тканини, та при кількості пухлино-асоційованих адипоцитів в пухлині, вищій ніж 26,5 %, прогнозують несприятливий перебіг захворювання, а при наявності в кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин і концентрацій активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 нижчих, ніж, відповідно 4,8 та 7,3 мкг/г тканини, та при кількості пухлино-асоційованих адипоцитів в пухлині, нижчій ніж 26,5 %, - сприятливий перебіг захворювання.

UA 118024 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до онкології, і може бути використана для врахування впливу ожиріння на перебіг пухлинного процесу в прогнозуванні перебігу захворювання та ефективності терапії, що дозволить індивідуалізувати лікувальні заходи та оптимізувати терапевтичні режими у хворих на рак шлунка (РШ).

5 Розповсюдження РШ у розвинених країнах набуває ендемічного характеру. Існують дані щодо тісного зв'язку між ожирінням та виникненням пухлин, їх ростом та злоякісною прогресією. Оцінка можливого перебігу онкологічного захворювання з огляду на наявність ожиріння та своєчасна корекція схеми лікування можуть покращити ефективність терапії та показники виживаності.

10 Для РШ використовується низка прогностичних показників, серед яких найпоширенішими є показники системи TNM [1], а також кількість дисемінованих пухлинних клітин (ДПК) у кістковому мозку (КМ) хворих [2]. У низці клінічних досліджень показано кореляцію між наявністю ДПК у КМ та "метастатичним рецидивом" при різних типах пухлин. Пухлинні клітини після виходу з первинної пухлини залишаються, головним чином, в КМ і зберігають потенціал розвинення в
15 клінічно значущі метастази. Наявність ДПК у КМ віднесені до категорії так званої мінімальної залишкової хвороби (МЗХ). Для багатьох пухлин встановлено зв'язок між наявністю ДПК перед первинним оперативним втручанням і наступним рецидивом, включаючи пухлини товстого кишечника, шлунка, підшлункової залози, легені, передміхурової залози, голови та шиї, яєчника і меланоми [3-11].

20 В експериментальних дослідженнях та на клінічному матеріалі показано зв'язок між кількістю ДПК в КМ та окремими показниками в пухлинній тканині [3,4]. Для МЗХ при РШ використовується певна низка прогностичних показників, зокрема такий, що характеризує рівні активності желатиназ А і В (матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 (ММП-2 та ММП-9)) у місцях віддаленого метастазування пухлини та визначається багаторазово протягом перебігу захворювання [12], але не запропоновано способу прогнозу перебігу МЗХ при РШ, який при цьому враховував би наявність ожиріння у хворого та, зокрема, вплив жирової тканини на пухлину.

Існує тісний зв'язок між ожирінням і злоякісною прогресією. Ожиріння пов'язане з більш агресивним перебігом пухлинного процесу у нирці, підшлунковій залозі, стравоході, товстому
30 кишечнику, жовчному міхурі, щитоподібній залозі, шийці матки, ендометрії. Встановлено, що ожиріння також асоційоване із РШ. Всі ці органи оточуються жировою тканиною. Адипоцити, клітини жирової тканини, знаходячись в мікрооточенні пухлинних клітин, перепрограмовуються у так звані пухлино-асоційовані адипоцити (ПАА), які сприяють інвазії пухлинних клітин і метастазуванню [13]. На теперішній час кількість ПАА в пухлині визначають імуногістохімічним методом та пов'язують із загальною виживаністю та рівнем метастазування [13]. Для хворих на
35 МЗХ при РШ показник кількості ПАА в пухлинній тканині, як маркер прогнозування, не застосовується. Відтак, на додаток до визначення активності желатиназ А і В у місцях віддаленого метастазування, існує необхідність у визначенні кількості ПАА в пухлинній тканині з метою прогнозу перебігу МЗХ та корекції терапевтичних схем у хворих на РШ.

40 Відомий спосіб застосування показників наявності ДПК, визначеної імуноцитохімічним методом, та активності желатиназ А і В, у КМ хворих на РШ, з метою прогнозу перебігу захворювання [12]. Запропонований метод визначення показника кількості ДПК в КМ проводиться з використанням моноклональних антитіл і характеризується високим рівнем селективності, а визначення активності желатиназ А і В в КМ дозволяє судити про
45 функціональний стан ферментів.

Недоліками відомого способу є те, що як маркер прогнозу використовують кількість ДПК у КМ та їх асоціацію з рівнем активності желатиназ А і В, не враховуючи вплив жирової тканини на пухлину.

