

АННОТАЦИЯ
диссертационной работы
ЖУМАКАЕВОЙ АЙНУРЫ МАРАТОВНЫ
на тему: **«Роль экспрессии H-Ras онкобелка в эффективности
неоадьювантной химиотерапии рака молочной железы»**
на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности 6D110100 - Медицина

Научные консультанты:

И.М. Омарова д.м.н., профессор

кафедры онкологии и лучевой диагностики КМУ

К.Д. Рахимов д.м.н. профессор, академик НАН РК,

заведующий кафедрой клинической фармакологии КазНМУ

им. С.Д.Асфендиярова

Д.А. Сычев доктор медицинских наук, профессор,

профессор РАН, член-корреспондент РАН,

ректор РМАНПО, Россия

Актуальность исследования.

Результаты лечения рака молочной железы (РМЖ) улучшились благодаря углубленному изучению биологических свойств данной опухоли и развитию персонализированной медицины.

Однако РМЖ все еще остается лидирующей причиной смерти. Поэтому проводятся активные исследования молекулярно-генетических особенностей этой опухоли и белковых структур [Leong A.S, Zhuang Z., 2011], вовлеченных в обеспечение высокой жизнеспособности злокачественных клеток с целью определения перспектив использования подобных белков в качестве диагностических и прогностических биологических маркеров и молекулярных мишеней назначения лекарственных средств целенаправленного действия.

Белки семейства RAS (H-Ras, K-Ras и N-Ras) представляют собой небольшие G-белки, которые участвуют в передаче сигнала к ядру. Мутации в гене KRAS связаны с самым высоким процентом всех раковых заболеваний -21,6%, за которым следует NRAS - 8,0% и HRAS всего -3,3% [Gloria M., Jorge A., 2016]. Активация мутаций онкогенов RAS может приводить к злокачественной трансформации и обнаруживается во многих раковых опухолях человека, включая 90% опухолей поджелудочной железы, 50% рака толстой кишки, 50% рака щитовидной железы и 5% рака молочной железы [Cree I.A, 2016]. Низкий процент мутации RAS при раке молочной железы привел к тому, что они являлись не значимыми в патогенезе злокачественных новообразований до недавнего времени [Pylyayeva-Gupta Y., 2011].

H-Ras является наиболее изученным геном семейства RAS и частота мутации в нем минимальна, в результате чего заинтересованность исследователей постепенно уменьшалась до тех пор, пока Spandidos DA et. al. в своей работе впервые не показали, что злокачественные опухоли молочной железы имеют повышенную экспрессию онкогена H-Ras [Spandidos D.A., Karaioissifidi H., Malliri A., 1992].

Для выполнения своей функции онкобелку H-Ras нужно приобрести соответствующую структуру и присоединиться к внутренней поверхности мембраны, с помощью фермента фарнезилтрансферазы [Kazi A., Xiang S., Yang H., 2019]. Без процесса фарнелизации RAS теряет способность фосфорилироваться, и передавать сигналы от рецептора к ядру клетки. С этой точки зрения лекарственная терапия, направленная на ингибирование фарнезилтрансферазы представляет собой перспективное направление современной онкологии.

Онкобелки RAS также активируются через механизмы восходящего потока, поскольку некоторые рецепторы факторов роста, передают свои сигналы с помощью RAS и могут экспрессироваться при раке молочной железы [Cox A.D., Der C.J., Philips M.R., 2015]. К рецепторам факторов роста относятся рецептор эпидермального фактора роста EGFR и рецептор тирозинкиназы Her/2neu, которые сверхэкспрессируются от 20 до 50% случаев рака молочной железы [Ali R., Wendt M.K., 2017]. В ряде исследований было показано значительное снижение экспрессии EGFR после неoadьювантной химиотерапии [Haddad T.C., Goetz M.P., 2015], что клинически проявлялось улучшением показателей непосредственной эффективности и увеличением показателей общей и безрецидивной выживаемости РМЖ.

Таким образом, изучение экспрессионной способности онкобелков H-Ras при РМЖ, а также их способность в совокупности с другими молекулярными маркерами влиять на прогноз РМЖ является актуальным.

Такого рода исследования будут способствовать более углубленному изучению патогенетических механизмов участвующих в прогрессировании данного заболевания и откроют возможности для разработки и внедрения в клиническую практику новых таргетных препаратов.

Цель исследования - оценить влияние экспрессии H-Ras онкобелков на эффективность неoadьювантной терапии рака молочной железы.

Задачи исследования:

1. Определить уровень экспрессии H-Ras онкобелков до начала лечения у пациентов раком молочной железы и изучить корреляцию между экспрессией H-Ras онкобелков с основными тканевыми маркерами (Her2neu, ER, PR, Ki 67) определяющими фенотип опухоли.
2. Оценить влияние экспрессии H-Ras онкобелков на показатели непосредственной эффективности неoadьювантной химиотерапии у пациентов раком молочной железы.

3. Изучить влияние экспрессии Н-Ras онкобелков на показатели безрецидивной выживаемости пациентов, получивших неоадьювантную химиотерапию.

