



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015103571/15, 03.02.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.02.2015

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 03.02.2015

(45) Опубликовано: 10.07.2016 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU2528100 C1, 10.09.2014. TW201406778 A, 16.02.2014. МАСЛЯКОВА Г.Н. и др., Изучение факторов агрессивности для диагностики и прогнозирования течения опухолей почек (анализ литературных данных) Бюллетень медицинских интернет-конференций 2013, Том 3-4, с. 845-848. Онлайн [найдено из Интернет] [найдено 15.12.2015] <http://medconfer.com/node/2699>. (см. прод.)

Адрес для переписки:

634050, г. Томск, Кооперативный, 5, Томский НИИ онкологии

(72) Автор(ы):

Юрмазов Захар Александрович (RU),
Слонимская Елена Михайловна (RU),
Кондакова Ирина Викторовна (RU),
Усынин Евгений Анатольевич (RU),
Спирина Людмила Викторовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Томский Научно-
исследовательский институт онкологии"
(Томский НИИ онкологии) (RU)

(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ИСХОДА ЗАБОЛЕВАНИЯ У БОЛЬНЫХ
МЕТАСТАТИЧЕСКИМ РАКОМ ПОЧКИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и предназначено для прогнозирования исхода заболевания у больных метастатическим раком почки. Проводят морфологическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала. Определяют уровень экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α и содержание сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF. При уровне HIF-1 α более 6,35 UE/мг белка в лунке и VEGF более 32 пг/мг

белка прогнозируют благоприятный исход заболевания, а при уровне HIF-1 α менее 6,35 UE/мг белка в лунке и VEGF менее 32 пг/мг белка прогнозируют неблагоприятный исход заболевания. Способ позволяет определять ожидаемый прогноз заболевания у больных метастатическим раком почки с промежуточным прогнозом по критериям MSKCC, а в случае прогрессирования заболевания позволяет менять тактику лечения. 4 пр.

(56) (продолжение):

BALDEWIJNS MM et al, A low frequency of lymph node metastasis in clear-cell renal cell carcinoma is related to low lymphangiogenic activity. *BJU Int.* 2009 Jun;103(12):1626-31. Онлайн [найдено из Интернет] [найдено 15.12.2015] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19154467>.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2015103571/15, 03.02.2015**(24) Effective date for property rights:
03.02.2015

Priority:

(22) Date of filing: **03.02.2015**(45) Date of publication: **10.07.2016** Bull. № 19

Mail address:

**634050, g. Tomsk, Kooperativnyj, 5, Tomskij NII
onkologii**

(72) Inventor(s):

**YUrmazov Zakhar Aleksandrovich (RU),
Slonimskaya Elena Mikhajlovna (RU),
Kondakova Irina Viktorovna (RU),
Usynin Evgenij Anatolevich (RU),
Spirina Lyudmila Viktorovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe
nauchnoe uchrezhdenie "Tomskij Nauchno-
issledovatel'skij institut onkologii" (Tomskij NII
onkologii) (RU)**(54) **METHOD FOR PREDICTION OF CLINICAL OUTCOME IN PATIENTS WITH METASTATIC KIDNEY
CANCER**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention aims at predicting clinical outcome in patients with metastatic kidney cancer. Morphological and immunohistochemical analysis of operational material is carried out. Expression transcription factor HIF-1 α and content of vascular endothelial growth factor VEGF are determined. At level of HIF-1 α more than 6.35 CU/mg of protein in well and VEGF more 32 pg/mg of protein a favourable outcome of disease is predicted, while level of HIF-1 α

less than 6.35 CU/mg of protein in well and VEGF less than 32 pg/mg of protein, an unfavourable outcome of disease is predicted.

EFFECT: method enables to determine expected prognosis in patients with metastatic kidney cancer with intermediate prediction at MSKCC criteria, and in case of disease progression allows changing therapeutic approach.

1 cl, 4 ex

Изобретение относится к области медицины, конкретно к онкологии, способам прогнозирования исхода заболевания у больных метастатическим раком почки и может быть использовано для определения оптимальных сроков динамического наблюдения за больными и объема обследования.

5 Рак почки представляет собой гетерогенную группу опухолей, из которых 75% приходится на светлоклеточный почечноклеточный тип [5], патогенез которого обусловлен наличием мутационных изменений белка фон Хиппель-Линдау, увеличением содержания ядерного фактора HIF-1, гиперэкспрессией эндотелиального фактора роста (VEGF) с активацией тирозинкиназных путей [7]. Важную роль в выборе тактики лечения
10 больных метастатическим почечноклеточным раком играют факторы прогноза, представляющие патоморфологические и клинико-лабораторные показатели и входящие в состав ряда прогностических шкал (прогностическая модель ECOG, номограмма Kattan, шкалы Motzer и HENG) [5, 6]. Наиболее известной и традиционно используемой для прогнозирования течения заболевания является шкала, разработанная в
15 Мемориальном онкологическом центре Слоан-Кеттеринг MSKCC (МОЦСК/MSKCC), которая включает в себя такие параметры, как соматический статус больного по шкале Карновского, уровень ЛДГ, концентрация скорректированного кальция в сыворотке крови, уровень гемоглобина и наличие в анамнезе нефрэктомии.