50 В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб прогнозування перебігу МЗХ у хворих на РШ шляхом врахування кількості ПАА в пухлині додатково до визначення активності желатиназ А і В у КМ, що дасть можливість оцінити можливий перебіг захворювання у пацієнтів в залежності від наявності ожиріння, своєчасно корегувати схеми індивідуального лікування з урахуванням впливу жирової тканини на пухлину, що покращить показники виживаності.

55 Поставлена задача вирішується за рахунок того, що у способі прогнозування перебігу мінімальної залишкової хвороби у хворих на рак шлунка, що включає визначення кількості дисемінованих пухлинних клітин та концентрації активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 в кістковому мозку, згідно з корисною моделлю, додатково в пухлинній
60 тканині визначають кількість пухлино-асоційованих адипоцитів, і при наявності в кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин і концентрацій активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 вищих, ніж відповідно 4,8 та 7,3 мкг/г тканини, та при

кількості пухлино-асоційованих адипоцитів в пухлині вищій, ніж 26,5 %, прогнозують несприятливий перебіг захворювання, а при наявності в кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин і концентрацій активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 нижчих, ніж відповідно 4,8 та 7,3 мкг/г тканини, та при кількості пухлино-асоційованих адипоцитів в пухлині нижчій, ніж 26,5 %, - сприятливий перебіг захворювання.

Спосіб здійснюють наступним чином.

За 1-2 доби до оперативного втручання в результаті стандартної процедури пункції КМ із стерильної кістки отримують пунктат КМ, з якого виділяють моноклеарні клітини та зберігають їх при температурі -20°C до часу використання. Моноклеарні клітини наносять на скельця в процесі центрифугування на цитоцентрифузі впродовж 10 сек. при 1500 об/хв. Виявлення наявності цитокератин-позитивних клітин серед моноклеарів КМ на цитоспінових препаратах здійснюють, використовуючи метод APAAP (alkaline phosphatase-anti-alkaline phosphatase) та систему візуалізації EnVisionTM G/2 System/AP Rabbit/Mouse (Permanent Red) ("Dako Cytomation", Данія). Як первинні антитіла використовують моноклональні мишачі антитіла проти цитокератину (клон AE1/AE3, "DakoCytomation", Данія). Дофарбування ядер здійснюють 0,1 % розчином метилового зеленого. За допомогою світлового мікроскопа візуалізують ДПК, які забарвлені червоним клітини на зеленому тлі та проводять підрахунок.

Після стандартної процедури забору КМ із стерильної кістки хворого частину отриманого матеріалу в кількості 2 мл зберігають в рідкому азоті при температурі -180°C не більше, ніж 1 місяць. Для приготування зразка до 10 мкл швидко розмороженого КМ додають 10 мкл 1 % розчину додецилсульфату натрію та центрифугують при 3000 об/хв. протягом 20 хв., після чого 20 мкл надосаду використовують як зразок. Концентрації активних та латентних форм ММП-2 та -9 в зразку гомогенізованої пухлинної тканини визначають методом зимографії в 12 % ПААГ з додецилсульфатом натрію і 0,1 % желатину як субстрату [14]. 50 мг пухлинної тканини гомогенізують в 1 % розчині додецилсульфату натрію, гомогенат центрифугують при 3000 об/хв, 20 мкл надосаду вносять в лунки гелю та проводять електрофорез при температурі $+4^{\circ}\text{C}$, в напрузі електричного поля 150 V, протягом 4 годин. Після розділення досліджуваних білків гель відмивають в 2,5 % розчині тритону X-100, потім інкубують в буфері з додаванням хлориду кальцію (pH=7,5) впродовж 18 годин при температурі $+37^{\circ}\text{C}$, фіксують та забарвлюють 0,25 % Кумасі діамантовим синім. Після відмивання гелю у розчині оцтової кислоти з метанолом протеолітична активність ММП-2 та -9 візуалізується у вигляді знебарвлених смужок на синьому тлі, а їхня локалізація відповідає молекулярній масі кожного із ферментів, які визначаються за стандартами молекулярних мас. Оцінку протеолітичної активності проводять шляхом виміру площі зони лізису та визначають концентрації активних форм ферментів, використовуючи стандартний набір матриксних металопротеїназ. Межа розподілу між умовно високою та низькою концентраціями активних форм ферментів дорівнює 4,8 мкг/г тканини для ММП-2 та 7,3 мкг/г тканини для ММП-9, тобто, концентрації активних форм ММП-2 < 4,8 мкг/г тканини та ММП-9 < 7,3 мкг/г тканини вважаються низькими, а концентрації активних форм ММП-2 > 4,8 мкг/г тканини та ММП-9 > 7,3 мкг/г тканини вважаються високими.

