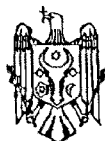




MD 1009 Z 2016.09.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1009** (13) **Z**
(51) Int.Cl: *G01N 33/50* (2015.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

(21) Nr. depozit: s 2015 0029 (22) Data depozit: 2015.03.02	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2016.02.29, BOPI nr. 2/2016
(71) Solicitant: NICORICI Aliona, MD (72) Inventatori: MEREUȚĂ Ion, MD; NICORICI Aliona, MD; STRATAN Valentina, MD (73) Titular: NICORICI Aliona, MD	

(54) **Metodă de determinare a predisunerii persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin**

(57) **Rezumat:**

1
Invenția se referă la medicină, în special la oncohematologie și poate fi utilizată pentru determinarea predisunerii persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.

Conform invenției, metoda constă în aceea că la persoanele la care se determină genotipul Arg/Arg al codonului genei XRCC1

2
suplimentar se determină și raportul imunoglobulinelor IgM și IgG și în cazul în care raportul constituie 0,03...0,24, se constată predispunerea persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.

Revendicări: 1

MD 1009 Z 2016.09.30

(54) Method for determining the susceptibility of a person to the development of non-Hodgkin lymphoma

(57) Abstract:

1

The invention relates to medicine, in particular to hematology and can be used for determining the susceptibility of a person to the development of non-Hodgkin lymphoma.

According to the invention, the method consists in the fact that persons in whom is determined the Arg/Arg genotype of the

2

XRCC1 gene codon is additionally determined the ratio of IgM and IgG immunoglobulins and where the ratio is 0.03...0.24, it is established the person's susceptibility to the development of non-Hodgkin lymphoma.

Claims: 1

(54) Метод определения предрасположенности человека к развитию лимфомы нон-Ходжкин

(57) Реферат:

1

Изобретение относится к медицине, в частности к онкогематологии и может быть использовано для определения предрасположенности человека к развитию лимфомы нон-Ходжкин.

Согласно изобретению, метод состоит в том, что у лиц, у которых определяют генотип Arg/Arg кодона гена XRCC1,

2

дополнительно определяют и соотношение иммуноглобулинов IgM и IgG и в случае, когда соотношение составляет 0,03...0,24, констатируют предрасположенность человека к развитию лимфомы нон-Ходжкин.

П. формулы: 1

Descriere:

Invenția se referă la medicină, în special la oncohematologie și poate fi utilizată pentru determinarea predispoziției persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.

Limfomul non-Hodgkin (LNH) este o formă de cancer care se dezvoltă în țesutul limfatic - situat în diverse părți ale organismului: ganglioni limfatici, splină, timus, vegetații adenoide, amigdale și măduva osoasă.

Sistemul limfatic este o parte importantă a sistemului imun, joacă un rol esențial în apărarea organismului contra infecțiilor. Limfomul non-Hodgkin își are originea în țesutul limfatic, dar se poate răspândi și în alte organe.

Limfomul non-Hodgkin se împarte în două categorii:

Limfom non-Hodgkin agresiv caracterizat prin rapiditatea cu care se divid celulele neoplazice din ganglionii limfatici, necesitând tratament imediat. Fără un tratament adecvat, speranța medie de viață la pacienții cu limfom non-Hodgkin agresiv este de la șase luni la 2 ani. Pacienții diagnosticați și tratați în stadiile incipiente ale bolii au o șansă mai mare de remisie completă cu durata de câțiva ani și o probabilitate mai mică de recurență a bolii.

Limfomul non-Hodgkin indolent este caracterizat prin multiplicarea și răspândirea mai lentă în organism a celulelor neoplazice, ceea ce face diagnosticarea mai dificilă. Pacienții pot trăi în medie 10 ani cu această boală; un pacient cu limfom non-Hodgkin indolent poate primi tratament de 5-6 ori pe parcursul vieții, pentru a încetini progresia bolii. Tratamentele standard nu pot vindeca această formă de limfom.

Este cunoscută o metodă de determinare a predispoziției persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin, care constă în aceea că se cercetează genotipul 399 al codonului genei XRCC1 și în cazul depistării genotipului Gln/Gln se determină o predispoziție a persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin agresiv, iar în cazul când se determină genotipul Arg/Arg se determină un risc minim de predispoziție a persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin agresiv [1].

Dezavantajul metodei constă în aceea că nu este certă în determinarea predispoziției persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin, întrucât chiar și la persoanele la care se determină genotipul Arg/Arg, care este un indicator minim de dezvoltare a maladiei, și la ele se pot dezvolta limfoame non-Hodgkin. Într-un studiu efectuat pe un lot de 26 de persoane la care s-a determinat genotipul Arg/Arg, la 7 din ele s-a dezvoltat limfomul non-Hodgkin.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în extinderea gamei de metode destinate determinării predispoziției persoanelor la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin prin elaborarea unei metode, care ar permite cert determinarea predispoziției la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.

