



MD 3717 G2 2008.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3717** (13) **G2**

(51) Int. Cl.: *A61B 10/00* (2006.01)

C12Q 1/00 (2006.01)

C12Q 1/26 (2006.01)

C12Q 1/32 (2006.01)

C12Q 1/48 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: a 2008 0082 (22) Data depozit: 2008.03.21	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.10.31, BOPI nr. 10/2008
(71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (72) Inventatori: GAVRILIUC Ludmila, MD; GODOROJA Nadejda, MD; BOTNARIUC Natalia, MD; VARTICIAN Ana, MD (73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD (74) Reprezentant: VOZIANU Maria	

(54) Metodă de diagnostic diferențiat al tumorilor glandei mamare

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la medicină, și anume la
biochimia clinică și poate fi utilizată pentru diagnos-
ticarea diferențiată a hiperplaziilor dishormonale și
a cancerului glandei mamare.

Esența invenției constă în aceea că se determină
conținutul glutatoniului redus (GSH), activitatea
glutathion-S-transferazei (GST), glutathionreductazei
(GR), gama-glutamyltranspeptidazei (GGT) și
glucozo-6-fosfatdehidrogenazei (G6PDH) în plasma
sângelui și în salivă, se calculează raporturile
GR/G6PDH, GR/GST, GR/GGT și GR/GSH și în
cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH
de la 1,89 la 2,94; GR/GST de la 0,41 la 0,54;
GR/GGT de la 4,83 la 8,70; GR/GSH de la 333,0 la

2

5

10

15

454,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 1,41 la 2,21;
GR/GST de la 0,34 la 0,42; GR/GGT de la 1,62 la
2,59; GR/GSH de la 613,0 la 663,2 se
diagnostichează hiperplazie dishormonală a glandei
mamare, iar în cazul în care în plasmă se determină:
GR/G6PDH de la 0,84 la 1,89; GR/GST de la 0,29
la 0,41; GR/GGT de la 0,96 la 4,83; GR/GSH de la
212,0 la 333,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 0,61
la 1,41; GR/GST de la 0,26 la 0,34; GR/GGT de la
0,65 la 1,62; GR/GSH de la 562,8 la 613,0 se
diagnostichează cancer al glandei mamare.

Revendicări: 1

MD 3717 G2 2008.10.31

Descriere:

Invenția se referă la medicină, și anume la biochimia clinică și poate fi utilizată pentru diagnosticarea diferențiată a hiperplaziilor dishormonale și a cancerului glandei mamare.

5 Este cunoscută metoda de determinare a proteinelor-oncomarkeri c-erb2 și CA 15-3 în saliva pacientelor cu tumori benigne și tumori maligne ale glandei mamare. Conținutul proteinelor c-erb2 și CA 15-3 în saliva pacientelor cu cancer al glandei mamare determinat prin metoda dată a fost considerabil mai înalt în comparație cu indicii la pacientele cu tumori benigne ale glandei mamare și cu indicii persoanelor sănătoase [1].

10 Metoda cunoscută are următoarele neajunsuri: este mai puțin sensibilă și specifică pentru diagnosticul tumorilor glandei mamare - tumori benigne și tumori maligne; proteinele c-erb2 și CA 15-3 au fost determinate în saliva pacienților cu tumori ovariene, pulmonare și cu tumori ale mucoasei cavității bucale.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în elaborarea unei metode noi, înalt sensibile, neinvazive a diagnosticului diferențiat al tumorilor glandei mamare.

15 Esența invenției constă în aceea că se determină conținutul glutatoniului redus (GSH), activitatea glutatoni-S-transferazei (GST), glutatonioreductazei (GR), gama-glutamiltanspeptidazei (GGT) și glucozo-6-fosfatdehidrogenazei (G6PDH) în plasma sângelui și în salivă, se calculează raporturile GR/G6PDH, GR/GST, GR/GGT și GR/GSH și în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 1,89 la 2,94; GR/GST de la 0,41 la 0,54; GR/GGT de la 4,83 la 8,70; GR/GSH de la 333,0 la 454,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 1,41 la 2,21; GR/GST de la 0,34 la 0,42; GR/GGT de la 1,62 la 2,59; GR/GSH de la 613,0 la 663,2 se diagnostichează hiperplazie dishormonală a glandei mamare, iar în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 0,84 la 1,89; GR/GST de la 0,29 la 0,41; GR/GGT de la 0,96 la 4,83; GR/GSH de la 212,0 la 333,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 0,61 la 1,41; GR/GST de la 0,26 la 0,34; GR/GGT de la 0,65 la 1,62; GR/GSH de la 562,8 la 613,0 se diagnostichează cancer al glandei mamare.

