

t(9;22) BCR-ABL p210 CML mRNA ekspressioon
.... mida see tähendab?

SA TÜ KLIINIKUMI ÜHENDLABOR
Immuunanaluüsi labor
KADRI RAUDSEPP

07.08.2009 Rakvere

Miks tekib leukeemia?

- Raku DNA vigastus - see ei ole kaasa sündinud vaid tekib hilisemas elus.
- Kui DNA vigastus tekib geenides, mis kontrollivad raku paljunemist või küpsemist, siis väljub raku areng kontrolli alt.

Selle tagajärgedeks on

- ❖ Ebaküpsete vererakkude paljunemine ning kuhjumine
- ❖ Normaalse rakkude hulga vähenemine

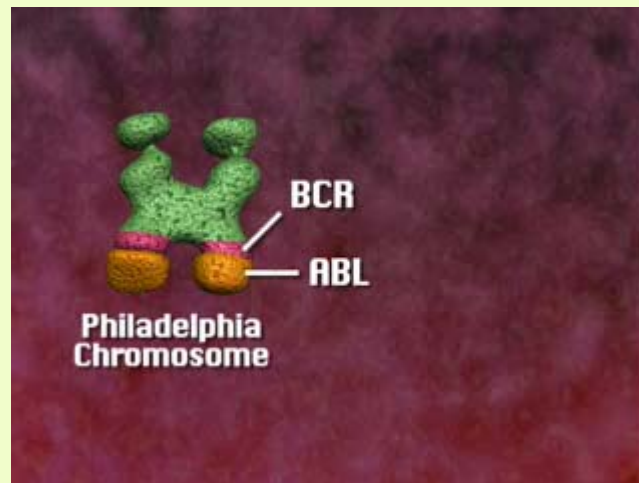
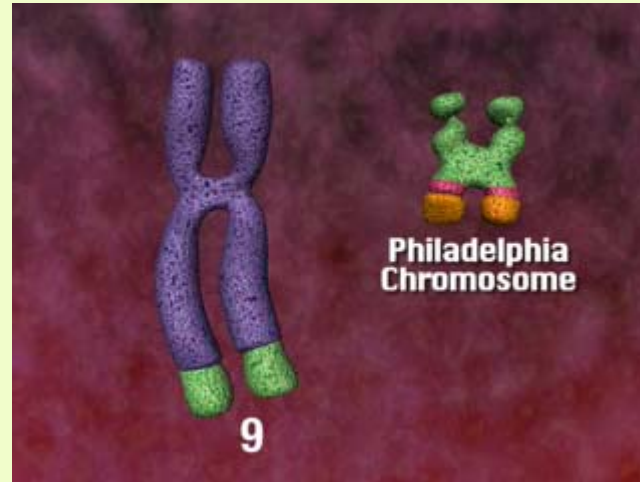
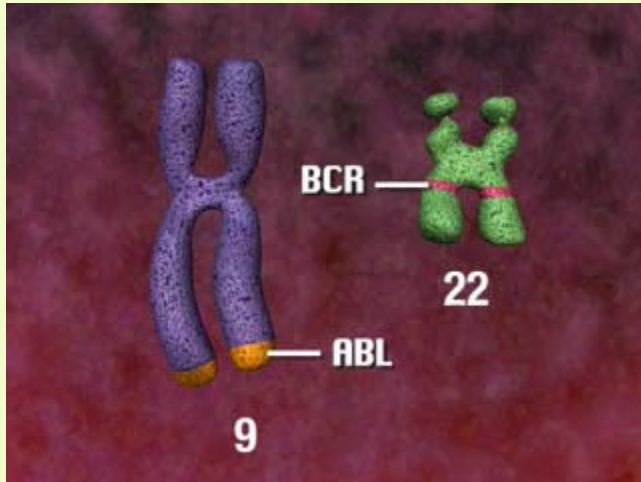
Geneetilised muutused

- Teatud kindlate geenide muutumine põhjustab teatud kindlate omadustega vähirakkude tekkimise – erinevad vähitüübid.
- Erinevatel vähitüüpidel on erinevad omadused ning ka erinev ravi.