Esența metodei de determinare a predispoziției persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin constă în aceea că la persoanele la care se determină genotipul Arg/Arg al codonului genei XRCC1 suplimentar se determină și raportul imunoglobulinelor IgM și IgG și în cazul în care raportul constituie 0,03...0,24, se constată predispoziția persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.

Rezultatul invenției constă în aceea că datorită metodei revendicate se poate de determinat cert predispoziția persoanelor la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.

Datorită metodei elaborate se poate cert de determinat predispoziția la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin chiar și la persoanele la care se determină genotipul Arg/Arg, care este un indicator minim de dezvoltare a maladiei non-Hodgkin la pacienții cu genotipul Arg/Arg al genei XRCC1.

Metoda se efectuează în felul următor.

Din patul vascular se colectează 10,0 mL de sânge, se evidențiază ADN-ul, apoi se efectuează genotiparea polimorfismului Arg399Gln al genei XRCC1 care include reacția de polimerizare în lanț efectuată cu ajutorul termociclerului automat „Eppendorf” ce constă din 31 de cicluri, apoi se efectuează analiza electroforetică a reacției de polimerizare în lanț pe un gel agarizat de 1,5% cu obținerea fragmentelor genei XRCC1, se efectuează hidroliza cu endonucleaza de restricție MspI, timp de 3 ore la 37 °C, după care se face analiza electroforetică pe mediu gelifiant agarizat de

1,5% a endonucleazei de restricție MspI și dacă se observă o fâșie, atunci se determină genotipul Gln/Gln, 2 fâșii pe banda electroforetică vorbesc despre genotipul Arg/Arg, iar 3 fâșii vorbesc despre genotipul Arg/Gln. La persoanele cu genotipul Arg/Arg se determină cantitatea de IgM și IgG, după care se calculează raportul dintre ele și în cazul în care raportul constituie 0,03...0,24, se determină o

5 predispunere a persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.
Ca rezultat al cercetărilor efectuate s-a constatat că odată cu creșterea IgG și micșorarea IgM în patul sanguin crește probabilitatea de dezvoltare la persoanele cu genotipul Arg/Arg a bolii limfomului non-Hodgkin, la fel s-a determinat și

10 raportul care cert indică la apariția riscului de dezvoltare a bolii menționate. Analizele au fost efectuate pe un lot de 26 de pacienți, dintre care la 7 s-a depistat genotipul Arg/Arg al genei XRCC1. La toți cei 7 pacienți au fost depistate rapoarte IgM față de IgG în intervalul 0,03...0,24, iar la ceilalți 19 pacienți raportul a constituit mai mult de 0,25.

15 În anul 1970, prin consens între specialiști, Organizația Mondială a Sănătății a stabilit ca substanțele cu proprietăți de anticorp să fie grupate în categoria imunoglobulinelor, pornind de la faptul că toate substanțele din acest grup au funcție imună și sunt cuprinse în fracția globulinică a serului.
Anticorpii sunt imunoglobuline care se sintetizează în organism după

20 pătrunderea unui antigen și au proprietatea de a se cupla specific cu antigenul inductor și de a-i anihila acțiunea nocivă, anticorpii sau Ig sunt produsul final al reacției imune (RIU).
Exemplu
Pacienta A., 51 ani, s-a adresat la centrul Consultativ Diagnostic al IOM la un

25 control profilactic. Bolnava în anamneză suferă de ulcer gastric de 8 ani, s-a depistat infectarea cu *Helicobacter pylori* netratată, cu 3 ani în urmă a suferit o mastectomie pe stânga, după care a suportat un curs de chimioterapie. Bolnava în cadrul IOM a fost supusă examenului clinic și paraclinic, ganglionii limfatici regionali nu se palpau, iar în cadrul examenului paraclinic s-a efectuat radiografia cutiei toracice, ultrasonografia organelor interne, analiza generală a sângelui, toate datele din investigații au fost în limitele fiziologice, complicații legate de intervenția suportată după mastectomie nu s-au depistat, apoi bolnava a fost examinată la prezența genotipării polimorfismului Arg399Gln al genei XRCC1, s-a determinat prezența genotipului Arg/Arg, după care s-a determinat și cantitatea de IgM care a constituit

30 3,0 g/L și cantitatea de IgG - 25,0 g/L, raportul acestor imunoglobuline a constituit 0,12. Acest raport indică o predispoziție a persoanei cu prezența genotipului Arg/Arg la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin. Bolnava a refuzat să trateze infecția de *Helicobacter pylori*, dar și să urmeze o cură de tratament de susținere și

35 peste 3,5 luni s-a adresat la centrul Consultativ Diagnostic al IOM cu acuza la apariția unui ganglion limfatic cervical pe dreapta, indolor, bolnava a fost investigată clinic și paraclinic, în cadrul investigațiilor s-au efectuat:

