

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2639392

СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНОГО СРОКА ВЫПОЛНЕНИЯ ОПЕРАТИВНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА ПОСЛЕ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ ПРЯМОЙ КИШКИ

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное учреждение "Ростовский научно-исследовательский онкологический институт" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2016152781

Приоритет изобретения 30 декабря 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 21 декабря 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 30 декабря 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/48 (2017.08); G01N 2800/52 (2017.08); G01N 15/1404 (2017.08); A61N 2005/067 (2017.08); A61N 5/10 (2017.08)

(21)(22) Заявка: 2016152781, 30.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.12.2016

Дата регистрации:
21.12.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.12.2016

(45) Опубликовано: 21.12.2017 Бюл. № 36

Адрес для переписки:

344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63,
РНИОИ, Ишониной О.Г.

(72) Автор(ы):

Кит Олег Иванович (RU),
Геворкян Юрий Артушевич (RU),
Солдаткина Наталья Васильевна (RU),
Новикова Инна Арнольдовна (RU),
Гусарева Марина Александровна (RU),
Петров Дмитрий Сергеевич (RU),
Снежко Александр Владимирович (RU),
Каймакчи Дмитрий Олегович (RU),
Аль-Хадж Набилль Кассем Мухамед (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Ростовский
научно-исследовательский онкологический
институт" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2349916 C1, 20.03.2009.

GLIMELIUS B. Optimal Time Intervals
between Pre-Operative Radiotherapy or
Chemoradiotherapy and Surgery in Rectal
Cancer? Front Oncol. 2014 Apr 7; 4 (Article
50): 1-10. RU 2415429 C1, 27.03.2011.

НЕЧУШКИНА В.М. и др.

Прогностическое значение параметров
ДНК-проточной цитофлуорометрии при
раке тела матки. Вестник РОНЦ им. (см.
прод.)

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОПТИМАЛЬНОГО СРОКА ВЫПОЛНЕНИЯ ОПЕРАТИВНОГО
ВМЕШАТЕЛЬСТВА ПОСЛЕ ПРОЛОНГИРОВАННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ ПРЯМОЙ
КИШКИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, в частности к онкологии, и предназначено для определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки. В биопсийном материале опухоли

прямой кишки до начала курса лучевой терапии и через 4 недели после ее окончания проводят ДНК-цитометрический анализ и определяют индекс пролиферации опухоли. Отличие индексов пролиферации в 1,3 раза и менее является показателем для окончания перерыва в лечении

и выполнения операции. Отличие индексов пролиферации более чем в 1,3 раза является показателем для продления перерыва в лечении и выполнения операции через 6-8 недель после окончания курса лучевой терапии. Изобретение

обеспечивает определение оптимального срока выполнения операции после окончания курса лучевой терапии и снижение затрат на лечение рака прямой кишки. 2 пр.

(56) (продолжение):

Н.Н. Блохина РАМН. 2006; 17(2): 29-32.

RU 2 6 3 9 3 9 2 C 1

RU 2 6 3 9 3 9 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

G01N 33/48 (2017.08); *G01N 2800/52* (2017.08); *G01N 15/1404* (2017.08); *A61N 2005/067* (2017.08); *A61N 5/10* (2017.08)

(21)(22) Application: **2016152781, 30.12.2016**

(24) Effective date for property rights:
30.12.2016

Registration date:
21.12.2017

Priority:

(22) Date of filing: **30.12.2016**(45) Date of publication: **21.12.2017** Bull. № 36

Mail address:

**344037, g. Rostov-na-Donu, 14-ya liniya, 63, RNIIOI,
Ishoninoj O.G.**

(72) Inventor(s):