Частину пухлинної тканини, отриманої у того ж хворого під час оперативного втручання, одразу занурюють в забуферений формалін, після чого готують парафінові блоки за стандартною методикою. Парафінові блоки за допомогою мікротома нарізають на зрізи товщиною 4-6 мкм, які наносять на предметне скло.

Імуногістохімічне визначення ПАА проводять на парафінових зрізах тканини РШ з використанням специфічних кролячих поліклональних антитіл (Perilipin-5/OXPAT Antibody, Termoscientific, США) у розведенні 1:200. На зрізи наносять 1 % розчин сироваткового альбуміну бика, потім проводять інкубацію препаратів з відповідними поліклональними антитілами в оптимальному розведенні протягом однієї години. Після промивання препаратів у розчині фосфатного буфера їх інкубують 40 хв у полімерному розчині (EnVision+HRP; DakoCytomation, Данія). Для візуалізації активності пероксидази використовують діамінобензидин тетрагідрохлорид (DAB) ("DakoCytomation", Данія) та дофарбовують зрізи гематоксиліном Майєра. За допомогою світлового мікроскопа візуалізують клітини, що експресують Plin5, або ПАА. Plin5-позитивні клітини підраховують на 1000 клітин на кожному зрізі при збільшенні $\times 400$ і число Plin5⁺-клітин виражали у відсотках. Коли Plin5⁺-клітин було < 26,5 %, кількість ПАА вважається низькою, коли Plin5⁺-клітин було > 26,5 %, кількість ПАА вважається високою.

Встановлено, що у обстежених хворих, у КМ яких виявлені ДПК та високі концентрації активних форм ММП-2 та -9, а в пухлинній тканині - висока кількість ПАА, агресивність пухлини вважається високою, що є основою для прогнозування несприятливого перебігу захворювання.

Встановлено, що у обстежених хворих, у КМ яких виявлені ДПК, але при цьому концентрації активних форм ММП-2 та -9 були низькими, а в пухлинній тканині була низька кількість ПАА,

агресивність пухлини вважається низькою, що є основою для прогнозування сприятливого перебігу захворювання.

Критеріями ефективності використаного способу є покращання раннього виявлення рецидивів та/або метастазів пухлини, корекції схем лікування, що призводить до підвищення ефективності терапії та подовження життя хворих на РШ.

За розробленою методикою обстежено 48 хворих на РШ. У 27 хворих виявлено високу агресивність пухлини та встановлено несприятливий прогноз перебігу захворювання, у 21 - низьку агресивність пухлини та сприятливий прогноз перебігу захворювання. Прикладами реалізації заявленого способу можуть вважатися наведені витяги з історій хвороби двох хворих.

Приклад 1. Хворий М.В.Г., 1949 року народження (Історія хвороби №17932 АК № 11493/08 ПГЗ № 43785-98 від 26.09.12. Аденокарцинома шлунка, р T₃N₂M₀, G3, стадія ІІІВ). Виконана операція - дистальна субтотальна резекція шлунка за Більрот-2 в модифікації Гофмейстера-Фінстера.

За 1-2 доби до оперативного втручання в результаті стандартної процедури пункції КМ із стернальної кістки отримували пунктат КМ, з якого виділяли моноклеарні клітини та зберігали їх при температурі -20°C до часу використання. Моноклеарні клітини наносились на скельця в процесі центрифугування на цитоцентрифузі впродовж 10 сек при 1500 об/хв. Виявлення наявності цитокератин-позитивних клітин серед моноклеарів КМ на цитоспінкових препаратах здійснювали, використовуючи метод APAAP (alkaline phosphatase-anti-alkaline phosphatase) та систему візуалізації EnVision™ G/2 System/AP Rabbit/Mouse (Permanent Red) ("Dako Cytomation", Данія). Як первинні антитіла використовували моноклональні мишачі антитіла проти цитокератину (клон АЕ1/АЕ3, "DakoCytomation", Данія). Дофарбування ядер здійснювали 0,1 % розчином метилового зеленого. За допомогою світлового мікроскопа в КМ хворого були виявлені ДПК як забарвлені червоним клітини на зеленому тлі.

