



УКРАЇНА

(19) UA (11) 66391 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
A61B 10/00  
G01N 33/48 (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ПОСТХІМІОПРОМЕНЕВИХ ПОШКОДЖЕНЬ ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ

1

(21) u201113638  
(22) 21.11.2011  
(24) 26.12.2011  
(46) 26.12.2011, Бюл.№ 24, 2011 р.  
(72) ХУРАНИ ІЯД ФАХІД  
(73) ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І. ПИРОГОВА  
(57) Спосіб прогнозування постхіміопроменевих  
пошкоджень дихальної системи, що включає дос-

2

лідження поліморфізму гену MTHFR, який **відрізняється** тим, що прогнозують ризик розвитку постхіміопроменевих легневих пошкоджень у хворих, які мають мутацію MTHFR по гомозиготному (T/T) типу на рівні 100 %, у хворих, які мають мутацію MTHFR по гетерозиготному (C/T) типу - на рівні 30 %, у хворих, які не мають мутації MTHFR (C/C) - на рівні 9 %.

Корисна модель належить до медицини, а саме до онкології і стосується прогнозування ураження легеневої тканини, що індуковане телегамастерапією при лікуванні онкологічних хворих.

При лікуванні раку грудної залози пошкоджуюча дія хіміопроменевої терапії розповсюджується не лише на пухлину, але і на ряд органів. Особливо страждають легені, які потрапляють до зони опромінення, а ендотелії легневих судин досить чутливий до дії цитостатиків. Саме тому легеневі пошкодження займають одне з провідних місць серед ускладнень хіміопроменевого лікування раку грудної залози. Пульмоніти, альвеоліти, склероз і фіброз легень, що виникають під впливом хіміопроменевого лікування належать до мультифакторіальних захворювань і очевидно їх варіабельність і ступінь вираженості, при фактично однакових дозах опромінення і схемах хіміотерапії, зумовлені саме генетичними відмінностями.

Променева терапія органів грудної порожнини часто ускладнюється розвитком запальних і склеротичних процесів в легеневій тканині [Late complications of high-dose (>=66 Gy) thoracic conformal radiation therapy in combined modality trials in unresectable stage III non-small cell lung cancer / C.B. Lee, T.E. Stinchcombe, D.T. Moore [et al.] // J Thorac Oncol.-2009. - Vol. 4. - № 1. - P. 74-79.; Systemic sclerosis and cancer / B. Marasini, L. Conciato, Belloli [et al.] // Int. J. Immunopathol. Pharmacol.-2009. - Vol. 22, № 3. - P. 573-578]. На ранніх етапах променевого ураження легень характеризуються розвитком пульмонітів, які протікають гостро у вигляді зливної сегментарної і часткової пневмонії. В той же час на пізніх стадіях промене-

вої терапії пошкодження легеневої тканини виявляється у формуванні пневмосклерозу та пневмофіброзу [Мороз В.А. Функція бронхіальної прохідності у хворих із постпроменевими змінами легень в процесі комплексного медикаментозного лікування / В.А. Мороз, А.В. Свиначенко, Ю.А. Толкачов // Український радіологічний журнал.-1998. - № 1. - С. 48-51].

Враховуючи латентний, безсимптомний початок постхіміопроменевого пневмоніту та альвеоліту, які згодом призводять до незворотного процесу фібротизації легеневої тканини, розвитку дихальної недостатності, інвалідизації а іноді й загибелі хворого, питання прогнозування таких ускладнень, їх ранньої діагностики та профілактики набувають край актуального значення. В основу корисної моделі "Спосіб прогнозування постхіміопроменевих пошкоджень дихальної системи" поставлено задачу прогнозування розвитку запальних і склеротичних процесів в легеневій тканині як результат пошкоджуючої дії хіміопроменевої терапії.

Поставлена задача вирішується шляхом визначення мутації гену MTHFR, оскільки резистентність легеневої тканини хворих на рак грудної залози до хіміопроменевого впливу генетично детермінована і залежить від мутації гену MTHFR. Мутації С677Т (гетерозиготний генотип) та особливо Т677Т (гомозиготний генотип) відповідно у 30 % та у 100 % випадків призводить до розвитку фіброзу легень. У хворих без мутації з С677С генотипом пневмофіброз розвивається лише у 9 % випадків.

