

АННОТАЦИЯ
диссертационной работы
Фоменко Юрия Михайловича

на тему: **«Внеклеточные нуклеиновые кислоты и катаболиты пуринов
при комбинированной терапии местно-распространенного
рака шейки матки»**

6D110100 «Медицина»

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научные руководители:

Доктор медицинский наук, профессор

Сирота Валентина Брониславовна

Доктор биологических наук, профессор

Муравлева Лариса Евгеньевна

Научный консультант

MD, PhD, профессор

Циалковская-Рыж Александра Дорота (Польша)

Республика Казахстан

Караганда, 2020

Актуальность темы. Ведущим методом лечения больных раком шейки матки в современных условиях является сочетанная лучевая терапия, как в самостоятельных радикальных программах, так и в качестве важного звена комбинированного лечения более чем 80% больных данной локализации. Несмотря на относительно удовлетворительную 5-летнюю выживаемость больных раком шейки матки III стадии (37,8-58%), тем не менее, 40-45% женщин погибают от прогрессирования распространенных форм заболевания, рецидивов и метастазов опухоли [1,2]. Возможности стандартных методов лучевой терапии ограничены в связи с невозможностью подведения к опухоли больших доз, необходимых для радикального лечения. В условиях стандартной лучевой терапии всякая попытка повышения суммарных доз связана с высоким риском возникновения тяжелых постлучевых повреждений. Все это побуждает к поиску новых путей повышения эффективности лучевой терапии [3].

Одним из таких путей является повышение эффективности лучевой терапии путем ее комбинации с химиопрепаратами. Анализ данных литературы показал, что наиболее часто используется комбинация лучевой терапии с цисплатином. Цисплатин проникает через клеточную мембрану и реагирует с нуклеофильными участками в ДНК, что ведет к ее разнообразным повреждениям, нарушению синтеза и, в конечном итоге, к клеточной гибели. Свободные радикалы, возникающие в результате воздействия ионизирующей радиации, усиливают формирование токсичных дериватов цисплатина, что приводило к нарушению репарации ДНК [4,5]. В настоящее время комбинация лучевой терапии с цисплатином является основным видом лечения рака шейки матки согласно республиканским и международным протоколам лечения.

При оценке эффективности программ лечения онкопатологии следует учитывать их влияние на метаболический статус организма больных. Исследования в этом направлении являются актуальными и перспективными, поскольку определение вида и направленности метаболических нарушений позволит разработать комплекс мероприятий по метаболической защите организма больных от токсических эффектов химиотерапии.

В последнее время перспективным направлением исследования в онкологии является изучение внеклеточных пуринов и нуклеиновых кислот.

Свободные пуриновые основания (аденин, гуанин) и интермедиаты катаболизма пуринов (гипоксантин, ксантин, мочева кислота) присутствуют как внутриклеточно, так и вне клеток. Высказано предположение, что ксантин и гипоксантин могут включаться в составе пуриновых нуклеотидов, что резко повышает риск развития рака [6]. Имеются достаточно противоречивые данные о взаимосвязи гиперурикемии с риском развития онкопатологии. Так, предложено рассматривать подагру как фактор риска развития рака мочевыводящей системы, пищеварительной системы и рака легких [7]. С другой стороны, опубликованы данные, не подтверждающие увеличение риска развития рака легких, печени и желудка у больных подагрой [8].

Следует отметить, что исследования внеклеточных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов при онкопатологии носят единичный характер [9, 10]. Практически не изучена направленность и характер изменения свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов при различных видах рака, включая больных раком шейки матки, в том числе в зависимости от программ лечения, что и послужило одной из задач нашего исследования.

Внеклеточные нуклеиновые кислоты (вк ДНК и РНК) циркулируют в кровотоке, как в свободном виде, так и ассоциированные с клетками крови, главным образом, с эритроцитами, а также с везикулами или в комплексе с белками. вкНК рассматриваются как своего рода стресс-сигналы и/или внеклеточные коммуникаторы. Увеличение содержания внеклеточных нуклеиновых кислот в крови индуцирует комплекс неблагоприятных эффектов, включая прокоагулянтное действие, цитотоксический эффект, индукцию провоспалительных цитокинов, вызывая стерильное воспаление. Сформулирована гипотеза активной метаболической секреции, согласно которой вкНК секретируются опухолевыми клетками и участвуют в процессах метастазирования [11, 12].

Доказано, что больные, у которых после лечения сохранялся высокий уровень вкДНК, имели более плохой прогноз [4,6,7]. У больных, у которых заболевание прогрессировало, уровень вкДНК оставался высоким [8].

Различные виды рака и его локализация сопровождаются разнонаправленными изменениями по стороны внеклеточных нуклеиновых кислот. Нет единого мнения по поводу зависимости между стадией, размером опухоли ее локализацией и направленностью изменения вк НК в крови больных, в том числе раком шейки матки. Исследование вкНК в крови больных РШМ и на фоне различных режимов лечения послужило одной из задач нашего исследования.

Дискутируется вопрос о происхождении вкНК в крови онкологических больных. Высвобождение вкНК связывают с различными формами клеточной гибели (апоптоз, некроз). Определенный вклад в общий пул вкНК могут вносить и нейтрофильные внеклеточные ловушки, при образовании во внеклеточное пространство которых секретируется ДНК в комплексе с гистонами и ферментами, высвобождаемыми из гранул нейтрофилов [11]. Не проводилось исследование внеклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных РШМ и на фоне различных режимов его лечения, что и послужило одной из задач нашего исследования.

Таким образом, на основании анализа данных литературы в качестве основного направления исследования обосновано изучение содержания свободных пуриновых оснований, интермедиатов катаболизма пуринов и внеклеточных нуклеиновых кислот в плазме крови и эритроцитах у больных раком шейки матки до и после сочетанно-лучевой и комбинированной терапии. Представляется также перспективным оценить образование спонтанных внеклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных, как возможных источников внеклеточных нуклеиновых кислот.

Цель исследования - изучить состояние внеклеточных нуклеиновых кислот и пуринов у больных местно-распространенным раком шейки матки в оценке эффективности проведенного лечения.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный анализ эффективности лечения местно-распространенного рака шейки матки при лучевой терапии и лучевой терапии в комбинации с химиотерапией.
2. Определить токсичность различного вида проводимой терапии у больных местно-распространенным раком шейки матки.
3. Определить уровень внеклеточных нуклеиновых кислот и интермедиатов катаболизма пуринов в эритроцитах и плазме крови больных раком шейки матки для оценки эффективности проводимой терапии.
4. Провести расчет корреляционной взаимосвязи между внеклеточными нуклеиновыми кислотами и интермедиатами катаболизма пуринов в крови больных раком шейки матки и на фоне сочетанно-лучевой и комбинированной терапии.
5. Определить способность к генерации внеклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных раком шейки матки и на фоне сочетанно-лучевой и комбинированной терапии.
6. Определить патогенетическую значимость изменений внеклеточных нуклеиновых кислот, интермедиатов катаболизма пуринов и способности образовывать ВНЛ в крови больных раком шейки матки.

Научная новизна

Впервые было установлено, что снижение вк РНК в плазме крови больных коррелировало с размером опухоли, определение его уровня в плазме крови можно использовать как потенциальный маркер прогрессирования рака (свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданные комитетом Министерства юстиции РК № 2797 от 27 августа 2018 г.).