25 Problema se soluționează prin aceea că în calitate de parametri ce reflectă caracteristica clinică a procesului patologic și gradul de proliferare, nivelul statutului antioxidant, se cercetează glutatoniul redus (GSH), factorul de creștere și de diferențiere al celulelor, enzimele antioxidante: glutatonioreductaza (GR), glutatoni-S-transferaza (GST), gama-glutamiltanspeptidaza (GGT), glucozo-6-fosfatdehidrogenaza (G6PDH). Cercetarea raporturilor lor GR/G6PDH, GR/GST, GR/GGT și GR/GSH la pacientele cu hiperplazii dishormonale și cu cancer ale glandei mamare în sânge și salivă în comparație cu raporturile parametrilor persoanelor sănătoase (grupa de control) permite de a stabili corelația dintre caracteristica clinică a procesului patologic, gradul de proliferare și atipie și gradul devierilor statutului antioxidant. Analiza comparativă a coeficienților obținuți permite de a efectua diagnosticul diferențiat al tumorilor maligne și benigne ale glandei mamare în baza devierilor coeficienților statutului antioxidant și în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 1,89 la 2,94; GR/GST de la 0,41 la 0,54; GR/GGT de la 4,83 la 8,70; GR/GSH de la 333,0 la 454,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 1,41 la 2,21; GR/GST de la 0,34 la 0,42; GR/GGT de la 1,62 la 2,59; GR/GSH de la 613,0 la 663,2 se diagnostichează hiperplazie dishormonală a glandei mamare, iar în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 0,84 la 1,89; GR/GST de la 0,29 la 0,41; GR/GGT de la 0,96 la 4,83; GR/GSH de la 212,0 la 333,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 0,61 la 1,41; GR/GST de la 0,26 la 0,34; GR/GGT de la 0,65 la 1,62; GR/GSH de la 562,8 la 613,0 se diagnostichează cancer al glandei mamare.

45 Rezultatul constă în faptul că metoda neinvazivă propusă permite efectuarea mai precisă a diagnosticului diferențiat al tumorilor maligne și benigne ale glandei mamare.

50 Metoda propusă se efectuează în următorul mod: pentru cercetarea parametrilor statutului antioxidant în plasma sângelui și în saliva pacientelor cu tumori maligne și benigne ale glandei mamare dimineața se colectează din venă câte 5 ml de sânge cu anticoagulant și câte 1 ml de salivă. Sângele și saliva se centrifughează timp de 10 min. Lichidul supernatant se utilizează pentru determinarea conținutului GSH și a activității GR, GST, GGT, G6PDH prin metoda spectrofotometrică cu ajutorul SP „Humalyzer 2000” (DE). Nivelul activității enzimelor în plasmă și salivă și raporturile lor permit depistarea diferențelor esențiale între indicii ce reflectă gradul statutului antioxidant, ce corelează cu activitatea diferită a procesului patologic, gradul de proliferare și atipie a hiperplaziilor dishormonale și cancerului glandei mamare.

55 În așa mod, generalizând rezultatele obținute și efectuând prelucrarea statistică se face următoarea concluzie: la pacientele cu hiperplazii dishormonale ale glandei mamare valorile coeficienților, ce reflectă raporturile parametrilor statutului antioxidant în plasmă și în salivă au fost considerabil mai înalte, în comparație cu indicii pacientelor cu cancer al glandei mamare. Deosebit de evidentă este cercetarea raporturilor enzimelor, ce reflectă predominarea GR – unica enzimă ce reduce glutatoniul

MD 3717 G2 2008.10.31

4

oxidat (GSSG) în forma lui redusă (GSH), fiind un antioxidant hidrosolubil important, și factorul pentru creșterea și diferențierea celulelor.