**Kit Oleg Ivanovich (RU),
Gevorkyan Yuriy Artushevich (RU),
Soldatkina Natalya Vasilevna (RU),
Novikova Inna Arnoldovna (RU),
Gusareva Marina Aleksandrovna (RU),
Petrov Dmitrij Sergeevich (RU),
Snezhko Aleksandr Vladimirovich (RU),
Kajmakchi Dmitrij Olegovich (RU),
Al-Khadzh Nabil Kassem Mukhamed (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe
uchrezhdenie "Rostovskij
nauchno-issledovatel'skij onkologicheskij
institut" Ministerstva zdravookhraneniya
Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) METHOD FOR DETERMINATION OF OPTIMAL TERM OF OPERATIVE INTERVENTION EXECUTION AFTER PROLONGED RADIOTHERAPY IN CASE OF RECTAL CANCER

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: in the biopsy material of the rectum tumour before the start of the radiotherapy course and 4 weeks after, DNA-cytometric analysis is performed and the tumour proliferation index is determined. The difference in proliferation indices of 1.3 times or less is an indicator for the end of the interruption in treatment and surgery performance. The difference in

proliferation indices of more than 1.3 times is an indicator for prolonged interruption in treatment and surgery performance 6-8 weeks after the end of the radiotherapy course.

EFFECT: determination of the optimal period of surgery after the end of the radiotherapy course and reduction of costs for rectal cancer treatment.

2 ex

Изобретение относится к медицине, а именно к онкологии, и может быть использовано для определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки для индивидуализации и выбора оптимальной тактики лечения.

5 В настоящее время лучевая терапия стала стандартом комбинированного лечения рака прямой кишки. При этом из существующих видов лучевой терапии (пред- и послеоперационная) наибольшее признание и распространение получила именно предоперационная лучевая терапия. Так, в США с 2004 по 2011 год доля больных, получивших неoadъювантную лучевую терапию, повысилась с 57 до 75%, а доля
10 больных, получивших послеоперационную лучевую терапию, наоборот, снизилась с 39 до 18% (Abrams M.J. The Emerging Non-operative Management of Non-metastatic Rectal Cancer: A population Analysis / M.J. The Emerging Non-operative Management of Non-metastatic Rectal Cancer: A Population Analysis / M.J. Abrams, P.P. Koffer, K.L. Leonard et al. // Anticancer Res. - 2016 - Vol. 36. - №4 - P. 1699-1702). Такие же тенденции отмечены в странах Европы
15 и в России.

Неoadъювантная лучевая терапия позволяет снизить в 2 раза 5-летнюю частоту рецидивов при раке прямой кишки с 10,9 до 5,6% (Peeters K.C., Marijnen C.A., Nagtegaal I. Detal. The TME trial after a median follow-up of 6 years increased local control but no survival benefit in irradiated patients with resectable rectal carcinoma. Ann. Surg. 2007; 246:693; Ferrari
20 L. Neoadjuvant chemoradiation therapy and pathological complete response in rectal cancer / L. Ferrari, A. Fichera // Gastroenterol Rep (Oxf) - 2015 Vol. 3. - №4 - P. 277-88). В крупных рандомизированных исследованиях SRCSG и SRCT, помимо снижения частоты местных рецидивов, выявлено и увеличение на 10% безрецидивной и общей выживаемости больных.

25 В прошлом веке оценивали реакцию опухоли на лучевую терапию путем динамического наблюдения за больными. При этом изучали размеры новообразования и его подвижность при пальцевом исследовании до начала и в процессе лечения. Полный ответ опухоли на лучевое воздействие оценивали через 3-4 недели после его окончания. Регресс опухоли менее 50% расценивался как относительная радиорезистентность. При
30 уменьшении ткани опухоли более чем на 50% от первоначального размера констатировалась чувствительность опухоли к лучевой терапии (Гарин А.М., Трапезников Н.Н. Новые предложения Всемирной организации здравоохранения по стандартизации оценки лечения онкологических больных // Вопросы онкологии, 1978).

Однако данный способ не позволяет оценить эффективность лучевой терапии в
35 процессе лечения, а следовательно, внести коррективы в лечение.