Однако далеко не всегда этой информации бывает достаточно для определения
20 возможного исхода заболевания, что обусловлено сложными механизмами патогенеза рака почки. С этих позиций актуальным является поиск дополнительных прогностических критериев, которые могли бы быть включены в шкалу с целью повышения ее информативности [4, 8]. В научно-медицинской литературе имеются данные о сопряженности между группами прогноза по критериям MSKCC и
25 гематологическими показателями крови больных [2]. Результатом подобного исследования является шкала Heng, в которую кроме критериев MSKCC были включены такие лабораторные показатели, как количество тромбоцитов и нейтрофилов [1, 4]. Однако полученные результаты представляют в большей мере научный интерес и не нашли широкого применения в клинической практике.

30 Наиболее близким к заявляемому способу является прогнозирование возможного исхода заболевания у больных с неметастатическим светлоклеточным раком почек после нефрэктомии или резекции почки (Юрин А.Г., 2011; патент №2438127, Россия, опубл. 27.12.2011). Для этого проводят морфологическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала. Определяют уровень пролиферативной
35 активности опухоли по экспрессии антигена Ki-67 и экспрессию онкогена мутантного типа p53. Гистологическую степень злокачественности опухоли определяют по значению среднего диаметра ядер опухолевых клеток, наличию или отсутствию ядрышек в ядрах опухолевых клеток. Прогноз онкологической выживаемости рассчитывают по формуле

$$\text{УМБП} = 1,83X1 + 1,45X2 + 1,18X3,$$

40 где УМБП - морфо-биомолекулярный показатель;

X1 - гистологическая степень злокачественности опухоли;

X2 - уровень экспрессии Ki-67;

X3 - уровень экспрессии p53.

и при значении $\text{умбп} \leq 6,29$ прогноз онкологической выживаемости больных
45 расценивают как благоприятный, при $\text{умбп} = 6,82 - 8,92$ - как относительно благоприятный, при $\text{умбп} = 9,19 - 11,55$ как относительно неблагоприятный, при $\text{умбп} > 11,55$ - как неблагоприятный.

Недостатками данного способа является то, что он применим только для

неметастатического рака почки, что не позволяет использовать его при распространенных формах заболевания, а также то, что не учитываются параметры, связанные с особенностями патогенеза рака почки.

Новый технический результат - повышение точности и информативности способа.

5 Для достижения нового технического результата в способе прогнозирования исхода заболевания у больных метастатическим раком почки проводят морфологическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала, причем определяют уровень экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α и содержание сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF и при уровне HIF-1 α более 6,35 УЕ/мг белка в лунке и VEGF более 32 пг/мг белка прогнозируют благоприятный исход заболевания, а при уровне HIF-1 α менее 6,35 УЕ/мг белка в лунке и VEGF менее 32 пг/мг белка прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.

Способ осуществляют следующим образом.

15 Для прогнозирования исхода заболевания, в опухолевой ткани, полученной при выполнении диагностической биопсии, проводят определение уровня экспрессии транскрипционного фактора (HIF-1 α) (hypoxia inducible transcription factor) и содержание сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF). Образцы тканей до определения активности ферментов хранят при температуре -80 $^{\circ}$ C и размораживают не более 1 раза. Перед определением активности исследуемых ферментов замороженную опухолевую 20 ткань гомогенизируют до порошкообразного состояния в жидком азоте. Гомогенат центрифугируют при 2400 g и 4 $^{\circ}$ C для получения осадка, который ресуспендируют в 50 мкл 50 mM Трис-HCl буфера (pH 7,5) и затем центрифугируют при 14000 g и 4 $^{\circ}$ C. Полученный супернатант используют для определения уровня экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α и ростового фактора VEGF. Молекулярные 25 показатели определяют иммуноферментным методом. При значении HIF-1 α более 6,35 УЕ/мг белка в лунке и VEGF более 32 пг/мг белка прогнозируют благоприятный исход заболевания. При содержании HIF-1 α менее 6,35 УЕ/мг белка в лунке и VEGF менее 32 пг/мг белка прогнозируют неблагоприятный исход заболевания.

