



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 33/50 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2019133539, 21.10.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.10.2019

Дата регистрации:
31.07.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 21.10.2019

(45) Опубликовано: 31.07.2020 Бюл. № 22

Адрес для переписки:

672000, г. Чита, ул. Горького, 39а, Читинская
медицинская академия, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Каюкова Елена Владимировна (RU),
Терешков Павел Петрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования Читинская государственная
медицинская академия Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2538618 С2, 10.01.2015. RU
2008119468 А, 27.11.2009. CN 103558150 В,
23.12.2015.

(54) СПОСОБ ДИАГНОСТИКИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу диагностики рака шейки матки, включающему определение насыщенной жирной кислот с нечетным числом атомов углерода - нонадекановой (C_{19:0}). Способ характеризуется тем, что дополнительно определяют содержания нечетных насыщенных (пентадекановой (C_{15:0}), гептадекановой (C_{17:0})) и ненасыщенных (гептадеканоеновой (C_{17:1}, пентадекаеновой (C_{15:1})) жирных кислот и рассчитывают диагностический коэффициент К по формуле

$$K = \frac{C_{15:1} + C_{17:1}}{C_{15:0} + C_{17:0} + C_{19:0}},$$

где C_{15:1} - содержание пентадекаеновой кислоты, C_{17:1} - содержание гептадеканоеновой кислоты; C_{15:0} - содержание пентадекановой кислоты, C_{17:0} - содержание гептадекановой кислоты, C_{19:0} - содержание нонадекановой кислоты, и при значении К менее 0,3 диагностируют рак шейки матки. Эффективность предлагаемого способа диагностики определяется его высокой точностью и специфичностью. 1 табл., 3 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 33/50 (2020.02)

(21)(22) Application: **2019133539, 21.10.2019**

(24) Effective date for property rights:
21.10.2019

Registration date:
31.07.2020

Priority:

(22) Date of filing: **21.10.2019**

(45) Date of publication: **31.07.2020 Bull. № 22**

Mail address:

**672000, g. Chita, ul. Gorkogo, 39a, Chitinskaya
meditsinskaya akademiya, patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

**Kayukova Elena Vladimirovna (RU),
Tereshkov Pavel Petrovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya Chitinskaya gosudarstvennaya
meditsinskaya akademiya Ministerstva
zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR DIAGNOSIS OF CERVICAL CANCER**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to a method for diagnosis of cervical cancer involving determination of saturated fatty acids with odd number of carbon atoms – nonadecanoic (C_{19:0}). Method is characterized by additionally determining content of odd saturated (pentadecanoic (C_{15:0}), heptadecanoic (C_{17:0})) and unsaturated (heptadecanoic (C_{17:1}), pentadecanoic (C_{15:1})) fatty acids and calculating diagnostic coefficient K by formula

$$K = \frac{C_{15:1} + C_{17:1}}{C_{15:0} + C_{17:0} + C_{19:0}},$$

where C_{15:1} is content of pentadecanoic acid, C_{17:1} – content of heptadecanoic acid; C_{15:0} – content of pentadecanoic acid, C_{17:0} – content of heptadecanoic acid, C_{19:0} – content of nonadecanoic acid, and if K is less than 0.3, cervical cancer is diagnosed.

EFFECT: effectiveness of the proposed diagnostic technique is determined by its high accuracy and specificity.

1 cl, 1 tbl, 3 ex

Изобретение относится к области медицины, а именно к онкологии и гинекологии, и может быть использовано для диагностики рака шейки матки.

Рак шейки матки (РШМ) является одной из самых частых злокачественных опухолей у женщин. На долю этой опухоли приходится около 5% среди всех злокачественных новообразований у женщин в России, что соответствует более 17 тыс. новых случаев заболевших ежегодно [1]. При этом согласно эпидемиологическим данным А.Д. Каприна и соавт. (2017) в России в 2018 г. 32,6% первичных случаев РШМ были диагностированы в запущенных стадиях, несмотря на проводимый скрининг среди населения [1]. Имеющиеся диагностические программы РШМ несовершенны: отсутствие специфических макроскопических признаков рака, несмотря на визуальную локализацию; ошибки кольпоскопической диагностики, расхождения макроскопического, цитологического и морфологического заключений [2].