В последнее время установлено, что важным прогностическим признаком эффективности лучевой терапии при злокачественных опухолях, в том числе и при раке прямой кишки, является степень регресса опухоли. Так 3-летняя безрецидивная выживаемость при Dworak 4 составляет 95%, при Dworak 3-82%, при Dworak 2-64%, а
40 при Dworak 1 - лишь 53% (Mc Coy M.J. Neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer: how important is tumor regression? ANZ J. Surg. - 2015).

Известен способ прогнозирования чувствительности опухоли к лучевой терапии у больных раком прямой кишки (Ванцинова Е.В. Роль предоперационной лучевой терапии в хирургическом лечении рака прямой кишки: Автореферат диссертации на соискание
45 ученой степени кандидата медицинских наук. Нижний Новгород, 2010; патент на изобретение №2349916 от 20.03.2009), выбранный нами в качестве прототипа. Согласно этому способу при наличии в биоптатах, взятых из опухоли после 4 сеанса облучения (8 Гр), патоморфоза III-IV степени прогнозируют высокую чувствительность опухоли

к облучению, а при наличии изменений, соответствующих I-II степени лечебного патоморфоза, - низкую чувствительность. Наличие патоморфоза III-IV степени определяют при значении площади некроза (% от площади исследуемого материала) $>43.8\%$, количества клеток с необратимыми формами дистрофий $>52\%$, количество митотически делящихся клеток (% от общего количества клеток) $<15\%$, а из них клеток с патологией деления $>48\%$. При площади некроза и количестве клеток с необратимыми формами дистрофий меньше приведенных значений, а количестве митотически делящихся клеток больше таковых - констатировалась I-II степень лучевого патоморфоза.

Описанный способ имеет свои недостатки. Во-первых, степень патоморфоза опухоли зависит от площади некроза, количества клеток с необратимыми формами дистрофий и митотически делящихся клеток. Следовательно, степень патоморфоза опухоли будет меняться в зависимости от того, из какого участка опухоли взят материал на исследование: центральная зона опухоли или ее периферическая часть. Это, в свою очередь, может исказить результаты исследования.

Во-вторых, морфологическое исследование степени патоморфоза опухоли требует определенного объема биопсийного материала, что не всегда возможно выполнить, тем более при лучевой терапии. Кроме того, для возникновения морфологических изменений в ткани опухоли должно пройти достаточно времени, тогда как изменения в клетках опухоли под действием лучевой терапии на молекулярном уровне возникают гораздо раньше.

Достижения фундаментальной онкологии последних лет позволяют оценивать степень регресса опухоли не только на тканевом и клеточном уровне, но и на молекулярном, в том числе и по изменениям ДНК опухолевых клеток.

В последние годы появилась возможность проведения анализа ДНК в опухолевых клетках. Проведенные исследования показали, что лучевая терапия снижает злокачественный потенциал опухоли прямой кишки, что проявляется увеличением частоты опухолей с индексом ДНК до 1,5 в 1,2 раза, снижением частоты опухолей с индексом ДНК выше 1,5 на 10%, снижением доли опухолевых клеток в S-фазе клеточного цикла с $9,98 \pm 1,6$ до $6,4 \pm 0,8\%$ ($p < 0,05$), снижением индекса пролиферации опухоли в 1,6 раза (О.И. Кит, Ю.А. Геворкян, Н.В. Солдаткина, И.А. Новикова, М.А. Гусарева, М.А. Кожушко. Молекулярно-морфологические эффекты предоперационной лучевой терапии крупным фракционированием дозы при раке прямой кишки // Молекулярная онкология. 2016).

В настоящее время клиническими рекомендациями при проведении пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки являются соблюдение сроков интервала между окончанием курса лучевой терапии и оперативным вмешательством 6-8 недель. Учитывая большие колебания этого срока и необходимость индивидуализации тактики лечения, поскольку при неоправданно большом интервале может вновь возникнуть рост опухоли с нивелированием лечебного эффекта лучевой терапии, возникает необходимость патогенетически обоснованного определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки.

