

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2814269

СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОТВЕТА НА ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ ТЕРАПИЮ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное учреждение
"Национальный медицинский исследовательский центр онкологии"
Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Селютина Олеся Николаевна (RU), Лысенко Ирина Борисовна (RU),
Новикова Инна Арнольдовна (RU), Гуськова Наиль Катифовна (RU),
Златник Елена Юрьевна (RU), Дженькова Елена Алексеевна (RU), Ишонина
Оксана Георгиевна (RU), Николаева Надежда Владимировна (RU),
Пушкарева Татьяна Федоровна (RU), Капуза Елена Анатольевна (RU)*

Заявка № 2023120411

Приоритет изобретения 03 августа 2023 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 28 февраля 2024 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 03 августа 2043 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/50 (2024.01); G01N 33/48 (2024.01); G01N 33/49 (2024.01); A61B 5/00 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023120411, 03.08.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.08.2023Дата регистрации:
28.02.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 03.08.2023

(45) Опубликовано: 28.02.2024 Бюл. № 7

Адрес для переписки:

344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, 63,
ФГБУ "НМИЦО", Ишониной О.Г.

(72) Автор(ы):

Селютина Олеся Николаевна (RU),
Лысенко Ирина Борисовна (RU),
Новикова Инна Арнольдовна (RU),
Гуськова Наиля Катифовна (RU),
Златник Елена Юрьевна (RU),
Дженкова Елена Алексеевна (RU),
Ишонина Оксана Георгиевна (RU),
Николаева Надежда Владимировна (RU),
Пушкарева Татьяна Федоровна (RU),
Капуза Елена Анатольевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2712921 C1, 03.02.2020. RU
2788816 C1, 24.01.2023. RU 2619340 C1,
15.05.2017. RU 2353928 C1, 27.04.2009. RU
2613119 C1, 15.03.2017. E. J. deAndres-Galiana et
al. Analysis of clinical prognostic variables for
Chronic Lymphocytic Leukemia decision-making
problems //Journal of biomedical informatics,
2016, 60, p. 342-351.(54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОТВЕТА НА ПРОТИВООПУХОЛЕВУЮ ТЕРАПИЮ У
БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Описан способ прогнозирования ответа на противоопухолевую терапию при хроническом лимфолейкозе. Способ включает установление многоцветной проточной цитофлуориметрией уровней экспрессии PD-1 и LAG-3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG-3 на популяции Т-лимфоцитов, PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов, PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов на

амбулаторном этапе с последующим подставлением показателей в две формулы: 1) $F1=0,77 \cdot X1+0,34 \cdot X2+7,76 \cdot X3+0,25 \cdot X4+0,17 \cdot X5-16,86$, 2) $F2=2,05 \cdot X1+0,90 \cdot X2+2,11 \cdot X3-0,006 \cdot X4+0,38 \cdot X5-89,69$, где X1 - уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, X2 - уровень экспрессии LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, X3 - уровень экспрессии LAG3 на популяции Т-лимфоцитов, X4 - уровень экспрессии PD-1 на Т-хелперной

популяции лимфоцитов, X5 - уровень экспрессии PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов, при значении F1 больше F2 прогнозируют хороший ответ на терапию с диапазоном значений остаточных клональных злокачественных клеток-МОБ от 0 до 0,9%, при

значении F2 больше F1 прогнозируют неудовлетворительный ответ на терапию с МОБ больше или равно 1%. Изобретение расширяет арсенал способов прогнозирования ответа на противоопухолевую терапию при хроническом лимфолейкозе. 2 пр.

RU 2 8 1 4 2 6 9 C 1

RU 2 8 1 4 2 6 9 C 1

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

G01N 33/50 (2024.01); G01N 33/48 (2024.01); G01N 33/49 (2024.01); A61B 5/00 (2024.01)

(21)(22) Application: 2023120411, 03.08.2023

(24) Effective date for property rights:
03.08.2023Registration date:
28.02.2024

Priority:

(22) Date of filing: 03.08.2023

(45) Date of publication: 28.02.2024 Bull. № 7

Mail address:

344037, g. Rostov-na-Donu, ul. 14-ya Liniya, 63,
FGBU "NMITSO", Ishoninoj O.G.

