



УКРАЇНА

(19) UA (11) 43283 (13) U
(51) МПК (2009)
A61K 35/12

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ПРОГНОЗУ РОЗВИТКУ АУТОІМУННИХ УСКЛАДНЕНЬ У ХВОРИХ НА В-КЛІТИННУ ХРОНІЧНУ ЛІМФОЦИТАРНУ ЛЕЙКЕМІЮ

1

(21) u200902498

(22) 20.03.2009

(24) 10.08.2009

(46) 10.08.2009, Бюл.№ 15, 2009 р.

(72) АБРАМЕНКО ІРИНА ВІКТОРІВНА, БІЛОУС НАДІЯ ІВАНІВНА, ЧУМАК АНАТОЛІЙ АНДРІЙОВИЧ, ДЯГІЛЬ ІРИНА СЕРГІЇВНА, МАРТИНА ЗОЯ ВОЛОДИМИРІВНА, ФІЛОНЕНКО ІРИНА АНАТОЛІЇВНА

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"

2

(57) Спосіб прогнозу розвитку аутоімунних ускладнень у хворих на В-клітинну лімфоцитарну лейкемію, що включає визначення генів важких ланцюгів імуноглобулінів (IgVH) В-клітинами периферичної крові методом полімеразної ланцюгової реакції, який **відрізняється** тим, що на основі дослідження генетичних ознак, притаманних тільки лейкоцимічним клітинам, виділяється група хворих з експресією генів IgVH3-11, IgVH1-69 та IgVH4-59 і високим ризиком розвитку аутоімунних ускладнень (OR = 3,719).

Корисна модель відноситься до медицини і може бути використана в гематології при прогнозуванні перебігу хронічної лімфоцитарної лейкемії В-клітинного походження (В-ХЛЛ). Відомо, що перебіг В-ХЛЛ супроводжується підвищенням ризиком розвитку аутоімунних ускладнень - аутоімунної гемолітичної анемії (АІГА), ізольованої червоноклітинної аплазії та аутоімунної тромбоцитопенії (АІТ). АІГА розвивається у 10-20 %, червоноклітинна аплазія - у 6% та АІТ - у 2-3% хворих на ХЛЛ [1]. Крім того, антитіла, спрямовані проти клітин крові, присутні приблизно у третини хворих [2]. Розвиток аутоімунних ускладнень пов'язують з наявністю патологічних В-лімфоцитів, які виконують роль аутоантиген-презентуючих клітин для Т-лімфоцитів та сприяють їх активації [3]. Встановлено, що у хворих на АІГА та АІТ, які не пов'язані з ХЛЛ, також в крові з високою частотою виявляються клони В-лімфоцитів з типовим для ХЛЛ фенотипом [4].

Фактори ризику розвитку аутоімунних ускладнень остаточно не з'ясовані. Встановлено, що вони частіше розвиваються у хворих з нестабільним перебігом захворювання, більш похилого віку, чоловіків та при лейкоцитозі понад 60Г/л [5].

Існує декілька способів прогнозу ХЛЛ, однак вони не передбачають вірогідного розвитку аутоімунних ускладнень, а спрямовані на визначення тривалості загальної виживаності

хворих та стабільного чи прогресуючого перебігу захворювання [6-11].

Відомі способи прогнозу розвитку аутоімунних захворювань (не пов'язаних з ХЛЛ чи іншими гематологічними хворобами) на основі дослідження генних маркерів, наявність яких підвищує ризик захворіти [12, 13].

Найближчим аналогом, який може бути прийнятий за прототип, є метод визначення експресії гену рецептора CD93 для встановлення ризику аутоімунних захворювань - цукрового діабету I типу та червоного вовчака [13]. Він передбачає виділення генетичного матеріалу з мононуклеарів периферичної крові, його ампліфікацію з набором специфічних праймерів та встановлення факту носійства певної алелі гену CD93, що асоційовано з підвищенням ризику розвитку зазначених захворювань. При цьому досліджується генетична схильність організму до розвитку аутоімунних захворювань. Однак цей спосіб прогнозування має ряд недоліків, які не дозволяють його використання для хворих на ХЛЛ, а саме: він не враховує генетичних особливостей лейкоцимічних клітин, які задіяні в аутоімунних реакціях.

Технічним завданням корисної моделі є створення способу прогнозу розвитку аутоімунних ускладнень у хворих на В-ХЛЛ.

Поставлене технічне завдання вирішується через отримання генетичного матеріалу

UA (11) 43283 (13) U

лейкемічних клітин, проведення його ампліфікації з набором специфічних праймерів до генів важких ланцюгів імуноглобулінів (IgVH) та встановлення експресії певного гену. Хворі, в яких лейкоїмічні клітини експресують гени IgVH3-11, IgVH1-69 та IgVH4-59, належать до групи ризику розвитку аутоімунних ускладнень.

Спосіб відрізняється від прототипу тим, що досліджуються генетичні особливості, притаманні тільки лейкоїмічним клітинам, а не організму в цілому, що дозволяє врахувати саме вплив патологічних клітин на розвиток аутоімунних ускладнень. Крім того, використовується інший, ніж в прототипі, генетичний маркер для проведення дослідження.

Спосіб прогнозу розвитку аутоімунних ускладнень був апробований при обстеженні 251 хворого на В-ХЛЛ.