Известен способ диагностики рака шейки матки у женщин с выявленной цервикальной дисплазией по данным онкоцитологии путем определения экспрессии мРНК гена *c-fos* относительно ТАТА-связывающего белка (ТВР) с использованием количественной ПЦР из фрагмента ткани шейки матки. [3]. Рак шейки матки диагностируют при отношении уровня экспрессии мРНК гена *c-fos* к мРНК ТВР от 148 отн. ед и более. Однако данный способ не может быть использован как метод первичной диагностики рака шейки матки т.к. используется для диагностики рака у женщин с уже имеющейся патологией шейки матки.

Известен способ диагностики неинвазивного рака шейки матки путем измерения микроциркуляции в шейки матки методом лазерной доплеровской флоуметрии, основанный на фиксации несколько параметров: показатель микроциркуляции, амплитуда колебаний кровотока, рассчитывают среднее арифметическое (M) и среднее квадратичное (σ) отклонение для первого и второго показателей соответственно, коэффициент вариации (K_v), измеряют показатели нейрогенного (НТ) и миогенного тонуса (МТ), показатель шунтирования (ПШ). [4]. По установленным цифровым значениям определяют степень диспластических изменений цервикального эпителия. При значении M - 28,06 пф. ед, σ - 24,42, K_v - 94,15%, МТ - 2,56 Гц и ПШ - 0,99 Гц диагностируют рак шейки матки *in situ*. Безусловным достоинством этого метода является неинвазивность, а недостатком - невозможность диагностики инвазивного рака шейки матки.

Известен способ диагностики рака шейки матки, взятый в качестве прототипа, основанный на детекции жирной кислоты $C_{19:0}$ в суспензии клеток, полученной из биоптата шейки матки. Содержание $C_{19:0}$ выше 3,53% указывает на наличие рака шейки матки [5]. Недостатком этого метода является невысокая специфичность, так как уровень данной кислоты может измениться при других онкологических заболеваниях, а также при неопухоловой патологии [6].

Для повышения специфичности способа в биоптате шейки матки определяют содержание пентадекаеновой ($C_{15:1}$), гептадеканоеновой ($C_{17:1}$), пентадекановой ($C_{15:0}$), гептадекановой ($C_{17:0}$) и нонадекановой ($C_{19:0}$) кислот и рассчитывают коэффициент K по формуле

$$K = \frac{C_{15:1} + C_{17:1}}{C_{15:0} + C_{17:0} + C_{19:0}},$$

где: $C_{15:1}$ - содержание пентадекаеновой кислоты, $C_{17:1}$ - содержание гептадеканоеновой; $C_{15:0}$ - содержание пентадекановой, $C_{17:0}$ - содержание

гептадекановой, $C_{19:0}$ - содержание нонадекановой кислот и при значении K менее 0,3 диагностируют рак шейки матки.

Способ осуществляют следующим образом:

У женщин производят забор биоптата макроскопически измененного участка шейки матки или, при его отсутствии, из зоны стыка эпителиев. Из биоптата шейки матки получают суспензию клеток путем измельчения и гомогенизации с использованием набора реагентов для диссоциации опухолей. Полученную суспензию клеток фильтруют, отмывают в среде RPMI-1640 с добавлением 10% телячьей сыворотки и стандартного набора антибиотиков. Далее липиды экстрагируют методом J. Folch [8]. Анализируют жирно-кислотный спектр на газо-жидкостном хроматографе, определяют содержание пентадекановой ($C_{15:1}$), гептадекановой ($C_{17:1}$), пентадекановой ($C_{15:0}$), гептадекановой ($C_{17:0}$) и нонадекановой ($C_{19:0}$) кислот и рассчитывают коэффициент K по формуле

$$K = \frac{C_{15:1} + C_{17:1}}{C_{15:0} + C_{17:0} + C_{19:0}},$$

где: $C_{15:1}$ - содержание пентадекановой кислоты, $C_{17:1}$ - содержание гептадекановой кислоты; $C_{15:0}$ - содержание пентадекановой кислоты, $C_{17:0}$ - содержание гептадекановой кислоты, $C_{19:0}$ - содержание нонадекановой кислоты.

При K менее 0,3 диагностируют рак шейки матки.