Техническим результатом предлагаемого изобретения является определение оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки на основании значений индекса пролиферации опухолевых клеток для индивидуализации тактики и улучшения результатов лечения больных.

Технический результат достигается тем, что в биопсийном материале опухоли прямой кишки до начала курса пролонгированной лучевой терапии и через 4 недели после окончания курса лучевой терапии проводят ДНК-цитометрический анализ и определяют индекс пролиферации опухоли; при отличии индексов пролиферации в 1,3 раза и менее определяют возобновление пролиферативной активности и роста опухоли, что является показанием для окончания перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции; при отличии индексов пролиферации более чем в 1,3 раза определяют снижение пролиферативной активности опухоли, что является показанием для продления перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции через 6-8 недель после окончания курса лучевой терапии.

Изобретение «Способ определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки» является новым, так как оно неизвестно в области медицины при комбинированном лечении резектабельного рака прямой кишки, определении оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии.

Новизна изобретения заключается в том, что в биопсийном материале опухоли прямой кишки до начала курса пролонгированной лучевой терапии и через 4 недели после окончания курса лучевой терапии проводят ДНК-цитометрический анализ и определяют индекс пролиферации опухоли; при отличии индексов пролиферации в 1,3 раза и менее определяют возобновление пролиферативной активности и роста опухоли, что является показанием для окончания перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции; при отличии индексов пролиферации более чем в 1,3 раза определяют снижение пролиферативной активности опухоли, что является показанием для продления перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции через 6-8 недель после окончания курса лучевой терапии.

Таким образом, определение оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки способствует индивидуализации тактики лечения, что позволит прервать перерыв в лечении при возобновлении роста опухоли, улучшить результаты лечения больных раком прямой кишки.

Способ осуществляется следующим образом.

До начала курса пролонгированной лучевой терапии и через 4 недели после окончания курса лучевой терапии больным выполняют ректороманоскопию или фиброколоноскопию и берут биопсийный материал опухоли.

Далее проводят анализ ДНК в свежезвзятой ткани опухоли прямой кишки. Мы использовали CycleTEST™PLUS DNA ReagentKit (кат. №340242, Becton Dickinson).

Подготовка тканей опухоли для цитометрического анализа осуществлялась с использованием дезагрегирующего устройства BD Medimachine. Образец ткани опухоли прямой кишки (10 мм³) измельчался до объема 1-2 мм³ и помещался с 1 мл буфера в медикон. Время дезагрегации составляло 60 секунд. Суспензия извлекалась с помощью шприца и фильтровалась через филкон с 50 мкм порами. После центрифугирования суспензии 5 минут при 250 g концентрация клеток доводилась до миллиона клеток/мл.

Образцы (не менее 20000 клеток) после окрашивания пропидиумом йодидом (PI) анализировали на проточном цитофлуориметре BD FACS Cantoo II, оборудованном модулем дискриминации дуплетов. Для тестирования и подтверждения оптимальной работы проточного цитометра использовали универсальные биологические частицы DNAQSParticles (BD, кат. №349523).

Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы ModFit

ЛТ, позволяющей анализировать ploидность и распределение клеток опухоли по фазам клеточного цикла и детализировать число клеток в фазах S и G2+M.

Индекс пролиферации вычисляли как суммарное число клеток опухоли, находящихся в S- и (G2+M)-фазах клеточного цикла.

- 5 При отличии индексов пролиферации в 1,3 раза и менее определяют возобновление пролиферативной активности и роста опухоли, что является показанием для окончания перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции; при отличии индексов пролиферации более чем в 1,3 раза определяют снижение пролиферативной активности опухоли, что является показанием для продления перерыва в лечении и выполнения
- 10 следующего этапа (операции) через 6-8 недель после окончания курса лучевой терапии.

- Изобретение «Способ определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки» является промышленно применимым, так как может быть использовано в медицинских учреждениях онкологического профиля, диспансерах, научно-исследовательских
- 15 онкологических институтах.