Впервые было установлено достоверное увеличение ксантина и мочевой кислоты в плазме крови больных МР РШМ, тогда как в эритроцитах больных этой группы достоверно возросло содержание гуанина, гипоксантина и аденина на фоне разнонаправленного изменения индексов пуринового обмена и активности ксантиноксидазы. Катаболиты пуринов крови могут быть дополнительным биохимическими индикаторами степени распространенности опухолевого процесса и эффективности проводимой терапии (свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданные комитетом Министерства юстиции РК № 2800 от 27 августа 2018 г.).

Впервые определена направленность изменения внеклеточных нуклеиновых кислот и интермедиатов катаболизма пуринов в крови больных раком шейки матки до и после комбинированной терапии в оценке ее эффективности.

Впервые на основании расчетов коррелятивных зависимостей была показана взаимосвязь между внеклеточными нуклеиновыми кислотами и

интермедиатами обмена пуринов в плазме и эритроцитах крови больных МР РШМ.

Впервые была установлена способность к генерации внеклеточных ловушек нейтрофилами крови у больных РШМ.

Впервые показано, что комбинированная терапия с фторафуром и цисплатином не влияла на способность нейтрофилов крови больных РШМ к образованию внеклеточных ловушек, но стимулировала их образование базофилами.

Теоретическая значимость исследования. Полученные результаты позволили сформулировать выводы о механизмах изменения содержания внеклеточных нуклеиновых кислот и интермедиатов катаболизма пуринов.

Практическая ценность. Определен вид комбинированной терапии рака шейки матки, имеющий наибольшую эффективность. Комбинация СЛТ с цисплатином повышает частоту полных и частичных ответов опухоли на 28,3% и 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ.

Определение уровня вкРНК в плазме крови может рассматриваться как потенциальный маркер прогрессирования РШМ.

Определение содержания гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах крови и ксантина в плазме крови у больных раком шейки матки для уточнения степени распространенности рака, для III стадии рака размах показателей: в эритроцитах гуанина 485-733, гипоксантина 570-780, аденина 625-823, в плазме ксантина 144-227.

Определение содержания гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах и плазме крови у больных раком шейки матки на фоне лучевой терапии, как наиболее чувствительных к эффективности проводимой терапии. Выявлены статистически значимые линейные тренды роста показателей гуанина и гипоксантина в эритроцитах и плазме, аденина в плазме крови больных раком шейки матки на фоне лучевой терапии с цисплатином.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Проведение сочетанной лучевой терапии в комбинации с цисплатином является наиболее эффективным методом лечения местнораспространенного рака шейки матки.
2. В крови больных РШМ степень снижения вк РНК зависит от стадии опухоли.
3. Эритроциты и плазма крови больных РШМ различаются по виду аккумулирующихся интермедиатов катаболизма пуринов, по направленности изменения индекса пуринового обмена и активности ксантиноксидазы.
4. Изменения вк НК и интермедиатов обмена пуринов в крови больных РШМ взаимосвязаны между собой.
5. Нейтрофилы и базофилы крови больных РШМ обнаруживают способность к генерации внеклеточных ловушек.

6. Определение внеклеточных нуклеиновых кислот и катаболитов пуринов у больных с распространенным раком шейки матки является оценкой эффективности проводимой терапии.

Апробация работы. Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на международной конференции молодых ученых «Мир науки и молодежь: эра стремительных изменений» 28 апреля 2018 (Караганда); на международной научной конференции «Modern problems of clinical medicine» 10-16 мая 2018 (Czech Republic, Prague); IASGO World Congress, September 9-12, 2018 (Moscow); международной научно-практической конференции «Персонализированный подход в диагностике и лечении злокачественных новообразований» 11-12 октября 2018 (Астана); Sino-French-Kazakh Workshop on Innovative Therapeutic Solutions for Cancer and Ageing diseases 18-19 October 2018 (Nazarbayev University, Astana); на заседании кафедры онкологии и лучевой диагностики КГМУ 23.01.2019.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ: в материалах международных конференций - 5, в научных изданиях, рекомендуемых Комитетом - 3 (журнал «Медицина и экология» - 2, Современные проблемы науки и образования -1), в международном научном издании (“Georgian Medical News”) - 1, в международном научном издании, входящем в базу данных компании Scopus (журнал «Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences») - 1. Получено 2 свидетельства о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданное комитетом Министерства юстиции РК № 2797 от 27 августа 2018 г. («Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови больных местно-распространенным раком шейки матки и на фоне комбинированной терапии»), № 2800 от 27 августа 2018 г. («Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки»).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 97 страницах, состоит из перечня обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложений. Библиографический указатель содержит 167 источников, из них на русском языке - 46, на иностранных языках - 121. Диссертационная работа иллюстрирована 34 таблицами, 14 рисунками.

Реализация работы. Результаты исследования внедрены в КГП «Областной онкологический диспансер» г. Караганды, в учебный процесс кафедры онкологии и биохимии Карагандинского государственного медицинского университета. Диссертационная работа написана в инициативном порядке.

Выводы:

1. Комбинация сочетанной лучевой терапии с цисплатином повышает частоту полных и частичных клинических регрессий опухоли шейки матки на 28,3% и 3 летнюю выживаемость на 18% по сравнению с проведением только лучевого лечения.

2. Наиболее выраженная гематологическая и негематологическая токсичность наблюдается у больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином: лейкопения у $(40,0 \pm 7,3)\%$, гранулоцитопения у $(17,78 \pm 5,7)\%$, анемия у $(35,55 \pm 7,14)\%$, гепатотоксичность у $(22,2 \pm 6,2)\%$, мукозиты у $(13,3 \pm 5,1)\%$ пациентов.

3. При РШМ изменение вкДНК зависело от стадии болезни: статистически значимое снижение вк ДНК, связанной с эритроцитами, зафиксировано у больных III стадии (до 0,024 против 0,033 контроля, $p=0,005$). Вне зависимости от стадии рака в плазме крови больных РШМ возрастает содержание ксантина (156,0) и мочевой кислоты (172,0) (контроль - 123 и 130, соответственно) ($p=0,005$). В эритроцитах крови больных РШМ III стадии увеличивается содержание гуанина (572), гипоксантина (655,5) и аденина (726) (контроль – 420, 450 и 451, соответственно, $p=0,005$); также выявлено изменение активности ксантиноксидазы.

4. После лучевой терапии выявлено статистически значимое снижение вк РНК, сорбированной на эритроцитах ($p=0,005$). После лучевой терапии с фторафуром наблюдался достоверный рост КРФ, связанных с эритроцитами. После лучевой терапии в плазме крови больных РШМ зафиксировано сохранение высокого уровня ксантина и мочевой кислоты, в эритроцитах – увеличение ксантина ($p=0,005$). У больных РШМ, получавших фторафур, на фоне сохранения высокого уровня ксантина и мочевой кислоты в плазме крови, выявлен статистически значимый рост гуанина, гипоксантина, аденина и ксантина в эритроцитах ($p=0,005$), по сравнению с больными, получавшими лучевую терапию с фторафуром.

В плазме крови больных РШМ, получавших цисплатин на фоне лучевой терапии, статистически значимо возрастает содержание гипоксантина и аденина по сравнению с таковыми у больных, получавших фторафур. Выявлено наличие статистически значимых линейных трендов в эритроцитах крови для гуанина ($F=5,502$; $p=0,039$) и гипоксантина ($F=5,173$; $p=0,044$), в плазме крови для гипоксантина, аденина и гуанина ($F_p=6,35$ и $p=0,028$; $F=6,34$ и $p=0,029$; $F=5,91$ и $p=0,033$, соответственно).

