



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2005118129/14, 10.06.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
10.06.2005

(45) Опубликовано: 27.08.2006 Бюл. № 24

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2222813 C1, 27.01.2004. RU 2240560 C1, 20.11.2004. RU 2246259 C1, 20.02.2005. KUSAMURA S et al. Expression of p53, c-erbB-2, Ki-67, and CD34 in granulosa cell tumor of the ovary, Int J Gynecol Cancer, 2003, Jul-Aug, 13(4), p.450-7.

Адрес для переписки:

197758, Санкт-Петербург, Песочный, ул.
Ленинградская, 68, ГУН НИИ онкологии
им.проф.Н.Н.Петрова Росздрава

(72) Автор(ы):

Максимов Сергей Янович (RU),
Бахидзе Елена Вильевна (RU),
Чепик Олег Федорович (RU),
Волкова Анна Валериевна (RU),
Тен Владислав Петрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ГУН НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова
Росздрава (RU)(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ ПРИ
ГРАНУЛЕЗОКЛЕТОЧНЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКОВ ВЗРОСЛОГО ТИПА

(57) Реферат:

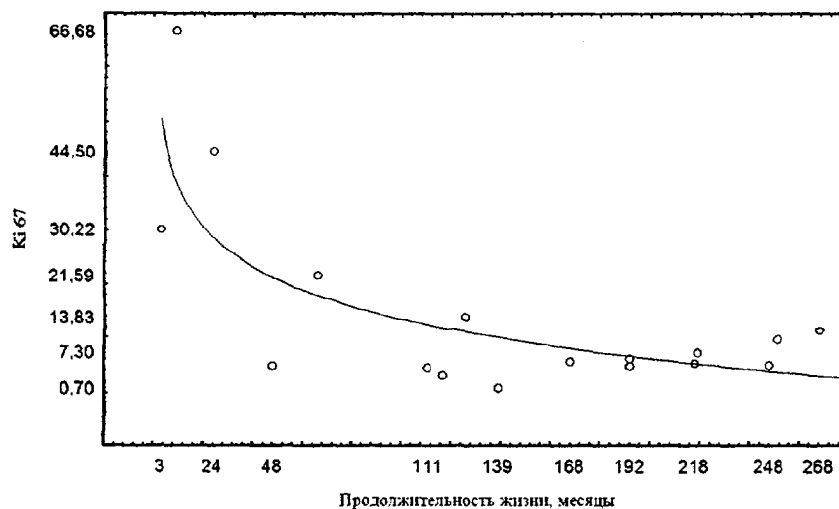
Изобретение относится к медицине и предназначено для прогнозирования продолжительности жизни больных при гранулезоклеточных опухолях яичников взрослого типа. Проводят иммуногистохимическое и морфологическое исследование опухоли. При показателях уровня экспрессии антигена Ki-67 менее 10%, мутированного гена-супрессора P53 менее 10% и митотической активности в опухоли

менее 10 митозов на 10 полей зрения предполагают благоприятный прогноз заболевания. При показателях Ki-67 более 10%, P 53 более 10% и митотической активности в опухоли более 10 митозов на 10 полей зрения предполагают неблагоприятный прогноз заболевания. Способ позволяет добиться повышения точности прогнозирования жизни больного за счет количественной объективизации результатов исследования. 1 ил.

RU 2 282 402 C1

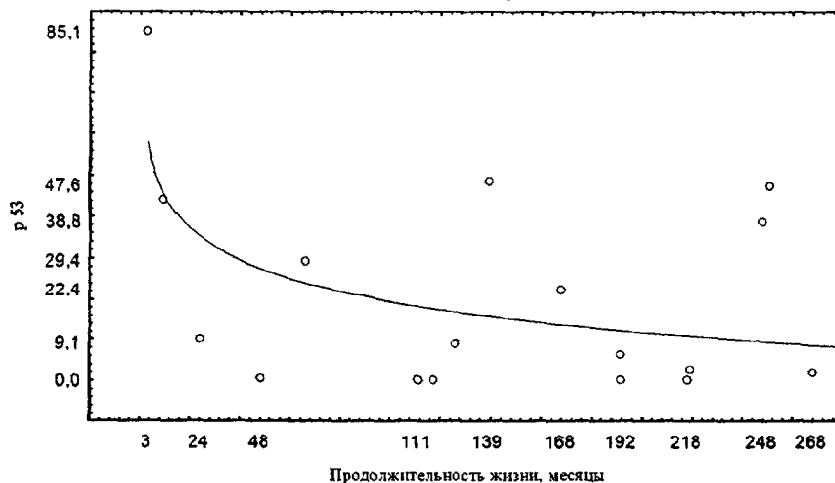
RU 2 282 402 C1

Математическая модель зависимости продолжительности жизни больных ГКО яичников взрослого типа от уровня экспрессии антигена Ki-67 в опухоли.