Проведене дослідження експресії генів IgVH показало, що найбільш поширеними були гени IgVH1-69 (55 випадків; 21,9%), IgVH1-2 (15 випадків; 6%), IgVH4-34 (15; 6%), IgVH3-33 (14; 5,6%), IgVH3-30 (13; 5,2%), IgVH3-21 (12; 4,8%), IgVH4-59 (10; 4%), IgVH3-7 (10; 4%), IgVH3-9 (9; 3,6%) та IgVH3-11 (9 хворих; 3,6%). Протягом спостереження аутоімунні ускладнення розвинулись у 32 хворих. Їх розподіл залежно від експресії IgVH був нестохастичним (табл.).

Таблиця

Експресія IgVH гену	Хворі на В-ХЛЛ		
	без аутоімунних ускладнень	з наявністю аутоімунних ускладнень	всього
IgVH1-69	46	9	55
IgVH1-2	14	1	15
IgVH4-34	14	1	15
IgVH3-33	12	2	14
IgVH3-30	13	1	13
IgVH3-21	10	2	12
IgVH4-59	6	4	10
IgVH3-7	10	0	10
IgVH3-9	7	2	9
IgVH3-11	4	5	9
Інші IgVH гени	84	5	89

Більш, ніж половина з них (18 випадків) діагностована серед 74 хворих з експресією генів IgVH3-11, IgVH1-69 та IgVH4-59 (у 24,3% хворих в цій підгрупі), тоді як за відсутності експресії зазначених генів перебіг ХЛЛ був ускладнений розвитком аутоімунних захворювань у 14 хворих (7,9%). Таким чином, ризик розвитку аутоімунних ускладнень у хворих на ХЛЛ з експресією генів IgVH3-11, IgVH1-69 та IgVH4-59 був підвищений приблизно у 3 рази порівняно з іншими хворими: odds ratio = 3,719 (95% довірчий інтервал 1,737-7,966). Інші фактори (вік хворих, стать, високий ініціальний лейкоцитоз) на ризик наступного розвитку аутоімунних ускладнень не впливали.

Підсумовуючи, на основі експресії окремих генів важких ланцюгів імуноглобулінів лейкоїмічними клітинами можна виділити групу

хворих на ХЛЛ, в яких вірогідність розвитку аутоімунних ускладнень вища порівняно з іншими хворими. Ці хворі потребують більш ретельного моніторингу лабораторних показників, які вказують на можливість появи розвитку АІГА, АІТ, червоноклітинної аплазії (визначення антитіл, спрямованих проти кровотворних клітин) до появи клінічних проявів.

Спосіб, що заявляється, може бути впроваджений в гематологічних відділеннях лікарень України.

Використані джерела літератури:

1. Diehl LF, Ketchum LH. Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia:

autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia, and autoimmune thrombocytopenia // *Semin Oncol.* -1998. - Vol.25, N 1. - P.80-97.

2. In vitro production of anti-RBC antibodies and cytokines in chronic lymphocytic leukemia / W.Barcellini, R.Montesano, G.Clerici et al. // *Am. J.Hematol.* - 2002. -Vol.71.-P.177-183.

3. Rh autoantigen presentation to helper T cells in chronic lymphocytic leukemia by malignant B cells / A.M.Hall, M.A.Vickers, E.McLeod, R.N.Barker // *Blood.* - 2005. -Vol.105.-P.2007-2015.

4. A high rate of CLL phenotype lymphocytes in autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytopenic purpura / S. Mittal, M.G. Blaylock, D.J. Culligan et al. // *Haematologica.*-2008.-Vol.93, NL-P.151-152.

5. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features / F.R.Mauro, R.Foa, R.Cerretti et al. // *Blood.* - 2000. - Vol. 95, N9.-P.2786-2792.

6. ZAP-70 expression as a marker for chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL) / L. Staudt, A. Rosenwald, W. Wilson // *Patent US2008227741;*

C12Q1/68; G01N33/574. Application N US20070955322; application data 12.12.2007. Publ.data18.09.2008.

7. Wasil T., Chiorazzi N., Damie R. CD38 as a prognostic indicator in B cell chronic lymphocytic leukemia // *Patent US2003082593;* C12Q1/68; G01N33/574. Application N US20020211394; application data 02.08.2002. Publ. data 01.05.2003.

8. Byrd J., Heerema N. Cytogenetic abnormalities that are predictive of response to therapy for chronic lymphocytic leukemia // *Patent W02004042032;* C12N. Application N W02003US35225; application data 03.11.2003. Publ. data21.05.2004.

9. Hertz A., Leffers H., Kjems J. Methods and kits for detecting several polynucleotide sequence found to be indicative of a poor prognosis of B-CLL // *Patent US2006281697;* C07K14/47; C12Q1/68M6B; G01N33/574C10. Application N US20060535500; application data 26.06.2006. Publ. data 14.12.2006.

10. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia / B. Geeraerts, L. Rassenti, F. Offner et al. // *Patent US2007243561;* G01N33/53; G01N33/53. Application N US20070675958; application data 16.02.2007. Publ. data 18.10.2007.

11. Noorchashm П., Naji A. Screening for CD93 (CIQRП)-associated polymorphism(s) in the diagnosis, prevention and treatment of autoimmune

diseases // Patent W02008082519; G01N33/564. Application N W02007US25832; application data 19.12.2007. Publ. Data 10.07.2008.

12. Zipp-Nitsch F., Infante-Duarte C., Stuerzebecher C.-S. CxCrI as a marker which

correlates with both disease and disease activity in multiple sclerosis patients // Patent US2008194711; C12Q1/68M6. Application N US20060814229; application data 19.01.2006. Publ. Data 14.08.2008.