



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. cerere: **a 2020 00253**

(22) Data de depozit: **13/05/2020**

(41) Data publicării cererii:
30/10/2020 BOPI nr. **10/2020**

(71) Solicitant:
• **INSTITUTUL ONCOLOGIC "PROF.DR.
ION CHIRICUȚĂ" DIN CLUJ-NAPOCA,
STR.REPUBLICII NR.34-36,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(72) Inventatori:
• **PILECKI VALENTINA, STR.HUEDINULUI,
NR.5, AP.5, CLUJ- NAPOCA, CJ, RO;**

• **BALDASICI OANA ALEXA,
STR. ABATORULUI, NR.28,
COMUNA FLOREȘTI, CJ, RO;**
• **BALACESCU LOREDANA OFELIA,
STR.PASTEUR, NR.59, AP.38,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **BALACESCU OVIDIU DANIEL,
STR.PASTEUR, NR.59, AP.38,
CLUJ- NAPOCA, CJ, RO;**
• **TUDORAN OANA MIHAELA,
STR. PROF.I.RUS, NR.52E,
COMUNA FLOREȘTI, CJ, RO**

(54) **METODA RAȚIONALĂ DE SCREENING DE COMPUȘI
CAPABILI SĂ ȚINTEASCĂ FENOTIPUL INVAZIV
AL CELULELOR TUMORALE IZOLATE DE LA PACIENTE
CU CANCER MAMAR**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă rațională de screening de compuși capabili să țintească fenotipul invaziv al celulelor tumorale izolate de la pacienți cu cancer mamar. Metoda, conform invenției, constă în determinarea fenotipului invaziv tumoral specific fiecărei paciente prin utilizarea de dispozitive microfluidice cu canale de 10...12 micrometri, indentificarea semnăturii transcriptomice asociate fenotipului, care este utilizată

pentru interogarea unor soft-uri de predicție moleculară pentru identificarea rațională a unui set de compuși capabili să moduleze fenotipul migrator al celulelor tumorale izolate de la pacienți cu cancer mamar.

Revendicări: 5
Figuri: 4



DESCRIEREA INVENȚIEI

Cancerul mamar este principala cauză de deces în rândul populației feminine, fiind o boală extrem de heterogenă din punct de vedere histologic, molecular și clinic. Deși schemele terapeutice utilizate în prezent iau în considerare multipli factori prognostici, precum numărul de ganglioni afectați, dimensiunea tumorală, gradul histologic și statusul receptorilor hormonal, datele epidemiologice arată că răspunsul la terapie este unul foarte variat, iar numărul pacienților care prezintă rezistență la terapie este în creștere. Date recente arată că diversitatea morfologică și moleculară a celulelor tumorale mamare [1], însoțită de o plasticitate dinamică a micromediului tumoral [2] precum și prezența unor populații de celule stem tumorale (stem-like) [3], face dificilă încadrarea și clasificarea tumorilor mamare din punct de vedere al agresivității sau al răspunsului la terapie [4], stabilirea unui regim terapeutic adecvat reprezintă o provocare majoră. Toate aceste aspecte evidențiază nevoia unor metode preclinice de screening care să poată predicționa răspunsul clinic al pacienților cu cancer mamar. Posibilitatea testării susceptibilității tumorale individuale la diferiți compuși în funcție de un anumit fenotip tumoral constituie o metodă de testare foarte valoroasă și utilă pentru avansarea conceptului de terapie personalizată, deoarece reflectă mult mai precis caracteristicile tumorale individuale ale fiecărei paciente [5].

Prezenta invenție se referă la o metodă rațională de screening de compuși capabili să moduleze fenotipul invaziv al celulelor tumorale izolate de la pacienți cu cancer mamar. Metoda presupune integrarea unor analize de biologie moleculară și bioinformatică de înaltă finețe cu utilizarea unor sisteme microfluidice pentru evaluarea și caracterizarea potențialului invaziv al culturilor primare tumorale de la pacienți cu cancer mamar. Astfel, corelarea semnăturilor genomice cu caracteristicile fenotipice individuale ale fiecărei paciente face posibilă identificarea unor potențiale ținte moleculare implicate în modularea motilității tumorale. Pe baza acestei semnături moleculare, printr-o analiză de predicție moleculară (Ingenuity Pathway Analysis) se selectează o serie de compuși chimici sau biologici cunoscuți a fi implicați în reglarea acestor posibile ținte moleculare, deci implicit în modularea fenotipului invaziv. Efectele compușilor identificați pot fi testate în prealabil pe culturi celulare stabilizate, iar apoi validate pe culturi primare pentru identificarea de terapii personalizate în funcție de fenotipul invaziv.

Noutatea invenției

Elaborarea unui plan de tratament al cancerului mamar este unul complex, ce include scheme terapeutice bazate pe integrarea chirurgiei cu terapii cu citostatice, hormonale, imunologice și/sau radiații. Acest arsenal este în prezent utilizat atât în cazul tumorilor primare, în tratamentele neoadjuvante și adjuvante, cât și în stadiile tumorale metastatice.