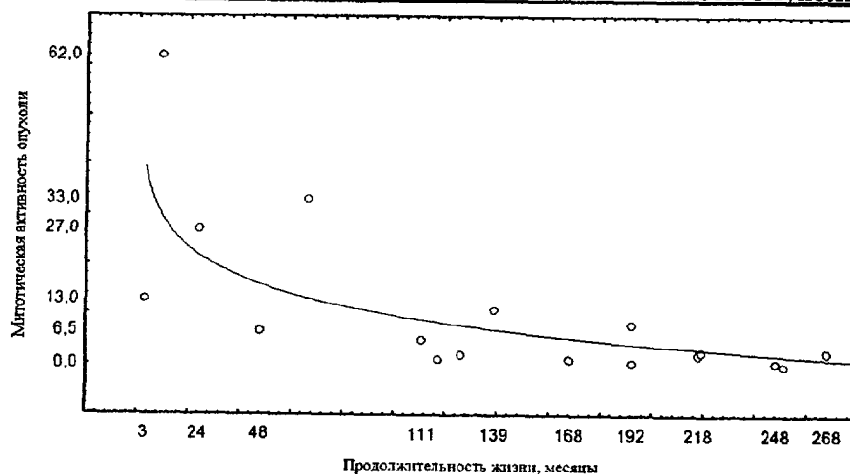


Математическая модель зависимости продолжительности жизни больных ГКО яичников взрослого типа от уровня экспрессии мутированного гена-супрессора P53 в опухоли.

$$p_{53} = 70,1163 - 25,3243 \cdot \lg_{10}(x)$$



Математическая модель зависимости продолжительности жизни больных ГКО яичников взрослого типа от митотической активности опухоли.



RU 2282402 C1

RU 2282402 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2005118129/14, 10.06.2005**

(24) Effective date for property rights: **10.06.2005**

(45) Date of publication: **27.08.2006 Bull. 24**

Mail address:
**197758, Sankt-Peterburg, Pesochnyj, ul.
Leningradskaia, 68, GUN NII onkologii
im.prof.N.N.Petrova Roszdrava**

(72) Inventor(s):
**Maksimov Sergej Janovich (RU),
Bakhidze Elena Vil'evna (RU),
Chepik Oleg Fedorovich (RU),
Volkova Anna Valerievna (RU),
Ten Vladislav Petrovich (RU)**

(73) Proprietor(s):
**GUN NII onkologii im. prof. N.N. Petrova
Roszdrava (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING LIFE DURATION IN PATIENTS AT GRANULOSA-CELL OVARIAN TUMOR OF MATURE TYPE**

(57) Abstract:

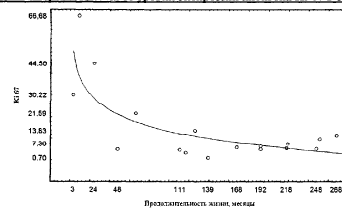
FIELD: medicine, oncology.

SUBSTANCE: one should carry out immunohistochemical and morphological tumoral study. At values of antigen Ki-67 expression level being below 10%, mutated gene-suppressor P53 being below 10% and mitotic activity in the tumor being below 10 mitoses per 10 vision fields one should predict favorable prognosis of the disease. At values of Ki-67 being above 10%, P53 being above 10% and mitotic activity in tumor being above 10 mitoses per 10 vision fields one should predict unfavorable prognosis of the disease in question. The innovation enables to obtain quantitative objectivity of the results achieved.

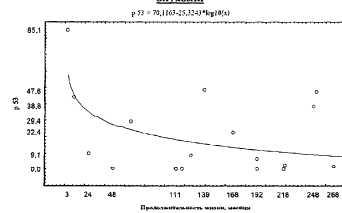
EFFECT: higher accuracy of prediction.

1 dwg, 2 ex

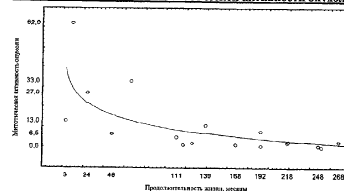
Математическая модель зависимости продолжительности жизни больных ГКО яичников взрослого типа от уровня экспрессии антигена Ki-67 в опухоли.



Математическая модель зависимости продолжительности жизни больных ГКО яичников взрослого типа от уровня экспрессии мутированного гена-супрессора P53 в опухоли.



Математическая модель зависимости продолжительности жизни больных ГКО яичников взрослого типа от митотической активности опухоли.



