



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **74136**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/577 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2011 15547**

(22) Дата подання заявки: **28.12.2011**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.10.2012**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.10.2012, Бюл.№ 20**

(72) Винахідник(и):

**Глузман Данило Фішелевич (UA),
Склярєнко Лілія Михайлівна (UA),
Надгорна Валентина Олександрівна (UA),
Іванівська Тетяна Степанівна (UA),
Українська Наталя Іванівна (UA),
Завелевич Михайло Петрович (UA)**

(73) Власник(и):

**ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ
ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ,
вул. Васильківська, 45, м. Київ, 03022 (UA)**

(54) РОЗШИРЕНА ПАНЕЛЬ МОНОКЛОНАЛЬНИХ АНТИТІЛ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ТА КЛАСИФІКАЦІЇ ГОСТРИХ ЛЕЙКЕМІЙ

(57) Реферат:

Розширена панель моноклональних антитіл для діагностики та класифікації гострих лейкемій, доповнена моноклональними антитілами проти CD90 з метою більш точного визначення природи субстратних лейкоемічних клітин.

U
UA 74136

Галузь техніки, до якої належить корисна модель: медицина, а саме: лабораторна імуноцитохімічна діагностика онкогематологічних захворювань.

Рівень техніки. Гострі лейкомії є біологічно гетерогенною групою пухлин кровотворної і лімфоїдної тканин. Їхня діагностика базується на результатах цитоморфологічного та цитохімічного дослідження препаратів кісткового мозку та периферійної крові із залученням даних імунофенотипування, що дозволяє точно визначити природу та ступінь диференціювання лейкомічних клітин. Це є важливим для вибору адекватної терапії, а також в прогностичному сенсі.

Використання сучасних імуноцитохімічних методів і достатньо повної панелі антитіл до лінійно-специфічних, диференціювальних та активаційних антигенів кровотворних клітин в комплексі з сучасними молекулярно-генетичними методами дасть змогу виділяти основні форми гострої мієлоїдної та гострої лімфоїдної лейкомії, а також більш повно охарактеризувати лейкомії, які виникають на тлі мієлодиспластичних змін (передлейкомічних станів), і так звані вторинні гострі мієлоїдні лейкомії, пов'язані із попередньою хіміо- і променевою терапією.

На сьогоднішній день для діагностики та класифікації гострих лейкомії експертами ВОЗ запропоновано панель моноклональних антитіл [1], яка включає антитіла до маркерів гемопоетичних клітин-попередників (CD34, HLA-DR, TdT, CD45), маркерів В-клітинного ряду (CD19, CD20, CD22, CD79a), Т-клітинного ряду (CD2, CD3, CD5, CD7), клітин мієлоїдного ряду (CD13, CD33, CD15, MPO, CD117) та мегакаріобластів (CD41, CD61).

Останнім часом пропонується доповнити стандартну модель тими чи іншими моноклональними антитілами для більш точного визначення природи стовбурових лейкомічних клітин [2]. Це може сприяти визначенню нових підваріантів гострих лейкомії, виявленню прогностичних маркерів та розробці нових засобів терапії, які би враховували природу стовбурових лейкомічних клітин у кожному з визначених підваріантів гострих лейкомії.

Зокрема, таким антигеном може бути антиген CD90 (Thy-I). В нормі він експресується на гемопоетичних стовбурових клітинах, Т-клітинах та фібробластах. В разі гемобластозів він експресується у ряді випадків при ГМЛ та ГЛЛ, особливо у випадках гіршого прогнозу захворювання [3].

Власне опис корисної моделі, що заявляється. В основу корисної моделі, що заявляється, поставлено задачу доповнити існуючу панель моноклональних антитіл для діагностики та класифікації гострих лейкомії такими антитілами, які би дозволяли більш точно визначити природу стовбурових лейкомічних клітин при цих лейкоміях.

Поставлена задача вирішується тим, що як таке додаткове антитіло вибрано моноклональні антитіла проти антигену CD90, виходячи з відомих даних щодо експресії цього антигену в нормі та при патологічних станах.

Опис способу стосовно застосування, що заявляється:

Для імунофенотипування мононуклеарі периферичної крові хворих на лейкомії виділяють фракціонуванням в градієнті фіколу-верографіну. Реакції з діагностичними антитілами проводять у препаратах, виготовлених на скельцях методом висушеної краплі. Застосовується загальноприйнята панель для диференціальної діагностики гострих лейкомії та панель, доповнена антитілами проти CD90. Для візуалізації використовують метод з антивидовими антитілами, міченими лужною фосфатазою, або стрептавідин-біотинний метод.