În ciuda recentelor avansări în detecția timpurie a cancerului mamar prin mamografie, precum și a disponibilității unor tratamente țintite care au îmbunătățit șansele de supraviețuire a pacienților cu cancer mamar în tarile vestice¹, aproximativ 30% dintre pacienți nu răspund la tratamentele convenționale și recidivează. Deși ratele de recurență locală și sistemică variază, în general, recurențele la distanță sunt dominante, dobândirea unui fenotip migrator fiind o caracteristică prealabilă necesară pentru formarea de metastaze la distanță. Terapiile actuale vizează fie proliferarea celulelor tumorale, fie stimularea răspunsului imun, fără existența unor terapii care să țintească specific invazia tumorală. În acest context, prezenta invenție se

concentrează pe **țintirea preferențială a motilității celulare**, cu scopul de a identifica posibili compuși eficienți în stoparea progresiei și metastazării tumorale ².

Progrese semnificative în înțelegerea și descrierea proceselor de migrare și invazie tumorală au evidențiat faptul că migrarea și invazia celulele tumorale este restricționată spațial de dimensiunea și componenta țesuturilor și a matrixului extracelular străbătute și este ghidată de indici mecanici, precum migrarea preferențială de-a lungul nervilor, fibre de colagen, sistemul limfatic, etc ^{3,4}. Dezvoltarea recentă de tehnologii și modele experimentale noi a făcut posibilă recreerea *ex vivo* a proceselor de invazie tumorală prin spații restricționate mecanic, dintre acestea, de mare interes fiind noile sisteme microfluidice care au permis caracterizarea unor trăsături fundamentale a motilității celulare precum viteza, persistența sau direcționalitatea celulelor individuale ^{5,6}.

În cancerul mamar, stabilirea unei terapii adecvate se realizează atât pe baza caracteristicilor clinice ale pacientelor cât și pe baza caracteristicilor moleculare ale tumorii. Principalii factori de prognostic în cancerul mamar sunt numărul de ganglioni afectați, dimensiunea tumorală, gradul histologic și statusul receptorilor hormonal, primii doi dintre aceștia stând la baza sistemului de stadializare a tumorilor, emis de AJCC (*American Joint Committee in Cancer*). Cu toate acestea, după stabilirea stadiului bolii, a gradului histologic și a statusului receptorilor hormonal, tumora poate evolua impredictibil, iar prognosticul poate să varieze. O serie de alți factori prognostici sunt în prezent studiați cu scopul de a explica acest fenomen, unii mai relevanți decât alții: statusul HER-2/neu, expresia receptorilor din familia factorilor de creștere epitelială, fazele ciclului celular, nivelul de ploidie a ADN-ului, mutațiile genelor p53 și p27, ciclina E, numărul de celule tumorale circulante din sânge sau din măduva osoasă respectiv invazia perineurală și cea limfovaculară⁷. Prin aceasta invenție, propunem **evaluarea fenotipului invaziv al celulelor tumorale izolate din biopsii recoltate de la pacienți cu cancer de sân ca și un posibil marker adițional de prognostic în cancerul mamar**. Pentru aceasta se **utilizează dispozitive microfluidice cu canale de 10-12 μm** ⁵ pentru recreerea *ex vivo* a procesului de invazie tumorală prin spații restricționate mecanic. Prezența invenției contribuie în primul rând la înțelegerea distribuției și a relevanței clinice a evaluării fenotipului migrator la pacienții cu cancer mamar, iar în al doilea rând la conturarea posibilității utilizării acestui fenotip ca și markeri în diagnosticul și prognosticul cancerului de sân.

Provocarea majoră în dezvoltarea de noi terapii țintite este selectarea căilor de semnalizare de interes. Pană în prezent, terapiile țintite, au fost identificate fie prin screeningul a zeci de mii de medicamente, fie prin țintirea unor căi de semnalizare cheie cunoscute a fi dereglate în diferite procese tumorale. Totuși, ambele metode prezintă dezavantaje majore: prima metodă este laborioasă, costisitoare și necesită mult timp, în timp ce a doua implică strategii care țintesc nu doar celulele tumorale, ci și celulele normale. Deoarece majoritatea compușilor disponibili țintesc căi celulare vitale pentru dezvoltare (Notch, Wnt, Hedgehog) ⁸, aplicabilitatea clinică a acestora este limitată datorită unor posibile efecte secundare importante asupra funcționalității normale a organelor. Din aceste motive, o cercetare fundamentală detaliată care să preceadă studiile clinice este esențială pentru identificarea de terapii țintite specifice. În acest context, în această invenție propunem un **screening rațional pentru identificarea acelor compuși capabili să țintească motilitatea tumorală conform fenotipului tumoral invaziv/migrator specific al fiecărei paciente**. Această abordare

presupune în prealabil caracterizarea semnăturii transcriptomice asociate cu fenotipul invaziv prin compararea transcriptomului în biopsiile recoltate de la un grup de paciente evaluate cu fenotip migrator crescut cu transcriptomul biopsiilor recoltate de la paciente catalogate cu fenotip migrator scăzut. Pe baza semnăturii genice diferit exprimate între cele grupuri, prin utilizarea unor softuri de predicție se pot identifica acei compuși ce pot acționa asupra genelor de interes pentru fenotipul migrator crescut.

