

**ЖУМАКАЕВА АЙНУРА МАРАТОВНАНЫҢ**  
**6D110100 – «Медицина» мамандығы бойынша философия докторы (PhD)**  
**дәрежесін алу үшін ұсынылған «Сүт безі рагының неоадьювантты**  
**химиотерапия тиімділігінде Н-Ras онконәруыз экспрессиясының рөлі»**  
**тақырыбындағы диссертациялық жұмысына**  
**АҢДАТПА**

**Ғылыми кеңесшілер:**

**И.М. Омарова** - м.ғ.д., ҚМУ онкология және сәулелі диагностика кафедрасының профессорі

**К.Д. Рахимов** - академик, м.ғ.д., профессор, С.Д. Асфендияров атындағы Қаз ҰМУ клиникалық фармакология кафедрасының меңгерушісі

**Д.А. Сычев** – корреспондент-мүшесі, м.ғ.д., профессор, РҰКБМА ректоры, Ресей

**Өзектілігі:**

Сүт безі рагының СБР емдеу нәтижелері ісіктің биологиялық қасиеттерін тереңдетіп зерттеу және дербестендірілген медицинаның пайда болуы арқасында жақсарды.

Алайда, СБР әйелдер арасында өлім себебі ретінде әлі күнге дейін алда келе жатыр. Сондықтан осы ісіктің молекулярлы-генетикалық ерекшеліктерін және қатерлі жасушалардың жоғары тіршілік етуін қамтамасыз етуге бағытталған ақуыз құрылымдарын [Leong A.S, Zhuang Z., 2011] диагностикалық және болжамдық биологиялық маркерлері және арнайы бағытталған әсер етуші дәрілік заттарды тағайындаудың молекулалық нысаналары ретінде пайдалану келешегін анықтау мақсатында белсенді зерттеулер жүргізіледі.

RAS (H-Ras, K-Ras и N-Ras) тұқымдастығының нәруыздары ядроға сигнал беруге қатысатын шағын G-ақуыздар болып табылады. KRAS геніндегі мутациялар адамның барлық қатерлі ісігі ауруларының ең жоғары пайызымен байланысты - 21,6%, одан кейін NRAS - 8,0% және HRAS барлығы-3,3% [Gloria M., Jorge A., 2016]. RAS онкогендерінің мутациясын белсендіру қатерлі түрленуге әкелуі мүмкін және адамның көптеген қатерлі ісіктерінде, соның ішінде ұйқы безі ісіктерінің 90%, тоқ ішек рагы 50%, қалқанша безі рагының 50% және сүт безі рагының 5% құрайды. Сүт безі рагы кезінде RAS мутациясының төмен пайызы қазіргі таңға дейін қатерлі жаңа түзілістің патогенезінде маңызының жоқтығына әкелді [Pylyayeva-Gupta Y., 2011].

Spandidos DA et. al өз жұмысында алғаш рет сүт безінің қатерлі ісіктері H -Ras онкогенінің жоғары экспрессиясы бар екенін көрсеткен кезге дейін, H-Ras Ras тұқымдастығының ең көп зерттелген геномы болып табылады және ондағы мутация жиілігі аз, нәтижесінде зерттеушілердің қызығушылығы біртіндеп төмендеді. [12].

Өз қызметін атқару үшін H -Ras онконәруызы тиісті құрылымды иеленіп және фарнезилтрансфераза ферментінің көмегімен мембрананың ішкі бетіне қосылуы қажет [Kazi A., Xiang S., Yang H., 2019]. Фарнелизация үрдіссіз RAS фосфорлану және рецептордан жасушаның ядросына сигнал беру қабілетін жоғалтады. Осы тұрғыдан фарнезилтрансферазаны тежеуге бағытталған дәрілік терапия заманауи онкологияның келешектегі бағыты болып табылады.

RAS онконәруыздары, сондай-ақ өрлеме ағымы механизмімен белсенеді, өсу факторының кейбір рецепторлары RAS көмегімен өз сигналдарын береді және сүт безінің рагы кезінде экспрессиялануы мүмкін [Cox A.D., Der C.J., Philips M.R., 2015]. Өсу факторларының рецепторларына сүт безі рагының 20-дан 50% - ға дейін жоғары әсер ететін EGFR эпидермалдық өсу факторының рецепторы және тирозинкиназа Her/2neu рецепторы жатады [Ali R., Wendt M.K., 2017].

Кейбір зерттеулерде EGFR экспрессиясының неоадьювантты химиотерапиядан кейін айтарлықтай төмендеуі көрсетілді [Haddad T.C., Goetz M.P., 2015], бұл клиникалық түрде тікелей тиімділік көрсеткіштерінің жақсаруымен және жалпы және қайталанусыз СБР тірі қалу көрсеткіштерінің ұлғаюымен байқалды.