Rezultatele obținute sunt: în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 1,89 la 2,94; GR/GST de la 0,41 la 0,54; GR/GGT de la 4,83 la 8,70; GR/GSH de la 333,0 la 454,0; iar în salivă: 5 GR/G6PDH de la 1,41 la 2,21; GR/GST de la 0,34 la 0,42; GR/GGT de la 1,62 la 2,59; GR/GSH de la 613,0 la 663,2 se diagnostichează hiperplazie dishormonală a glandei mamare, iar în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 0,84 la 1,89; GR/GST de la 0,29 la 0,41; GR/GGT de la 0,96 la 4,83; GR/GSH de la 212,0 la 333,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 0,61 la 1,41; GR/GST de la 0,26 la 0,34; GR/GGT de la 0,65 la 1,62; GR/GSH de la 562,8 la 613,0 se diagnostichează cancer 10 al glandei mamare.

Ținând cont de sensibilitatea înaltă a metodelor enzimactice, importanța primordială a anti-oxidantului – glutatationului și enzimelor lui, ce formează sistemul fermentativ redox al glutatationului, ca lanț de bază în sistemul antioxidant (SAO) de apărare, cercetarea activității enzimelor glutatationdependente GR, GST, GGT, G6PDH permite evaluarea gradului de proliferare și atipie a 15 procesului patologic în glanda mamară la paciențele cu hiperplazie dishormonală și cancer al glandei mamare.

Exemplul 1

Pacienta C., 57 ani. Pentru determinarea activității GR, GST, GGT, G6PDH și a conținutului GSH în saliva pacientei cu tumoare a glandei mamare dimineața s-a colectat 1 ml de salivă, s-a 20 centrifugat timp de 10 min. În lichidul supernatant s-a determinat conținutul GSH și activitatea GR, GST, GGT, G6PDH prin metoda spectrofotometrică cu ajutorul SP „Humalyzer 2000” (DE). Rezultatele obținute se folosesc pentru calcularea raporturilor: GR/G6PDH = 1,50, GR/GST = 0,384, GR/GGT = 2,10, GR/GSH = 638,1. Analiza comparativă a acestor date cu valorile raporturilor corespunzătoare în saliva femeilor sănătoase a depistat predominarea GR asupra GST și GSH în 25 saliva pacientei. Raporturile GR/G6PDH și GR/GGT în salivă sunt mai mici în comparație cu indicii persoanelor sănătoase. Rezultatul investigației morfopatologice № 16994 – fibroadenomatoză.

Exemplul 2

Pacienta L., 43 ani. Determinarea activității enzimelor și a conținutului glutatationului în saliva pacientei și calcularea raporturilor lor s-au efectuat analogic, obținându-se următoarele date: 30 GR/G6PDH = 1,007, GR/GST = 0,337, GR/GGT = 0,77, GR/GSH = 587,9. Rezultatele obținute demonstrează predominarea nivelului GR asupra GST și GSH în saliva pacientei și micșorarea coeficienților GR/G6PDH și GR/GGT în saliva pacientei în comparație cu persoanele sănătoase. Investigația citologică a frotiului din punctatul tumorii n-a permis stabilirea diagnosticului, de aceea i s-a efectuat rezecție sectorală cu morfopatologie urgentă (№.4825- Cancer ductal de tip cribriform, 35 forma infiltrativă pe fon de fibroadenomatoză, fără metastaze în ganglionii limfatici), după care s-a stabilit diagnosticul de cancer al glandei mamare (CGM).

Utilizarea metodei date, aprobate la Catedra Biochimie Clinică a USMF „Nicolae Testemițanu” și Laboratorul Mamologie a Institutului Oncologic RM, permite evaluarea caracteristicilor clinice ale 40 procesului patologic și a gradului de proliferare și atipie, ce reprezintă un criteriu suplimentar precis, neinvaziv în diagnosticul diferențiat al tumorilor benigne și maligne ale glandei mamare.