После проведения лучевой терапии с фторафуром зафиксировано статистически значимое снижение индексов ИПО, К/ГК и МК/ГК, тогда как после лучевой терапии с цисплатином зафиксирован достоверный рост индекса ИПО при снижении индекса МК/ГК по сравнению с таковыми у больных после лучевого лечения с фторафуром. В эритроцитах крови больных РШМ после лучевой терапии с фторафуром и цисплатином зафиксировано статистически значимое изменение индексов МК/ГК и МК/К.

5. Корреляционный анализ выявил статистически значимую взаимосвязь между уровнем КРФ и вкРНК в плазме крови больных РШМ ($+0.776$).

Уровень вк РНК, сорбированной на эритроцитах, достоверно коррелировал с содержанием гуанина (+0.64), гипоксантина (+0.66), аденина (+0.67), мочевой кислоты (0.66) в эритроцитах и ксантина в плазме крови (0.699). Обнаружены достоверные коррелятивные взаимосвязи между гуанином и гипоксантином (0,93), гуанином и аденином (0,98), гуанином и ксантином (0,87) в эритроцитах крови больных; между гуанином в эритроцитах и мочевой кислотой в плазме крови больных РШМ (0,58). Выявлены статистически значимые коррелятивные связи между ксантином и мочевой кислотой (0.629), между ксантином и гипоксантином (0.88) в эритроцитах; между аденином и гипоксантином (0,99), аденином и ксантином (0,86), между ксантином в эритроцитах и мочевой кислотой в плазме крови больных (0,58).

После лучевой терапии с цисплатином выявлены сильные достоверные корреляционные взаимосвязи между содержанием гуанина и аденина (0,97), гуанина и ксантина (0,87), гуанина и мочевой кислотой (0,71) в эритроцитах крови больных РШМ. В эритроцитах крови больных этой группы гипоксантин коррелировал с аденином (0,93), ксантином (0.86) и мочевой кислотой (0,73); в эритроцитах также зафиксированы достоверные коррелятивные взаимосвязи между аденином и ксантином (0,85), аденином и мочевой кислотой (0,72), ксантином и мочевой кислотой (0,87). В плазме крови больных этой группы наблюдалась сильная корреляционная взаимосвязь между гуанином и гипоксантином (0,99); аденином и ксантином (0,797), аденином и мочевой кислотой (0,82), ксантином и мочевой кислотой (0,81), а также статистически значимая взаимосвязь ксантина в эритроцитах с аденином плазмы крови (0,66), между мочевой кислотой в эритроцитах и аденином плазмы крови.

6. Нейтрофилы периферической крови у 53,57 % (33,87; 72,49) больных РШМ до лечения показали способность к генерации ВНЛ, такая способность отсутствует у здоровых людей. Не выявлено зависимости образования ВНЛ от степени распространенности рака шейки матки (IIб или III). Добавление химиопрепаратов к СЛТ не приводило к увеличению процента образования ВНЛ в крови больных РШМ, но стимулировало появление внеклеточных базофильных ловушек.

7. Разработана рабочая гипотеза причины изменения содержания внеклеточных нуклеиновых кислот, интермедиатов катаболизма пуринов и образования внеклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных, а также пути их участия в патогенезе РШМ.

Фоменко Юрий Михайловичтың

Диссертациялық жұмысының

Аннотациясы

Тақырыбы: «Жергілікті кең таралған жатыр мойны обырын
комбинирленген емдеу кезіндегі жасушадан тыс нуклеин қышқылдары
мен пуриндердің катаболиттері»

6D110100 « Медицина»

Дәрежесін алу үшін Диссертация

философия докторы (PhD)

Ғылыми жетекшілер:

Медицина ғылымдарының докторы, профессор

Сирота Валентина Брониславовна

Биология ғылымдарының докторы, профессор

Муравлева Лариса Евгеньевна

Ғылыми кеңесші

MD, PhD, профессор

Циолковский-Рыж Александра Дорота (Польша)

Қазақстан Республикасы

Қарағанды 2020

Тақырыптың өзектілігі. Тақырыптың өзектілігі. Қазіргі жағдайда жатыр мойны обырымен ауыратын науқастарды емдеудің жетекші әдісі дербес радикалды бағдарламаларда, сондай-ақ осы локализациядағы науқастардың 80% - дан астамын құрамдастырылған емдеудің маңызды буыны ретінде біріктірілген сәулелік терапия болып табылады. III сатыдағы жатыр мойны обырымен ауыратындардың салыстырмалы түрде қанағаттанарлық 5 жылдық өмір сүруіне қарамастан (37,8-58%), дегенмен, әйелдердің 40-45% аурудың кең таралған түрлерінің, ісіктің қайталануы мен метастаздарының өршуінен қайтыс болады [1,2]. Сәулелік терапияның стандартты әдістерінің мүмкіндіктері Радикалды емдеу үшін қажетті үлкен дозаларды ісікке шығарудың мүмкін болмауына байланысты шектелген. Стандартты сәулелік терапия жағдайында жиынтық дозаларды көтерудің кез келген әрекеті ауыр сәулелік емнен кейінгі зақымданулардың пайда болу қаупінің жоғары болуына байланысты. Осының бәрі сәулелік терапияның тиімділігін арттырудың жаңа жолдарын іздеуге түрткі болады. Осындай жолдардың бірі сәулелік терапияның химиопрепараттармен біріктірілуі арқылы тиімділігін арттыру болып табылады. Бұл әдебиетті талдау сәулелік терапия цисплатинмен жиі қолданылатынын көрсетті. Цисплатин клеткалық мембрана арқылы өтеді және ДНҚ-да нуклеофильді учаскелермен әрекет етеді, бұл оның әртүрлі зақымдануына, синтездің бұзылуына және соңында клеткалық өлімге әкеледі. Иондаушы радиацияның әсері нәтижесінде пайда болатын еркін радикалдар цисплатиннің уытты дериваттарының қалыптасуын күшейтеді, бұл ДНК репарациясының бұзылуына әкеп соқтырды. Қазіргі уақытта цисплатинмен сәулелік терапия комбинациясы республикалық және халықаралық емдеу хаттамаларына сәйкес жатыр мойны обырын емдеудің негізгі түрі болып табылады. Онкопатологияны емдеу бағдарламаларының тиімділігін бағалау кезінде олардың науқастар ағзасының метаболикалық статусына әсерін ескеру керек. Бұл бағыттағы зерттеулер өзекті және перспективалы болып табылады, өйткені метаболикалық бұзылыстардың түрі мен бағытын анықтау химиотерапияның уытты әсерлерінен науқастардың ағзасын метаболикалық қорғау жөніндегі іс-шаралар кешенін әзірлеуге мүмкіндік береді. Соңғы уақытта Онкологиядағы зерттеудің перспективалық бағыты жасушадан тыс пуриндер мен нуклеин қышқылдарын зерттеу болып табылады. Бос пуриндік негіздер (аденин, гуанин) және пуриндер катаболизмінің интермедиаттары (гипоксантин, ксантин, несеп қышқылы) жасушаішілік және жасушалардан тыс. Ксантин мен гипоксантин пуринді нуклеотидтердің құрамына қосылуы мүмкін деген болжам бар. Гиперурикемияның онкопатологияның даму тәуекелімен өзара байланысы туралы айтарлықтай қарама-қайшы деректер бар. Мысалы, подаграны несеп шығару жүйесі обырының, ас қорыту жүйесінің және өкпе обырының даму қауіп факторы ретінде қарастыру ұсынылды [7]. Екінші жағынан, подаграмен