Datorită faptului că procesul de descoperire, studiere și aprobare clinică a unui medicament nou este unul foarte lung și costisitor, în ultima perioadă, cercetătorii revizuiesc terapii vechi care sunt utilizate în mod curent în tratamentul altor patologii, a căror mecanisme de acțiune la nivel molecular sunt cunoscute. Prin considerarea doar a acelor terapii aprobate clinic, se poate scurta considerabil timpul necesar translaționării datelor fundamentale în trialuri clinice. Testarea în prealabil a compușilor selectați pe linii tumorale stabilizate poate restrânge lista de compuși cu potențial semnificativ în modularea fenotipului migrator.

Pentru a recrea comportamentul tumorilor parentale, inclusiv agresivitatea și potențialul invaziv al acestora, terapiile care au dat cele mai bune rezultate trebuie testate pe celule izolate de la pacientele introduse în studiu. Prin combinarea identificării raționale de terapii țintite cu testarea invazivității tumorale prin tehnologii microfluidice ⁹ aceasta metoda face posibilă identificarea pacientelor la care există probabilitatea cea mai ridicată ca terapia bazată pe țintirea invaziei să fie benefică, dar și medicamentele cele mai eficiente pentru fiecare pacientă în parte.

Tratamentele convenționale sunt toxice atât pentru celulele tumorale cât și cele normale producând multe efecte secundare severe. În unele cazuri, severitatea acestor efecte secundare împiedică pacienții să primească doze suficient de mari pentru a lupta eficient cu cancerul, sau pacienți prezintă rezistență intrinsecă, tratamentul acestora eșuând în mod constant ¹⁰. Metodele de screening prealabil, precum teste celulare de screening, ar putea identifica cele mai potrivite tratamente pentru fiecare pacient, limitând astfel riscul de supratratament, iar terapiile țintite ar induce mai puține efecte negative comparativ cu chimioterapia convențională. Proprietățile intrinseci ale fenotipului tumoral invaziv cresc predispoziția la recidivă în timpul terapiei clasice; de aceea, terapiile ce țintesc acest fenotip ar diminua capacitatea celulelor tumorale de a disemina, ar eficientiza schemele de tratament rezultând în prognostice îmbunătățite pentru paciente, durată de viață prelungită și mai puține efecte secundare.

Conform protocolului ilustrat în Figura 1, metoda propusă implică mai multe etape secvențiale.

Evaluarea fenotipului invaziv al pacientelor cu cancer mamar

În vederea evaluării fenotipului invaziv, de la fiecare pacientă cu cancer mamar s-au colectat 2 fragmente tumorale (biopsii): un fragment biptic a fost procesat în vederea obținerii unei culturi primare de celule tumorale, iar cel de al doilea fragment a fost stocat în azot lichid până la efectuarea analizei genomice.

Cultura primară de celule tumorale este încărcată în dispozitive microfluidice cu canale liniare de 10-12 x 600 μm (grosime x lungime) și evaluate prin microscopie de tip time lapse din 10 în 10 min pentru un interval de 24 ore. După 24 ore se evaluează numărul total de celule motile (celule care străbat canalul pe toată lungimea), înregistrându-se concomitent și viteza de migrare. În urma evaluării unui număr de 69 de paciente diagnosticate la Institutul Oncologic Cluj-Napoca, s-au determinat 3 fenotipuri migratoare: scăzut (0-10 celule motile), intermediar

(10-20 celule motile) și ridicat (peste 20 celule motile). Deși elucidarea impactului clinic al acestui posibil marker asupra prognosticului necesită eforturi adiționale, analiza datelor clinice pe acest grup de paciente, relevă corelații semnificative între fenotipul migrator, dimensiunea tumorală și stadiul clinic al pacientelor investigate (Tabel 1).

Tabel 1. Corelarea datelor clinice cu fenotipul migrator al pacientelor cu cancer de san

Caracteristici clinice		Fenotip migrator			
		Scăzut (<10 celule)	Intermediar (10-20 celule)	Crescut (>20 celule)	Chi-square
n		32	11	26	69
Grad Nottingham	1	5	0	5	0.5832
	2	18	8	13	
	3	8	3	8	
Receptori de Estrogen	+	27	8	22	0.6408
	-	5	3	4	
Receptori de Progesteron	+	22	9	21	0.4942
	-	10	2	5	
Receptor Her2	+	2	1	1	0.8139
	-	30	10	25	
Ki67	<10	2	0	2	0.187
	10-20	8	7	7	
	>20	21	4	17	
Luminal A		9	5	7	0.722
Luminal B		18	4	15	
Triplu negativ		5	1	3	
Dimensiune tumorală	<50 mm	19	7	8	0.019
	>50 mm	2	2	3	
	Invadat	2	0	8	
Noduli limfatici	0	11	4	3	0.2379
	1	6	3	10	
	>2	6	2	6	
Stadiu clinic	I	2	3	1	0.0465
	II	13	3	6	
	>III	7	3	13	