Характер й особливості хіміопроменевих пошкоджень легень визначаються індивідуальною чу-

(19) UA (11) 66391 (13) U

тливстю організму до дії іонізуючого випромінювання та цитостатику, видом опромінення, дозою цитостатиків й іншими генетично зумовленими біологічними чинниками [Qian L. The hypothesis of an effective safe and novel radioprotective agent hydrogen-rich solution / L. Qian, B.Li, J.Cai // West Indian Med. J.-2010. Vol. 59. - P. 122-124].

Обґрунтування способу прогнозування постхіміопроменевих пошкоджень дихальної системи.

Матеріали і методи дослідження. В дослідженні прийняла участь 41 хвора репродуктивного віку (47,9±8,5 років) з I-II стадією раку грудної залози, які отримували комбіноване (хіміопроменеве) лікування у Вінницькому ОКОД протягом 2009-2010 рр. Всім хворим проводилась поліхіміотерапія за схемою CMF (cyclophosphamide-200 мг/м<sup>2</sup>, methotrexate-80 мг/м<sup>2</sup>, fluorouracil-1200 мг/м<sup>2</sup>) та телегаматерапія за радикальною програмою (СОД - 45 Гр.). Через рік після лікування проводилась СКТ на томографі HiSpeed Dual (Китай), визначалась функція зовнішнього дихання за допомогою цифрового спірографа winspiro PRO (Італія), пульсоксиметрія - на пульсоксиметрії Ютасокси-201 (Україна). Геному ДНК виділяли з лейкоцитів периферійної крові за допомогою реагенту "ДНК-експрес-кров". Поліморфну ділянку С677Т гена метилентетрагідрофолатредуктази ампліфікували методом полімеразної ланцюгової реакції з використанням алель-специфічних олігонуклеотидних праймерів (Литех, Россія). Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі "Терцик" („ДНК-Технологія", Россія). Продукти ампліфікації виявляли за допомогою електрофорезу в 3% агарозному гелі при напрузі 10-15 V на 1 см гелю. Гелі фарбували ети-

діумом бромідом з наступною візуалізацією результатів в УФ-світлі.

Результати дослідження. При проведенні генетичного аналізу у хворих на рак грудної залози було виявлено гомозиготний (С/С) поліморфізм гену МТНFR у 23 пацієнток. Мутація МТНFR по гетерозиготному типу (С/Т) спостерігалась у 10 пацієнток. Мутація МТНFR по гомозиготному (Т/Т) типу визначалась у 8 пацієнток.

Вплив хіміопроменевого лікування на легні хворих з різним генотипом МТНFR суттєво відрізнявся. Основними клінічними проявами пошкоджень легень, які виявлялись у хворих на рак грудної залози через 12 місяців після закінчення хіміопроменевого лікування були: задишка, яка турбувала майже половину (48,8%) хворих; кашель, що відмічали 58,5% хворих; загальна слабкість, лейкоцитоз, підвищення ШОЕ.

Задишка і кашель були характерними для всіх пацієнток з С/Т і Т/Т мутаціями МТНFR і спостерігались лише у 4 (17,4%) пацієнток без мутації (з С/С генотипом). Так середній показник частоти дихань у хворих з С/Т і Т/Т мутаціями відповідно становив 20,7±1,05 та 21,8±0,46 за хвилину, коли в групі хворих без мутації 18,4±0,89 дих/хв. Рівень лейкоцитів у периферичній крові у хворих із С/Т і Т/Т мутаціями складав відповідно (15,1±0,63 та 14,9±0,45)×10<sup>9</sup>/л проти 7,9±0,75×10<sup>9</sup>/л у пацієнток з С/С генотипом. Висока ШОЕ в цих підгрупах (32,3±1,56 та 33,9±1,12) мм/год. свідчить про затяжний запальний процес, тоді, як у пацієнток без мутації середні показники ШОЕ склали 14,9±1,62 мм/год. (табл. 1).