ауыратын науқастарда өкпе, бауыр және асқазан обырының даму қаупінің артқанын растайтын деректер жарияланған [8]. Онкопатология кезінде пуриндердің катаболизмінің интермедиаттарын және жасушадан тыс пурин негіздерін зерттеу жеке сипатқа ие екенін атап өткен жөн [9, 10]. Жатыр мойны обырымен ауыратын науқастарды қоса, оның ішінде емдеу бағдарламаларына байланысты, бұл біздің зерттеуіміздің міндеттерінің біріне қызмет еткен рак түрлері кезінде бос пуриндік негіздер мен пуриндердің катаболизмінің интермедиаттарының бағыты мен өзгеру сипаты іс жүзінде зерттелмеген. Жасушадан тыс нуклеин қышқылдары (вк ДНК және РНК) қан ағысында, еркін түрде де, қан жасушаларымен, негізінен эритроциттермен, сондай-ақ везикулдармен немесе ақуыздармен кешенді түрде айналыста болады. вкНК стресс-сигналдар және/немесе жасушадан тыс коммуникаторлар ретінде қарастырылады. Қандағы жасушадан тыс нуклеин қышқылдары құрамының артуы прокоагулянттық әсерді, цитотоксикалық әсерді, қабынуға қарсы цитокиндердің индукциясын қоса алғанда, жағымсыз әсерлердің кешенін индукциялайды. Белсенді метаболикалық секреция гипотезасы тұжырымдалған, оған сәйкес кНК-да ісік жасушаларымен секрецияланады және метастазалау процестеріне қатысады [11, 12]. Емделгеннен кейін вкДНК жоғары деңгейі сақталған науқастар нашар болжамға ие болғаны дәлелденді [4,6,7]. Ауру өршіген науқастарда вкДНК деңгейі жоғары болды[8].Обырдың әртүрлі түрлері және оның локализациясы жасушадан тыс нуклеин қышқылдары жағынан әртүрлі бағыттағы өзгерістермен қатар жүреді. Ісіктің сатысы, көлемі, оның оқшаулануы және науқастардың қанында, оның ішінде жатыр мойны обырының өзгеруінің бағыты арасындағы тәуелділік жөнінде бірыңғай пікір жоқ. РШМ науқастарының қанда және емдеудің әр түрлі режимдерінде кНК-де зерттеу біздің зерттеуіміздің бір міндеті болды. Онкологиялық науқастардың қанда кНК-да пайда болуы туралы мәселе диспутацияланады. КТК-да босату жасушалық өлімнің әртүрлі түрлерімен (апоптоз, некроз) байланыстырады. Белгілі бір үлесі жалпы пул " кхк енгізе алады және нейтрофильные внеклеточные аулағыштар, құру кезінде барлық внеклеточное кеңістік олардың секретируется ДНК кешенінде гистонами және ферменттерге, высвобождаемыми бірі түйіршіктер нейтрофилдер [11]. РШМ науқастарының қанында және оны емдеудің әр түрлі режимдерінде жасушадан тыс нейтрофильді ұстағыштарды зерттеу жүргізілген жоқ, бұл біздің зерттеуіміздің міндеттерінің біріне айналды. Осылайша, әдебиет мәліметтерін талдау негізінде зерттеудің негізгі бағыты ретінде жатыр мойны обырымен ауыратын науқастарда қан плазмасындағы және эритроциттардағы пуриндердің және жасушадан тыс нуклеин қышқылдарының бос пуриндік негіздерінің, интермедиаттарының құрамын біріктіріп-сәулелік және біріктірілген емге дейін және одан кейін зерттеу негізделген. Сондай-ақ, жасушадан тыс нуклеин қышқылдарының мүмкін болатын көздері ретінде

науқастардың қанында жинақталған жасушадан тыс нейтрофильді тұзақтардың түзілуін бағалау перспективалы болып табылады.

Зерттеудің мақсаты- Жатыр мойны обырымен және сәулелік және аралас терапия аясында науқастардағы жасушадан тыс нуклеин қышқылдары мен пуриндердің жағдайын зерттеу.

Зерттеу міндеттері:

1. Химиотерапиямен біріктіріп сәулелік терапия және сәулелік терапия кезінде жатыр мойны обырын жергілікті-таралған емдеу тиімділігіне салыстырмалы талдау жүргізу.
2. Жатыр мойны обырымен ауыратын науқастарда жүргізілетін емнің әр түрінің уыттылығын анықтау.
3. Жүргізілетін емнің тиімділігін бағалау үшін жатыр мойны обырымен ауыратын науқастардың эритроциттердегі және қан плазмасындағы пурин катаболизмінің жасушадан тыс нуклеин қышқылдары мен интермедиаттарының деңгейін анықтау.
4. Жатыр мойны обырымен ауыратын және біріктірілген-сәулелік және біріктірілген терапия аясында қандағы жасушадан тыс нейтрофильді тұзақтарды генерациялау қабілетін анықтау.
5. Жасушадан тыс нуклеин қышқылдарының, пурин катаболизмінің интермедиаттарының өзгерістерінің патогенетикалық маңыздылығын және жатыр мойны обырымен ауыратын науқастардың қанында ІНЖ қалыптастыру қабілетін анықтау.

Ғылыми жаңалығы. Алғаш рет қан плазмасындағы вк РНК-ның төмендеуі ісік өлшемімен коррелировалғаны анықталды, оның қан плазмасындағы деңгейін анықтауды рак үдеуінің әлеуетті маркері ретінде пайдалануға болады (ҚР Әділет министрлігінің 2018 жылғы 27 тамыздағы № 2797 комитеті берген авторлық құқық объектісіне құқықтарды мемлекеттік тіркеу туралы куәлік).

Алғаш рет ршм МР науқастарының қан плазмасында ксантин мен несеп қышқылының нақты ұлғаюы анықталды, ал осы топтағы науқастардың эритроциттерінде пурин алмасу индекстерінің және ксантинооксидаза белсенділігінің әртүрлі бағыттағы өзгеруі аясында гуаниннің, гипоксантин мен адениннің құрамы анық өсті. Қан пуриндерінің катаболиттері ісік процесінің таралуы мен жүргізілетін терапияның тиімділігі деңгейінің қосымша биохимиялық индикаторлары болуы мүмкін (ҚР Әділет министрлігінің комитеті берген авторлық құқық объектісіне құқықтарды мемлекеттік тіркеу туралы куәлік 27 тамыз 2018 ж. № 2800).

Алғаш рет жатыр мойны обырымен ауыратын науқастардың қанында жасушадан тыс нуклеин қышқылдары мен пурин катаболизмінің интермедиаттары өзгеруінің оның тиімділігін бағалауда біріктірілген емге дейін және одан кейін бағыты анықталды.

Алғаш рет коррелятивті тәуелділіктердің есебі негізінде жасушадан тыс нуклеин қышқылдары мен плазмадағы пурин алмасуының интермедиаттары мен РШМ МР науқастарының қан эритроциттері арасындағы өзара байланыс көрсетілді.

Алғаш рет РШМ науқастарында жасушадан тыс қан ұстайтын нейтрофилдер генерациялау қабілеті анықталды.

Алғаш рет фторафур және цисплатинмен біріктірілген ем РШМ науқастарының қан нейтрофилінің жасушадан тыс ұстағыштардың пайда болуына әсер етпеген, бірақ олардың пайда болуын базофилдермен ынталандырғаны көрсетілген.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы. Алынған нәтижелер жасушадан тыс нуклеин қышқылдары мен пурин катаболизмінің интермедиаттары құрамының өзгеру механизмдері туралы тұжырымды қалыптастыруға мүмкіндік берді..