RU 2 282 402 C1

RU 2 282 402 C1

Изобретение относится к области медицины, в частности к онкологии, и может быть использовано для оценки продолжительности жизни больных (степени злокачественности опухоли) при гранулезоклеточных опухолях яичников взрослого типа. В настоящее время известны методы определения продолжительности жизни больных (степени

5 злокачественности опухоли) при гранулезоклеточных опухолях яичников взрослого типа на основании оценки ряда морфологических прогностических факторов, таких как: размеры опухоли, характер ее строения и роста, состояние капсулы, наличие в опухоли атипических клеток и ее митотическая активность, а также способность опухоли к выработке гормонов. Данные методики являются общепризнанными и использовались до

10 настоящего времени как единственный способ оценки продолжительности жизни больных (степени злокачественности опухоли) при гранулезоклеточных опухолях яичников взрослого типа (Карселадзе А.И. Морфология неэпителиальных опухолей яичников: Метод, реком. / МНИОИ им. П.А.Герцена, М., 1994. - С.3-6; June G., Zarkovic N., Nola M., Tillian M., Jukic S. The value of cell proliferation and angiogenesis in the

15 prognostic assessment of ovarian granulosa cell tumors. // Tumori. - 2001, Jan-Feb; 87(1):47-53), хотя и считаются очень относительными (Козаченко В.П., Адамян Р.Т. Диагностика и лечение опухолей стромы полового тяжа яичников: Метод, реком. / ВОНЦ АМН СССР. - М., 1998). В связи с этим в последние годы более пристальное внимание уделяется их усовершенствованию и поиску новых способов оценки продолжительности

20 жизни больных (степени злокачественности опухоли) при гранулезоклеточных опухолях яичников взрослого типа, в частности методу иммуногистохимического определения пролиферативной активности клеток с использованием антигена Ki-67 и определения прогноза заболевания с использованием мутантного гена-супрессора p53 (Kusamura S., Derchain S., Alvarenga M., Gomes C.P., Syrjanen K.J., Andrade L.A. Expression of

25 p.53, c-erbB-2, Ki-67, and CD34 in granulosa cell tumor of the ovary. // Int. J. Gynecol. Cancer. - 2003, Jul-Aug; 13(4):450-7). Однако на сегодняшний день представленные в литературе данные очень противоречивы.

Наиболее близким по чувствительности к нашему методу является алгоритм определения степени злокачественности гранулезоклеточных опухолей яичников по

30 морфологическим признакам на основе многофакторного анализа (Анурова О.А. Морфологические особенности опухолей стромы-полового тяжа яичников: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - М., - 2000. - 30 с.), который, по мнению авторов, определяет как степень выраженности злокачественного потенциала опухоли, так и прогноз заболевания.

35 Анализ предыдущих методик показал, что, несмотря на достаточно глубокие знания о прогностической значимости морфологических особенностей гранулезоклеточных опухолей яичников взрослого типа, оценить продолжительность жизни больных с такой патологией (степень злокачественности опухоли) оказалось затруднительным из-за низкой воспроизводимости результатов. Основная причина этого заключается в отсутствии

40 математической модели (количественного анализа), позволяющей достоверно оценить продолжительность жизни больных гранулезоклеточными опухолями яичников взрослого типа.

Технический результат заявляемого способа заключается в повышении точности прогнозирования продолжительности жизни больных при гранулезоклеточных опухолях

45 яичников взрослого типа. Этот результат достигается за счет комплексного подхода к оценке уровня экспрессии антигена Ki-67, мутированного гена-супрессора P53, митотической активности в опухоли и продолжительности жизни больных (степени злокачественности опухоли) при гранулезоклеточных опухолях яичников взрослого типа.

Анализ известного уровня науки и техники показал новизну метода, т.к. до настоящего

50 времени оценка продолжительности жизни больных (степени злокачественности опухоли) гранулезоклеточными опухолями яичников взрослого типа осуществлялась лишь при их многолетнем динамическом наблюдении. Используя нашу методику, мы можем оценить продолжительность жизни больных (степень злокачественности опухоли)

гранулезоклеточными опухолями яичников взрослого типа.