Приводим клинические примеры применения «Способ определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки».

Пример №1

- 20 Больной Д., 1961 г.р., поступил в отделение абдоминальной онкологии №2 ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России 06.04.2016 г. с жалобами на боли в прямой кишке.

МРТ ОМТ от 31.03.16 - МР-картина опухоли нижне- и среднеампулярного отделов прямой кишки, с экстрамуральным ростом в мезоректальную клетчатку, вероятно с поражением мезоректальных лимфоузлов.

- 25 СРКТ от 31.04.16 - инфильтративный рак прямой кишки 7×4.6 см с инфильтрацией окружающей клетчатки, мтс узлами в ней до 0.7 см.

ФКС от 30.03.16 - опухоль прямой кишки с явлениями стеноза 3-4 ст на 7 см от ануса. Гистоанализ 25686-87/16 - G2 аденокарцинома.

Установлен диагноз: рак прямой кишки T4N×M0, ст. 3, гр. 2.

- 30 Консультация радиолога: показана предоперационная пролонгированная лучевая терапия.

- Больному с 06.04.16 после топометрической разметки, подготовки, 3Д, дозиметрического планирования, начат предоперационный пролонгированный курс конформной лучевой терапии, на гамма-терапевтическом аппарате «Тератрон-2», на
- 35 зону первичного опухолевого распространения (прямая кишка) и регионарный лимфоколлектор (малый таз), в положении больного на спине, РОД=2,4 Гр×5 фракций в неделю. Больному проведен полный курс лучевой терапии, суммарная доза составила на ложе первичного очага 50 изоГр, зоны регионарного метастазирования 40 изоГр.

- До начала курса пролонгированной лучевой терапии и через 4 недели после
- 40 завершения лучевой терапии больному выполнена ректороманоскопия и взят биопсийный материал опухоли.

- Проведен анализ ДНК в свежеснятой ткани опухоли прямой кишки (CycleTESTTMPLUS DNA ReagentKit (кат. №340242, Becton Dickinson). Подготовка тканей опухоли для цитометрического анализа осуществлялась с использованием
- 45 дезагрегирующего устройства BD Medimachine. Образец ткани опухоли прямой кишки (10 мм³) измельчался до объема 1-2 мм³ и помещался с 1 мл буфера в медикон. Время дезагрегации составляло 60 секунд. Суспензия извлекалась с помощью шприца и фильтровалась через филкон с 50 мкм порами. После центрифугирования суспензии 5

минут при 250 g концентрация клеток доводилась до миллиона клеток/мл. Образцы (не менее 20000 клеток) после окрашивания пропидиумом йодидом (PI) анализировали на проточном цитофлуориметре BD FACS Cantoo II, оборудованном модулем дискриминации дуплетов.

5 Для тестирования и подтверждения оптимальной работы проточного цитометра использовали универсальные биологические частицы DNAQCParticles (BD, кат. №349523). Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы ModFit LT.

Индекс пролиферации вычисляли как суммарное число клеток опухоли, находящихся в S- и (G2+M)-фазах клеточного цикла.

10 Индекс пролиферации до начала курса лучевой терапии был равен 10,8%, через 4 недели после завершения лучевой терапии - 9%. Результаты исследования показали отличие индекса пролиферации в 1,2 раза, что явилось показанием для окончания перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции.

15 При осмотре больного перед оперативным вмешательством установлено, что опухоль прямой кишки увеличилась в размерах до 9,5×6,5 см, уменьшилось расстояние от ануса до опухоли с 7,0 до 6,0 см, что свидетельствует о возобновлении роста опухоли после лучевой терапии за время перерыва в лечении. Больному выполнена операция - низкая передняя резекция прямой кишки.

20 Послеоперационный гистоанализ №49958-49963: G2 аденокарцинома с инвазией всех слоев и окружающей клетчатки, наличием в зоне инвазии «budding» структур, микрососудистой инвазией, очагами некроза, воспаления, изъязвления. В клетчатке в 4 лимфоузлах - фолликулярная гиперплазия. В краях резекции опухоли не обнаружено.