Після стандартної процедури забору КМ із стернальної кістки хворого частину отриманого матеріалу в кількості 2 мл зберігали в рідкому азоті при температурі -180° С не більше, ніж 1 місяць. Для приготування зразка до 10 мкл швидко розмороженого КМ додавали 10 мкл 1 % розчину додецилсульфату натрію та центрифугували при 3000 об/хв. протягом 20 хв., після чого 20 мкл надосаду використовували як зразок. Концентрації активних та латентних форм ММП-2 та -9 в зразку гомогенізованої пухлинної тканини визначали методом зимографії в 12 % ПААГ з додецилсульфатом натрію і 0,1 % желатину як субстрату [11]. 50 мг пухлинної тканини гомогенізували в 1 % розчині додецилсульфату натрію, гомогенат центрифугували при 3000 об/хв, 20 мкл надосаду вносили в лунки гелю та проводили електрофорез при температурі +4 °С, в напрузі електричного поля 150 V, протягом 4 годин. Після розділення досліджуваних білків гель відмивали в 2,5 % розчині тритону X-100, потім інкубували в буфері з додаванням хлориду кальцію (рН=7,5) впродовж 18 годин при температурі +37° С, фіксували та забарвлювали 0,25 % Кумассі діамантовим синім. Після відмивання гелю у розчині оцтової кислоти з метанолом протеолітична активність ММП-2 та -9 візуалізувалась у вигляді знебарвлених смужок на синьому тлі, а їхня локалізація відповідала молекулярній масі кожного із ферментів, які визначалися за стандартами молекулярних мас. Оцінку протеолітичної активності проводили шляхом виміру площі зони лізису та визначали концентрації активних форм ферментів, використовуючи стандартний набір матриксних металопротеїназ. Концентрація активних форм ММП-2 становила 6,5 мкг/г тканини, а ММП-9-9,9 мкг/г тканини, що більше ніж 4,8 та 7,3 мкг/г тканини відповідно, тому наведені показники вважаються високими.

Частину пухлинної тканини, отриманої у того ж хворого під час оперативного втручання, одразу занурювали в забуферений формалін, після чого готували парафінові блоки за стандартною методикою. Парафінові блоки за допомогою мікротома нарізали на зрізи товщиною 4-6 мкм, які наносили на предметне скло.

Імуногістохімічне визначення ПАА проведено на парафінових зрізах тканини РШ з використанням специфічних кролячих поліклональних антитіл (Perilipin-5/OXPAT Antibody, Termoscientific, США) у розведенні 1:200. На зрізи наносили 1 % розчин сироваткового альбуміну бика, потім проводили інкубацію препаратів з відповідними поліклональними антитілами в оптимальному розведенні протягом однієї години. Після промивання препаратів у розчині фосфатного буфера їх інкубували 40 хв у полімерному розчині (EnVision+/HRP; DakoCytomation, Данія). Для візуалізації активності пероксидази використовували діамінобензидин тетрагідрохлорид (DAB) ("DakoCytomation", Данія) та дофарбовували зрізи гематоксиліном Майєра. За допомогою світлового мікроскопа візуалізували клітини, що експресують Plin5, або ПАА. Plin5-позитивні клітини були підраховані на 1000 клітин на кожному зрізі при збільшенні X 400 і число Plin5⁺-клітин виражали у відсотках. Plin5⁺-клітин було 31 %, що > 26,5 %, тому кількість ПАА вважалась високою.

Таким чином, в КМ хворого М.В.Г. виявлені ДПК та високі концентрації ММП-2 і -9 у КМ, а пухлина характеризується високою кількістю ПАА. За цих умов прогноз перебігу захворювання є несприятливим. Тривалість життя хворого становила 62,5 тижня.

5 Приклад 2. Хворий Л.О.С., 1951 року народження (Історія хвороби № 6793, АК № 4074/11, ПГЗ №16286-303 від 28.04.2011). Аденокарцинома шлунка з вогнищами помірного диференціювання р T₃N₂M₁ (her), G₂₋₃, стадія IV). Виконана операція - поєднана гастректомія за Гіляровичем, з атиповою резекцією лівої долі печінки.