4. Разработать прогностическую модель безрецидивной выживаемости рака молочной железы в зависимости от иммуногистохимических особенностей.

Научная новизна

1. Впервые изучена экспрессия Н-Ras онкобелков у пациентов РМЖ и определена ее корреляция с Her2neu позитивным типом РМЖ и высоким индексом пролиферативной активности Ki 67 (свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданное комитетом Министерства юстиции РК №3990 от 11 июня 2019г.).

2. Впервые было установлено, что положительная экспрессия Н-Ras белков не влияла на показатели непосредственной эффективности неоадьювантной терапии по схемам: АС, АС+арглабин, арглабин у пациентов РМЖ.

3. Впервые было показано, что неоадьювантная терапия с включением препарата Арглабин улучшала показатели безрецидивной выживаемости пациентов РМЖ с положительной экспрессией Н-Ras белков.

4. Впервые была разработана прогностическая модель безрецидивной выживаемости пациентов с диагнозом РМЖ с учетом экспрессионного статуса Н-Ras онкобелков.

Практическая значимость работы

Определение экспрессии Н-Ras онкобелков у пациентов с положительным статусом тканевого маркера Her2neu и высоким уровнем индекса пролиферативной активности Ki-67 свидетельствует о более агрессивном типе РМЖ и требует особого подхода в лечении.

Определен вид комбинированной неоадьювантной терапии рака молочной железы, имеющий наибольшую эффективность при положительной экспрессии Н-Ras онкобелков. Комбинация стандартного режима АС (адриабластин+циклофосфан) с ингибитором фарнезилтрансферазы препаратом арглабин статистически значимо увеличивает период безрецидивной выживаемости пациентов с РМЖ.

Определение периода безрецидивной выживаемости пациентов с РМЖ на основании прогностической модели в зависимости от экспрессии иммуногистохимических показателей (Her2neu, Ki-67, Н-Ras) позволяет определить возникновение рецидива индивидуально для каждого пациента.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Экспрессия Н-Ras онкобелков зависит от наличия в опухоли тканевого маркера Her2neu и высокого уровня индекса пролиферативной активности Ki-67.

2. Положительная экспрессия Н-Ras онкобелков оказывает отрицательное влияние на результаты непосредственной эффективности

неoadъювантной лекарственной терапии с включением препарата Арглабин у пациенток с РМЖ.

3. Показатели безрецидивной выживаемости существенно отличаются в зависимости от экспрессионного статуса H-Ras онкобелков у пациентов с РМЖ: при положительной экспрессии H-Ras период безрецидивной выживаемости выше, чем при отрицательной экспрессии при применении монотерапии Арглабином и при комбинации стандартной терапии с Арглабином.

4. Построенная прогностическая модель периода безрецидивной выживаемости пациентов с диагнозом РМЖ является дополнительным диагностическим инструментом для предсказания возникновения рецидива заболевания.

Внедрение в практику.

По материалам диссертации получено 1 свидетельство о регистрации прав на объект авторского права №3930 от 11 июня 2019 года «Иммуногистохимические особенности H-Ras онкобелков при раке молочной железы после комбинированного лечения». Имеются акты внедрения результатов научно-исследовательской работы в практическую деятельность.

Апробация работы

Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием имени А.Ю. Барышникова «Отечественные противоопухолевые препараты», Москва 16-17 марта 2017 год; VI Съезде онкологов и радиологов Республики Казахстан, Алматы, 27-28 апреля 2017 год; Международной научном симпозиуме «Астана Биотех-2018», Астана, 12-13 июня 2018 год; Конференции молодых ученых «Наука и здоровье», посвященной 70 - летию члена - корреспондента НАЕН Республики Казахстан, профессора Дюсупова А.З. и ассоциированного профессора Дюсуповой Б.Б, Семей, 5 октября 2018 год; IV Международной научно-практической конференции «Global science and innovation 2019: Central Asia», Астана, 21 января 2019 год; II Российской Зимней Школы молодых ученых и врачей по фармакогенетике, фармакогеномике и персонализированной терапии, Москва, 12-15 февраля 2019 год; XVI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием имени А.Ю. Барышникова «Отечественные противоопухолевые препараты», Екатеринбург 10-14 марта 2019 год; кафедральном заседании онкологии от 26.06.2019, протокол №2.

Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ, из них: 3 в научных изданиях рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК; 2 публикации в международном научном издании, входящем в информационную базу Scopus – «Georgian Medical News», «Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences»; 5 публикации в

материалах международных конференции; 3 публикации в материалах зарубежных конференции. По материалам диссертации получено 1 свидетельство о регистрации прав на объект авторского права № 3930 от 11 июня 2019 года «Иммуногистохимические особенности H-Ras онкобелков при раке молочной железы после комбинированного лечения».

Объем и структура диссертации: Диссертация изложена на 108 страницах компьютерного текста, состоящего из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования, обсуждения, заключения и приложений. Диссертация иллюстрирована 20 таблицами и 37 рисунками. Список литературы включает 218 источников отечественной, русскоязычной и англоязычной литературы.

Материалы и методы исследования

Набор клинического материала проводился в соответствии с правилами, принятыми Этической комиссией Карагандинского Государственного Медицинского Университета.