Больной находится под наблюдением.

Пример №2

25 Больная Г., 1969 г.р., поступила в отделение абдоминальной онкологии №2 ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России 24.02.2016 г. с жалобами на боли в промежности, наличие крови и слизи в кале, снижение веса на 5 кг за последние месяцы.

При обследовании:

ФЛО от 25.02.2016: легкие и сердце без патологии.

30 УЗИ от 29.01.16 г.: УЗ-признаки аденомиоза. Прямая кишка с утолщенными стенками без четких контуров с усилением сосудистого рисунка.

ФКС 29.01.16: опухоль в 2 см от ануса с поражением нижеампулярного отдела и анального канала.

35 Гистологическое исследование 5926-28/16: G2 аденокарцинома с изъязвлением СРКТ ОГК, ОБП, ОМТ от 30.01.16: Опухоль в области нижеампулярного отдела прямой кишки и ануса 6,9×7,3 см с прорастанием задней стенки влагалища с инфильтрацией окружающих мягких тканей. Матка 7,9×5,3 см, придатки не визуализируются.

Установлен диагноз: рак прямой кишки T4N×M0, ст. 3, гр. 2.

40 Консультация радиолога: показана предоперационная пролонгированная лучевая терапия.

Больной с 24.02.16 после топометрической разметки и подготовки с использованием: СРКТ Siemens Somatom, системы лазерной навигации LAP Laser и станции виртуальной симуляции Singo Via (эффективная доза за исследование 9,0 мЗв); системы Exaxtrac 3D
45 дозиметрического планирования, проводится предоперационный курс пролонгированной конформной химиолучевой терапии (ППК КЛТ) на линейном ускорителе низких энергий Varian Unique 6 МЭВ (ЛУНЭ) на зону первичного опухолевого распространения и зоны регионарного метастазирования (лимфатический

коллектор), с модуляцией интенсивного пучка излучения РОД=2,4 Грх5 фракций в неделю. СОД=50 изоГр на первичный очаг, СОД=40 изоГр на регионарные лимфоузлы.

До начала курса пролонгированной лучевой терапии и через 4 недели после окончания лучевой терапии больной выполнена ректороманоскопия и взят биопсийный материал опухоли. Проведен анализ ДНК в свежеснятой ткани опухоли прямой кишки (CycleTESTTMPLUS DNA ReagentKit (кат. №340242, Becton Dickinson)).

Подготовка тканей опухоли для цитометрического анализа осуществлялась с использованием дезагрегирующего устройства BD Medimachine. Образец ткани опухоли прямой кишки (10 мм³) измельчался до объема 1-2 мм³ и помещался с 1 мл буфера в медикон. Время дезагрегации составляло 60 секунд. Суспензия извлекалась с помощью шприца и фильтровалась через филкон с 50 мкм порами. После центрифугирования суспензии 5 минут при 250 g концентрация клеток доводилась до миллиона клеток/мл.

Образцы (не менее 20000 клеток) после окрашивания пропидиумом йодидом (PI) анализировали на проточном цитофлуориметре BD FACS Cantoo II, оборудованном модулем дискриминации дуплетов. Для тестирования и подтверждения оптимальной работы проточного цитометра использовали универсальные биологические частицы DNAQSParticles (BD, кат. №349523). Полученные данные обрабатывали с помощью компьютерной программы ModFit LT.

Индекс пролиферации вычисляли как суммарное число клеток опухоли, находящихся в S- и (G2+M)-фазах клеточного цикла. До начала курса пролонгированной лучевой терапии индекс пролиферации был равен 13,8%, через 4 недели после окончания лучевой терапии - 8,6%). Результаты исследования показали отличие индекса пролиферации в 1,6 раза.

Далее продолжен перерыв в лечении на 7 недель.