Практикалық құндылығы. Жатыр мойны обырын біріктіріп емдеу түрі анықталды. СТТ-ның цисплатинмен біріктірілуі ісіктің толық және ішінара жауаптарының жиілігін 28,3%-ға және тек СТТ алған пациенттермен салыстырғанда РШМ МР науқастарында 3 жылдық өміршеңдігін арттырады. Қан плазмасындағы ДРК деңгейін анықтау РШМ үдеудің әлеуетті маркері ретінде қарастырылуы мүмкін.

Қан эритроциттеріндегі гуанин, гипоксантин және аденин мөлшерін анықтау жатыр мойны обырымен ауыратын науқастарда қан плазмасындағы, обырдың таралу дәрежесін анықтау үшін, қатерлі ісіктің ІІІ сатысы үшін көрсеткіштер: гуанин эритроциттерінде 485-733, гипоксантин 570-780, аденин 625-823, ксантин плазмасында 144-227.

Жүргізілген терапияның тиімділігіне аса сезімтал ретінде сәулелік терапия аясында жатыр мойны обырымен ауыратын науқастарда эритроциттердегі және қан плазмасындағы гуанин, гипоксантин және аденин құрамын анықтау. Эритроциттер мен плазмадағы гуанин және гипоксантин көрсеткіштерінің, цисплатинмен сәулелі терапия аясында жатыр мойны обырымен ауыратын науқастардың қан плазмасындағы адениннің статистикалық мәнді сызықтық өсу трендтері анықталды.

Қорғауға шығарылатын негізгі ережелер:

1. Цисплатинмен біріктіріп сәулелік терапияны жүргізу жатыр мойны обырын емдеудің ең тиімді әдісі болып табылады.
2. РШМ науқастарының қанда вк РНК төмендеу дәрежесі ісік сатысына байланысты.
3. РШМ-мен ауыратын науқастардың эритроциттері мен қан плазмасы пуриндер катаболизмінің шоғырланатын интермедиаттарының түрі бойынша, пурин алмасу индексінің өзгеру бағыты және ксантинооксидаза белсенділігі бойынша ерекшеленеді.
4. Ршм науқастарының қанындағы пурин алмасуының вк НК және интермедиаттарының өзгерістері өзара байланысты.

5. РШМ науқастарындағы нейтрофилдер мен қан базофилдері жасушадан тыс ұстағыштарды генерациялау қабілетін анықтайды.

6. Жатыр мойнының кең таралған обыры бар науқастарда жасушадан тыс нуклеин қышқылдары мен пурин катаболиттерін анықтау жүргізілетін емнің тиімділігін бағалау болып табылады.

Жұмыстың апробациясы. Диссертациялық жұмыстың негізгі нәтижелері «Ғылым әлемі және жастар: қарқынды өзгерістер дәуірі» атты жас ғалымдардың халықаралық конференциясында баяндалды және талқыланды 28 сәуір 2018 (Қарағанды); «Modern problems of clinical medicine» 10-16 мамыр 2018 (Czech Republic, Prague); IASGO World Congress, September 9-12, 2018 (Moscow); 2018 жылы 11-12 қазан айында "Қатерлі ісіктерді диагностикалау мен емдеудегі дербестендірілген тәсіл» халықаралық ғылыми- тәжірибелік конференцияда (Астана); Sino-French-Kazakh Workshop on Innovative Therapeutic Solutions for Cancer and Ageing diseases 18-19 October 2018 (Nazarbayev University, Astana); ҚММУ онкология және сәулелік диагностика кафедрасының отырысында 23.01.2019.

Жарияланымдар. Диссертация тақырыбы бойынша 12 баспа жұмыстары жарияланды: халықаралық конференция материалдарында - 5, Комитет ұсынған ғылыми басылымдарда – 3 ("Медицина және экология" журналы - 2, ғылым мен білімнің заманауи мәселелері -1), Халықаралық ғылыми басылымда («Georgian Medical News») – 1, Scopus компаниясының деректер базасына кіретін Халықаралық ғылыми басылымда ("Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences" журналы) – 1. ҚР Әділет министрлігінің комитетімен 2018 жылғы 27 тамыздағы № 2797 берілген авторлық құқық объектісіне құқықтарды мемлекеттік тіркеу туралы 2 куәлік алынды. («Жергілікті-таралған жатыр мойны обырымен ауыратын науқастардың және біріктірілген терапия аясында жасушадан тыс нуклеин қышқылдары»), 2018 жылғы 27 тамыздағы № 2800 («жергілікті-таралған жатыр мойны обырымен ауыратын науқастардың қан пуриндерінің Катаболиттері»).

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертация 97 беттен тұрады, Белгілеулер мен қысқартулар тізбесінен, кіріспеден, әдебиетке шолудан, жеке зерттеулердің 3 тарауынан, қорытындылардан, тәжірибелік ұсыныстардан, қосымшалардан тұрады. Библиографиялық көрсеткіш 167 дереккөзден тұрады, оның ішінде орыс тілінде - 46, шет тілінде - 121. Диссертациялық жұмыс 34 кесте, 14 суретпен суреттелген. Жұмысты іске асыру. Зерттеу нәтижелері Қарағанды қаласының "Облыстық онкологиялық диспансері" КМК, Қарағанды мемлекеттік медицина университетінің онкология және биохимия кафедрасының оқу процесіне енгізілді. Диссертациялық жұмыс бастамашылық тәртіппен жазылған.

Қорытындылар:

1. Біріктірілген сәулелік терапияның цисплатинмен біріктірілуі тек сәулелік емдеу жүргізумен салыстырғанда жатыр мойны ісігінің толық және ішінара клиникалық регрессиясының жиілігін 28,3% - ға және 3 жылдық өміршеңдігін 18% - ға арттырады.

2. Ең айқын гематологиялық және гематологиялық емес уыттылығы цисплатинмен СЖТ алған РШМ науқастарында байқалады: лейкопения у ($40,0 \pm 7,3$)%, гранулоцитопения у ($17,78 \pm 5,7$)%, анемия у ($35,55 \pm 7,14$)%, гепатотоксикалық у ($22,2 \pm 6,2$)%, мукозиттер у ($13,3 \pm 5,1$)% пациенттерде.

3. РШМ науқастарының қан плазмасындағы обыр сатысына қарамастан ксантин ($156,0$) және несеп қышқылының ($172,0$) (бақылау - 123 және 130 , тиісінше) ($p=0,005$) мөлшері артады. III сатылы РШМ науқастарының қан эритроциттерінде гуанин (572), гипоксантин ($655,5$) және аденин (726) (бақылау – 420 , 450 және 451 , тиісінше, $p=0,005$) мөлшері артады, сондай-ақ ксантиноксидаза белсенділігінің өзгеруі анықталды.

4. Сәулелік терапиядан кейін эритроциттерде сорбцияланған вк РНК статистикалық маңызды төмендеуі анықталды ($p=0,005$). Фторафурмен сәулелік терапиядан кейін эритроциттермен байланысты КРФ нақты өсуі байқалды. Сәулелік терапиядан кейін РШМ науқастарының қан плазмасында ксантин мен зәр қышқылының жоғары деңгейінің сақталуы, эритроциттерде ксантиннің ($p=0,005$) артуы тіркелді. Фторафур алған РШМ науқастарында қан плазмасында ксантин мен несеп қышқылының жоғары деңгейінің сақталуы аясында эритроциттерде ($p=0,005$) гуаниннің, гипоксантиннің, адениннің және ксантиннің статистикалық елеулі өсуі анықталды.