Сонымен қатар, H-Ras онконәруыздардың экспрессиялық қабілетін зерттеу және олардың басқа молекулярлық маркерлермен бірге СБР болжамына әсер ету қабілеті өзекті болып табылады.

Зерттеудің осындай түрі осы аурудың үдеуіне қатысатын патогенетикалық механизмдерді тереңірек зерттеуге ықпал ететін болады және клиникалық практикаға жаңа таргеттік препараттарды әзірлеу және енгізу үшін мүмкіндіктер ашады.

**Зерттеу мақсаты:** сүт безі рагының неоадьюванттық терапиясының тиімділігіне H-Ras онконәруыздардың экспрессиясының әсерін бағалау.

#### **Зерттеудің міндеттері:**

1. Сүт безі рагымен емделушілерде ем басталғанға дейін онконәруыздардың H-Ras экспрессиясының деңгейін анықтау және ісіктің фенотипін анықтайтын негізгі тіндік маркерлермен (Her2neu, ER, PR, Ki 67) онконәруыздардың H-Ras экспрессиясы арасындағы корреляцияны зерттеу.

2. Сүт безі рагымен сырқатталған науқастарда неоадьювантты химиотерапияның тікелей тиімділік көрсеткіштеріне H-Ras онконәруыздардың экспрессиясының әсерін бағалау.

3. Неоадьюванттық химиотерапия алған науқастардың қайталанусыз тіршілік ету көрсеткіштеріне H-Ras онконәруыздардың экспрессиясының әсерін зерттеу.

4. Иммуногистохимиялық ерекшеліктерге байланысты сүт безі рагының қайталанусыз тірі қалуының болжамдық үлгісін әзірлеу.

#### **Ғылыми жаңалық**

1. Алғашқы рет Сүт безі рагымен сырқатталған науқастарда H-Ras онконәруыздардың экспрессиясы зерттеліп, оның СБР позитивті

типінiң Her2neu және Ki 67 пролиферативтi белсендiлiгiнiң деңгейi жоғары индексiмен корреляциясы анықталды (РК әдiлет министрлiгiнiң комитетiмен берiлген авторлық құқық объектiсiне құқықтарды мемлекеттiк тiркеу туралы куәлiк №3990 11 маусым 2019ж.).

2. Алғашқы рет СБР сырқаттаңған науқастарда АС, АС+арглабин, арглабин схемалары бойынша неоадьюванттық терапияның тiкелей тиiмдiлiк көрсеткiштерiне әсерi өтпейтiнi анықталды.
3. Алғашқы рет Арглабин препараты қосылған неоадьювантты терапия Н-Ras онконәруыздың экспрессиясы оң СБР сырқаттаңған науқастарда қайталанусыз тiршiлiк ету көрсеткiштерiң жақсартқаны көрсетiлдi.
4. Алғашқы рет Н-Ras онконәруыздың экспрессиясының мәртебесiн ескертiп СБР сырқаттаңған науқастарда қайталанусыз тiршiлiк ету болжамдық моделi әзiрлендi.

#### **Жұмыстың тәжирелiк маңызы**

Н-Ras онконәруыздың экспрессиясын Her2neu тiндiк маркер оң мәртебесi бар және Ki 67 пролиферативтi белсендiлiгiнiң деңгейi жоғары науқастарда СБР неғұрлым агрессивтi түрi туралы куәландырады және емдеуде ерекше тәсiлдi талап етедi. Н-Ras онконәруыздың экспрессиясы оң кезiнде ең жоғары тиiмдiлiгi бар сүт безi рагының бiрiктiрiлген неоадьюванттық терапиясының түрi анықталды. Арглабин препараты фарнезилтрансферазы ингибитормен АС (адриабластин+циклофосфан) стандартты режим тiркесiмi СБР сырқаттаңған науқастарда қайталанусыз тiршiлiк ету кезеңiн статистикалық тұрғыдан елеулi ұзартады.

Иммуногистохимиялық көрсеткiштердiң (Her2neu, Ki-67, Н-Ras) экспрессиясына байланысты болжамдық модельге негiзденiп СБР сырқаттаңған науқастарда қайталанусыз тiршiлiк ету кезеңiн анықтауы әрбiр пациент үшiн жеке қайталанудың пайда болуын анықтауға мүмкiндiк бередi.