(57) Revendicări:

Metodă de diagnostic diferențiat al tumorilor glandei mamare, ce include determinarea conținutului glutatationului redus (GSH) și a activității glutatation-S-transferazei (GST) în plasma sangelui pacientelor, **caracterizată prin aceea că** suplimentar se determină conținutul glutatationului redus și activitatea glutatation-S-transferazei în salivă, se determină activitatea glutatationreductazei (GR), gama-glutamyltranspeptidazei (GGT) și glucozo-6-fosfatdehidrogenazei (G6PDH) în plasma sangelui și în salivă, se calculează raporturile GR/G6PDH, GR/GST, GR/GGT și GR/GSH și în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 1,89 la 2,94; GR/GST de la 0,41 la 0,54; GR/GGT de la 4,83 la 8,70; GR/GSH de la 333,0 la 454,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 1,41 la 2,21; GR/GST de la 0,34 la 0,42; GR/GGT de la 1,62 la 2,59; GR/GSH de la 613,0 la 663,2 se diagnostichează hiperplazie dishormonală a glandei mamare, iar în cazul în care în plasmă se determină: GR/G6PDH de la 0,84 la 1,89; GR/GST de la 0,29 la 0,41; GR/GGT de la 0,96 la 4,83; GR/GSH de la 212,0 la 333,0; iar în salivă: GR/G6PDH de la 0,61 la 1,41; GR/GST de la 0,26 la 0,34; GR/GGT de la 0,65 la 1,62; GR/GSH de la 562,8 la 613,0 se diagnostichează cancer al glandei mamare.

20

(56) Referințe bibliografice:

1. Kumaraguruparan R., Subapriya R., Kabalimoorthy J., Nagini S. Antioxidant profile in the circulation of patients with fibroadenoma and adenocarcinoma of the breast. Clin. Biochem., 2002, 35(4), p. 275-279

Director adjunct Departament:

GUȘAN Ala

Examinator:

GROSU Petru

Redactor:

LOZOVANU Maria

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: a 2008 0082		
(22) Data depozit: 2008.03.21		
(51) : Int.Cl: A61B 10/00 (2006.01) C12Q 1/00 (2006.01) C12Q 1/26 (2006.01) C12Q 1/32 (2006.01) C12Q 1/48 (2006.01) G01N 33/48 (2006.01) Alți indici de clasificare: Titlul : Metodă de diagnostic diferențiat al tumorilor glandei mamare (71) Solicitantul : UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "NICOLAE TESTEMIȚANU" DIN REPUBLICA MOLDOVA, MD Termeni caracteristici : cancer mamar, displazie dishormonală		
I. Minimul de documente consultate (sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.		
(MD, EA, SU, inclusiv și colecția „nepublică”) MD 1994-2008 EA 1995-2008 SU 1970-1991		
II. Documente considerate ca relevante		
Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate și indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	SU 919178A1 07.02.1988	1
A	SU 1114004A1 07.06.1988	1
A	SU 683049A1 30.11.1982	1
A	SU 873504A1 30.04.1982	1
A	SU 1349498A1 30.08.1991	1
A	1. Kumaraguruparan R., Subapriya R., Kabalimoorthy J., Nagini S. Antioxidant profile in the circulation of patients with fibroadenoma and adenocarcinoma of the breast. Clin. Biochem., 2002, 35(4), p. 275-279.	1
☐ Documentele următoare sunt indicate în continuare a rubricii II		☐ Informația referitoare la brevete paralele se anexează
* categoriile speciale ale documentelor consultate:		P - document publicat înainte de data de depozit dar după data priorității invocate
A - document care definește stadiul anterior general		T - document publicat după data de depozit sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria care conține baza invenției
E - document anterior dar publicat la data de depozit național reglementar sau după aceasta data		X - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă
L - document care poate pune în discuție data priorității invocate, poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres (se va indica motivul)		Y - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă cand documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă		& - document care face parte din aceeași familie de documente
Data finalizării documentării		2008-08-07
Examinatorul		Grosu Petru