Сәулелік терапия аясында цисплатин алған РШМ науқастарының қан плазмасында фторафур алған науқастарда гипоксантин мен адениннің мөлшері статистикалық түрде өсуде. Гуанин ($F=5,502$; $p=0,039$) және гипоксантин ($F=5,173$ $p=0,044$) үшін қанның эритроциттерінде, қан плазмасында гипоксантин, аденин және гуанин ($F_p=6,35$ және $p=0,028$; $F=6,34$ және $p=0,029$; $F=5,91$ және $p=0,033$, тиісінше анықталды.

Фторафурмен сәулелік терапия жүргізілгеннен кейін ИПО, к/ГК және МК/ГК индекстерінің статистикалық маңызды төмендеуі тіркелді, ал цисплатинмен сәулелік емнен кейін фторафурмен сәулелік емнен кейін науқастарда осылай салыстырғанда МК/ГК индексінің төмендеуі кезінде ИПО индексінің нақты өсуі тіркелді. РШМ науқастарындағы қанның эритроциттерінде фторафур және цисплатині бар сәулелік терапиядан кейін МК/ГК және МК/К индекстерінің статистикалық маңызды өзгерісі тіркелген.

5. Корреляциялық талдау РШМ ($+0.776$) науқастарының қан плазмасындағы КРФ және дРНК деңгейі арасындағы статистикалық маңызды өзара байланысты анықтады. Эритроциттерде сорбцияланған вк РНК деңгейі гуанин ($+0.64$), гипоксантин ($+0.66$), аденин ($+0.67$), эритроциттердегі зәр қышқылы (0.66) және

қан плазмасындағы ксантин (0,699) бар дұрыс коррелирленді. Науқастардың қанының эритроциттерінде гуанин мен гипоксантин (0,93), гуанин мен аденин (0,98), гуанин мен ксантин (0,87) арасында; эритроциттердегі гуанин мен зәр қышқылының арасында РШМ науқастарының қан плазмасында (0,58) нақты коррелятивті өзара байланыстар анықталды. Ксантин мен зәр қышқылы (0,629) арасында, эритроциттердегі ксантин мен гипоксантин (0,88) арасында, аденин мен гипоксантин (0,99), аденин мен ксантин (0,86) арасында, эритроциттердегі ксантин мен науқастардың қан плазмасындағы зәр қышқылы (0,58) арасында статистикалық маңызды коррелятивті байланыстар анықталды.

Цисплатинмен сәулелік терапиядан кейін РШМ науқастарындағы қанның эритроциттерінде гуанин мен аденин (0,97), гуанин мен ксантин (0,87), гуанин мен зәр қышқылы (0,71) арасындағы күшті шынайы корреляциялық өзара байланыстар анықталды. Осы топтағы науқастардың қанының эритроциттерінде гипоксантин аденинмен (0,93), ксантинмен (0,86) және зәр қышқылымен (0,73) коррелирленді; эритроциттерде аденин мен ксантинмен (0,85), аденинмен және зәр қышқылымен (0,72), ксантинмен және зәр қышқылымен (0,87) сенімді коррелятивті өзара байланыс анықталды. Осы топтағы науқастардың қан плазмасында гуанин және гипоксантин (0,99); аденин және ксантин (0,797), аденин және зәр қышқылы (0,82), ксантин және зәр қышқылы (0,81) арасындағы күшті корреляциялық өзара байланыс, сондай-ақ эритроциттердегі ксантиннің қан плазмасының аденинмен (0,66), эритроциттердегі зәр қышқылы мен қан плазмасының аденинмен (0,66) статистикалық маңызды өзара байланысы байқалды.

6. Перифериялық қан нейтрофилалары емге дейін емге дейін емнің 53,57% - да (33,87; 72,49) ЖМК-мен ауыратын науқастарда ЖМК-ны генерациялау қабілетін көрсетті, дені сау адамдарда мұндай қабілет жоқ. Жатыр мойны обырының таралу дәрежесіне (ІІб немесе ІІІ) ДМЗ түзілуінің тәуелділігі анықталған жоқ. СТТ-ға химиопрепараттарды қосу РШМ науқастарының қанында ВНЛ пайда болу пайызының артуына әкелмеді, бірақ жасушадан тыс базофильді ұстағыштардың пайда болуын ынталандырды.

7. Клеткадан тыс нуклеин қышқылдарының, пурин катаболизмінің интермедиаттарының және науқастардың қанында жасушадан тыс нейтрофильді тұзақтардың пайда болу себептерінің, сондай-ақ олардың РШМ патогенезіне қатысу жолдарының жұмыс гипотезасы әзірленді.

ANNOTATION

to the thesis paper of

Fomenko Yuriy Mikhailovich

on the topic: **“Extracellular nucleic acids and purine catabolites in combination therapy for locally advanced cervical cancer”**

6D110100 “Medicine”

Thesis for the degree of
the Doctor of Philosophy (PhD)

Academic advisers:

Doctor of Medicine, Professor

Sirota Valentina Bronislavovna

Doctor of Biological Sciences, Professor

Muravleva Larissa Yevgenyevna

Academic consultant

MD, PhD, Professor

Tsialkovskaya-Ryzh Alexandra Dorota (Poland)

The Republic of Kazakhstan

Karaganda, 2020

Relevance of the topic. The leading method of treating patients with cervical cancer in modern conditions is combined radiation therapy, both in independent radical programs and as an important link in the combined treatment of more than 80% of patients of this localization. Despite the relatively satisfactory 5-year survival of patients with stage III cervical cancer (37.8-58%), 40-45% of women die from the progression of common forms of the disease, relapses and tumor metastases [1,2]. The possibilities of standard methods of radiation therapy are limited due to the impossibility of bringing to the tumor large doses necessary for radical treatment. Under standard radiation therapy, any attempt to increase the total dose is associated with a high risk of severe post-radiation damage. All this prompts the search for new ways to increase the effectiveness of radiation therapy [3].

One of such ways is to increase the effectiveness of radiation therapy by combining it with chemotherapy. Literature review showed that the combination of radiation therapy with cisplatin is most often used. Cisplatin penetrates the cell membrane and reacts with nucleophilic regions in the DNA, which leads to its various damages, impaired synthesis and, ultimately, to cell death. Free radicals resulting from exposure to ionizing radiation enhance the formation of toxic cisplatin derivatives, which led to disruption of DNA repair [4,5]. Currently, the combination of radiation therapy with cisplatin is the main treatment for cervical cancer according to national and international treatment protocols.

Evaluating the effectiveness of cancer treatment programs, their effect on the metabolic status of the patient should be taken into account. Research in this direction is relevant and promising, since the determination of the type and orientation of metabolic disorders will allow the development of a set of measures for the metabolic protection of the patient's body from the toxic effects of chemotherapy.

Recently, a promising area of research in oncology is the study of extracellular purines and nucleic acids.

Free purine bases (adenine, guanine) and purine catabolism intermediates (hypoxanthine, xanthine, uric acid) are present both intracellularly and outside the cells. It has been suggested that xanthine and hypoxanthine can be included in purine nucleotides, which sharply increases the risk of cancer [6].

There is quite conflicting data on the relationship of hyperuricemia with the risk of developing cancer. So, it is proposed to consider gout as a risk factor for the development of cancer of the urinary system, digestive system and lung cancer [7]. On the other hand, data have been published that do not support an increased risk of developing cancer of the lungs, liver, and stomach in patients with gout [8].

