



УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВО(19) UA (11) 17815 (13) A  
(51) G 01 N 33/574ОПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті  
на підставі Постанови Верховної Ради України  
№ 3769-XII від 23.XII. 1993 р.Публікується  
в редакції заявника(54) СПОСІБ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ОРГАНСПЕЦИФІЧНИХ МЕТАСТАЗІВ ЗЛОЯКІСНИХ  
ПУХЛИН ЛЮДИНИ

1

- (21) 96103918  
(22) 15.10.96  
(24) 03.06.97  
(46) 31.10.97. Бюл. № 5  
(47) 03.06.97  
(56) 1. Steger G. Tumormarker in der klinischen oncologie // Lab. aktuell. - 1989. - № 7. - P. 15-19.  
2. Santoro A. Utilita e limiti dei markers tumorali nel follow-up del carcinoma mammario // Argomenti oncol. - 1989. - 10, № 1. - P. 9-10.  
3. Franchini D., Bonelli P., Ugolotti G. Role of CA 15-3 serum levels in monitoring of breast cancer patients who already underwent surgical operation // J. Nucl. Med. and Allied Sci. - 1989. - 33, № 2. - P. 130-131.  
4. Stiebes P., Fateh-Moghadam A., Wadlich H., Nadel D., Lamer R., Denecke H. CA 72-4: ein neuer belm Magenkarzinom // J. Clin. chem. and clin. biochem. - 1989. - 27, № 9. - P. 767-768.

2

5. Вишневский А. С. Опухолевые маркеры в онкогинекологии // Вопросы онкол. - 1984. - № 8 - С. 23-24.  
6. Бондарь Г. В., Кайряк О. В. К вопросу об избирательности метастазирования // Союзмединформ. - М.: 1991. - Деп. в ВИНТИ 14.10.91, № 21807 Д.  
(72) Бондар Григорій Васильович, Кайряк Ольга Василівна, Лісовська Наталія Юріївна  
(73) Кайряк Ольга Василівна (UA)  
(57) Способ ранней диагностики органоспецифических метастазов злокачественных опухолей человека путем определения аффинности лейкоцитов к антигенам тканей органов, отличающийся тем, что в качестве антигенов используют водносолевые экстракты метастатических опухолей и на основании повышенного индекса неприлипания лейкоцитов в пробе диагностируют микрометастаз в ткань, представленную антигеном.

Изобретение относится к области медицины, а именно - к онкологии, и может быть использовано для мониторинга течения заболевания, индивидуализации тактики лечения больного и оценки эффективности лечения.

Известен способ диагностики метастазов злокачественных опухолей человека путем определения опухолевых маркеров в сыворотке крови больного [1].

Недостатком известного способа является его невысокая чувствительность: уровень раково-эмбрионального антигена у больных раком молочной железы с отдаленными метастазами повышался в 41% наблюдений [2], а повышение уровня онкомаркера СА-15-3 отмечалась в 61% наблюдений [3]. При обследовании больных раком желудка с отдаленными метастазами уровень СА 19-9 повышался в 48% наблюдений [4]. У боль-

(19) UA (11) 17815 (13) A

ных раком яичников частота опухолеассоциированного раково-эмбрионального антигена составила 59,2%, а альфа-фетопротеина – 52,3% [5]. Кроме того, применение данного метода не указывает на место локализации метастаза.

Наиболее близким по сути заявленному способу является способ ранней диагностики органоспецифических метастазов злокачественных опухолей человека путем определения аффинности лейкоцитов к антигенам нормальных тканей органов в тесте подавления прилипания лейкоцитов [6]. Регистрация индекса неприлипания выше 30% в тесте с тканью определенного органа свидетельствуют о наличии в этом органе микрометастаза.

Недостатком известного способа является его сравнительно низкая чувствительность, которую можно объяснить отсутствием полной комплементарности лейкоцитов опухоленосителя к антигенам нормальной ткани.

В основу изобретения поставлена задача ранней диагностики органоспецифических метастазов злокачественных опухолей человека. Поставленная задача достигается путем определения аффинитета лейкоцитов к антигенам тканей органов. В качестве антигенов используют водно-солевые экстракты метастатических опухолей. На основании регистрации повышенного индекса неприлипания лейкоцитов в пробе диагностируют микрометастаз в ткань, представленную антигеном.

Новым в заявляемом является то, что при проведении теста подавления прилипания лейкоцитов в качестве антигенов используют водно-солевые экстракты метастатических опухолей. Иммунологический ответ основан на принципе комплементарности, то есть к определенному антигену чувствительно конечное число соответствующих отвечающих лейкоцитов. Учитывая, что метастатическая ткань содержит больший спектр антигенов по сравнению с нормальной тканью, в тесте подавления прилипания лейкоцитов регистрируется большее количество чувствительных лейкоцитов, что позволяет повысить точность диагностики.