Для расчета диагностического коэффициента были использованы показатели содержания насыщенных и ненасыщенных жирных кислот с нечетным числом атомов углерода, поскольку известно, что опухолевой ткани шейки матки присущ атипичный метаболизм высших жирных кислот с образованием нечетных аналогов, а также установлено наличие корреляционных связей между последними и некоторыми биологическими процессами в раковых клетках (пролиферация, дестабилизация фаз клеточного цикла, апоптоз, регуляция иммунного ответа) [7].

Примеры конкретного применения способа.

ПРИМЕР №1.

Больная К., 26 лет, направлена в онкологический диспансер с подозрением на рак шейки матки. На момент осмотра состояние удовлетворительное. Локально: наружные половые органы развиты правильно, оволосение по женскому типу, влагалище рожавшей. Шейка матки гиперемирована, полностью не выводится. Матка, придатки не пальпируются. Инфильтратов в параметриях нет. Слизистая прямой кишки подвижная. По результатам онкоцитологии цервикального соскоба - клетки HSIL, гистологического исследования биоптата шейки матки - некроз отдельных фрагментов эпителия, элементы соединительной ткани, эпителиальных элементов нет. Выполнена ребиопсия шейки матки. Описанным выше способом проведен анализ жирнокислотного спектра биоптата шейки матки. $C_{15:1}=0,64\%$; $C_{17:1}=1,23\%$; $C_{15:0}=1,55\%$; $C_{17:0}=3,12\%$; $C_{19:0}=2,35\%$. Рассчитан коэффициент K

$$K = \frac{0,64 + 1,23}{1,55 + 3,12 + 2,35} = 0,26$$

Выставлен диагноз рак шейки матки, который был подтвержден морфологически.

Больная направлена на хирургическое лечение в профильное отделение онкодиспансера.

ПРИМЕР №2.

Больная П., 30 лет, направлена в онкологический диспансер с подозрением на рак шейки матки. На момент осмотра состояние удовлетворительное. Локально: наружные

половые органы развиты правильно, оволосение по женскому типу, влагалище рожавшей. Шейка матки рубцово деформирована, кровоточит. Матка, придатки не пальпируются. Инфильтратов в параметриях нет. Слизистая прямой кишки подвижная. Выполнена биопсия шейки матки. Проведен анализ жирнокислотного спектра биоптата шейки матки. $C_{15:1}=2,94\%$; $C_{17:1}=1,09\%$; $C_{15:0}=2,02\%$; $C_{17:0}=3,47\%$; $C_{19:0}=0\%$. Коэффициент $k=0,7$, что соответствует неопухоловому заболеванию шейки матки. По результатам гистологического исследования биоптата выставлен диагноз цервикальная интраэпителиальная неоплазия I степени. Рак шейки матки исключен. Больная направлена на лечение к гинекологу по месту жительства.

10 ПРИМЕР №3.

Больная З., 28 лет, на момент осмотра состояние удовлетворительное. Локально: наружные половые органы развиты правильно, оволосение по женскому типу, влагалище рожавшей. Шейка матки гиперемирована в области наружного зева, кровоточит. Матка, придатки не пальпируются. Инфильтратов в параметриях нет. Слизистая прямой кишки подвижная. Проведен анализ жирнокислотного спектра биоптата шейки матки. $C_{15:1}=0,66\%$; $C_{17:1}=0,57\%$; $C_{15:0}=1,73\%$; $C_{17:0}=3,31\%$; $C_{19:0}=3,83\%$. Коэффициент $k=0,13$. Выставлен диагноз рак шейки матки. Больная направлена в онкодиспансер, где после дообследования и морфологической верификации выставлен диагноз рак шейки матки. Больная направлена на хирургическое лечение.

20 Данным способом были обследованы 60 женщин, направленных в Забайкальский краевой онкологический диспансер с подозрением на рак шейки матки, из них у 28 - был выставлен диагноз рак шейки матки, подтвержденный морфологически, у 32 - неопухоловая патология шейки матки (хронический цервицит, цервикальная интраэпителиальная неоплазия I-II степени, лейкоплакия).