Krooniline müeloidne leukeemia

- Rohkem kui 95% CML patsientidel esineb nn *Philadelphia*-kromosoom, mis on tekkinud kromosoomide 9 ja 22 translokatsiooni teel - t(9;22)(q34;q21).
- Kromosoomide ühinemise tulemusel tekib liitgeen *BCR-ABL*, mis annab rakule pideva paljunemissignaali.

Philadelphia kromosoom



t(9;22) Philadelphia kromosoom (BCR/ABL)

- Philadelphia kromosoomi korral esineb peamiselt kaks erinevat varianti ehk geenide murdepunkti, mille tulemusel tekivad erineva suurusega liitvalgud:
 - Kroonilise müeloidse leukeemia (CML) tekkepõhjuseks on 95% juhtudel liitvalgu ABL/BCR p210 tekkimine.
 - Ägeda lümfoidse leukeemia (ALL) korral on tihti tegemist liitvalguga ABL/BCR p190.

[Ravi]

Sihtmärgiline ravi türosiinkinaasi inhibiitoritega:

- Gleevec®/Glivec® (imatinib, nilotinib, jne) – revolutsioon vähi ravis.
- Gleevec/Glivec inhibeerib valikuliselt BCR-ABL kinaasi aktiivsust.

Oluline on ravi efektiivsuse jälgimine:

- Kolm peamist analüüsi ning eristatakse kolme erinevat tüüpi ravivastust:

hematoloogiline, tsütogeneetiline ja molekulaarne.

Molekulaarne ravivastus

Hinnatakse, kas vererakud toodavad ehk ekspressseerivad BCR-ABL liitvalku

Mõõdetakse *BCR-ABL p210* mRNA taset PCR meetodiga

Peamine molekulaarne ravivastus

- Ebanormaalse BCR-ABL liitvalgu tootmine on oluliselt vähenenud - algsest väärtusest 3 log ehk 1000 kordne vähenemine

Täielik molekulaarne ravivastus

- Ebanormaalse BCR-ABL liitvalgu tootmine ei ole detekteeritav – PCR analüüsi tulemus negatiivne