#### **Қорғауға шығарылатын негiзгi ережелер:**

1. Н-Ras онконәруыздердiң экспрессиясы iсiкте Her2neu тiндiк маркерiнiң болуына және Ki-67 пролиферативтi белсендiлiк индексiнiң деңгейi жоғары болуымен байланысты.
2. Н-Ras онконәруыздардың экспрессиясы СБР сырқаттаңған науқастарда Арглабин препаратын қоса отырып, неоадьювантты дәрiлiк терапияның тiкелей тиiмдiлiгiнiң нәтижелерiне терiс әсер етедi.
3. Н-Ras онконәруыздардың оң экспрессиясы СБР науқастардың қайталанусыз тiршiлiк ету көрсеткiштерi экспрессиялық статусына байланысты айтарлықтай ерекшеленедi.
4. СБР диагнозы бар науқастардың қайталанусыз тiрi қалу кезеңiнiң құрылған болжамдық моделi аурудың қайталануын болжауға арналған қосымша диагностикалық құрал болып табылады.

#### **Тәжирибеге енгiзу**

Диссертация материалдары бойынша 1 авторлық құқық объектісіне құқықтарды тіркеу туралы куәлік алынған № 3930 - 11 маусым 2019 жыл «Біріктірілен емдеуден кейін сүт безі рагы кезінде H-Ras онконәруыздың иммуногистохимиялық ерекшеліктері» (Қосымша А). Ғылыми-зерттеу жұмысының нәтижелерін тәжірибелік қызметке енгізу актілері бар (Қосымша Б).

### **Жұмыстың апробациясы**

Диссертациялық жұмыстың негізгі ережелері мен нәтижелері А. Ю. Барышников атындағы Халықаралық қатысумен XIV Бүкілресейлік ғылыми-тәжірибелік конференцияда баяндалды және талқыланды. «Отандық ісікке қарсы препараттар», Мәкеу 16-17 наурыз 2017жыл; Қазақстан Республикасының онкологтармен радиологтардың VI құрылтайында, Алматы, 27-28 сәуір 2017 жыл; Халықаралық ғылыми симпозиумында «Астана Биотех-2018», Астана, 12-13 маусым 2018 жыл; Қазақстан Республикасының ҰҒА корреспондент-мүшесі профессор Дюсупов А.З. және қауымдастырылған профессор Дюсупова Б.Б 70 – жылдық мерей тойына арналған, Жас ғалымдар конференциясы «Ғылым және денсаулық» Семей, 5 қазан 2018 жыл; IV Халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференция «Global science and innovation 2019: Central Asia», Астана, 21 қаңтар 2019 жыл; II Фармакогенетика, фармакогеномика және дербестендірілген терапия бойынша жас ғалымдар мен дәрігерлердің Ресей Қысқы мектебі, Мәскеу, 12-15 ақпан 2019 жыл; А. Ю. Барышников атындағы Халықаралық қатысумен XVI Бүкілресейлік ғылыми-тәжірибелік конференция "Отандық ісікке қарсы препараттар", Екатеринбург 10-14 наурыз 2019 жыл; онкология кафедрасының отырысында талқыланды 26.06.2019жыл, хаттама №2.

### **Диссертация тақырыбы бойынша жарияланған ғылыми еңбектер тізімі**

Диссертация материалдары бойынша 13 ғылыми жұмыс жарияланды. ҚР БҒМ білім және ғылым саласындағы бақылау комитеті ұсынған басылымдарда 3 жұмыс жарияланды. Нөлдік емес Impact Factor бар және Scopus деректер базасына кіретін басылымдарда – «Georgian Medical News», «Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences» 2 жұмыс жарияланды, халықаралық конференция материалдарынан 5 және 3 шетелдік конференция материалдарындағы жарияланымдар. Диссертация материалдары бойынша № 3930 11 маусым 2019 ж., «Біріктірілен емдеуден кейін сүт безі рагы кезінде H-Ras онконәруыздың иммуногистохимиялық ерекшеліктері» авторлық құқық объектісіне құқықтарды тіркеу туралы 1 куәлік алынды.

**Диссертацияның көлемі мен құрылымы:** Диссертация кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен әдістерден, зерттеу нәтижелерінен, талқылаудан, қорытындылар және қосымшалардан тұратын 108 бетті қамтитын компьютерлік мәтіннен тұрады. Диссертация 20 кесте және 37 суретпен безендірілген. Әдебиеттер тізімі 218 отандық, орыс тілді және ағылшын тіліндегі әдебиеттерді қамтиды.

### **Зерттеу материалдары мен әдістері**

Клиникалық материал жинағы Қарағанды Мемлекеттік Медицина Университетінің этикалық комиссиясы қабылдаған ережелерге сәйкес жүргізілді.

Зерттеуге 2012 жылдан 2014 жылға дейін Қарағанды облыстық онкологиялық диспансерінде кешенді ем қабылдаған аурудың II және III сатысы ( $T_{2-4}N_{0-2}M_0$ ), сүт безі рагы диагнозы қойылған 29-дан 78 жасқа дейінгі 100 науқас енгізілді.

Барлық науқастарда сүт безі рагының иммуногистохимиялық және морфологиялық верификациясы жүргізілді.