(72) Inventor(s):

Seliutina Olesia Nikolaevna (RU),
Lysenko Irina Borisovna (RU),
Novikova Inna Arnoldovna (RU),
Guskova Nailia Katifovna (RU),
Zlatnik Elena Iurevna (RU),
Dzhenskova Elena Alekseevna (RU),
Ishonina Oksana Georgievna (RU),
Nikolaeva Nadezhda Vladimirovna (RU),
Pushkareva Tatiana Fedorovna (RU),
Kapuza Elena Anatolevna (RU)

(73) Proprietor(s):

federalnoe gosudarstvennoe biudzhetnoe
uchrezhdenie "Natsionalnyi meditsinskii
issledovatel'skii tsentr onkologii" Ministerstva
zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)(54) METHOD FOR PREDICTION OF RESPONSE TO ANTICANCER THERAPY IN PATIENTS WITH
CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKAEMIA

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: described is a method for prediction of response to anticancer therapy in chronic lymphocytic leukaemia. Method involves multicolour flow cytometry of expression levels of PD-1 and LAG-3 on a tumour population of B-lymphocytes, LAG-3 on a population of T-lymphocytes, PD-1 on the T-helper population of lymphocytes, PD-1 on the T-cytotoxic population of lymphocytes at the outpatient stage with subsequent substitution of values in two formulas: 1) $F1=0.77 \cdot X1+0.34 \cdot X2+7.76 \cdot X3+0.25 \cdot X4+0.17 \cdot X5-16.86$, 2) $F2=2.05 \cdot X1+0.90 \cdot X2+2.11 \cdot X3-0.006 \cdot X4+0.38 \cdot X5-89.69$, where X1 is the level of PD-1 expression on the tumour population of B-lymphocytes, X2 is the level of LAG3 expression on the tumour

population of B-lymphocytes, X3 is the level of LAG3 expression on the population of T-lymphocytes, X4 is the level of PD-1 expression on the T-helper population of lymphocytes, X5 is PD-1 expression level on T-cytotoxic population of lymphocytes, if F1 is more than F2, a good response to therapy is predicted with a range of values of residual clonal malignant cells-MRD from 0 to 0.9%, if F2 is more than F1, an unsatisfactory response to therapy with MRD is greater than or equal to 1%.

EFFECT: invention extends the range of methods for predicting the response to the anticancer therapy in chronic lymphocytic leukaemia.

1 cl, 2 ex

Изобретение относится к области медицины, к онкогематологии и может быть использовано для прогнозирования ответа на противоопухолевую терапию при хроническом лимфолейкозе (ХЛЛ).

Хронический лимфолейкоз - лимфопролиферативное заболевание, характеризующееся
 5 клональной экспансией зрелых В-лимфоцитов в периферической крови, костном мозге, селезенке и лимфатических узлах, диагностируется при наличии не менее 5000 циркулирующих клональных В-лимфоцитов на микролитр, сохраняющихся в течение не менее 3 месяцев, с характерной морфологией и типичным иммунофенотипом CD19+ CD5+CD23+ (см. Гуськова Н.К., Селютина О.Н., Новикова И.А., Максимов А.Ю.,
 10 Ноздричева А.С, Абакумова С.В. Морфологические и иммунофенотипические особенности моноклональной популяции В-лимфоцитов при хроническом лимфолейкозе. Южно-российский онкологический журнал. 2020. № 1 (3). С. 27-35. DOI: 10.37748/2687-0533-2020-1-3-3; см. Хронический лимфоцитарный лейкоз/лимфома из малых лимфоцитов. Клинические рекомендации. Современная Онкология. 2020; 22 (3): 24-44.
 15 DOI: 10.26442/18151434.2020.3.200385; см. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. Blood. (2018) 131:2745-60. 10.1182/blood-2017-09-806398 [PubMed]).

За последнее десятилетие многочисленные клинические исследования позволили
 20 изменить подходы к терапии больных ХЛЛ, а также способствовали достижению значительных успехов в этой области. Однако, заболевание все еще остается неизлечимым, что побуждает к проведению дальнейших исследований. Наиболее востребован персонифицированный подход к терапии с учетом факторов риска, дающих возможность прогнозировать ответ и своевременно корректировать лечение.