	Analiza generală a sângelui	date de referință
	Hemoglobina – 126 g/L	137...175 g/L
45	Eritrocite – $4,3 \times 10^{12}/L$	$4,63...6,1 \times 10^9$ g/L
	Hematocrit – 44,3%	40...51%
	Reticulocite – 1,84%	0,5...1,7%
	Trombocite – $494,5 \times 10^9/L$	$163...380 \times 10^9/L$
	Leucocite – $11,54 \times 10^9/L$	$4,23...9,07 \times 10^9/L$
50	Nesegmentate – 2%	0... 2,5%
	Segmentate – 54%	38...78%
	Eozinofile – 3%	0,8...7%
	Bazofile – 0,5%	0,1...1,2%
	Limfocite – 34%	19...37%
55	Monocite – 5%	5,3...12,2%
	VSH – 20 mm/oră	2...10 mm/oră
	Volumul eritrocitar mediu – 84,9 fL	79...92,2 fL

	Hemoglobina eritocitară medie – 29,5 pg	25,7...32,2 pg
	Concentrația medie a hemoglobinei – 34,8 g/dL	32,3... 36,5 g/L
	Gradul de anizocitoză – 12,8%	11,6...14,4%
	Volumul mediu al trombocitelor – 10,6 fL	9,4...12,4 fL
5	Analiza biochimică a sângelui:	datele de referință
	Proteina generală – 73,0 mmol/L	62,0... 80,0 mmol/L
	Albumina – 47,73 g/L	34...48 g/L
	Ureea – 5,76 mmol/L	1,33...11,9 mmol/L
	Creatinina – 78,39 μmol/L	61,9...106,2 μmol/L
10	Bilirubina totală – 6,16 μmol/L	0...17 μmol/L
	Bilirubina conjugată – 1,95 μmol/L	0...3,4 μmol/L
	Bilirubina liberă – 4,207 μmol/L	13,6 μmol/L
	Glucosa – 5,23 mmol/L	4,1...5,9 mmol/L
	ALAT – 60,52 U/L	5...41 U/L
15	ASAT – 23,62 U/L	10...50 U/L
	Amilaza – 53,89 U/L	13...100 U/L
	Lipaza – 32,86 U/L	13...60 U/L
	Fosfataza alcalină – 78,58 U/L	40...130 U/L
	GGTP – 48,15 U/L	10...71 U/L
20	C – proteina reactivă (PCR) – 9,52 mg/L	0,1...5 mg/L

A fost efectuată biopsia ganglionului limfatic: Limfom non-Hodgkin varianta limfoblastică și exulcerație profundă. Ganglioni limfatici regionali intacti.

- 25 Datele obținute de la examenul clinic și paraclinic vorbesc despre debutul maladiei non-Hodgkin, ceea ce confirmă datele obținute cu 3,5 luni în urmă, persoanei i s-a prescris un tratament specific, complicații după tratamentul specific nu s-au înregistrat.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. RU 2373862 C1 2009.11.27

(57) Revendicări:

Metodă de determinare a predispoziției persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin care constă în aceea că la persoanele la care se determină genotipul Arg/Arg al codonului genei XRCC1 suplimentar se determină și raportul imunoglobulinelor IgM și IgG și în cazul în care raportul constituie 0,03...0,24, se constată predispoziția persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin.

Șef adjunct Direcție Brevete:

IUSTIN Viorel

Examinator:

LEVIȚCHI Svetlana

AGENTIA DE STAT PENTRU PROPRIETATEA INTELECTUALA A REPUBLICII MOLDOVA

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: s 2015 0029 (22) Data depozit: 2015.03.02 (71) Solicitant: NICORICI Aliona, MD (54) Titlul: Metodă de determinare a predispunerii persoanei la dezvoltarea limfomului non-Hodgkin		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) Int.Cl: <i>G01N33/50</i> (2006.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): “limfom”, “limfom non-Hodgkin” Int. Cl: <i>G01N33/50</i> (2006.01) EA, CIS (Eapatis): “лимфом”, “лимфом нон-Ходжкин” Int. Cl: <i>G01N33/50</i> (2006.01) SU (nonpublic): “лимфом”, “лимфом нон-Ходжкин” Int. Cl: <i>G01N33/50</i> (2006.01)		
IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
http://old.ms.md/_files/6131-PCN-64%2520LNH.pdf http://www.romedic.ro/limfoamele-non-hodgkin http://www.exploremedicinetv.ro/boli/boli-oncologice/limfom-non-hodgkin.html http://www.kinderkrebsinfo.de/zabolevaniya/limfomy/pohpatinfonhl120061026/pohpatinfonhlkurz/index_rus.html https://diseases.medelement.com/disease/view/MTM2MjU%253D/fDB8		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categorია*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	MD 280 C2 1995.09.30	1
A	MD 1367 G2 1999.12.31	1
A	RU 2490641 C1 2013.08.20	1
A	RU 2490638 C1 2013.08.20	1
A	RU 2012108895 A 2013.11.20	1
A	RU 2211695 C2 2003.09.10	1
A	RU 2001127330 A 2003.08.27	1
A	RU 93028217 A 1986.04.10	1
A	RU 2007115763 A 2008.10.27	1
A, D, C	RU 2373862 C1 2009.11.27	1

* categoriile speciale ale documentelor citate:	
A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidența principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri
Data finalizării documentării	
18.11.2015	
Examinator	
LUPAȘCU Lucian	