Identificarea unei semnături transcriptomice asociate cu fenotipul invaziv

În urma încadrării pacientelor în cele 3 grupuri, s-au ales 20 paciente pentru studiul genomic, 10 paciente din grupul cu fenotip migrator crescut și 10 paciente din grupul cu fenotip migrator scăzut. Biopsiile corespunzătoare stocate în azot lichid au fost procesate la nivel de ARN total și analizate din punct de vedere al expresiei genice prin analiza de tip microarray utilizând platforma Agilent. Analiza bioinformatică a identificat o semnătură genică asociată cu un fenotip invaziv ridicat (Fig 2).

Identificarea unui set de compuși posibili modulatori ai fenotipului migrator

Setul de gene diferit exprimate între cele două fenotipuri a fost introdus în softul Ingenuity Pathway Analysis (IPA) și rulat prin modulul „Upstream analysis” identificându-se o listă de 226 posibili compuși chimici și biologici, descriși în literatura de specialitate ca reglatori ai expresiei genelor de interes. Dintre aceștia, s-au selectat un număr de 14 compuși pentru testări subsecvente, în funcție de numărul și nivelul de expresie al genelor reglate de acestea (Tabel 2).

Screeningul compușilor din punct de vedere al potențialului de modulare a fenotipului migrator

Efectul acestor compuși asupra fenotipului invaziv al celulelor tumorale mamare a fost testat în prealabil pe linia celulară MDA-MB-231, una dintre cele mai tumorigene și invazive linii stabilizate de cancer mamar (Fig 3). Studiile de motilitate celulară au evidențiat că tratamentele cu Lenalidomida, Acetat 13-miristat phorbol, Bleomicina, Indometacina, Dietilstilbestrol și Decitabina au efecte inhibitorii asupra vitezei de migrare, iar Deferoxamina, Gefitinibul și Nicotina au efecte stimulatorii. Nu s-au observat efecte semnificative asupra vitezelor de migrare în urma tratamentelor cu Ciclosporina, Dexametazona, Nitrofurantoina, Clorura de Litiu sau Lipopolizaharide.

În vederea identificării celor mai relevante tratamente asupra fenotipului invaziv, compușii cu cele mai pronunțate efecte au fost testate pe un grup de 10 culturi tumorale primare de la paciente cu cancer mamar (Fig 4). Rezultatele obținute confirmă necesitatea unui screening individual pentru fiecare pacientă, heterogenitatea tumorală determinând efecte diferite atât asupra vitezei de migrare a celulelor tumorale cât și asupra numărului de celule migratoare. Astfel s-au observat efecte inhibitorii pentru 5 (BMG 74, 120, 128, 131 și 136) din cele 10 culturi testate, pentru unul sau mai mulți dintre cei 5 compuși testați.

Descriere figuri:

Figura 1. Schema ilustrativă a metodei de screening de compuși capabili să moduleze fenotipul invaziv al celulelor tumorale izolate de la paciente cu cancer mamar

Figura 2. Cluster de diferențiere a genelor diferit exprimate între cele două fenotipuri

Figura 3. Screeningul efectelor compușilor identificați asupra fenotipului invaziv al liniei celulare MDA-MB-231

Figura 4. Screeningul compușilor identificați pe celule tumorale izolate de la pacientele cu cancer mamar

Referințe:

1. Althuis MD, Dozier JM, Anderson WF, Devesa SS, Brinton LA. Global trends in breast cancer incidence and mortality 1973-1997. *International journal of epidemiology*. 2005;34(2):405-412.
2. Creighton CJ, Li X, Landis M, et al. Residual breast cancers after conventional therapy display mesenchymal as well as tumor-initiating features. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009;106(33):13820-13825.
3. Abiatari I, DeOliveira T, Kerkadze V, et al. Consensus transcriptome signature of perineural invasion in pancreatic carcinoma. *Mol Cancer Ther*. 2009;8(6):1494-1504.

4. Alexander S, Koehl GE, Hirschberg M, Geissler EK, Friedl P. Dynamic imaging of cancer growth and invasion: a modified skin-fold chamber model. *Histochem Cell Biol.* 2008;130(6):1147-1154.
5. Irimia D, Toner M. Spontaneous migration of cancer cells under conditions of mechanical confinement. *Integrative biology : quantitative biosciences from nano to macro.* 2009;1(8-9):506-512.
6. Scherber C, Aranyosi AJ, Kulemann B, et al. Epithelial cell guidance by self-generated EGF gradients. *Integrative biology : quantitative biosciences from nano to macro.* 2012;4(3):259-269.
7. Gonzalez-Angulo AM, Morales-Vasquez F, Hortobagyi GN. Overview of resistance to systemic therapy in patients with breast cancer. *Advances in experimental medicine and biology.* 2007;608:1-22.
8. Caino MC, Ghosh JC, Chae YC, et al. PI3K therapy reprograms mitochondrial trafficking to fuel tumor cell invasion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2015;112(28):8638-8643.
9. Wolfer A, Wittner BS, Irimia D, et al. MYC regulation of a "poor-prognosis" metastatic cancer cell state. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2010;107(8):3698-3703.
10. www.asco.org/advocacy-practice/top-five-list.