Для оценки эффективности лечения при ХЛЛ широко используется мониторинг
 25 минимальной остаточной болезни (МОБ) - выявление остаточных клональных злокачественных клеток. В настоящее время минимальная остаточная болезнь обозначается термином «измеримая остаточная болезнь», принятым Международным руководящим комитетом (ISC) по МОБ ХЛЛ (см. Wierda W.G., Rawstron A., Cymbalista
 30 F., Badoux X., Rossi D., Brown J.R. et al. Measurable residual disease in chronic lymphocytic leukemia: Expert review and consensus recommendations. Leukemia. 2021. 35(11):3059-72. doi: 10.1038/s41375-021-01241-1 [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]). Оценка величины остаточной болезни при ХЛЛ чаще всего осуществляется методом
 многоцветной проточной цитофлюориметрии во время и после завершения лечения
 35 и используется в рутинной практике в качестве прогностического инструмента, терапевтической цели и потенциального триггера для раннего вмешательства (см. Fisher A., Goradia H., Martinez-Calle N., Patten P., Munir T. The evolving use of measurable residual disease in chronic lymphocytic leukemia clinical trials. Front Oncol. 2023 Feb 22;13:1130617. doi: 10.3389/fonc.2023.1130617. PMID: 36910619; PMCID: PMC9992794)).

Известно, что пациенты, у которых на ранних этапах терапии наблюдается
 40 отрицательный МОБ-статус (0-0,01% опухолевых В-клеток), могут быть кандидатами на прекращение лечения с целью ограничения связанной с ним токсичности (см. Thompson PA, Wierda WG. Eliminating minimal residual disease as a therapeutic end point: working toward cure for patients with CLL. Blood. 2016;127(3):279-286. doi:10.1182/blood-2015-08-634816).
 45 При МОБ 0,01-0,90 % у больных ХЛЛ рассматривается возможность проводить поддерживающую терапию, а МОБ >1 % может свидетельствовать о возможности раннего рецидива и служить основанием для изменения терапевтической тактики (см. S., Giannarelli D., Montserrat E. Minimal residual disease and survival outcomes in patients with

chronic lymphocytic leukemia: a systematic review and meta-analysis.// Clin. Lymphoma. Myeloma Leuk. 2019 Vol. 19, № 7 P. 423-430). Для повышения прогностической ценности МОБ в оценке ответа больных на терапию проводится активный поиск маркеров, которые могут быть использованы для стратификации больных на группы риска еще до начала

лечения. В настоящее время внимание исследователей сосредоточено на изучении роли PD-1 (рецептор программируемой клеточной гибели, CD279) и LAG-3 (активационный ген 3 лимфоцитов, CD223) в патогенезе ХЛЛ. Предполагается, что одной из основных причин роста опухолевых В-клеток при ХЛЛ является неэффективность противоопухолевых иммунологических механизмов. Взаимодействие клеток ХЛЛ с окружающей средой, изменение собственных свойств и микроокружения способствует их выживанию, повышенной пролиферации и, в конечном итоге, устойчивости к терапии (см. Pleyer L, Egle A, Hartmann TN, Greil R. Molecular and cellular mechanisms of CLL: novel therapeutic approaches. Nat Rev Clin Oncol. 2009;6(7):405-18 [PubMed] [Google Scholar] [Ref list]; см. Zenz T, Mertens D, Kuppers R, Dohner H, Stilgenbauer S. From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. Nat Rev Cancer. 2010;10(1):37-50 [PubMed] [Google Scholar] [Ref list]).

Известно, что ХЛЛ характеризуется глубокими дефектами функции Т-клеток. Так, экспрессия PD-1 Т-лимфоцитами CD4+ и CD8+ значительно выше у пациентов с ХЛЛ в сравнении со здоровыми лицами сопоставимого возраста (см. Brusa D, Serra S, Coscia M, et al. The PD-1/PD-L1 axis contributes to T-cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia. Haematologica. 2013;98(6):953-963. doi:10.3324/haematol.2012.077537). Выявлено также взаимодействие PD-1 и LAG3, которое усиливает ингибирующее действие Т-клеток, либо влияет на терапевтический эффект путем блокирования одной из этих молекул (см. Wang J., Sanmamed M.F., Datar I. et al. Fibrinogen-like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3. Cell. 2019;176(1-2):334-347.e12. doi:10.1016/j.cell.2018.11.010). Известно также, что PD-1 экспрессируется на В-клетках, регулируя их неконтролируемую активацию (см. Thibult M.-L., Mamessier E., GertnerDardenne J. et al. PD-1 is a novel regulator of human B-cell activation. Int Immunol 2013; 25(2):129-37. DOI: 10.1093/intimm/dxs098. PMID: 23087177).