Информативность отобранных критериев подтверждена, также, наличием связи 30 экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α и ростового фактора VEGF с прогнозом заболевания. В исследование было включено 40 пациентов с метастатическим светлоклеточным почечноклеточным раком (T₃₋₄N₀₋₁M₁), получавших лечение на базе отделения общей онкологии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН в период с 2010 по 2013 г., из них 25 мужчин и 15 женщин. Согласно шкале MSKCC все больные были 35 распределены на 3 группы: с хорошим прогнозом (13 человек), промежуточным (26) и неблагоприятным (1). В дальнейшем, анализ касался только больных, имеющих хороший и промежуточный прогноз (n=39). После окончания курса предоперационного лечения таргетными препаратами проводилась паллиативная нефрэктомия. Отмечено, что уровень транскрипционного фактора HIF-1 α и ростового фактора VEGF до лечения 40 различался у больных в зависимости от прогноза заболевания по шкале MSKCC. Экспрессия ядерного фактора в ткани опухоли у пациентов с хорошим прогнозом была выше в 2 раза по сравнению с больными с промежуточным прогнозом. Также, зафиксирован высокий уровень ростового фактора VEGF у пациентов с хорошим прогнозом по сравнению с больными с промежуточным прогнозом.

45 Таким образом, высокие исходные показатели экспрессии транскрипционного фактора HIF-1 α , ростового фактора VEGF в опухоли почки ассоциированы с хорошим прогнозом заболевания, что позволяет рассматривать эти параметры в качестве дополнительных информативных маркеров, повышающих эффективность определения

возможного исхода заболевания у больных метастатическим раком почки.

Критерии, входящие в шкалу MSKCC, являются клиническими показателями, значения которых может только косвенно характеризовать молекулярные изменения в опухоли, определяющие особенности патогенеза и исход заболевания. Для повышения информативности и точности прогнозирования целесообразно опираться на молекулярные показатели опухоли, которые представлены в предлагаемом новом подходе. Это имеет значение, особенно для больных с промежуточным прогнозом по шкале MSKCC.

Клинические примеры

Пример 1. Больной Л., 70 лет, обратился в Томский НИИ онкологии, где по результатам комплексного обследования был диагностирован светлоклеточный почечноклеточный рак, стадия G4T₃N₁M₁. Исследование опухолевой ткани, полученной при выполнении диагностической биопсии согласно предлагаемому способу показало, что уровень HIF-1 α был равен 2,52 УЕ/мг белка в лунке, содержание VEGF - 11,19 пг/мг белка. Пациент был отнесен в группу с неблагоприятным прогнозом заболевания. Это совпадало с определением прогноза по критериям MSKCC. Лечение больного включало в себя проведение 2-месячного курса предоперационной таргетной терапии тирозинкиназным ингибитором - препаратом пазопаниб в дозе 800 мг 1 раз в сутки, по окончании которого была оценена его эффективность по критериям RECIST. На фоне терапии пазопанибом отмечено прогрессирование заболевания. Пациент был переведен на вторую линию таргетной терапии блокаторами m-TOR (эверолимус - Афинитор) 10 мг 1 раз в сутки. После двух месяцев стабилизации выявлено бурное прогрессирование заболевания с развитием полиорганной недостаточности и смертью пациента.

Пример 2. Больная С., 63 года, обратилась в Томский НИИ онкологии, где по результатам комплексного обследования был диагностирован светлоклеточный почечноклеточный рак, стадия G3T2N0M1. Исследование опухолевой ткани, полученной при выполнении диагностической биопсии согласно предлагаемому способу, показало, что уровень HIF-1 α был равен 20,25 УЕ/мг белка в лунке, содержание VEGF - 101,75 пг/мг белка. Пациентка была отнесена в группу с благоприятным прогнозом заболевания. Это также совпадало с определением прогноза по критериям MSKCC. Комплексное лечение, предложенное больной, включало в себя проведение 2-месячного курса предоперационной таргетной терапии тирозинкиназным ингибитором - препаратом пазопаниб в дозе 800 мг 1 раз в сутки с последующим выполнением хирургического этапа в объеме нефрэктомии почки. По окончании курса таргетной терапии была оценена эффективность применения лекарственных препаратов по критериям RECIST. На фоне терапии пазопанибом отмечена частичная регрессия опухоли, что позволило провести хирургический этап лечения в объеме резекции почки. При дальнейшем приеме пазопаниба в течение 10 месяцев отмечена стабилизация процесса, признаков прогрессии не получено.

Пример 3. Больная П., 57 лет, обратилась в Томский НИИ онкологии, где по результатам комплексного обследования был диагностирован светлоклеточный почечноклеточный рак, стадия G2T3N1M1. Исследование опухолевой ткани, полученной при выполнении диагностической биопсии согласно предлагаемому способу, показало, что уровень HIF-1 α был равен 4,67 УЕ/мг белка в лунке, содержание VEGF - 8,6 пг/мг белка. Пациентка была отнесена в группу с неблагоприятным прогнозом заболевания. Однако по шкале MSKCC прогноз был определен как промежуточный. Лечение больной включало в себя проведение 2-месячного курса предоперационной таргетной терапии

тирозинкиназным ингибитором - препаратом пазопаниб в дозе 800 мг 1 раз в сутки, по окончании которого была оценена его эффективность по критериям RECIST. На фоне терапии пазопанибом отмечено бурное прогрессирование заболевания, что не позволило провести хирургический этап лечения и через 3 месяца наступил летальный исход.