Tabel 2. Selecție de compuși posibili modulatori ai fenotipului invaziv

Reglator	Administrare clinica	Acțiune	z- score	p-value	Gene target
Deferoxamina	Intoxicații cu fier sau aluminiu, hemocromatoza	Leagă fierul liber din sânge, modulează expresia și eliberarea de mediatori inflamatori	-3.322	1.38E-09	ADM,ALDOA,ANGPTL4,APLN,BNIP3,CCNB1,DU SP5,EGLN1,EGLN3,FAM20C,GADD45A,HMOX1, KIT,NFIL3,PFKFB3,PLAUR,TFRC,VEGFA,WT1
Dexametazona	Limfoame non- Hodgkin, mieloamelor, tulburări alergice, afecțiuni ale pielii, colită ulceroasă, artrită, lupus, psoriazis sau tulburări de respirație	efect constrictor asupra vaselor și capilarelor sanguine, efect inhibitor asupra extravazării leucocitelor la locul inflamației.	-3.276	2.05E-13	ADAM12,ADM,AGAP5,ALCAM,ANGPTL4,APLN, ARHGEF19,BNIP3,CBR3,CD44,CDKN1B,CDYL,C LIC4,COL11A1,COL1A2,COL6A2,CTSB,CYP27A1, DUSP5,EGLN3,EIF4G3,FABP5,FTH1,GADD45A,G AS1,GDF5,GPR68,HES1,HMGB1,HMOX1,IRS2,IV D,KCNK2,KIT,LGALS3,LPAR1,MAOA,MAOB,MA P2,MMP14,MMUT,MSLN,MSMB,MXRA5,NFIL3,N FKBIZ,NIBAN1,OLFML2B,P4HA1,P4HA2,PFKFB3 ,PLAU,PLAUR,PLIN2,PLOD1,PLOD2,PNMT,POST N,PPARA,PTGFRN,PYGL,RAB37,RCAN1,RGCC,S ERPINF1,SLC2A5,SPHK1,SPSB1,TFRC,TGFBI,TH BS2,TIMP2,TNFRSF21,TNFRSF25,UGP2,VEGFA,V IM,WNT5A,WT1,YES1,ZC3H12A,ZNF395,ZNF467, ZNF750
Lipopolizaharid	in studiu in diferite trialuri clinice	Imunomodulator, reduce numărul de receptori TLR4 de la suprafața celulelor tumorale pancreatice TRAIL-rezistente	-3.229	2.85E-10	ADM,AHR,ALCAM,ANGPTL2,ANGPTL4,APLNR, CACNA1A,CBFA2T3,CCNB1,CD44,CEMIP,CLIC4, COL12A1,COL1A2,COL5A2,CTSB,CYP27A1,DUS P5,EGLN3,FAAH,FABP5,FNDC3B,FTH1,GADD45 A,GAS1,GAS5,HES1,HMGB1,HMOX1,KANK1,KIT ,LASP1,LGALS3,LPAR1,MAOA,MKNK2,MMP14,

						NFIL3,NFKBIZ,NID2,NKX3-2,OLFML2B,P4HA1,PAPSS2,PFKFB3,PLAU,PLAUR,PLIN2,PPARA,PRDX5,RAB37,RCAN1,RGCC,RHPN2,SELP,SERPINF1,SERPINH1,SLC16A3,SPHK1,TCAP,TENT5C,TFRC,THBS2,TIMP2,TP53BP2,VEGFA,VIM,VLDLR,WNT5A,WT1,ZC3H12A
Decitabina	sindromului mielodisplazic și a leucemiei acute mieloide	induce hipometilarea ADN-ului, determină diferențierea celulară și induce apoptoza.	-2.952	0.00043		ANGPTL4,BNIP3,CD44,CDKN1B,COL1A2,DEK,HMGB1,HTRA3,LGALS3,LOX,LUM,MAOB,MAP2,MGST3,MMP14,PLCB1,RIMS2,SERPINH1,SMO,TFRC,TGFBI,TIMP2,TNFRSF25,TP53BP2,VIM,WNT5A,WT1
Bleomicina	Cancere cu celule scuamoase, melanom, sarcom, cancer testicular și ovarian, Hodgkin și limfom non-Hodgkin	Induce rupturi ADN, blochează inserția de timidina în timpul sintezei AND.	-2.27	0.00538		CDKN1B,COL1A2,LGALS3,LOX,MMP14,RGCC,SPHK1,TIMP2,WNT5A
Acetat 13-miristat de phorbol	Cancere hematologice	Activează semnalizarea prin Protein Kinaza C	-2.184	0.00148		ADM,ALDH1A3,ANGPTL4,ATP2A3,BNIP3L,CAPG,CD44,CDKN1B,CEMIP,CTSB,DEK,DUSP5,FAAH,FTH1,GSDMB,HES1,KCNK2,KIT,MAOB,MITF,MMP14,NFIL3,ORMDL3,PDPN,PLAU,PLAUR,RCAN1,SELP,SEMA3D,SPHK1,VEGFA,VIM,VLDLR,WT1
Nicotina	Dependența de nicotină	Prin legarea la receptorii de nicotină acetilcolină (AChR)	-1.706	0.00142		AHR,ALDOA,CD44,CDKN1B,HMOX1,LGALS3,PLAUR,PNMT,POSTN,SERPINF1