Рядом авторов показано, что при ХЛЛ происходит повышение уровня поверхностной экспрессии молекулы LAG-3 на опухолевых В-клетках (см. Wierz M., Pierson S., Guyonnet L. et al. Dual PD1/LAG3 immune checkpoint blockade limits tumor development in a murine model of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2018; 131(14): 1617-1621. DOI: 10.1182/blood-2017-06-792267; см. Sordo-Bahamonde C, Lorenzo-Herrero S, González-Rodríguez AP, Payer ÁR, González-García E, López-Soto A, Gonzalez S. LAG-3 Blockade with Relatlimab (BMS-986016) Restores Anti-Leukemic Responses in Chronic Lymphocytic Leukemia. Cancers (Basel). 2021 Apr 27;13(9):2112. doi: 10.3390/cancers13092112. PMID: 33925565; PMCID: PMC8123840). По результатам наших исследований у больных ХЛЛ также обнаружена экспрессия LAG-3 на поверхности CD19+клеток в отличие от лиц контрольной группы (см. Селютина О.Н., Лысенко И. Б., Гуськова Н.К., Новикова И.А., Златник Е.Ю., Пушкарева Т.Ф., Николаева Н.В., Камаева И.А., Саманева Н.Ю., Капуза Е.А. Экспрессия LAG-3 на В-лимфоцитах как маркер прогноза ответа на терапию у больных хроническим лимфолейкозом. Сибирский онкологический журнал. 2023; 22(2): 34-42. - doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-2-34-42).

При онкологических заболеваниях описано, что LAG-3 и PD-1 функционально взаимодействуют и для ослабления Т-клеточного ответа (см. Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. Nature reviews. Immunology. 2015;15:

486-499. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar] [Ref list]; см. Matsuzaki J, Gnjatic S, Mhawech-Fauceglia P, Beck A, Miller A, Tsuji T, Eppolito C, Qian F, Lele S, Shrikant P, et al. Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8+ T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2010;107:7875-7880. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar] [Ref list]).

В этой связи, изучение особенностей экспрессии PD-1 и LAG-3 во взаимосвязи с ответом больных ХЛЛ на терапию и в ассоциации указанных показателей с уровнем МОБ представляется актуальным.

Из патентных источников известен «Способ прогнозирования ответа на химиотерапию при хроническом лимфолейкозе» (см. патент RU 2495427 C1, 10.10.2013. Заявка № 2012128302/15 от 04.07.2012), основанный на генотипировании полиморфного локуса 9360T гена фактора роста эндотелия сосудов. При выявлении у больного генотипа CC или аллеля C прогнозируют высокую вероятность положительного ответа на проводимую химиотерапию. Недостатками данного способа являются дорогостоящее специальное оборудование, трудоемкость и длительность процесса исследования.

Ранее авторами был разработан «Способ прогнозирования течения хронического лимфолейкоза» (см. патент RU 2788816 C1, 24.01.2023. Заявка № 2022129922 от 18.11.2022), основанный на том, что на амбулаторном этапе после постановки диагноза определяют уровень лимфоцитов и экспрессию PD-1 и LAG-3 на CD19+ клетках в крови методом проточной цитофлуориметрии. При уровне лимфоцитов $\geq 67,11\%$, экспрессии PD-1 $\geq 40,81\%$ и LAG-3 $\geq 24,62\%$ на CD19+ клетках прогнозируют неблагоприятное течение хронического лимфолейкоза. При этом экспрессия LAG-3 и PD-1 оценивалась только на популяции В-лимфоцитов.

Задачей предлагаемого способа является расширение диагностических возможностей, позволяющих по уровню экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG-3 на популяции Т-лимфоцитов, PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов, PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов крови прогнозировать ответ на противоопухолевую терапию с определенным диапазоном значений МОБ еще до начала лечения.