Сущность нашего способа заключается в комплексном подходе к решению поставленной задачи, а именно: на первом этапе нами было оценена пролиферативная активность опухоли и уровень экспрессии мутантного гена-супрессора P53. В ретроспективное исследование вошли 17 больных гранулезоклеточными опухолями яичников взрослого типа, отобранные случайным способом из 66 больных гранулезоклеточными опухолями яичников взрослого типа, проходивших лечение в НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова с 1980 по 2002 гг. Выборка (17 больных) соответствует общей совокупности (66 больных), так как при использовании t-test для отдельных параметров установлено, что $p < 0,05$, коэффициент Стьюдента выше табличного значения и группа однородна по вариантам гистологического строения и проведенному лечению. Митотическая активность опухоли определялась методом подсчета митозов (по 4 раза в 10 полях зрения при большом увеличении микроскопа и окрашивании опухолевой ткани гематоксилином и эозином, далее оценивалось среднее количество митозов на 10 полей зрения). Иммуногистохимическое исследование проводилось по общепризнанной методике: материал фиксировали в нейтральном забуференном формалине с последующей заливкой в парафин. Гистологические срезы окрашивали обычными способами и после обработки препаратов в скороварке для восстановления антигенной реактивности проводили иммуногистохимическое выявление антигена Ki-67 и мутированного гена-супрессора P53 с помощью моноклональных антител (фирма «ДАКО») и применением вторичного комплекса En Vision (фирма «ДАКО»). Разведение моноклональных антител к Ki-67 было 1:1500, к P53 - 1:400. Положительным результатом являлось наличие специфического коричневого окрашивания ядер при выявлении антигена Ki-67 и мутированного гена-супрессора P53. Подсчет индекса Ki-67 и P53 проводился с использованием цифровой камеры Leica DC 300 с помощью программы Adobe Photoshop 6.0 и выражался в процентах. На втором этапе вся полученная информация вносилась в специально созданную реляционную базу данных. Обработка полученной информации проводилась с применением пакета прикладных программ Statistica 6. Оценка силы и значимости связи между оцениваемыми факторами прогноза определялась методом корреляционного многофакторного анализа, на основании которого была предпринята попытка построения математической модели. Для этого были построены графики и диаграммы рассеивания: на диаграммы рассеивания между продолжительностью жизни больных ГКО яичников взрослого типа и уровнем экспрессии антигена Ki-67, мутированного гена-супрессора P53 и митотической активностью опухоли накладывались log функции.

Полученные результаты

Средний возраст больных ГКОВТ составил $48,3 \pm 3,6$ года (от 23 до 75 лет). Срок наблюдения за больными ГКОВТ составил в среднем $146,2 \pm 22,16$ месяцев (от 3 до 281 месяцев). Распределение больных ГКОВТ по стадиям было следующим: I ст. заболевания диагностирована 64,7% случаев, III ст. - в 23,5% случаев, IV ст. - в 11,8% случаев.

Уровень экспрессии антигена Ki-67 в среднем составил $14,4 \pm 4,3\%$ (от 0,7 до 66,7%) и находился в прямой зависимости с экспрессией мутированного гена-супрессора P53, количеством митозов и стадией заболевания; находился в обратной зависимости с продолжительностью жизни больных ($p < 0,05$).

Уровень экспрессии мутированного гена-супрессора P53 в среднем составил $20,42 \pm 6,01\%$ (от 0 до 85,1%) и находился в прямой зависимости с экспрессией антигена Ki-67, количеством митозов и стадией заболевания; находился в обратной зависимости с продолжительностью жизни больных ($p < 0,05$).

Количество митозов в среднем составило $10,44 \pm 3,9$ на 10 полей зрения (от 0 до 62 на 10 полей зрения) и находилось в прямой зависимости с экспрессией антигена Ki-67 и мутированного гена-супрессора P53 и стадией заболевания; находилось в обратной зависимости с продолжительностью жизни больных ($p < 0,05$).

Представленные математические модели адекватны результатам наблюдений с вероятностью $p < 0,05$ и могут быть рекомендованы к использованию в клинической

практике.

Для лучшего понимания сущности метода приводим примеры конкретной его реализации.

5 Пример №1. У больной А. оценены уровень экспрессии антигена Ki-67, мутированного гена-супрессора P53 и митотическая активности в опухоли, составившие 21,6%, 29,4% и 17 митозов на 10 полей зрения соответственно. Проведено стандартное лечение. Больная погибла от рецидива заболевания через 49 месяцев.

10 Пример №2. У больной Б. оценены уровень экспрессии антигена Ki-67, мутированного гена-супрессора P53 и митотическая активности в опухоли, составившие 5,3%, 2,6% и 2,5 митоза на 10 полей зрения соответственно. Проведено стандартное лечение. Больная жива без признаков рецидива заболевания 212 месяцев.

Формула изобретения

15 Способ прогнозирования продолжительности жизни больных при гранулезоклеточных опухолях яичников взрослого типа, отличающийся тем, что проводят иммуногистохимическое и морфологическое исследования опухоли, и при показателях уровня экспрессии антигена Ki-67 менее 10%, мутированного гена-супрессора P53 менее 10% и митотической активности в опухоли менее 10 митозов на 10 полей зрения предполагают благоприятный прогноз заболевания, а при показателях Ki-67 более 10%, P
20 53 более 10% и митотической активности в опухоли более 10 митозов на 10 полей зрения предполагают неблагоприятный прогноз заболевания.

25

30

35

40

45

50