Таблиця 1

Прояви дихальної недостатності у хворих на рак грудної залози з поліморфізмом гену МТНFR (12 міс. після хіміопроменевого лікування)

Показники зовнішнього дихання	Хворі без мутації (генотип С/С) (n=23)	Мутація С/Т (гетерозиготний генотип) (n=10)	Мутація Т/Т (гомозиготний генотип) (n=8)	Середній показник по групі (n=41)
Частота дихань/хв.	18,4±0,89	20,7±1,05	21,8±0,46	19,6±1,65
АТ (систоличний)	138,9±7,9	150,0±5,3	153,1±2,6	144,4±8,8
АТ (діастолічний)	86,3±13,5	96,5±3,4	98,1±2,6	91,1±11,6
Пульс/хв.	83,6±6,4	90,8±4,7	96,8±1,03	87,9±7,5
Кашель	4(17,4%)	10(100%)	8(100%)	24(58,5%)
Задишка	2 (8,7%)	10(100%)	8(100%)	20(48,8%)
Сатурація О <sub>2</sub> (%)	94,9±3,13	87,0±2,0	85,1±0,64	91,1±5,1
Лейкоцити (тис/мл)	7,9±0,75	15,1±0,63	14,9±0,45	11,0±3,6
ШОЕ	14,9±1,62	32,3±1,56	33,9±1,12	22,4±9,6
СКТ пневмосклероз	-	7 (70%)	-	7 (17,0%)
СКТ пневмофіброз	2 (%)	3 (30%)	8 (100%)	13 (31,7%)

Розвиток інтерстиціального пневмофіброзу призводить до гіпертензії в судинах малого кола кровообігу, як наслідок у пацієнток розвивалась тахікардія, підвищення систолічного і діастолічного артеріального тиску. Пульс у хворих з мутацією С/Т складав в середньому 90,8±4,7 уд./хв., з мутацією Т/Т - 96,8±1,03 уд./хв., тоді, як у хворих без мутації середні показники частоти серцевих скорочень склали 83,6±6,4 уд./хв. Показники систолі-

чного тиску у хворих з мутацією С/Т склали в середньому 150,0±5,3 мм. рт. ст. з мутацією Т/Т - 153,1±2,6 мм. рт. ст. у хворих без мутації 138,9±7,9мм. рт. ст. Діастолічний тиск відповідно становив 96,5±3,4 та 98,1±2,6 мм. рт. ст. у хворих з С/Т і Т/Т мутаціями та 86,3±13,5 мм. рт. ст. у хворих без мутації.

При проведенні пульсоксиметрії сатурація кисню у хворих без мутації складала 94,9±3,13% від

норми, у хворих з гетерозиготним типом мутації С/Т 87,0±2,0 %, а при гомозиготному типі мутації Т/Т тільки 85,1±0,64 %.

На СКТ у всіх пацієнтів з Т/Т мутацією і у 30 % - з С/Т мутацією гена MTHFR виявлено пневмофіброз (Рисунок).

Рентгенологічна картина пневмофіброзу характеризувалась наявністю перибронхіальних і периваскулярних лінійних тяжів, направлених до кореня легень, деформацією і зміщенням кореню, зближенням елементів легеневого малюнку і зменшенням об'єму уражених ділянок легень. Спостерігалась зміна плеври у вигляді плевродіафрагмальних і плевроперикардіальних зрощень. У 70 % хворих з С/Т мутацією виявлені явища пневмосклерозу без зменшення об'єму легень.

Фіброзні та склеротичні зміни в легенях призводили до значного погіршення показників зовнішнього дихання, що особливо було помітно у хворих з гомозиготним типом мутації Т/Т і у хворих з мутацією С/Т (гетерозиготний генотип). Так форсована життєва ємність легень (FVC) була в групі хворих з Т/Т мутацією вірогідно на 33,0 %, а в групі з С/Т мутацією на 27,2 % нижчою від норми, максимальна вентиляція легень (MVV) відповідно - на 50,3 % та 50,6 %, пікова об'ємна швидкість видиху (PEF) - на 48,1 % та 42,8 %. Тоді, як у хворих без мутації (генотип С/С) показники зовнішнього дихання значно менше відрізнялись від норми. Так FVC в цій групі була нижчою від норми лише на 9,2 %, MVV - на 15,3 % і PEF - на 14,4 % (табл. 2).