Техническим результатом является разработка способа прогнозирования ответа на противоопухолевую терапию у больных хроническим лимфолейкозом, позволяющего еще до начала лечения прогнозировать ответ на терапию с определенным диапазоном значений МОБ.

Технический результат достигается тем, что на амбулаторном этапе до начала противоопухолевой терапии в образце венозной крови пациента методом многоцветной проточной цитофлуориметрии устанавливают уровни экспрессии PD-1 и LAG-3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG-3 на популяции Т-лимфоцитов, PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов, PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов, затем определяют коэффициенты F1 и F2 путем подставления значения каждого иммунофенотипического показателя в две формулы:

$$1) F1 = 0,77 * X1 + 0,34 * X2 + 7,76 * X3 + 0,25 * X4 + 0,17 * X5 - 16,86,$$

$$2) F2 = 2,05 * X1 + 0,90 * X2 + 2,11 * X3 - 0,006 * X4 + 0,38 * X5 - 89,69,$$

где

X1 - уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: % CD19+/CD5+/CD23+/PD-1+ от лимфоцитов,

X2 - уровень экспрессии LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: % CD19+/CD5+/CD23+/LAG3+ от лимфоцитов,

X3 - уровень экспрессии LAG3 на популяции Т-лимфоцитов: % CD3+/LAG3+ от

лимфоцитов,

X4 - уровень экспрессии PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов: % CD3+/CD4+/PD-1+ от лимфоцитов,

X5 - уровень экспрессии PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов: % CD3+/CD8+/PD-1+ от лимфоцитов, при значении F1 больше F2 прогнозируют хороший ответ на терапию с диапазоном значений МОБ от 0 до 0,9%, при значении F2 больше F1 прогнозируют неудовлетворительный ответ на терапию с величиной уровня МОБ больше или равно 1%.

Авторами были сопоставлены результаты исследования у больных ХЛЛ инициальных иммунофенотипических характеристик опухолевого клона В-лимфоцитов и Т-лимфоцитов с выраженностью гематологического ответа по уровню МОБ. С помощью пошагового дискриминантного анализа были отобраны иммунофенотипические показатели, которые в совокупности обладали высокой дискриминантной мощностью и позволили разделить пациентов на две группы:

1 - с удовлетворительным ответом на противоопухолевую терапию после 6 курсов иммунохимиотерапии с диапазоном значений МОБ от 0 до 0,9%;

2 - с неудовлетворительным ответом на терапию после завершения 6 курсов иммунохимиотерапии с уровнем МОБ $\geq 1\%$.

В комплекс прогностических показателей вошли уровни экспрессии в крови до лечения:

- PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: CD19+/CD5+/CD23+/PD-1+ в % от лимфоцитов;

- LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: CD19+/CD5+/CD23+/LAG3+ в % от лимфоцитов;

- PD-1 на популяции Т-лимфоцитов: CD3+/PD-1+ в % от лимфоцитов;

- LAG3 на популяции Т-лимфоцитов: CD3+/LAG3+ в % от лимфоцитов;

- PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов: CD3+/CD4+/PD-1+ в % от лимфоцитов;

- PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов: CD3+/CD8+/PD-1+ в % от лимфоцитов.

В результате, на основании дискриминантного анализа, построена система из двух уравнений, позволяющих определить величины коэффициентов F1 и F2 и сравнить их между собой. F1 представляет собой оценочный критерий, характеризующий группу пациентов с хорошим ответом на противоопухолевую терапию с диапазоном значений МОБ от 0 до 0,9% и F2 - с неудовлетворительным ответом на терапию с уровнем МОБ $\geq 1\%$. Прогностическое заключение принимали в пользу того коэффициента F, значение которого больше. Например, если в результате вычислений значение $F1 > F2$, то у пациента прогнозируют хороший ответ на противоопухолевую терапию с диапазоном значений МОБ от 0 до 0,9%, а при $F2 > F1$ - неудовлетворительный ответ на терапию с уровнем МОБ $\geq 1\%$.