25 Таблица – Значения диагностического коэффициента, k у обследованных лиц

30 нозология	количество обследованных лиц	коэффициент k , Me (25-й; 75-й перцентили	диагностический уровень коэффициента k
рак шейки матки	$n=28$	0,16*# [0,14; 0,17]	менее 0,3*#
35 неопухоловые заболевания шейки матки	$n=32$	0,72* [0,48; 0,71]	от 0,3 до 0,8*
контроль (здоровые люди)	$n=15$	0,88 [0,83; 0,93]	свыше 0,8

* уровень значимости различий между значениями клинических групп и контролем, $p \leq 0,05$

уровень значимости различий между значениями клинических групп, $p \leq 0,05$

45 Образцы контрольной группы были взяты у 15 гинекологически здоровых женщин-добровольцев, ознакомленных с дизайном исследования и давших информированное согласие на участие в нем.

Специфичность составила 89,2%, чувствительность - 93,8%, точность - 92%.

Список литературы

- 1) Каприн АД, Старинский ВВ, Петрова ГВ Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году. Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 236 с.
- 5 2) Патент №2601672, Российская Федерация, МПК А61В 18/12, А61В 18/14. Способ проведения биопсии шейки матки у больных с патологией шейки матки / А.Н. Окушко, А.Ю. Шиляев, В.Н. Прилепская, Г.Р. Байрамова; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение "Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова" Министерства
- 10 здравоохранения Российской Федерации. - 2015122373/14; заявл.: 11.06.2015; опубл. 10.11.2016.
- 3) Патент №2538618, Российская Федерация, МПК G01N 33/50. Способ дифференциальной диагностики цервикальных дисплазий и рака шейки матки / Т.О. Волкова, О.В. Курмышкина, И.Е. Бахлаев, П.И. Ковчур, А.Н. Полторак; заявитель и
- 15 патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Петрозаводский государственный университет". - 2012157453/15; заявл.: 26.12.2012; опубл. 10.01.2015.
- 4) Патент №2662709, Российская Федерация, МПК А61В 8/06. Способ диагностики дисплазий и рака шейки матки у женщин репродуктивного возраста / П.М. Джалалова,
- 20 Н.П. Лапочкина; заявитель и патентообладатель Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Ивановская государственная медицинская академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации. - 2016125629; заявл.: 27.06.2016; опубл. 26.07.2018.
- 5) Каюкова Е., Белокриницкая Т.Е., Шолохов Л.Ф., Терешков П.П. Статус высших
- 25 жирных кислот клеток экзоцервикса при дис- и неопластической трансформации. Фундаментальная и клиническая медицина. 2018, 3(3). - С. 35-44.
- 6) Патент №93053778/14, Российская Федерация, МПК G01N 33/487. Способ диагностики рака легкого / Б.С. Хышиктуев, Н.А. Хышиктуева Н.А.; заявитель и патентообладатель Б.С. Хышиктуев, Н.А. Хышиктуева Н.А.. - 93053778/14; заявл.:
- 30 29.11.1993; опубл. 27.08.1997.
- 7) Каюкова Е.В., Белокриницкая Т.Е., Терешков П.П. Влияние пропионата на спектр высших жирных кислот в клетках шейки матки при дис- и неопластической трансформации. Успехи молекулярной онкологии. 2018; 5(2):31-41.
- 8) Folch, J., Less M., Sloane-Stanley A.G.H. A symple method for the isolation and purification
- 35 of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 1957, Vol. 226 (1). - P. 497-509.

(57) Формула изобретения

Способ диагностики рака шейки матки, включающий определение насыщенной жирной кислот с нечетным числом атомов углерода - нонадекановой (C_{19:0}),

40 отличающийся тем, что дополнительно определяют содержания нечетных насыщенных (пентадекановой (C_{15:0}), гептадекановой (C_{17:0})) и ненасыщенных (гептадеканоеновой (C_{17:1}, пентадекаеновой (C_{15:1})) жирных кислот и рассчитывают диагностический коэффициент К по формуле

$$45 \quad K = \frac{C_{15:1} + C_{17:1}}{C_{15:0} + C_{17:0} + C_{19:0}},$$

где C_{15:1} - содержание пентадекаеновой кислоты, C_{17:1} - содержание гептадеканоеновой кислоты; C_{15:0} - содержание пентадекановой кислоты, C_{17:0} -

содержание гептадекановой кислоты, $C_{19:0}$ - содержание нонадекановой кислоты, и при значении K менее 0,3 диагностируют рак шейки матки.

5

10

15

20

25

30

35

40

45