В исследование было включено 100 пациентов в возрасте от 29 до 78 лет с установленным диагнозом рак молочной железы II и III стадией заболевания ($T_{2-4}N_{0-2}M_0$), получившие комплексную терапию в Карагандинском областном онкологическом диспансере с 2012 по 2014 годы.

У всех пациентов был иммуногистохимически и морфологически верифицирован рак молочной железы.

Исследование морфологического материала на определение экспрессии H-Ras проводилось на базе КГП «Областной онкологический диспансер», г.Карагада в период с сентября 2017 г. по октябрь 2018 г. в рамках грантового проекта (№ AP05130956) Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан «Фармакогенетическое изучение терпеноидных молекул и молекулярные механизмы их действия» в условиях АО «Международного-научно производственного холдинга «Фитохимия», г.Караганда.

До проведения неоадьювантной лекарственной терапии определена экспрессия H-Ras онкобелков и в зависимости от её уровня проведена рандомизация пациентов на 2 группы лечения: группу сравнения (без экспрессии H-Ras) и исследуемую (с положительной экспрессией в зависимости от H-Ras).

В группу сравнения включено 55 пациентов с отрицательной экспрессией H-Ras онкобелков.

В исследуемую группу включено 45 пациентов с отрицательной экспрессией H-Ras онкобелков.

Проведена неоадьювантная терапия с оценкой ее непосредственной эффективности и после проиленного лечения определен уровень H-Ras онкобелков.

На заключительном этапе проведена оценка отдаленных результатов лечения и построена прогностическая модель неблагоприятного прогноза РМЖ.

Статистическая обработка полученных данных

При обработке полученных результатов использованы: метод вариационной статистики с оценкой достоверных результатов по критерию Стьюдента, метод различий двух показателей определялся по точному критерию Фишера, сравнение двух независимых выборок производилось с помощью непараметрического критерия U Манна-Уитни; сравнение нескольких независимых выборок производилось с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса; метод ранговой корреляции Спирмена (rs), для определения безрецидивной выживаемости использовался метод расчета выживаемости по Каплан-Мейеру с целью проверки статистической значимости различий в показателях безрецидивной выживаемости между группами использовался логранговый критерий. Для построения прогностической модели безрецидивной выживаемости использовался метод построения обобщенной линейной модели GLM.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10, Excel.

Уровень статистической значимости был зафиксирован на уровне вероятности ошибки $p < 0,05$.

Выводы:

1. Экспрессия H-Ras выявленная до начала неоадьювантной лекарственной терапии у 45 ($45,0 \pm 5,0\%$) пациентов РМЖ чаще встречалась у пациентов с Her2neu позитивным раком и высоким уровнем индекса пролиферативной активности Ki-67, что продемонстрировано наличием сильной статистически значимой связи при Her2neu ($R_s = 0,89$, $p < 0,05$), а при Ki-67 ($R_s = 0,70$, $p = 0,001$).

2. Экспрессия H-Ras отрицательно влияла на непосредственную эффективность неоадьювантной лекарственной терапии. У пациентов с отрицательной экспрессией частота общего эффекта была статистически значимой на 24,1% ($p < 0,05$), прогрессирование заболевания на 22,2% ниже, чем у пациентов в исследуемой группе с положительной экспрессией H-Ras ($p < 0,05$). В исследуемой группе с положительной экспрессией H-Ras на 32,9 % чаще отмечался слабо выраженный патоморфоз I – II степени ($p < 0,05$), а в группе сравнения с отрицательной экспрессией H-Ras на 32,9% чаще – выраженный патоморфоз III – IV степени ($p < 0,05$).

3. Экспрессия H-Ras отрицательно влияла на показатели безрецидивной выживаемости. В группе сравнения пациентов с отрицательной экспрессией H-Ras этот показатель составил $33,0 \pm 1,1$ месяцев, в исследуемой группе с положительной экспрессией соответственно – $16,0 \pm 1,0$ месяцев.

4. У пациентов с положительной экспрессией H-Ras, в результате терапии препаратом Арглабин, отмечается статистически значимое увеличение безрецидивной выживаемости до $16,5 \pm 1,1$ месяцев по сравнению со стандартным режимом АС ($13,5 \pm 1,1$ месяцев) ($p < 0,05$), добавление

Арглабина к стандартному режиму АС также увеличивало этот показатель до $16,4 \pm 1,2$ месяцев ($p < 0,05$).

5. При положительном Her2neu и высоким уровнем H-Ras (9-12 баллов) период безрецидивной выживаемости составил 16,98 месяцев, при умеренной степени выраженности H-Ras (6-8 баллов) – 21,33 месяца, при низкой степени H-Ras – 25,68 месяцев. Прогностический период безрецидивной выживаемости при отрицательной экспрессии H-Ras онкобелков (0-3 балла) и положительных рецепторах Her2neu у пациентов с РМЖ составил 32,00 месяца. Отрицательная экспрессия в обоих случаях сопровождалась более коротким периодом безрецидивной выживаемости согласно прогностической модели, которая составила 30,00 месяцев.

Исполнитель: Жумакаева А.М.