Данный способ базируется на использовании комплекса иммунологических показателей: уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG3 на популяции Т-лимфоцитов, PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов, PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов в венозной крови до начала лечения.

Новизмой способа является то, что применение комплекса иммунологических показателей: уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG3 на популяции Т-лимфоцитов, PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов, PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов

в венозной крови до начала лечения позволяет еще на этапе планирования противоопухолевого лечения прогнозировать ответ на терапию больного ХЛЛ.

Способ осуществляется следующим образом.

На амбулаторном этапе до начала противоопухолевой терапии в образце венозной крови пациента методом многоцветной проточной цитофлюориметрии устанавливают уровни экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG3 на популяции Т-лимфоцитов, PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов, PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов. Далее определяют прогностические коэффициенты F1 и F2 путем подставления значения каждого иммунофенотипического показателя в две формулы:

$$1) F1=0,77*X1+0,34*X2+7,76*X3+0,25*X4+0,17*X5-16,86;$$

$$2) F2=2,05*X1+0,90*X2+2,11*X3-0,006*X4+0,38*X5-89,69,$$

где

X1 - уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: % CD19+/CD5+/CD23+/PD-1+ от лимфоцитов,

X2 - уровень экспрессии LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: % CD19+/CD5+/CD23+/LAG3+ от лимфоцитов,

X3 - уровень экспрессии LAG3 на популяции Т-лимфоцитов: % CD3+/LAG3+ от лимфоцитов,

X4 - уровень экспрессии PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов: % CD3+/CD4+/PD-1+ от лимфоцитов,

X5 - уровень экспрессии PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов: % CD3+/CD8+/PD-1+ от лимфоцитов.

Если в результате вычисления $F1 > F2$, то делается вывод о том, что у больного с указанными значениями иммунофенотипических предикторов (X1-X5) прогнозируется хороший ответ на терапию с диапазоном значений МОБ от 0 до 0,9%. В случае, если $F2 > F1$, то делается вывод о том, что у больного с указанными значениями иммунофенотипических предикторов (X1-X5) прогнозируется неудовлетворительный ответ на терапию с величиной уровня МОБ $\geq 1\%$.

Приводим кинические примеры применения способа.

Пример 1:

Пациент К., 50 лет. В анамнезе: в 2017 г. у больного был диагностирован В-клеточный хронический лимфолейкоз/лимфома из малых лимфоцитов, ст. А по Binet.

Противоопухолевая терапия не показана, рекомендовано наблюдение. В октябре 2020 г. отметил ухудшение состояния. Выполнено иммунофенотипирование периферической крови, биопсия лимфоузлов. Подтвержден диагноз ХЛЛ. Стадия В по Binet, рекомендовано проведение иммунохимиотерапии. До лечения в венозной крови определены следующие показатели (в % от лимфоцитов): уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов (35,8 %), уровень LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов (15,1%), уровень LAG3 на популяции Т-лимфоцитов (0,2 %), PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов (11,8 %), PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов (7,7 %).

Подставили значение каждого иммунологического показателя в две формулы:

$$1) F1=0,77*35,8+0,34*15,1+7,76*0,2+0,25*11,8+0,17*7,7-16,86 = 21,5$$

$$2) F2=2,05*35,8+0,90*15,1+2,11*0,2-0,006*11,8+0,38*7,7-89,69 = -1,9$$

Так как в данном случае прогностический коэффициент F1 имеет значение, превосходящее по величине F2 ($21,5 > -1,9$), то у больного прогнозируем хороший ответ на терапию с диапазоном МОБ от 0 до 0,9%. Пациент прошел 6 курсов

иммунохимиотерапии по схеме FCR. Выполнено иммунофенотипирование периферической крови с целью выявления маркеров минимальной остаточной болезни. Заключение ИФТ (03.06.2021 г.): популяция лимфоцитов с иммунофенотипом, характерным для В-ХЛЛ/лимфомы из малых лимфоцитов, не обнаружена (МОБ - 0 %).

5 У пациента достигнута полная МОБ-негативная ремиссия. Полученные после лечения данные подтвердили спрогнозированный до лечения хороший ответ на противоопухолевую терапию и диапазон значений МОБ.