10 За 1-2 доби до оперативного втручання в результаті стандартної процедури пункції КМ із стерильної кістки отримували пунктат КМ, з якого виділяли мононуклеарні клітини та зберігали їх при температурі -20 °С до часу використання. Мононуклеарні клітини наносились на скельця в процесі центрифугування на цитоцентрифузі впродовж 10 сек при 1500 об/хв. Виявлення наявності цитокератин-позитивних клітин серед мононуклеарів КМ на цитоспінових препаратах здійснювали, використовуючи метод APAAP (alkaline phosphatase-anti-alkaline phosphatase) та систему візуалізації EnVision™ G/2 System/AP Rabbit/Mouse (Permanent Red) ("Dako Cytomation", Данія). Як первинні антитіла використовували моноклональні мишачі антитіла проти цитокератину (клон АЕ1/АЕ3, "DakoCytomation", Данія). Дофарбування ядер здійснювали 15 0,1 % розчином метилового зеленого. За допомогою світлового мікроскопа в КМ хворого були виявлені ДПК як забарвлені червоним клітини на зеленому тлі.

20 Після стандартної процедури забору КМ із стерильної кістки хворого частину отриманого матеріалу в кількості 2 мл зберігали в рідкому азоті при температурі -180 °С не більше, ніж 1 місяць. Для приготування зразка до 10 мкл швидко розмороженого КМ додавали 10 мкл 1 % розчину додецилсульфату натрію та центрифугували при 3000 об/хв. протягом 20 хв., після чого 20 мкл надосаду використовували як зразок. Концентрації активних та латентних форм ММП-2 та -9 в зразку гомогенізованої пухлинної тканини визначали методом зимографії в 12 % ПААГ з додецилсульфатом натрію і 0,1 % желатину як субстрату [11]. 50 мг пухлинної тканини гомогенізували в 1 % розчині додецилсульфату натрію, гомогенат центрифугували при 3000 об/хв, 20 мкл надосаду вносили в лунки гелю та проводили електрофорез при температурі +4 °С, в напрузі електричного поля 150 V, протягом 4 годин. Після розділення досліджуваних білків гель відмивали в 2,5 % розчині тритону X-100, потім інкубували в буфері з додаванням хлориду кальцію (рН=7,5) впродовж 18 годин при температурі +37 °С, фіксували та забарвлювали 0,25 % Кумассі діамантовим синім. Після відмивання гелю у розчині оцтової кислоти з метанолом протеолітична активність ММП-2 та -9 візуалізувалась у вигляді знебарвлених смужок на синьому тлі, а їхня локалізація відповідала молекулярній масі кожного із ферментів, які визначалися за стандартами молекулярних мас. Оцінку протеолітичної активності проводили шляхом виміру площі зони лізису та визначали концентрації активних форм ферментів, використовуючи стандартний набір матриксних металопротеїназ. Концентрація активних форм ММП-2 становила 3,8 мкг/г тканини, а ММП-9-6,5 мкг/г тканини, що менше, ніж 4,8 та 7,3 мкг/г тканини, відповідно, тому наведені показники вважаються низькими.

40 Частину пухлинної тканини, отриманої у того ж хворого під час оперативного втручання, одразу занурювали в забуферений формалін, після чого готували парафінові блоки за стандартною методикою. Парафінові блоки за допомогою мікротома нарізали на зрізи товщиною 4–6 мкм, які наносили на предметне скло.

45 Імуногістохімічне визначення ПАА проведено на парафінових зрізах тканини РШ з використанням специфічних кролячих поліклональних антитіл (Perilipin-5/OXPAT Antibody, Termoscientific, США) у розведенні 1:200. На зрізи наносили 1 % розчин сироваткового альбуміну бика, потім проводили інкубацію препаратів з відповідними поліклональними антитілами в оптимальному розведенні протягом однієї години. Після промивання препаратів у розчині фосфатного буфера їх інкубували 40 хв у полімерному розчині (EnVision+/HRP; DakoCytomation, Данія). Для візуалізації активності пероксидази використовували діамінобензидин тетрагідрохлорид (DAB) ("DakoCytomation", Данія) та дофарбовували зрізи гематоксиліном Майєра. За допомогою світлового мікроскопа візуалізували клітини, що експресують Plin5, або ПАА. Plin5-позитивні клітини були підраховані на 1000 клітин на кожному зрізі при збільшенні Х400 і число Plin5⁺-клітин виражали у відсотках. Plin5⁺-клітин було 15 %, що < 26,5 %, тому кількість ПАА вважалась низькою.

55 Таким чином, в КМ хворого Л.О.С. виявлені ДПК, але низькі концентрації ММП-2 і -9 у КМ, а пухлина характеризується низькою кількістю ПАА. За цих умов прогноз перебігу захворювання є сприятливим. Тривалість життя хворого становила 108 тижнів.