При осмотре больной перед оперативным вмешательством установлено, что опухоль прямой кишки увеличилась в размерах до 3,0х1,5 см, уменьшилась инфильтрация опухолью параректальной клетчатки, что свидетельствует о выраженном эффекте проведенной лучевой терапии.

Больной была выполнена экстралеваторная брюшно-промежностная экстирпация прямой кишки, резекция задней стенки влагалища, выведение колостомы.

Послеоперационный гистоанализ подтвердил эффективность проведенного лечения: №39688-9/16 после лечения мелкие комплексы опухолевых клеток. Склероз, воспаление. №39696-705/16 в лимфоузлах мезоректума метастазов нет.

Больная находится под наблюдением.

Под нашим наблюдением находилось 20 больных резектабельным раком прямой кишки. Диагноз был верифицирован во всех случаях. Всем больным было показано проведение предоперационного пролонгированного курса лучевой терапии.

Всем больным до начала лечения выполнен забор биопсийного материала из опухоли с проведением анализа ДНК и определением индекса пролиферации опухолевых клеток. Через 4 недели после окончания курса лучевой терапии у больных вновь произведен забор биопсийного материала из опухоли и определен индекс пролиферации опухолевых клеток.

Из 20 больных в возрасте от 48 до 72 лет резектабельным раком прямой кишки, находящихся на лечении в клинике ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ, у 15 больных через 4 недели после окончания курса лучевой терапии индексы пролиферации опухолевых клеток отличались более чем в 1,3 раза, у 5 больных индексы пролиферации опухолевых клеток отличались в 1,3 и менее раз. Перед операцией больные были обследованы, и оказалось, что у тех больных, у которых через 4 недели после окончания

курса лучевой терапии индексы пролиферации опухолевых клеток отличались более чем в 1,3 раза (15 больных), наблюдалась регрессия опухоли с уменьшением ее размеров и увеличением расстояния от ануса до нижнего края опухоли. У тех больных, у которых через 4 недели после окончания курса лучевой терапии индексы пролиферации

5 опухолевых клеток отличались в 1,3 и менее раз (5 больных), не наблюдалось регрессии опухоли. При этом у 1 больного опухоль осталась прежних размеров с таким же расстоянием от ануса до нижнего края опухоли, у 4 больных наблюдалось увеличение размеров опухоли с уменьшением расстояния от ануса до нижнего края опухоли.

Полученные результаты позволили нам прийти к выводу, что при отличии индексов

10 пролиферации в 1,3 раза и менее, определяют возобновление пролиферативной активности и роста опухоли, что является показанием для окончания перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции; при отличии индексов пролиферации более чем в 1,3 раза, определяют снижение пролиферативной активности опухоли, что является показанием для продления перерыва в лечении и выполнения следующего этапа

15 (операции) через 6-8 недель после окончания курса лучевой терапии.

Технико-экономическая эффективность «Способа определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки» заключается в том, что использование способа позволяет

20 определить биологическое поведение опухоли, определить оптимальный срок выполнения операции после окончания курса лучевой терапии, индивидуализировать тактику лечения, улучшить результаты лечения больных раком прямой кишки, прост в исполнении. Способ позволит снизить затраты на неэффективное лечение рака прямой кишки.

(57) Формула изобретения

Способ определения оптимального срока выполнения оперативного вмешательства после пролонгированной лучевой терапии при раке прямой кишки, включающий исследование индекса пролиферации опухолевых клеток, отличающийся тем, что в биопсийном материале опухоли прямой кишки до начала курса пролонгированной

30 лучевой терапии и через 4 недели после окончания курса лучевой терапии проводят ДНК-цитометрический анализ и определяют индекс пролиферации опухоли; при отличии индексов пролиферации в 1,3 раза и менее определяют возобновление пролиферативной активности и роста опухоли, что является показанием для окончания перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции; при отличии индексов пролиферации более

35 чем в 1,3 раза определяют снижение пролиферативной активности опухоли, что является показанием для продления перерыва в лечении и выполнения следующего этапа - операции через 6-8 недель после окончания курса лучевой терапии.