



УКРАЇНА

(19) UA (11) 66223 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
A61B 8/08 (2006.01)  
A61B 5/00  
G01N 33/48 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ СХИЛЬНОСТІ ДО РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ ЛІМФОЦИТАРНОЇ ЛЕЙКЕМІЇ В ОСІБ, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ВПЛИВУ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ**

1

(21) u201107548  
(22) 15.06.2011  
(24) 26.12.2011  
(46) 26.12.2011, Бюл.№ 24, 2011 р.  
(72) ЧУМАК АНАТОЛІЙ АНДРІЙОВИЧ, АБРАМЕНКО ІРИНА ВІКТОРІВНА, БІЛОУС НАДІЯ ІВАНІВНА, КОСТІН ОЛЕКСІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ  
(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"

2

(57) Спосіб визначення генетичної схильності до розвитку хронічної лімфоцитарної лейкемії в осіб, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання, що включає дослідження поліморфізмів генів XPD і XRCC1 в лімфоцитах периферичної крові, який відрізняється тим, що поліморфізм досліджують за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з рестрикцією продуктів реакції і визначають ризик розвитку хронічної лімфоцитарної лейкемії після дії іонізуючого випромінювання.

Корисна модель належить до медицини, зокрема до радіобіології, і може бути використана для прогнозування ризику розвитку хронічної лімфоцитарної лейкемії В-клітинного походження (В-ХЛЛ) в осіб, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання (у постраждалих внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС).

Епідеміологічними дослідженнями встановлено наявність певної генетичної схильності до розвитку хронічної лімфоцитарної лейкемії (ХЛЛ), що підтверджується, перш за все, існуванням випадків захворювання серед найближчих родичів. Були проведені масштабні генетичні дослідження з метою ідентифікувати гени, присутність в яких певних мутацій чи поліморфізмів могла б бути причиною розвитку ХЛЛ. Чітко встановити вірогідну мішень не вдалось [1, 2]. Даних стосовно факторів ризику розвитку ХЛЛ на тлі дії генотоксичних чинників, в тому числі іонізуючого випромінювання (ІВ), в доступній літературі ми не виявили.

Дія ІВ викликає чисельні порушення у геномі людини, які в подальшому можуть призводити до розвитку онкологічної патології. В репарації цих ушкоджень значну роль відіграють гени репарації ДНК, зокрема гени XRCC1 та XPD (ERCC2). З наявністю поліморфізмів цих генів пов'язують збільшення ризику розвитку онкологічних захворювань різного походження.

З чисельних поліморфізмів гена XRCC1 найбільш відомою є заміна одного нуклеотиду у кодоні 399 10-го екзону, яка призводить до заміни аргініну (Arg) на глутамін (Gln) у відповідному білку [3].

В осіб, гомозиготних за поліморфною алеллю XRCC1 Gln399Gln, знижена швидкість репарації пошкоджень ДНК у дослідженнях in vitro, вище рівень міні-сателітних мутацій, підвищений ризик розвитку онкологічних захворювань різного походження [4, 5].

Дослідження функціонального значення поліморфізму гена XPD (заміна лізину (Lys) на Gln у кодоні 751) виявили асоціацію з підвищеним ризиком розвитку гепатоцелюлярної карциноми та раку легень у курців [6, 7].

Найближчим аналогом корисної моделі, що заявляється, є метод визначення індивідуальної чутливості до розвитку раку легень на основі сумісного дослідження поліморфізмів генів XRCC1 і ERCC2 (XPD) [8]. Він передбачає виділення генетичного матеріалу з мононуклеарів периферичної крові, його ампліфікацію з набором специфічних праймерів і спеціальної флуоресцентної проби, проведення кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та встановлення факту носійства певних алелей генів XRCC1 і ERCC2 (XPD), що асоційовано з підвищенням ризику розвитку раку легень. Недоліками методу є значна вартість дослідження, необхідність дорогого обладнання. Крім того, він спрямований на визначення ризику інших видів онкологічної патології та не враховує дію генотоксичних чинників навколишнього середовища.

Технічною задачею корисної моделі є створення способу визначення генетичної схильності до розвитку хронічної лімфоцитарної лейкемії в

(19) UA (11) 66223 (13) U

осіб, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання. Поставлена технічна задача вирішується через отримання генетичного матеріалу лейкоцитних клітин, проведення двох ампліфікацій з набором специфічних праймерів до генів XRCC1 і ERCC2 (XPD), проведення рестрикції отриманих продуктів реакцій відповідними рестриктазами та встановлення експресії певних алелей двох генів. За умов носійства домінантних алелей генів XPD і XRCC1 ризик розвитку ХЛЛ на тлі дії ІВ (зокрема, постраждалих внаслідок Чорнобильської катастрофи) є меншим за очікуваний. За умов носійства поліморфних алелей генів XPD і XRCC1 ризик розвитку ХЛЛ на тлі дії ІВ (зокрема, постраждалих внаслідок Чорнобильської катастрофи) є більшим за очікуваний.

На відміну від найближчого аналога, в даному випадку проаналізована генетична схильність до іншої форми онкологічного захворювання, викори-

стано інший спосіб визначення поліморфізмів, який є технічно більш простим та менш витратним, враховується дія генотоксичного фактора (ІВ).