Пример 4. Больная К., 50 лет, обратилась в Томский НИИ онкологии, где по результатам комплексного обследования был диагностирован светлоклеточный почечноклеточный рак, стадия G2T2N0M1. Исследование опухолевой ткани, полученной при выполнении диагностической биопсии согласно предлагаемому способу, показало, что уровень HIF-1 α был равен 7,12 УЕ/мг белка в лунке, содержание VEGF - 52,5 пг/мг белка. Пациентка была отнесена в группу с благоприятным прогнозом заболевания. Прогноз по критериям MSKCC был оценен как промежуточный. Больной проведен 2-х месячный курса предоперационной таргетной терапии тирозинкиназным ингибитором - препаратом пазопаниб в дозе 800 мг 1 раз в сутки. По его окончании была оценена эффективность по критериям RECIST. На фоне терапии пазопанибом выявлена частичная регрессия опухоли, что позволило провести хирургический этап лечения в объеме резекции почки. При дальнейшем приеме пазопаниба в течение 10 месяцев отмечена стабилизация процесса, признаков прогрессии не получено.

Таким образом, предложенный способ обладает высокой информативностью и позволяет определять ожидаемый прогноз заболевания у больных метастатическим раком почки с промежуточным прогнозом по критериям MSKCC, а в случае прогрессирования заболевания менять тактику лечения.

Источники информации

1. Жумалиева В.А., Сирота В.Б., Беркут М.В. Анализ седианы выживаемости больных раком почки с помощью адаптированной прогностической модели Heng // Journal of experimental education. - 2013. - №10. - С. 254-258.

2. Dirican A., Kucukzeybek Y., Somali I., Erten C., Demir L. et al. The association of hematologic parameters on the prognosis of patients with metastatic renal cell carcinoma // JBUON 2013; 18(2): 413-419

3. Heng D.Y. C., Xie W., Regan M.M, Harshman L.C, Bjarnason G.A, Vaishampayan U.N, Mackenzie M., Wood L., Donskov F., Tan M.-H. Et al. External validation and comparison with other models of the International Metastatic Renal-Cell Carcinoma Database Consortium prognostic model: a population-based study // www.thelancet.com/oncology // Published online January 9, 2013 [http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70559-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70559-4).

4. Heng D.Y., Xie W., Regan M., et al. Prognostic factors for overall survival (OS) in patients with metastatic renal cell carcinoma (RCC) treated with vascular endothelial growth factor (VEGF) -targeted agents: Results from a large multicenter study. J Clin Oncol. 2009; 27: 5794-5799.

5. Keefe S.M., Nathanson K.L., Rathmell W.K. The molecular biology of renal cell carcinoma. Semin. Oncol. 2013; 40(4): 421-428.

6. Motzer R.J., Bacik J., Schwartz L.H., Reuter V., Russo P, Marion S., Mazumdar M. Prognostic Factors for Survival in Previously Treated Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma // Journal of Clinical Oncology. - 2004. - Vol. 22. - 454-463.

7. Na X., Wu G., Ryan C.K., Shoen S.R., di'Santagness P.A., messing E.M. Overproduction of vascular endothelial growth factor related to von Hippel-Lindau tumor suppressor gene mutations and hypoxia-inducible factor-1 alpha expression in renal cell carcinomas. J. Urol. 2003; 170(2 Pt 1): 588-592.

8. Sun M., Shariat S.F., Cheng C., Ficarra V., Murai M., Oudard S., Pantuck A.J., Zigeuner R., Karakiewicz P.I. Prognostic Factors and Predictive Models in Renal Cell Carcinoma: A

Contemporary Review // European Urology. - 2011. - P. 60644-60661.

Формула изобретения

Способ прогнозирования исхода заболевания у больных метастатическим раком
5 почки, при котором проводят морфологическое и иммуногистохимическое исследование
операционного материала, отличающийся тем, что определяют уровень экспрессии
транскрипционного фактора HIF-1 α и сосудистого эндотелиального фактора роста
VEGF и при уровне HIF-1 α более 6,35 UE/мг белка в лунке и VEGF более 32 пг/мг белка
10 прогнозируют благоприятный исход заболевания, а при уровне HIF-1 α менее 6,35 UE/
мг белка в лунке и VEGF менее 32 пг/мг белка прогнозируют неблагоприятный исход
заболевания.

15

20

25

30

35

40

45