Таблиця 2

Залежність показників зовнішнього дихання у хворих на рак грудної залози від поліморфізму гену MTHFR (12 міс. після хіміопроменевого лікування)

Показники зовнішнього дихання	Хворі без мутації (генотип С/С)		Мутація С/Т (гетерозиготний генотип)		Мутація Т/Т (гомозиготний генотип)	
	Фактичний показник	% від норми	Фактичний показник	% від норми	Фактичний показник	% від норми
FVC л.	2,72±0,28	90,8±6,5	2,30±0,19	72,8±8,03	2,21±0,1	67,0±1,3
MVV л/м.	83,35±4,94	87,0±2,85	48,15±9,22	49,7±7,91	50,2±2,56	49,4±1,76
PEF л/с.	5,05±0,48	85,6±4,25	3,47±0,25	57,2±1,54	3,08±0,35	51,9±0,83
FEF2575 л/с.	2,53±0,35	86,2±3,35	1,91±0,16	62,7±1,25	1,95±0,07	61,1±0,83
FEF25 л/с.	4,30±0,57	81,2±3,84	3,38±0,22	60,8±2,97	3,23±0,11	58,0±1,07
FEF50 л/с.	2,79±0,19	78,7±2,54	2,05±0,17	57,2±2,85	2,6±0,64	55,1±0,83
FEF75 л/с.	1,10±0,12	76,9±2,50	0,81±0,07	58,3±3,83	0,79±0,03	55,4±1,06

У хворих з мутаціями С/Т та Т/Т суттєво знизились показники середньої об'ємної швидкості (FEF2575) та миттєвої об'ємної швидкості (FEF25, 50, 75 л/с), які були значно нижчими показників хворих без мутації. Так FEF2575 у хворих з мутацією С/Т була на 37,3 %, а у хворих з Т/Т мутацією на 38,9 % нижчою від норми. Показники FEF25 у цих хворих відповідно зменшились на 39,2 % та 42,0 %, FEF50 - на 42,8 % та 44,9 %, FEF75 - на 41,7 % та 44,6 %. У групі хворих без мутації ці зміни були в декілька раз менш вираженими. Так об'ємна швидкість (FEF2575) у цих хворих була нижчою норми на 14,8 %, миттєва (FEF 25) - на 18,8 %, FEF 50 - на 21,3 % а FEF 75 - на 23,1 %.

Таким чином застосування у хворих на рак грудної залози хіміопроменевого лікування викликає розвиток пневмофіброзу у 36,4 % хворих, що супроводжується значним зниженням показників зовнішнього дихання (форсованої ємності на 17,2 %, максимальної вентиляції легень на 50,3 %, пікової об'ємної швидкості видиху на 43,7 %, сатурації кисню на 13 %).

Резистентність легеневої тканини хворих на рак грудної залози до хіміопроменевого впливу генетично детермінована і залежить від мутації гену MTHFR. Мутації С677Т (гетерозиготний генотип) та особливо Т677Т (гомозиготний генотип) відповідно у 30 % та у 100 % випадків призводить до розвитку фіброзу легень. У хворих без мутації з С677С генотипом пневмофіброз розвивається лише у 9 % випадків.

Спосіб здійснюється таким чином:

За результатами обстеження на мутації системи гемостазу у хворого виявляли форму мутації гена MTHFR. Визначали ризик розвитку постхіміопроменевих легневих пошкоджень наступним чином: у хворих, які мають мутацію MTHFR по гомозиготному (Т/Т) типу ризик розвитку постхіміопроменевих легневих пошкоджень 100 %, у хворих, які мають мутацію MTHFR по гетерозиготному (С/Т) типу ризик на рівні 30 %, у хворих, які не мають мутації MTHFR (С/С) ризик на рівні 9 %.

Приклад конкретного виконання способу прогнозування постхіміопроменевих пошкоджень дихальної системи

Хвора С, історія хвороби № А 953208. Дата народження: 30.11.1961.

Госпіталізація: 30.06.2009.

Діагноз: рак лівої молочної залози T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>I стадія III клінічна група.

Операція: 01.07.2009 (радикальна мастектомія за Маденом).

Морфологічний висновок № 28176-86: протоковий інфільтруючий рак.

Ступінь диференціювання: G<sub>3</sub>.