It should be noted that studies of extracellular purine bases and intermediates of purine catabolism in oncopathology are of a single nature [9, 10]. The direction and nature of the change in free purine bases and intermediates of purine catabolism in various types of cancer, including patients with cervical cancer, including

depending on treatment programs, has not been practically studied, which was one of the objectives of our study.

Extracellular nucleic acids (exDNA and RNA) circulate in the bloodstream, both in free form and associated with blood cells, mainly with red blood cells, as well as with vesicles or in complex with proteins. exNAs are considered as a kind of stress signals and / or extracellular communicators. An increase in the content of extracellular nucleic acids in the blood induces a complex of adverse effects, including procoagulant effect, cytotoxic effect, induction of pro-inflammatory cytokines, causing sterile inflammation. The hypothesis of active metabolic secretion has been formulated, according to which exNAs are secreted by tumor cells and participate in metastasis [11, 12].

It has been proven that patients who maintained a high level of exDNA after treatment had a poorer prognosis [4,6,7]. In patients in whom the disease progressed, the level of exDNA remained high [8].

Different types of cancer and its localization are accompanied by multidirectional changes on the side of extracellular nucleic acids. There is no consensus on the relationship between the stage, the size of the tumor, its localization, and the direction of the change in exNA in the blood of patients, including cervical cancer. The study of exNA in the blood of patients with cervical cancer and against the background of various treatment regimens was one of the objectives of our study.

The issue of the origin of exNA in the blood of cancer patients is discussed. The release of exNA is associated with various forms of cell death (apoptosis, necrosis). Neutrophilic extracellular traps can also make a certain contribution to the total pool of exNA, when DNA is secreted in complex with histones and enzymes released from neutrophil granules in the extracellular space [11]. There was no study of extracellular neutrophilic traps in the blood of patients with cervical cancer and against the background of various treatment regimens, which was one of the objectives of our study.

Thus, based on the analysis of literature data, the study focuses on the content of free purine bases, catabolism intermediates of purines and extracellular nucleic acids in blood plasma and erythrocytes in patients with cervical cancer before and after combined radiation and combination therapy. It also seems promising to evaluate the formation of spontaneous extracellular neutrophilic traps in the blood of patients as possible sources of extracellular nucleic acids.

The **purpose of the study** was to study the state of extracellular nucleic acids and purines in patients with locally advanced cervical cancer in assessing the effectiveness of the treatment.

Objectives:

1. To conduct a comparative analysis of the effectiveness of the treatment of locally advanced cervical cancer with radiation therapy and radiation therapy in combination with chemotherapy.

2. To determine the toxicity of various types of therapy in patients with locally advanced cervical cancer.

3. To determine the level of extracellular nucleic acids and intermediates of purine catabolism in erythrocytes and blood plasma of patients with cervical cancer to evaluate the effectiveness of the therapy.

4. To calculate the correlation relationship between extracellular nucleic acids and intermediates of purine catabolism in the blood of patients with cervical cancer and on the background of combined radiation and combination therapy.

5. To determine the ability to generate extracellular neutrophilic traps in the blood of patients with cervical cancer and in combination with radiation and combination therapy.

6. To determine the pathogenetic significance of changes in extracellular nucleic acids, intermediates of purine catabolism and the ability to form NETs in the blood of patients with cervical cancer.

Scientific novelty

For the first time, it was found that a decrease in ex RNA in the blood plasma of patients correlated with the size of the tumor, the determination of its level in blood plasma can be used as a potential marker of cancer progression (certificate of state registration of rights to the copyright object, issued by the Committee of the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan No. 2797 dated 27 August 2018).

For the first time, a significant increase in xanthine and uric acid in the blood plasma of patients with cervical cancer was established, while the content of guanine, hypoxanthine and adenine significantly increased in the erythrocytes of patients of this group against the background of multidirectional changes in purine metabolism indices and xanthine oxidase activity. Blood purine catabolites can be additional biochemical indicators of the extent of the tumor process and the effectiveness of the therapy (certificate of state registration of rights to the copyright object, issued by the Committee of the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan No. 2800 dated August 27, 2018).

For the first time, the direction of changes in extracellular nucleic acids and intermediates of purine catabolism in the blood of patients with cervical cancer before and after combination therapy in assessing its effectiveness has been determined.

For the first time, on the basis of correlation dependency calculations, the relationship between extracellular nucleic acids and plasma purine exchange intermediates in blood and red blood cells of patients with cervical cancer was shown.

For the first time, the ability to generate extracellular traps by blood neutrophils in cervical cancer patients was established.

It was shown for the first time that combination therapy with fluorofur and cisplatin did not affect the ability of blood neutrophils in patients with cervical cancer to form extracellular traps, but stimulated their formation by basophils.

The theoretical significance of the study. The results obtained made it possible to draw conclusions about the mechanisms of changes in the content of extracellular nucleic acids and intermediates of purine catabolism.

Practical value. The type of combination therapy for cervical cancer that has the greatest effectiveness has been determined. The combination of SLT with cisplatin increases the frequency of full and partial tumor responses by 28.3% and 3-year survival in patients with cervical cancer compared with patients who received only radiation therapy.

Determination of exRNA level in blood plasma can be considered as a potential marker of cervical cancer progression.

Determination of the content of guanine, hypoxanthine and adenine in blood erythrocytes and xanthine in blood plasma in patients with cervical cancer to determine the degree of cancer prevalence, for stage III cancer the range of indicators: in red blood cells guanine 485-733, hypoxanthine 570-780, adenine 625-823, in xanthine plasma 144-227.

Determination of the content of guanine, hypoxanthine and adenine in red blood cells and blood plasma in patients with cervical cancer during radiation therapy, as the most sensitive to the effectiveness of the therapy. Statistically significant linear trends in the growth of guanine and hypoxanthine in erythrocytes and plasma, adenine in the blood plasma of patients with cervical cancer during radiation therapy with cisplatin were revealed.

The main provisions to be defended:

1. Combined radiation therapy in combination with cisplatin is the most effective treatment for locally advanced cervical cancer.
2. The degree of decrease in exRNA in the blood of patients with cervical cancer depends on the stage of the tumor.
3. The red blood cells and blood plasma of patients with cervical cancer differ in the type of accumulating purine catabolism intermediates, in the direction of the change in the purine metabolism index and xanthion oxidase activity.
4. Changes in extracellular nucleic acids and purine metabolism intermediates in the blood of cervical cancer patients are interconnected.
5. Neutrophils and blood basophils of patients with cervical cancer show the ability to generate extracellular traps.
6. Determination of extracellular nucleic acids and purine catabolites in patients with advanced cervical cancer is an assessment of the effectiveness of the therapy.

Approbation. The main results of the dissertation were reported and discussed at the international conference of young scientists “The world of science and youth: the era of rapid change” April 28, 2018 (Karaganda); at the international

scientific conference "Modern problems of clinical medicine" May 10-16, 2018 (Czech Republic, Prague); IASGO World Congress, September 9-12, 2018 (Moscow); International scientific-practical conference "Personalized approach in the diagnosis and treatment of malignant neoplasms" October 11-12, 2018 (Astana); Sino-French-Kazakh Workshop on Innovative Therapeutic Solutions for Cancer and Ageing diseases October 18-19, 2018 (Nazarbayev University, Astana); at a meeting of the Department of Oncology and Radiation Diagnostics of KSMU 01/23/2019.