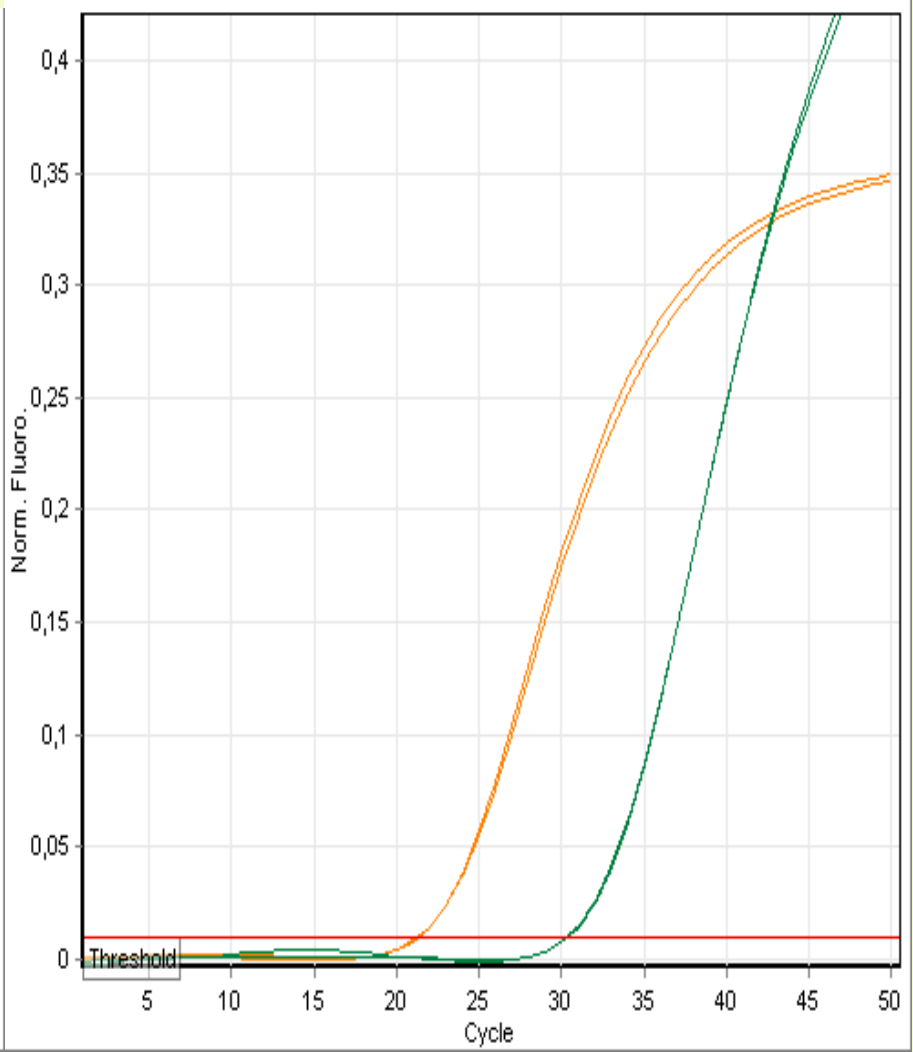
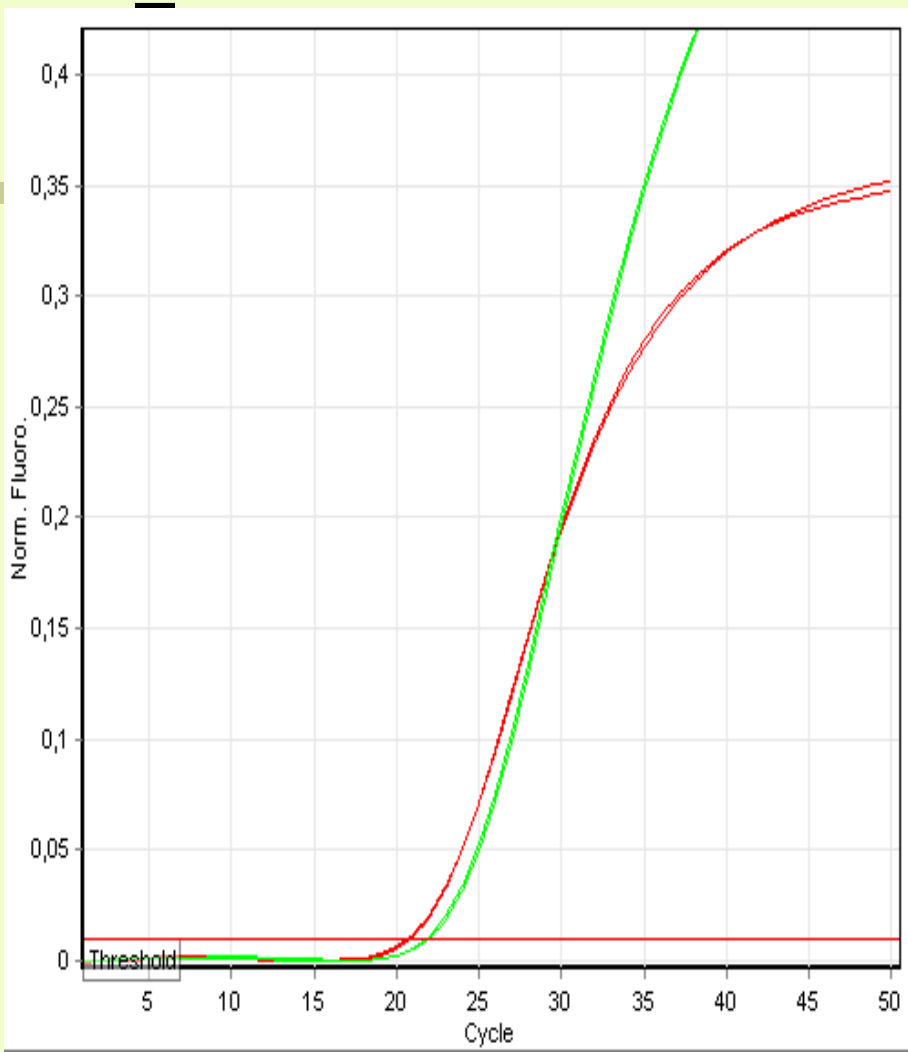
[PCR meetod]