Таким образом, изобретение дает возможность повысить точность способа ранней диагностики органоспецифических метастазов злокачественных опухолей человека.

Способ осуществляется следующим образом.

Из локтевой вены исследуемого забирают 8 мл крови в пробирку с гепарином (0,5

мл концентрации 10 мг/мл). Лейкоциты для исследования получают отстаиванием гепаринизированной крови при температуре 37°C в течение 45 минут. Примесь эритроцитов удаляют обработкой 0,5% раствором хлорида аммония, после чего клетки однократно отмывают в среде 199 и доводят их концентрацию до 1 млн кл./мл. В химические круглодонные пробирки в общем объеме 0,5 мл соединяют 0,1 мл суспензии лейкоцитов, 0,1 мл антигена, 0,2 мл среды 199 и 0,1 мл, смеси сывороток доноров IV (AB) группы. В качестве антигенов используют водно-солевые экстракты метастатических опухолей в различные органы, стандартизованные по белку в концентрации 2 мг/мл. В контрольных пробирках антиген заменяют средой 199. Пробирки инкубируют в течение 2 часов при 37°C в горизонтальном положении, затем, осторожно переводя в вертикальное, supernatant переносят в центрифужные пробирки. Производят подсчет неприлипших лейкоцитов в пробах. Индекс неприлипания рассчитывают по формуле

$$\frac{A - B}{B} \times 100(\%),$$

где А – количество неприлипших клеток в опыте;

В – количество неприлипших клеток в контроле.

Реакцию считают положительной при превышении индексом неприлипания 30% уровня.

**Пример 1.** Больная С., № и. б. 26146. Диагноз: рак левой молочной железы II А ст., состояние после мастэктомии по Холстеду, послеоперационного курса телегамматерапии на пути лимфооттока, трех курсов полихимиотерапии. При исследовании крови больной в тесте подавления прилипания лейкоцитов с аллогенными антигенами первичной опухоли (низкодифференцированная аденокарцинома молочной железы) и аллогенными антигенами метастазов аденокарциномы в легкие, печень, кости от 21.09.90 г. положительная реакция зарегистрирована с антигеном первичной опухоли (ИН – 246,89%) и метастатическим антигеном в костную ткань (ИН – 120,75%). Положительная реакция в тесте с антигеном костной ткани до момента визуализации стойко регистрировалась в динамике. Спустя 2 месяца при сцинтиграфии выявлены метастазы в позвоночник. Сенсибилизация отсутствовала в тесте с экстрактами других метастатических тканей (легкие, печень); клинически метастазы в эти органы выявлены не были.

**Пример 2.** Больная С., № и. б. 31468. Диагноз: рак левой молочной железы II А ст., состояние после мастэктомии по Пейти, послеоперационного курса телегамматерапии на пути лимфооттока и рубец. При обследовании крови больной в тесте подавления прилипания лейкоцитов от 22.09.89 г. с аллогенными антигенами первичной опухоли (инфильтрирующая аденокарцинома и аллогенными антигенами метастазов аденокарциномы в легкие, печень, кости зарегистрирована положительная реакция с антигеном первичной опухоли (ИН-135,60%) и метастатическим антигеном в костную ткань (ИН - 355,17%). При неоднократном исследовании методом простой сцинтиграфии патологии скелета выявлено не было, лишь спустя полтора года выявлены множественные метастазы в позвоночник, кости таза, лопатку.

Преимуществами заявленного способа являются простота исполнения, отсутствие применения дорогостоящих реактивов и оборудования. Время выполнения теста - 4,5-5 часов.

Повышение точности способа диагностики микрометастазов дает возможность раньше установить диагноз продолжения болезни большему числу пациентов. Так при использовании метода определения онкомаркеров в сыворотке крови больного из 100 обследованных больных раком молочной железы на раково-эмбриональный антиген продолжение болезни регистрируется всего к 41 пациента, а у остальных 59 больных начавшийся процесс метастазирования остается не распознанным. Чувствительность предлагаемого метода составляет 89%, что позволяет выявить появление микрометастазов у большего числа больных. Учитывая то, что метод дает возможность диагностировать орган локализации метастаза, дальнейший диагностический поиск инструментальными методами ведется прицельно, что сокращает средства и время на обследование больного до начала лечения.

Применение данного способа для мониторинга во время лечения позволяет оценивать эффективность проводимой терапии.

Упорядник

Техред М. Келемеш

Коректор М. Самборська

Замовлення 4252

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