		crește cantitatea de neurotransmițători care controlează comunicarea dintre sistemul nervos, muscular și glandular					AHR,ALDH1A3,AMH,CDKN1B,EMP1,GADD45A,GREM1,HTRA3,LUM,MAOA,MFAP2,MOXD1,MSMB,NPDC1,NTRK2,RIN2,S100A6,TGFBI,THBS2,VEGFA,VIT,WNT5A
Dietilstilbestrol	Cancer de prostată	inhibă axa hipotalamică-hipofizară-gonadală.	-1.661	1.2E-08			AHR,AMH,CD44,CDKN1B,GDNF,HES1,HMOX1,PLIN2,POSTN
Clorura de litiu	Afecțiuni psihiatrice	Interacționează cu diferiți neurotransmițători și receptori, inhibă eliberarea de norepinefrina și stimulează sinteza de serotonina	-1.195	0.000193			
Nitrofurantoina	Infecții ale tractului urinar	Antibiotic, afectează stabilitatea moleculelor de ARN și ADN	-1.129	0.00179			CTSB,GADD45A,GAS5,GPNMB,HMOX1,LGALS3,LOX,MMP14,VEGFA
Indometacin	artrite reumatoide, gute, bursite.	Antiinflamator	-0.91	0.000012	9		CCNB1,CD44,CDKN1B,GAS5,GPNMB,HMOX1,LGALS3,MMP14,PLAUR,PLIN2,PPARA,PRTFDC1,TNFRSF21,VEGFA,VIM
Lenalidomida	Mielome multiple, sindrom mielodisplastic	Inhibă angiogeneza tumorală, eliberarea	-0.323	0.00269			ANTXR1,GPR68,H2BC8,MAP2,NFKBIZ,PLOD2,SHISAL1,SPSB1,TNFRSF21,VIM,YPEL2

Ciclosporina A	Afecțiuni renale, psoriazis sever, artrita reumatoidă severă, transplant de rinichi, inimă sau ficat	de citokine tumorale și proliferarea tumorală	0.583	0.0014	CD44, CDKN1B, CYP27A1, GAS5, GPNMB, HMOX1, LGALS3, MMP14, PAX7, POSTN, PRTFDC1, RCAN1, SERPINH1, SPHK1, VEGFA, VIM, WNT5A
Gefitinib	Cancer pulmonar cu celule mici (NSCLC)	Imunosupresant prin inhibarea sintezei de citokine implicate în reglarea activității limfocitelor.	0.749	0.000041 9	CCNB1, CDKN1B, CTSB, FGFR2, HMOX1, KIT, PLAU R, SMO, TIMP2, TWIST1, VEGFA, VIM

REVENDICARI

1. Metodă rațională de screening de compuși capabili să moduleze fenotipul invaziv al celulelor tumorale izolate de la paciente cu cancer mamar.
2. Conform revendicării 1, metoda este bazată pe evaluarea fenotipului invaziv al celulelor tumorale izolate din biopsii recoltate de la paciente cu cancer mamar prin utilizarea de dispozitive microfluidice cu canale de 10-12 μm pentru recreerea *ex vivo* a procesului natural de invazie tumorală.
3. Pe baza fenotipului determinat conform revendicării 2, se identifică o semnătură transcriptomică asociată cu fenotipul migrator crescut al pacientelor cu cancer mamar
4. Utilizarea semnăturii transcriptomice identificate conform revendicării 3 pentru interogarea unor softuri de predicție moleculară în vederea stabilirii unui set de potențiali compuși capabili să moduleze fenotipul migrator al pacientelor cu cancer mamar
5. Screeningul setului de compuși identificați conform revendicării 4 pe celulele tumorale izolate de la paciente cu cancer mamar