PCR – *polymerase chain reaction* ehk polümeraasi ahelreaktsioon.

PCR on spetsiifiliste DNA lõikude paljundamine *in vitro* ehk nn katseklaasis ning seejärel nende tuvastamine.

Real-Time PCR ehk reaalaaja PCR

- Tulemusi detekteeritakse ehk tuvastatakse fluoressentsvärvi abil reaalaajas.
- Võimaldab määrata DNA hulka proovis.
- Vähirakkude hulka võrreldakse normaalsete rakkude hulga suhtes ehk kontrollgeeni ABL suhtes.
- Real-Time PCR tundlikkus
 - ❖ 1 vähirakk 10^5 kuni 10^6 normaalse raku seast



■ PCR analüüs kahel erineval ajahetkel.

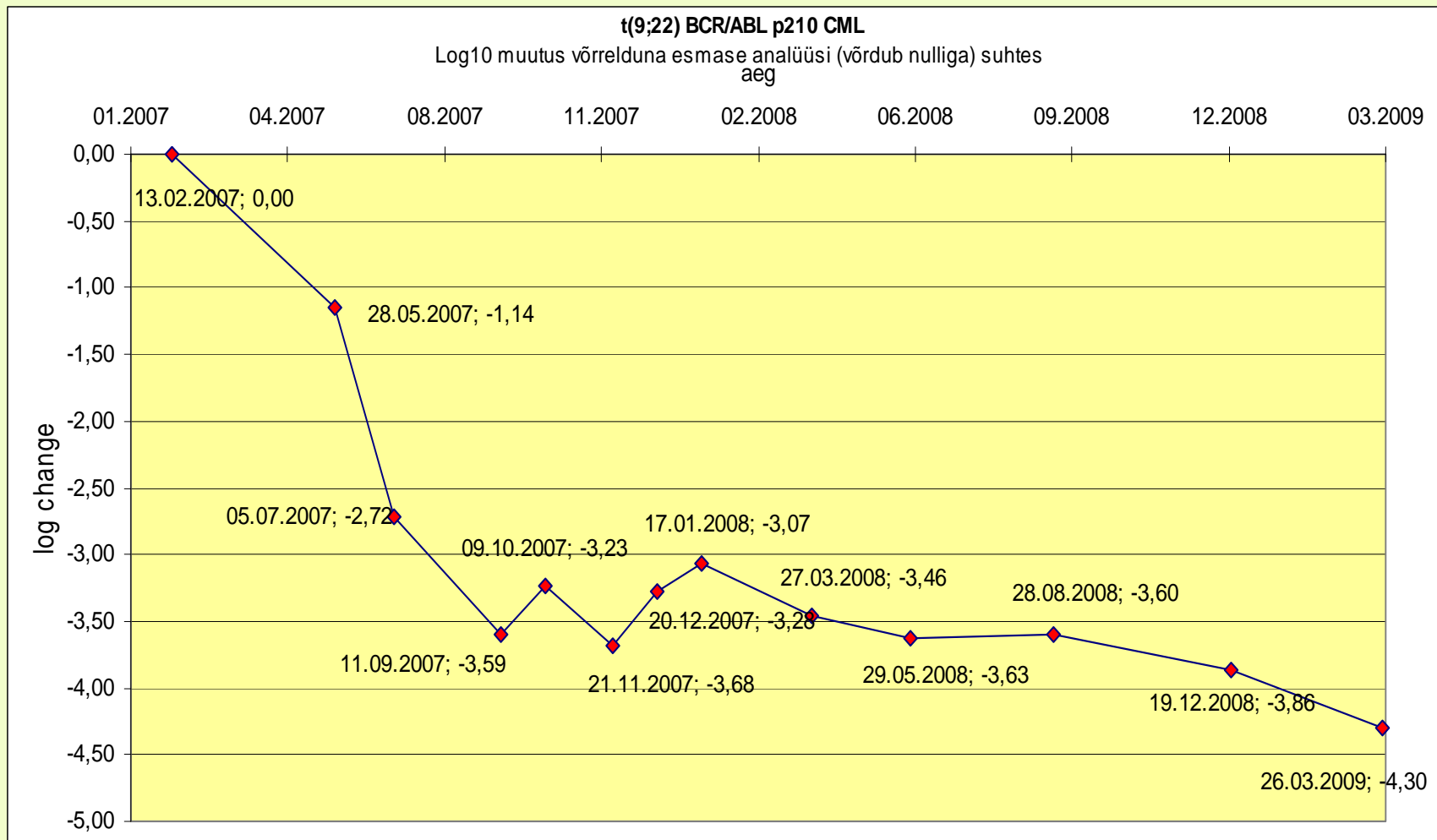
Tulemuste väljendamine

- Vähispetsiifilise RNA (BCR-ABL p210) hulk kontrollgeeni (ABL) RNA suhtes protsentides
 - $BCR-ABL / ABL * 100$
- \log_{10} muutus esmase proovi suhtes
- Vähispetsiifilise mRNA hulk kontrollgeeni suhtes Rahvusvahelise skaala väärtustes (%)

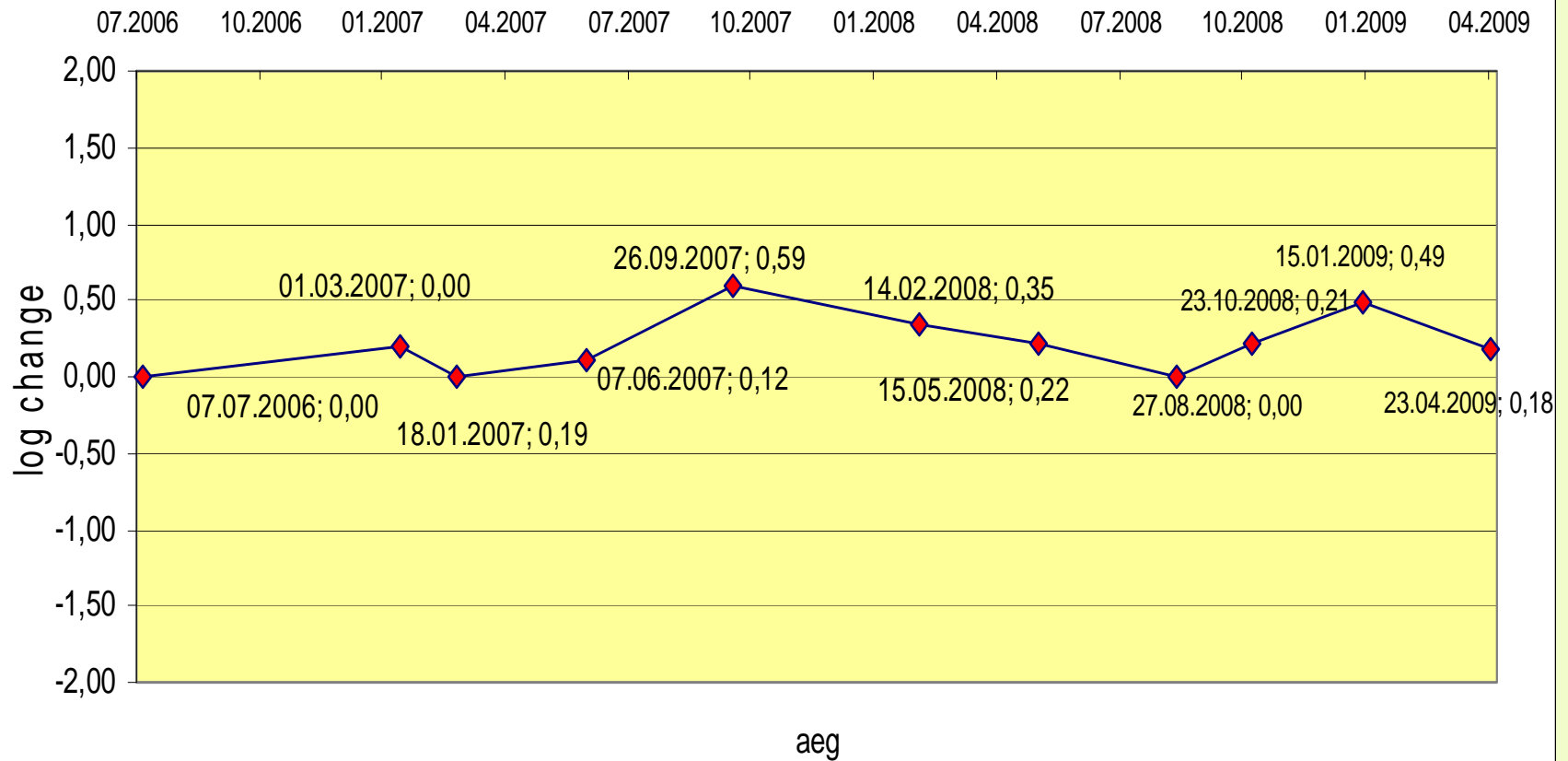
[Analüüsi vastus]

