



УКРАЇНА

(19) UA (11) 66224 (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 РИЗИКУ ТРАНСФОРМАЦІЇ РІХТЕРА У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ЛІМФОЦИТАРНУ ЛЕЙКЕМІЮ

1

(21) u201107549
(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, ДЯГІЛЬ ІРИНА СЕРГІЙВНА, КОСТІН ОЛЕКСІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, МАРТИНА ЗОЯ ВОЛОДИМИРІВНА

2

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "НАУКОВИЙ ЦЕНТР РАДІАЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"
(57) Спосіб визначення ризику розвитку В-крупноклітинної лімфоми, що включає дослідження поліморфізму Arg399Gln гена XRCC1 в мононуклеарах периферичної крові, який **відрізняється** тим, що ризик визначають у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію (трансформація Ріхтера) з урахуванням призначеного лікування.

Корисна модель належить до медицини, зокрема до гематології, і може бути використана для прогнозування ризику трансформації Ріхтера у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію В-клітинного походження (В-ХЛЛ).

Відомо, що при прогресії ХЛЛ в частини хворих (2-8 %) може відбуватись трансформація в більш тяжку форму захворювання - неходжкінську злоякісну лімфому з великих клітин (значно рідше - у пролімфоцитарну лейкемію та хворобу Ходжкіна), яка отримала назву трансформація або синдром Ріхтера (СР). Фактори ризику СР остаточно не встановлені, однак вірогідність його розвитку дещо вища у хворих відносно молодого віку, із значним збільшенням периферичних лімфатичних вузлів, дифузним ураженням кісткового мозку, розгорнутою стадією на момент діагнозу ХЛЛ, підвищеним рівнем лактатдегідрогенази та $\beta 2$ -мікроглобуліну у сироватці крові (показники, що свідчать про високі проліферативний потенціал лейкоцидних клітин). Є свідчення, що лікування аналогами флударабіна також є фактором ризику СР [1, 2].

Серед генетичних чинників, які асоційовані з розвитком СР, розглядають гіперметилацію промотора гена hMLH1, задіяного в репарації дволанцюгових пошкоджень ДНК [3], мутації генів p53, інактивацію генів p16INK4A, p21 та p27 - тобто, генів, задіяних в контролі клітинного циклу і зупинці його в фазі G₁, що необхідно для адекватної репарації генетичних ушкоджень [1, 2].

Дослідження hMLH1, p21, p27, p16 застосовуються для діагностики, прогнозу та розробки методів лікування різних форм онкологічних захворювань [4-7]. Однак не виявлено відомостей щодо дослідження генетичних маркерів, асоційованих з ризиком розвитку СР у хворих на ХЛЛ. Найближчим аналогом корисної моделі є метод визначення індивідуальної схильності до розвитку агресивних форм неходжкінських злоякісних лімфом на основі поліморфізму Arg399Gln гена XRCC1 [8], який нами вибрано за найближчий аналог. Згідно з цим методом, при виявленні у обстеженої особи (без наявності гематологічних захворювань на момент обстеження) генотипу Gln399Gln робиться висновок щодо її схильності до розвитку дифузної В-крупноклітинної лімфоми, тоді як при виявленні генотипу Arg399Arg - висновок щодо зниженого ризику розвитку агресивних форм неходжкінських злоякісних лімфом по відношенню до популяційного ризику. Недоліком найближчого аналога є неврахування дії ендо- та екзогенних факторів, які також впливають на розвиток дифузних В-крупноклітинних лімфом.

Технічною задачею корисної моделі є створення способу визначення ризику розвитку трансформації Ріхтера у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію.

Поставлена технічна задача вирішується через отримання генетичного матеріалу з мононуклеарів периферичної крові, проведення ампліфі-

(19) UA (11) 66224 (13) U

кації з набором специфічних праймерів до гена XRCC1 (поліморфізм Arg399Gln), проведення рестрикції отриманого продукту реакції відповідною рестриктазою та встановлення експресії певних алелів гена. За умов носійства генотипу Gln399Gln ризик розвитку СР у хворих, які отримували лікування не менш як двома видами протипухлинних препаратів (терапія 1-ї та 2-ї лінії), збілшений порівняно з носіями інших генотипів.

На відміну від найближчого аналога, в даному випадку проаналізована генетична схильність до розвитку дифузної В-крупноклітинної лімфоми на тлі вже існуючого онкогематологічного захворювання (у хворих на ХЛЛ) та враховується попереднє лікування, яке отримували хворий.

Спосіб визначення ризику розвитку трансформації Ріхтера у хворих на хронічну лімфоцитарну лейкемію був апробований при обстеженні 190 хворих на В-ХЛЛ. Клініко-гематологічні ознаки хворих при встановленні діагнозу ХЛЛ залежно від розподілу окремих генотипів Arg399Gln XRCC1 істотно не розрізнялись. В процесі спостереження 153 хворих (80 %) потребували призначення терапії.