DESENE

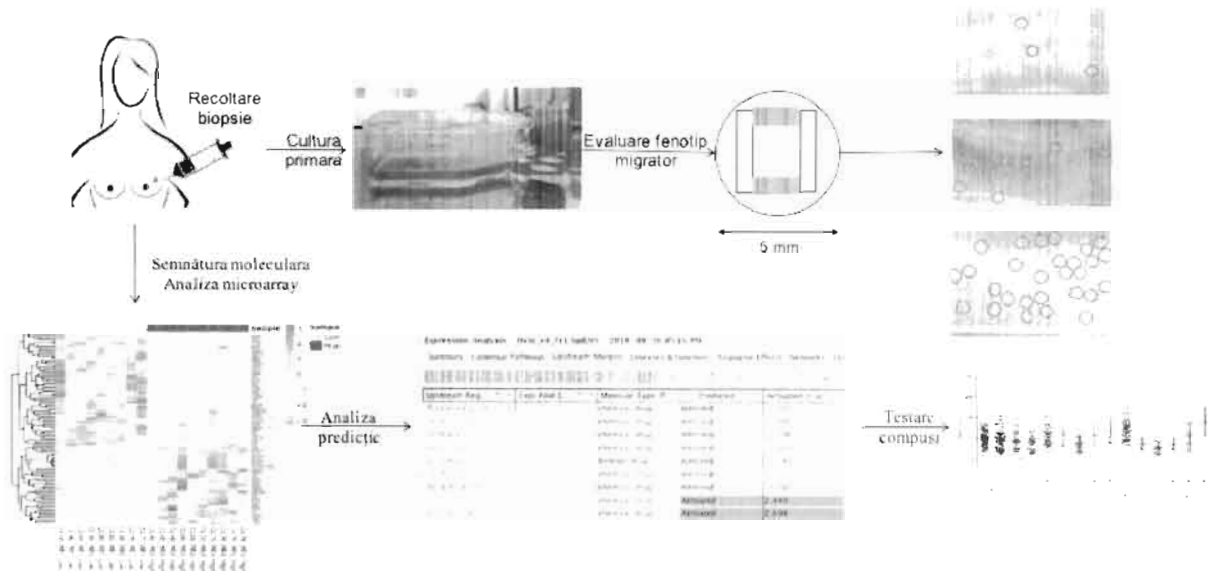


Figura 1

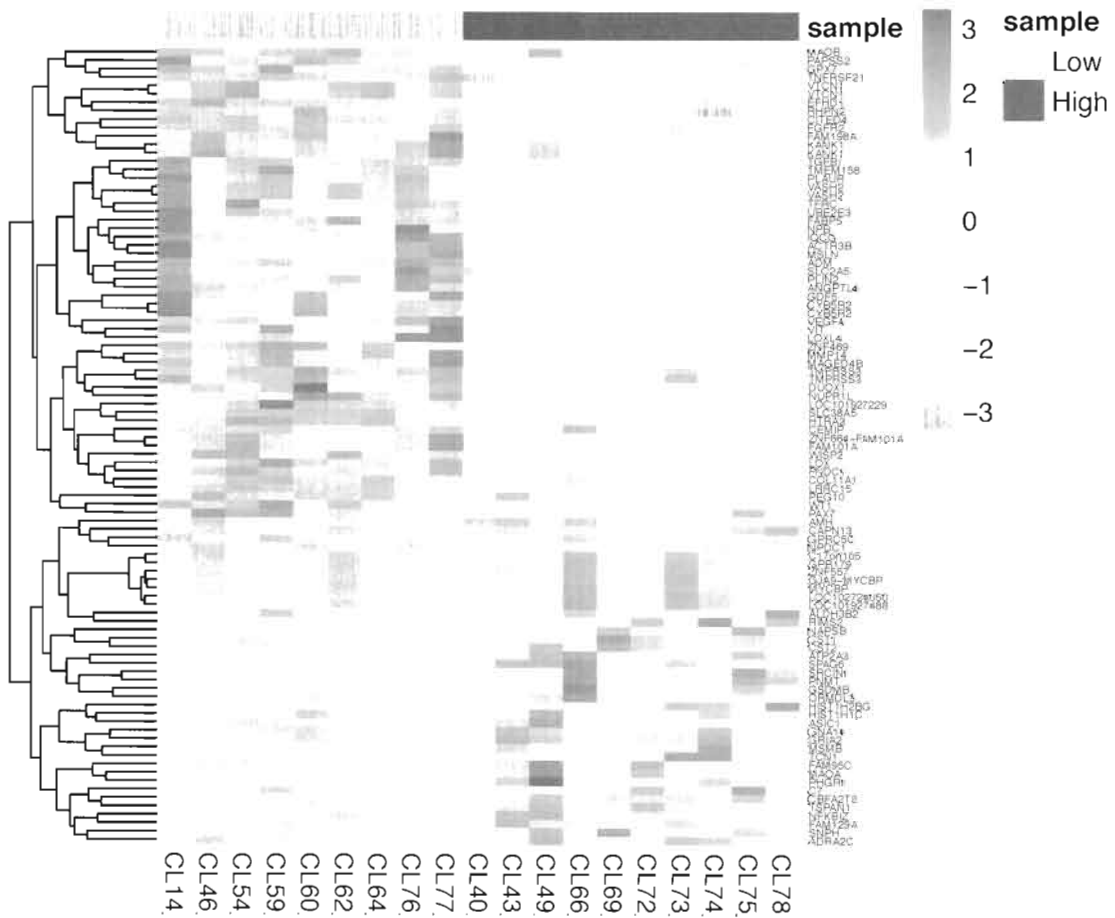