60 Запропонований спосіб прогнозування перебігу мінімальної залишкової хвороби на рак шлунку дозволяє оцінити ступінь агресивності пухлини і характер перебігу мінімальної залишкової хвороби у хворих на рак шлунку, контролювати ефективність протипухлинної

терапії, корегувати схеми лікування та покращити показники виживаності.

Джерела інформації:

1. Macdonald J, A Cervantes. New horizons for gastric cancer: commentary. Eur. J. Cancer Suppl, 2006; 4, p. 1-2.
- 5 2. Muller V, Alix-Panabieres C, Pantel K. Insight into minimal residual disease in cancer patient: Implication for anti-cancer therapies. Eur J Cancer, 2010. - 46: p. 1189-1197.
3. Braun S, Vogl F, Naume B et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. New Engl J Med, 2005. - 353: p. 793-802.
- 10 4. Molnar B, Sipos F, Galamb O, Tulassay Z. Molecular detection fom circulating cancer cell. Role in diagnosis, prognosis and follo-up of colon cancer patients. Dig Dis, 2003. - 21: p. 320-25.
5. Calaluce R., Miedema B.W., Yesus Y.W. Micrometastasis in colorectal carcinoma: a review. J Surg Oncol, 1998. - 67:p. 194-202.
6. Coello M.C., Luketich J.D., Litle V.R., Godfrey T.E. Prognostic significance of micrometastasis in non-small-cell lung cancer. Clin Lung Cancer, 2004. - 5:p. 214-225.
- 15 7. Morgan TM, Lange PH, Vessella RL. Detection and characterization of circulating and disseminated prostate cancer cells. Front Biosci, 2007. -12:p. 3000-3009.
8. Wolfrum F, Vogel I., Fandrich F., Kalthoff H. Detection and clinical implicaitons of minimal residual disease in gastro-intestinal cancer. Langenbecks Arch Surg, 2005. - 390: p. 430-441.
9. Jiao X., Krasna M.J., Clinical significance of micrometastasis in lung and esophageal cancer: a new paradigm in thoracic oncology. Ann Thorac Surg, 2002. - 74: p. 278-284.
- 20 10. Wimberger R., Heubner M., Otterbach F., et al. Influence of platinum-based chemotherapy on disseminated tumor cells in blood and bone marrow of patients with ovarian cancer. Gynecol Oncol, 2007. - 107: p. 431-438.
11. Ghossein RA, Carusone L, Bhattacharya S. Molecular detection of micrometastases and circulating tumor cells in melanoma, prostatic and breast carcinomas. In Vivo, 2000. - 14: p. 237-250.
- 25 12. І.І. Ганусевич, Л.А.Мамонтова, Л.Д.Гуменюк, С.П.Меренцев, С.П.Осинський. Матриксні металопротеїнази як фактори стромального мікрооточення пухлини: роль у перебігу мінімальної залишкової хвороби при раку шлунка. Онкологія, 2015. - 17(3): p. 169-176 (прототип).
13. Khandekar M, Cohen P, Spiegelman B. Molecular mechanism of cancer development in obesity. Nature, 2011. - 11: p. 886-895.
- 30 14. Inhibition of invasion and metastasis in cells transfected with an inhibitor of metalloproteinases / YA. De Clerk, N. Perez, H. Shimada et al. // Cancer research. - 1992. - Vol. 52. - P. 701-708.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

35

Спосіб прогнозування перебігу мінімальної залишкової хвороби у хворих на рак шлунка, що включає визначення кількості дисемінованих пухлинних клітин та концентрації активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 в кістковому мозку, який **відрізняється** тим, що додатково в пухлинній тканині визначають кількість пухлино-асоційованих адипоцитів, і при наявності в кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин і концентрацій активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 вищих, ніж відповідно 4,8 та 7,3 мкг/г тканини, та при кількості пухлино-асоційованих адипоцитів в пухлині, вищій ніж 26,5 %, прогнозують несприятливий перебіг захворювання, а при наявності в кістковому мозку дисемінованих пухлинних клітин і концентрацій активних форм матриксних металопротеїнази-2 та металопротеїнази-9 нижчих, ніж відповідно 4,8 та 7,3 мкг/г тканини, та при кількості пухлино-асоційованих адипоцитів в пухлині, нижчій ніж 26,5 %, - сприятливий перебіг захворювання.

45

Комп'ютерна верстка Г. Паляльніков

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

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