Ефективність терапії у хворих, носіїв окремих генотипів гена XRCC1, також аналізувалась окремо при різних видах застосованої терапії (пуринові аналоги або алкілуючі препарати), розбіжності були невірогідні. Токсичність терапії також суттєво не розрізнялась залежно від генотипів гена XRCC1. Розвиток неходжкінської злоякісної лімфоми з великих В-клітин (синдром Ріхтера) майже вдвічі частіше спостерігався серед гомозигот поліморфної алелі Gln399Gln (23,1 %) порівняно з 13,1% (25 випадків) по групі в цілому, $p=0,136$.

Подальший аналіз показав суттєву залежність розвитку СР у гомозигот поліморфної алелі Gln399Gln від терапії, що призначалась хворим (табл.).

Так, серед 15 хворих, гомозигот Gln399Gln, які не отримували лікування або пройшли лікування тільки першої лінії, не зафіксовано жодного випадку СР. Навпаки, серед хворих, які пройшли лікування першої та другої лінії, ризик СР був достовірно вищим серед носіїв генотипу Gln399Gln порівняно з носіями інших генотипів: OR = 4,46 (95 % довірчий інтервал 1,22-16,32).

Таблиця

Частота розвитку синдрому Ріхтера у хворих на ХЛЛ залежно від XRCC1 генотипу та призначеного лікування, % хворих
(у числівнику - кількість хворих синдромом Ріхтера, у знаменнику - загальна кількість хворих).

| Призначена терапія | Частота розвитку синдрому Ріхтера, XRCC1 генотип | | p |
|---|--|-------------|-------|
| | Arg399Arg+ Arg399Gln | Gln399Gln | |
| Терапія не призначалась, n=37 | 0(0/31) | 0 (0/6) | - |
| Призначалась тільки терапія 1-ї лінії, n=57 | 2,1 (1/48) | 0 (0/9) | 0,662 |
| - як 1-а лінія пуринові аналоги, n=20 | 5,6 (1/18) | 0 (0/2) | 0,732 |
| - як 1-а лінія хлорамбуцил, n=37 | 0 (0/30) | 0 (0/7) | - |
| Призначалась терапія 2-ї лінії, n=96 | 21,2 (18/85) | 54,4 (6/11) | 0,016 |
| - як 1-а лінія пуринові аналоги, n=11 | 10 (1/10) | 0 (0/1) | 0,740 |
| - як 1-а лінія хлорамбуцил, n=85 | 22,7 (17/75) | 60 (6/10) | 0,013 |

Таким чином, дослідження поліморфізму Arg399Gln гена XRCC1 можна використовувати як маркер прогнозу ризику розвитку СР у хворих на ХЛЛ, які отримують специфічне хіміотерапевтичне лікування.

Корисна модель, що заявляється, може бути впроваджена в гематологічних відділеннях лікарень України.

Джерела інформації:

1. Giles F. J., O'Brien S. M., Keating M. J. Chronic lymphocytic leukemia in (Richter's) transformation // Semin. Oncol. - 1998. - Vol.25. - P. 117-125.

2. Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases / F. R. Mauro, R. Foa, D. Giannarelli et al. // Blood. - 1999. - Vol. 94. - P. 448-454.

3. Microsatellite instability and hMLH1 promoter hypermethylation in Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia / Z. Fulop, B. Csernus, B. Timar B et al. // Leukemia. - 2003. - Vol.17. - P. 411-415.

4. Metastasis suppressor gene on human chromosome 8 and its use in the diagnosis, prognosis and treatment of cancer / N. Nohei, C. J. Barrett, N. Koprina, V. Larionov // Patent WO 03060074; A61K47/48; CO7K14/47; C12Q1/68. Application N WO200240998. Publ. Data 20.12.2002

5. Polymorphism in h21 waf1/cip1 gene, association with human cancer and uses related thereto / R. Ralhan, Council of Scientific and Industrial Research, All India Institute of Medical Sciences // Patent US 2002137040; CO7K14/47; C12Q1/68; G01N33/574. Application N US2000749778. Publ. data 28.12.2000

6. Zhemin F., Zuye Z. Kit for detection of colorectal cancer // Patent CN 101608224; C12Q1/68; G01N21/64. Application N CN20081039266. Publ. data 20.06.2008

7. Vector containing PCR primers of tumor-suppressor gene, and useful for diagnosis of cancer / J. H. Chae, W. H. Choi, T. J. Chung et al. // Patent KR 20010061173; C12Q1/68. Application NKR19990063661. Publ. data 28.12.1999.

8. Method of determining person's predisposition to development of aggressive non-Hodgkin's lymphomas / E. N. Voropaeva, T. I.

Pospelova, I. B. Kovynev et al. // Patent RU2373862; A61B10/00; G01N33/53. Application N RU20080113678; Publ. data 04.07 2008.