Figura 2

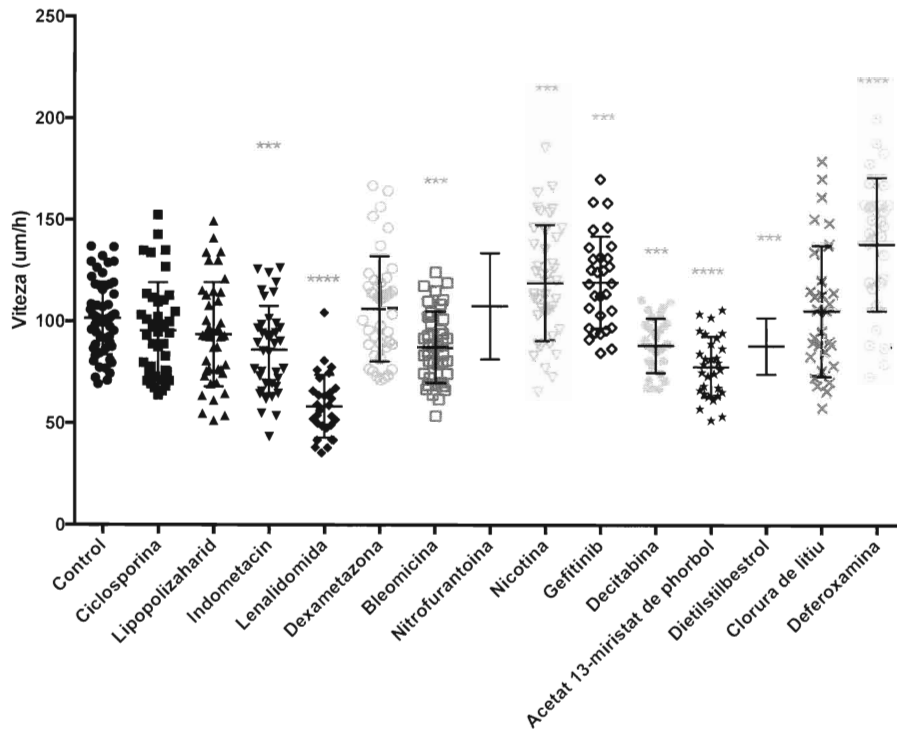


Figura 3

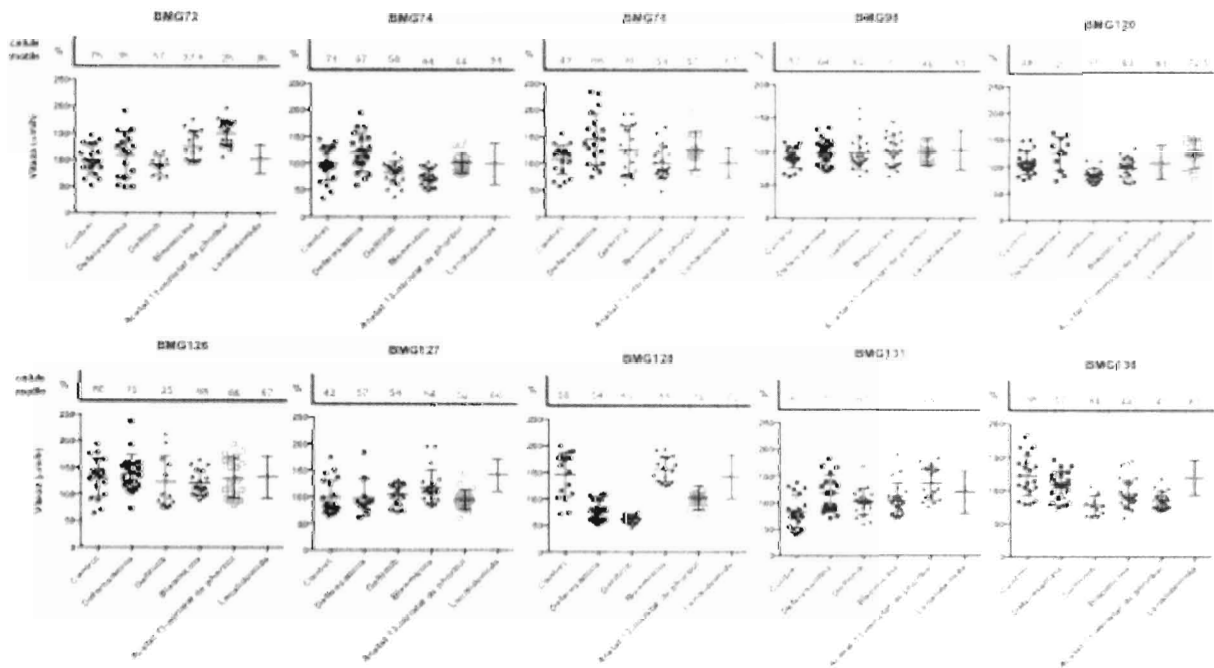


Figura 4