Пример 2:

Пациентка О., 51 год. В анамнезе: в ноябре 2021 года обратилась к терапевту по месту жительства с жалобами на боли в животе. На УЗИ выявлено увеличение лимфоузлов брюшной полости. В феврале 2022 года самостоятельно обратилась в ФГБУ «НМИЦ онкологии». Выполнено иммунофенотипирование периферической крови, трепан-биопсия подкрыльцовых лимфоузлов. У больной была диагностирована В-клеточный хронический лимфолейкоз/лимфома из малых лимфоцитов, стадия С по Binet, кл. гр. 2. Рекомендовано проведение иммунохимиотерапии. До лечения в венозной крови определены следующие показатели (в % от лимфоцитов): уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов (77,0 %), уровень LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов (50,7 %), уровень LAG3 на популяции Т-лимфоцитов (0,5 %), PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов (1,3 %), PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов (0,9 %).

Подставили значение каждого показателя в две формулы:

$$1) F1=0,77*77,0+0,34*50,7+7,76*0,5+0,25*1,3+0,17*0,9-16,86 = 46,8$$

$$2) F2=2,05*77,0+0,90*50,7+2,11*0,5-0,006*1,3+0,38*0,9-89,69 = 112,7$$

Так как в данном случае прогностический коэффициент F2 имеет значение, превосходящее по величине F1 (112,7>46,8), то у больной прогнозируем неудовлетворительный ответ на терапию с уровнем МОБ $\geq 1\%$. Пациентке проведено 6 курсов иммунохимиотерапии по схеме RB. Выполнено иммунофенотипирование периферической крови с целью выявления маркеров минимальной остаточной болезни. Заключение ИФТ (17.11.2022 г.): популяция лимфоцитов с иммунофенотипом, характерным для В-ХЛЛ/лимфомы из малых лимфоцитов, составила 14,3 % (МОБ - 14,3 %). Достигнута частичная ремиссия. Рекомендована поддерживающая терапия ритуксимабом 375 мг/м². Полученные после лечения данные подтвердили спрогнозированный до начала терапии неудовлетворительный ответ на лечение и диапазон значений МОБ.

Технико-экономическая эффективность способа заключается в том, что его применение позволяет врачу еще на этапе планирования противоопухолевого лечения по инициальным значениям иммунофенотипических показателей лимфоцитов крови спрогнозировать ответ на терапию для каждого больного ХЛЛ для выработки индивидуальной тактики лечения.

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования ответа на противоопухолевую терапию у больных хроническим лимфолейкозом, заключающийся в том, что на амбулаторном этапе до начала противоопухолевой терапии в образце венозной крови пациента методом многоцветной проточной цитофлюориметрии устанавливают уровни экспрессии PD-1 и LAG-3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов, LAG-3 на популяции Т-лимфоцитов, PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов, PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов, затем определяют коэффициенты F1 и F2 путем подставления значения

каждого иммунофенотипического показателя в две формулы:

$$1) F1=0,77*X1+0,34*X2+7,76*X3+0,25*X4+0,17*X5-16,86,$$

$$2) F2=2,05*X1+0,90*X2+2,11*X3-0,006*X4+0,38*X5-89,69,$$

где

5 X1 - уровень экспрессии PD-1 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: % CD19+/CD5+/CD23+/PD-1+ от лимфоцитов,

X2 - уровень экспрессии LAG3 на опухолевой популяции В-лимфоцитов: % CD19+/CD5+/CD23+/LAG3+ от лимфоцитов,

10 X3 - уровень экспрессии LAG3 на популяции Т-лимфоцитов: % CD3+/LAG3+ от лимфоцитов,

X4 - уровень экспрессии PD-1 на Т-хелперной популяции лимфоцитов: % CD3+/CD4+/PD-1+ от лимфоцитов,

15 X5 - уровень экспрессии PD-1 на Т-цитотоксической популяции лимфоцитов: % CD3+/CD8+/PD-1+ от лимфоцитов, при значении F1 больше F2 прогнозируют хороший ответ на терапию с диапазоном значений остаточных клональных злокачественных клеток-МОБ от 0 до 0,9%, при значении F2 больше F1 прогнозируют неудовлетворительный ответ на терапию с МОБ больше или равно 1%.

20

25

30

35

40

45