- Positiivne. Võrreldes esmase analüüsiga 01.01.2006 on BCR/ABL p210 CML mRNA ekspressioon langenud 3,6 log₁₀ ehk umbes 4400 korda.
- Võrreldes viimase analüüsiga 01.01.2009 on BCR/ABL p210 CML mRNA ekspressioon langenud 0,28 log₁₀ ehk 1,9 korda.
- BCR/ABL p210 CML mRNA ekspressioon moodustab ABL ekspressioonist 0,9 %.

Näide graafikuna



Jälgitava markeri log10 muutus võrrelduna esmase analüüsi (võrdub nulliga) suhtes



[Tulemuste kõikumine]

- Bioloogiline ja analüütiline kõikumine: 2 – 4 korda
< 0,2 log₁₀ analüüsi vastuses ei avaldata
- Kliiniliselt oluline muutus: 0,5 – 1 log₁₀ (5 – 10 korda)
- Oluline pole ainult ühekordse analüüsi tulemus vaid tulemuste muutuse trend

Rahvusvaheline koostöö

European LeukemiaNet 2006

EUTOS – European Treatment and Outcome
Study

Koostöö ravimifirmaga Novartis

Rahvusvaheline skaala

- Et võrrelda erinevate laborite tulemusi loodi rahvusvaheline skaala:
 - 30 Ph+ CML vastdiagnoositud patsiendi vered valati kokku ning saadud proov saadeti paljudesse laboritesse analüüsimiseks.
- Saadud keskmine tulemus võeti alusväärtuseks – 100%
- Alusväärtuse suhtes tulemuse vähenemine >3 log (1000-korda) defineeriti kui **oluline molekulaarne ravivastus** (*major molecular response* ehk MMR).