Обстеження на мутації гена MTHFR: мутація MTHFR по гомозиготному (Т/Т) типу - ризик розвитку постхіміопроменевих легневих пошкоджень 100 %.

Опромінення (телегаматерапія) 17.07.2009: за радикальною програмою 40 Гр. Опромінення проводилося у відділенні променевої терапії ВОКОД,

на дистанційному гамма-терапевтичному апараті "FCC8000 Cobalt60-F", з активністю джерела A=3872 Ки.

Лікування. Поліхіміотерапія (4 цикли): CMF (cyclophosphamide-2000 мг, methotrexate-120 мг, fluorouracil-2000 мг) внутрішньовенно. Антибіотикотерапія: Емсеф 1000 мг в/м 2 р. на добу. Курс - 5 днів. Післяопераційне знеболювання: анальгін 50 % 2 мл. + димедрол 1 % 1 мл внутрішньом'язово 2 рази на добу.

Клінічно: кашель, задишка, загальна слабкість.

При фізикальному обстеженні: частота дихання: 22/хв., жорстке дихання. При оглядовій рентгенографії органів грудної клітки (30.06.2009): грудна клітка симетрична. Пневмотизація легень звичайна. Легеневий малюнок нормальний. Вогнищевих і інфільтративних змін не виявлено.

При спіральній комп'ютерній томографії органів грудної порожнини (27/01/2011): грудна клітка симетрична. Пневмотизація легень емфізематозно підвищена. Легеневий малюнок посилений, деформований на всьому протязі за рахунок пневмосклерозу. На верхівці лівої легені відзначаються фі-

брозні зміни. Коріння структурні звичайної локалізації. Плевральна порожнина вільна.

Пульсоксиметрія (30.06.2009): пульс в спокої: 82 уд./хв. Показники насичення крові киснем в нормі. Середня сатурація SPO2=98.

Пульсоксиметрія (27/01/2011): пульс в спокої: 98 уд./хв. Показники насичення крові киснем в нормі. Середня сатурація SPO2=84 %.

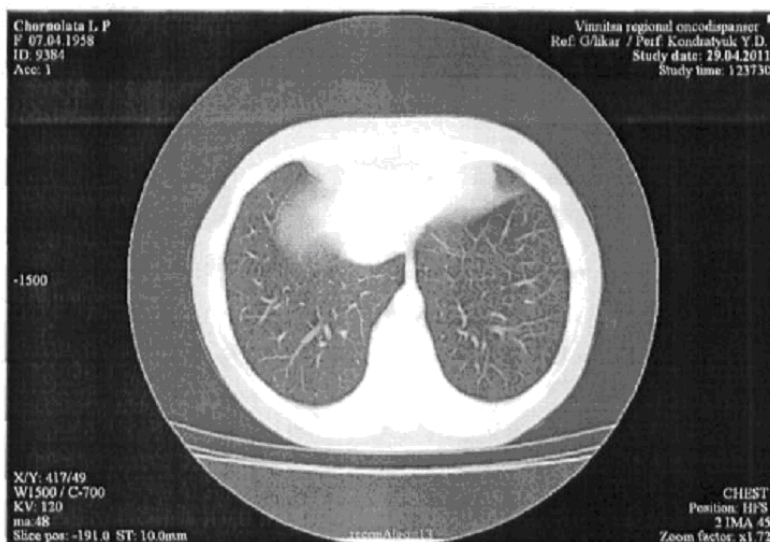
ЖЄЛ (VC) (життєва ємність легень) (30.06.2009): склало 2,88 л.

ЖЄЛ (VC) (життєва ємність легень) (27/01/2011): 2, 3 л.

Р видиху (ERV) (резервний об'єм видиху) (30.06.2009): склав 1,38 л.

Р видиху (ERV) (резервний об'єм видиху) (27/01/2011): склав 1,17 л.

Таким чином, використання способу прогнозування постхіміопроменевих пошкоджень дихальної системи шляхом дослідження мутації гену MTHFR дозволяє виявити пацієнтів з потенційно високим ризиком розвитку постхіміопроменевих легеневих пошкоджень і запровадити систему превентивних заходів.



**Пневнофіброз у пацієнтки з Т/Т мутацією MTHFR через 12 місяців після хіміо-променевого лікування раку грудної залози**