Спосіб визначення генетичної схильності до розвитку хронічної лімфоцитарної лейкемії у осіб, які зазнали впливу іонізуючого випромінювання, був апробований при обстеженні 169 хворих на В-ХЛЛ (54 пацієнта, які зазнали впливу ІВ - основна група; 115 хворих без впливу ІВ в анамнезі - група порівняння) та 121 особа без онкологічної патології (контрольна група) (табл.). Група неопромінених хворих на ХЛЛ не відрізнялась за розподілом генотипів від осіб контрольної групи без онкогематологічної патології. Водночас в основній групі була знижена кількість гомозигот домінантних алелей обох генів (генотип Lys751Lys/Arg399Arg) порівняно з контролем ( $p=0,03$ ) та групою порівняння ( $p=0,014$ ).

Таблиця

Результати сумісного визначення поліморфізмів Arg399Gln гена XRCC1 та Lys751Gln гена XPD, кількість хворих

Групи обстежених	Поліморфізми гена XPD			Вірогідність
	Lys751Lys	Lys751Gln	Gln751Gln	
Генотип Arg399Arg XRCC1				
Основна група	4	11	7	p <sub>1</sub> =0,03
Група порівняння	18	13	3	p <sub>2</sub> =0,771
Контрольна група	24	23	6	p <sub>3</sub> =0,014
Генотип Arg399Gln XRCC1				
Основна група	9	14	2	p <sub>1</sub> =0,761
Група порівняння	18	39	8	p <sub>2</sub> =0,945
Контрольна група	17	5	30	p <sub>3</sub> =0,682
Генотип Gln 399Gln XRCC1				
Основна група	5	9	2	p <sub>1</sub> =0,009
Група порівняння	0	7	0	p <sub>2</sub> =0,342
Контрольна група	7	5	4	p <sub>3</sub> =0,111

Примітка:  $p_1$  - вірогідність розбіжностей між показниками в основній та контрольній групах;  $p_2$  - вірогідність розбіжностей між показниками в групі порівняння та контрольній групі;  $p_3$  - вірогідність розбіжностей між показниками в основній групі та групі порівняння.

Ризик розвитку ХЛЛ у осіб, гомозиготних за домінантною алеллю гена XPD, постраждалих внаслідок Чорнобильської катастрофи, зменшувався: OR = 0,36 (95 % довірчий інтервал 0,1717-0,785), особливо за умов одночасної гомозиготності за домінантною алеллю гена XRCC1: OR=0,29 (95 % довірчий інтервал 0,09-0,92). Навпаки, ризик розвитку ХЛЛ у носіїв поліморфної алелі гена XPD підвищувався: OR=2,24 (95 % довірчий інтервал 1,1049-4,5488),  $p=0,03$ .

Таким чином, на основі визначення поліморфізмів генів XPD та XRCC1 можна передбачити вірогідність розвитку ХЛЛ на тлі дії ІВ.

Корисна модель, що заявляється, може бути впроваджена в роботі медико-генетичних консультацій та медичних закладів, де проводяться обстеження осіб, які мають (або планують мати) контакт з ІВ.

#### Джерела інформації:

1. A high-density SNP genomewide linkage scan for chronic lymphocytic leukemia-susceptibility loci / G. Sellick, E. Webb, R. Allinson et al. // Am. J. Hum. Genet.-2005. -Vol.77.-P. 420-429.
2. Genome-wide association study identifies a novel susceptibility locus at 6p21.3 among familial CLL / S.L. Slager, K.G. Rabe, S.J. Achenbach et al. // Blood.-2011. - Vol. 117, N6.-P. 1911-1916.
3. Shen MR. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans./ M.R. Shen, I.M. Jones, H. Mohrenweiser // Cancer Res. -1998. - № 58 - P. 604-608.
4. Bolegenova NK. Genetic polymorphisms and expression of minisatellite mutations in a 3-generation population around the Semipalatinsk nuclear explosion test-site, Kazakhstan. / N.K. Bolegenova, B.O. Bekmanov, L.B. Djansugurova, R.I. Bersimbaev, S.A. Salama, W.W.Au //Int. J. Hyg. Environ. Health. - 2009. - № 212. - P. 654-660.
5. Genetics polymorphism in DNA repair genes by base excision repair pathway (XRCC1) and homologous recombination (XRCC2 and RAD51) and

the risk of breast carcinoma in the Polish population / H. Romanowicz, B. Smolarz, J. Baszczyński et al. // Pol. J. Pathol.-2010. - Vol. 61, N4. - P. 206-216.

6. Smoking, DNA adducts and number of risk DNA repair alleles in lung cancer cases, in subjects with benign lung diseases and in controls / M. Peluso, A. Munni, S. Piro et al. // J. Nucleic Acids.-2010.-P. 386798.

7. Mechanic L.E. Polymorphisms in XPD and TP53 and mutation in human lung cancer./ L.E.

Mechanic, A.J. Marrogi, J.A. Welsh, E.D. Bowman, M.A. Khan, L. Enewold, Y.L. Zheng, S. Chanock, P.G. Shields, C.C. Harris // Carcinogenesis. -2005. - №26. - P. 597-604.

8. Zgemin F., Zuye Z. Reagent kit for detecting susceptibility of cancer of the lungs with SNPs of gene XRCC1 and ERCC2 // Patent CN101153345; C12R1/68. Application N CN20061116663; application data 28.09.2006. Publ. Data 02.04.2008.