Publications. 12 publications were published on the topic of the dissertation: 5 in the materials of international conferences, 3 in scientific publications recommended by the Committee (Medicine and Ecology journal - 2, Modern problems of science and education -1), and in an international scientific publication ("Georgian Medical News ") - 1, in the international scientific publication included in the Scopus database (Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences) - 1. Received 2 certificates of state registration of rights to the copyright object, issued by the Committee of the Ministry of Justice of the Republic of Kazakhstan No. 2797 dated August 27, 2018 ("Extracellular blood cell nucleic acids of patients with locally advanced cervical cancer and during combination therapy "), No. 2800 dated August 27, 2018 (" Blood purine catabolites of patients with locally advanced cervical cancer ").

Volume and structure of the dissertation. The dissertation is presented on 97 pages, consists of a list of notations and abbreviations, introduction, literature review, 3 chapters of our own research, conclusions, conclusions, practical recommendations, applications. The bibliographic index contains 167 sources, of which 46 are in Russian and 121 in foreign languages. The dissertation is illustrated with 34 tables, 14 pictures.

Implementation of the work. The results of the study were introduced at the Regional Oncology Center in Karaganda, in the educational process of the Department of Oncology and Radiology and the Department of Biochemistry of the Karaganda Medical University. The dissertation is written on an initiative basis.

Conclusions:

1. The combination of combined radiation therapy with cisplatin increases the frequency of complete and partial clinical regressions of a cervical tumor by 28.3% and 3-year survival by 18% compared with only radiation treatment.
2. The most pronounced hematological and non-hematological toxicity is observed in cervical cancer patients receiving radiation therapy with cisplatin: leukopenia in $(40.0 \pm 7.3)\%$, granulocytopenia in $(17.78 \pm 5.7)\%$, anemia in $(35.55 \pm 7.14)\%$, hepatotoxicity in $(22.2 \pm 6.2)\%$, mucositis in $(13.3 \pm 5.1)\%$ of patients.
3. In cervical cancer, the change in exDNA depended on the stage of the disease: a statistically significant decrease in the cc of DNA associated with red blood cells was recorded in stage III patients (up to 0.024 versus 0.033 control, $p = 0.005$). Regardless of the stage of cancer, the content of xanthine (156.0) and uric acid

(172.0) in the plasma of cervical cancer patients increases (control - 123 and 130, respectively) ($p = 0.005$). The content of guanine (572), hypoxanthine (655.5) and adenine (726) in blood erythrocytes of patients with stage III cervical cancer increases (control - 420, 450 and 451, respectively, $p = 0.005$); also revealed a change in xanthine oxidase activity.

4. After radiation therapy, a statistically significant decrease in extracellular RNA adsorbed on red blood cells was detected ($p = 0.005$). After radiation therapy with ftorafur, a significant increase in acid-soluble fractions associated with red blood cells was observed. After radiation therapy, a high level of xanthine and uric acid was recorded in the blood plasma of patients with cervical cancer, and an increase in xanthine in erythrocytes ($p = 0.005$). In patients with cervical cancer who received ftorafur, while maintaining a high level of xanthine and uric acid in the blood plasma, a statistically significant increase in guanine, hypoxanthine, adenine and xanthine in erythrocytes was revealed ($p = 0.005$), compared with patients who received radiation therapy with ftorafur.

In the blood plasma of cervical cancer patients receiving cisplatin during radiation therapy, the content of hypoxanthine and adenine statistically significantly increases compared with those in patients receiving ftorafur. The presence of statistically significant linear trends in blood red blood cells for guanine ($F = 5.502$; $p = 0.039$) and hypoxanthine ($F = 5.173$; $p = 0.044$), in plasma for hypoxanthine, adenine and guanine ($F_p = 6.35$ and $p = 0.028$; $F = 6.34$ and $p = 0.029$; $F = 5.91$ and $p = 0.033$, respectively).

After radiotherapy with ftorafur, a statistically significant decrease in the purine exchange index, xanthine/ hypoxanthine and uric acid / hypoxanthine indices was recorded, whereas after radiation therapy with cisplatin, a significant increase in the purine exchange index index was recorded with a decrease in the uric acid / hypoxanthine index compared to those in patients after radiation treatment with fluorofur . In the red blood cells of patients with cervical cancer after radiation therapy with fluorofur and cisplatin, a statistically significant change in the acid / hypoxanthine and acid / xanthine indices was recorded. In the blood plasma of patients with cervical cancer who received cisplatin during radiation therapy, the content of hypoxanthine and adenine statistically significantly increased compared with those in patients who received ftorafur. The presence of statistically significant linear trends in blood red blood cells for guanine ($F = 5.502$; $p = 0.039$) and hypoxanthine ($F = 5.173$; $p = 0.044$), in plasma for hypoxanthine, adenine and guanine ($F_p = 6.35$ and $p = 0.028$; $F = 6.34$ and $p = 0.029$; $F = 5.91$ and $p = 0.033$, respectively).

5. Correlation analysis revealed a statistically significant relationship between the level of CRF and extracellular RNA in the blood plasma of patients with cervical cancer (+0.776). The level of extracellular RNA sorbed on red blood cells correlated significantly with the contents of guanine (+0.64), hypoxanthine (+0.66), adenine (+0.67), uric acid (0.66) in red blood cells and xanthine in blood

plasma (0.699). Significant correlations were found between guanine and hypoxanthine (0.93), guanine and adenine (0.98), guanine and xanthine (0.87) in the blood erythrocytes of patients; between guanine in red blood cells and uric acid in the blood plasma of patients with cervical cancer (0.58). Statistically significant correlations between xanthine and uric acid (0.629), between xanthine and hypoxanthine (0.88) in red blood cells were revealed; between adenine and hypoxanthine (0.99), adenine and xanthine (0.86), between xanthine in red blood cells and uric acid in the blood plasma of patients (0.58).

After radiation therapy with cisplatin, strong reliable correlations were found between the contents of guanine and adenine (0.97), guanine and xanthine (0.87), guanine and uric acid (0.71) in the red blood cells of patients with cervical cancer. In the blood red blood cells of patients of this group, hypoxanthine correlated with adenine (0.93), xanthine (0.86) and uric acid (0.73); erythrocytes also revealed significant correlative relationships between adenine and xanthine (0.85), adenine and uric acid (0.72), xanthine and uric acid (0.87). A strong correlation between guanine and hypoxanthine was observed in the blood plasma of patients of this group (0.99); adenine and xanthine (0.797), adenine and uric acid (0.82), xanthine and uric acid (0.81), as well as the statistically significant relationship of xanthine in red blood cells with blood plasma adenine (0.66), between uric acid in red blood cells and plasma adenine.

6. Peripheral blood neutrophils in 53.57% (33.87; 72.49) of cervical cancer patients before treatment showed the ability to generate extracellular nucleic traps, this ability is absent in healthy people. There was no dependence of the formation of extracellular nucleic traps on the prevalence of cervical cancer (IIb or III). The addition of chemotherapy drugs to radiation therapy did not lead to an increase in the percentage of formation of extracellular nucleic traps in the blood of patients with cervical cancer, but stimulated the appearance of extracellular basophilic traps. Peripheral blood neutrophils in 53.57% (33.87; 72.49) of cervical cancer patients before treatment showed the ability to generate NETs, this ability is absent in healthy people. There was no dependence of NET formation on the prevalence of cervical cancer (IIb or III). The addition of chemotherapy drugs to radiation therapy did not lead to an increase in the percentage of NET formation in the blood of cervical cancer patients, but stimulated the appearance of extracellular basophilic traps.
7. A working hypothesis has been developed for the causes of changes in the content of extracellular nucleic acids, intermediates of purine catabolism and the formation of extracellular neutrophilic traps in the blood of patients, as well as the ways of their participation in the pathogenesis of cervical cancer.