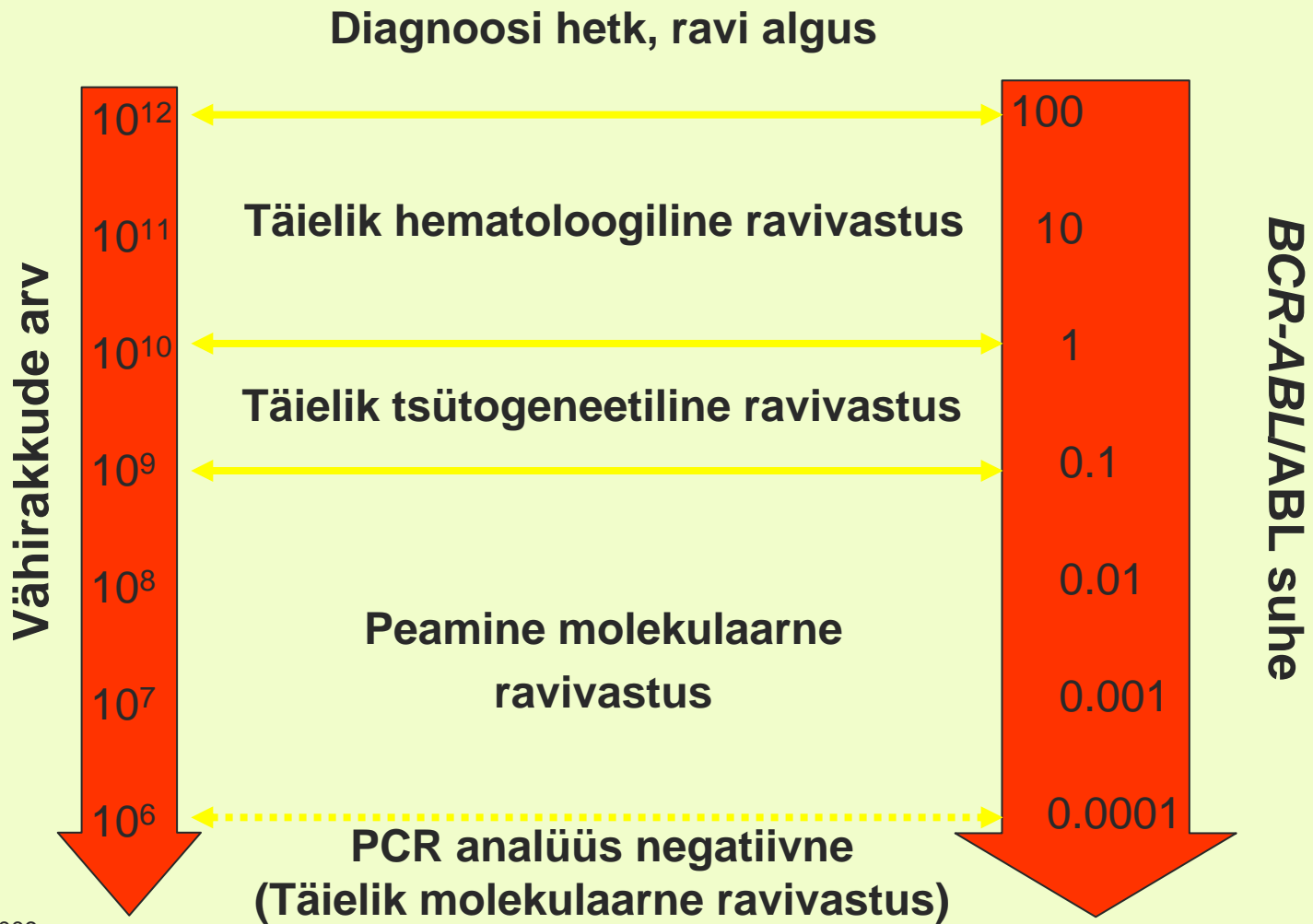
[Standardiseerimine]

- Ühtsed nõuded analüüsi teostamisele.
- Võrdlus referentslaboriga.
- Iga labor rakendab oma tulemustele sobiva aritmeetilise **konversioonifaktori**.

Milleks standardiseerida?

- Ühtsel alusel väljastatud tulemused on kõigile ühtmoodi mõistetavad ja omavahel võrreldavad.
- Sarnase analüüsi tulemusega patsientidel on üks sarnane haiguse tase
- Ravivastuse üle- või alahindamine väheneb.
- Kergendab patsientide osalemist rahvusvahelistes ravimiuuringutes.

Rahvusvaheline skaala



[...ongi kõik]

TÄNAN!

Küsimustega võib pöörduda tööajal telefonil

7 319 317