Приклади практичного застосування корисної моделі

Результати імунофенотипування субстратних клітин хворих на гострі лейкомії із застосуванням стандартної панелі, доповненої антитілами проти антигену CD90, наведено в прикладах, які ілюструють можливість заявленої корисної моделі.

Приклад 1. Хворий Т., 1984 року народження.

В крові та кістковому мозку переважають бластні клітини типу L1.

Цитохімічне дослідження: Пероксидаза (ПО) - в поодиноких бластах слабка реакція, кисла фосфатаза (КФ) - негативна, кисла неспецифічна естераза (КНЕ) - дрібногранулярна, PAS-реакція - слабка дрібногранулярна по обідку цитоплазми.

Імунофенотип бластів в п/к та к/м: CD7⁺ - в поодиноких клітинах, CD19⁺ - 70 % бластів, CD10⁺ - 30 % бластів, CD34⁺ - поодинокі бласти, CD117 - немає, CD13⁺ - 20 % бластів, CD90 - слабка реакція в частині клітин.

Висновок: Хронічна мієлоїдна лейкомія в стадії бластного кризу. Фенотип бластів відповідає гострій лімфобластній лейкомії типу "common", В-лінійна з коекспресією мієлоїдного антигену CD13.

Приклад 2. Хворий Ф., 1992 року народження.

В периферичній крові анемія, тромбоцитопенія, лейкоцитоз ($51 \times 10^9/\text{л}$), бластемія 82 %, бласти з ознаками лімфоїдних L1.

В кістковому мозку мономорфна популяція лімфоїдних клітин L1.

ПО - негативна, КФ, КНЕ - слабка, дифузна, PAS-реакція в частині бластів гранулярна.

Імунофенотип бластів: CD7⁺ - в поодиноких клітинах, CD19⁺ - 80 % бластів, CD10 негативні, CD34⁺ 50 %, CD117 негативні, CD13 негативні, CD90 - слабка реакція в частині клітин.

5 Висновок: Гостра лімфобластна лейкемія L1, не Т-клітинна, тобто з клітин-попередників В-клітин (про-В-ГЛЛ)

Приклад 3. Хворий Б., 1961 р. народження.

В п/к клітини з ознаками пролімфоцитів або лімфобластів - 50-60 %.

10 В к/м субтотальна інфільтрація субстратних клітин середнього розміру з такими ж як в п/к морфологічними ознаками.

ПО в бластах негативна, кисла фосфатаза - негативна, КНЕ-гранулярна реакція, PAS-реакція - дифузна та дрібногранулярна.

15 Імунофенотип бластів: CD7⁺ - в поодиноких клітинах, CD19⁺ - в поодиноких клітинах, HLA-DR - слабкопозитивна реакція, CD13 - негативні, CD34 - негативні, CD33 - на частині клітин слабка реакція на рівні фону, CD117⁺ - на більшості клітин, CD90⁺ - 2-3 %.

Висновок: Гостра мієлоїдна лейкемія з бластними клітинами з ознаками комітації в клітини моноцитарного ряду (КУО-М).

В розглянутому прикладі застосування антитіл проти CD90 сприяло диференційній діагностиці у складному випадку.

20 Таким чином, заявлена корисна модель дозволяє більш точно ідентифікувати підтипи гострих лейкемій, які діагностуються, з додатковим визначенням маркера, що може бути пов'язаний з прогнозом захворювання та чутливістю до застосованої терапії.

Джерела інформації:

25 1. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. S. H. Swerdlow, E. Campo, N. L. Harris, E. S. Jaffe, eds. Lyon: IARC Press 2008.-439 p.

2. Olsen R. J., Chang C. C., Herrick J. L. et al. Acute leukemia immunohistochemistry: A systematic diagnostic approach // Arch. Pathol. Lab. Med.-2008. - V. 132, N. 3. - P. 462-475.

3. Buccisano F, Rossi FM, Venditti A et al. CD90/Thy-1 is preferentially expressed on blast cells of high risk acute myeloid leukaemias // Br. J. Haematol.-2004. - V. 125, N. 2. - P. 203-212.

30

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Розширена панель моноклональних антитіл для діагностики та класифікації гострих лейкемій, яка **відрізняється** тим, що доповнена моноклональними антитілами проти CD90 з метою більш

35