Неоадьювантты дәрілік ем жүрізгенге дейін H-Ras онконәруыздардың экспрессиясы анықталды, және оның деңгейіне байланысты 2 ем қабылдау тобындағы науқастарға: бақылау (H-Ras экспрессиясыз) және зерттеу (H-Ras оң экспрессиясына байланысты) науқастарға рандомизация жүргізілді. 2017 жылғы қыркүйектен бастап 2018 жылғы қазанға дейін Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым Комитетінің «Фармакогенетическое изучение терпеноидных молекул и молекулярные механизмы их действия» гранттық жобасы (№ AP05130956) шеңберінде Қарағанды қ., АҚ "Фитохимия" халықаралық-ғылыми өндірістік холдингінде H-Ras экспрессиясын анықтау үшін морфологиялық материалды зерттеу "Облыстық онкологиялық диспансер" КМК базасында жүргізілді.

Неоадьювантты дәрілік емге дейін онкологиялық аурулардың H-Ras онконәруыздың экспрессиясы анықталды және оның деңгейіне байланысты науқастардың рандомизациясы жүргізіліп 2 топқа бөлінді: салыстыру және зерттеу тобы.

Бақылау тобына H-Ras онконәруыздың теріс экспрессиясымен 55 науқас енгізілді.

Зерттеу тобына H-Ras онконәруыздың теріс экспрессиясымен 45 науқас енгізілді.

Оның тікелей тиімділігін бағалай отырып, неоадьювантты терапия жүргізілді және емделуден кейін H-Ras онконәруыздың деңгейі анықталды.

Қорытынды кезеңінде емдеудің кеш дамитын нәтижелерін бағалау және СБР қолайсыз болжамының болжамдық үлгісі құрастырылды.

#### **Алынған деректерді статистикалық өңдеу**

Алынған нәтижелерді өңдеу кезінде: Стюдент өлшемі бойынша дұрыс нәтижелерді бағалаумен вариациялық статистика әдісі, екі көрсеткіштердің айырмашылығы Фишердің нақты өлшемі әдісі бойынша анықталды, екі тәуелсіз жиынтықтарды салыстыруы и Манна-Уитни параметрлерінің көмегімен жүргізілді, бірнеше тәуелсіз жиынтықтарды салыстыру краскел - Уоллис параметрлерінің көмегімен жүргізілді, Спирмен рангты (rs) корреляция әдісі, топтар арасында қайталаусыз тірі қалу көрсеткіштерінде айырмашылықтардың статистикалық маңыздылығын тексеру мақсатында логрангты критерий және қайталанусыз тіршілік етуің анықтау үшін Каплан-Мейер бойынша өміршендікті есептеу әдісі қолданылды. Болжамдық үлгіні құру үшін жалпыланған GLM сызықтық үлгіні құру әдісі қолданылды.

Жұмыс барысында «Statistica 10.0», Excel бағдарламалар қолданылды. Статистикалық мәнділік деңгейі  $p < 0,05$  қателігінің ықтималдығы деңгейінде тіркелді.

### **Қорытындылар:**

1. СБР науқастарда 45 ( $45,0 \pm 5,0\%$ ) неоадьювантты дәрілік терапия басталғанға дейін анықталған H-Ras экспрессиясы жиі позитивті Her2neu рагы бар және Ki-67 пролиферативті белсенділік индексінің деңгейі жоғары емделушілерде кездесіп, Her2neu ( $R_s = 0,89$ ,  $p < 0,05$ ) кезінде күшті статистикалық маңызды байланыстың болуымен, ал Ki-67 ( $R_s = 0,70$ ,  $p = 0,001$ ) көрсетілген.
2. H-Ras экспрессиясы неоадьювантты дәрілік терапияның тікелей тиімділігіне теріс әсер етті. Теріс экспрессиясы бар науқастарда жалпы әсердің жиілігінің статистикалық мәні  $24,1\%$ -ға ( $p < 0,05$ ), H-Ras ( $p < 0,05$ ) оң экспрессиясы бар зерттеу топтағы науқастарға қарағанда аурудың өршуі  $22,2\%$  - ға төмен болды. Оң экспрессиясы бар зерттеу тобында H-Ras  $32,9\%$  – ға жиі I-II дәрежелі ( $p < 0,05$ ) әлсіз айқындалған патоморфоз, ал теріс экспрессиясы бар бақылау тобында H – Ras  $32,9\%$  – ға жиі III-IV дәрежелі ( $p < 0,05$ ) айқындалған патоморфоз байқалған.
3. H-Ras экспрессиясы қайталаусыз тіршілік ету көрсеткіштеріне теріс әсер етті. H-Ras теріс экспрессиясы бар науқастардың бақылау тобында бұл көрсеткіш  $33,0 \pm 1,1$  айды, оң экспрессиясы бар зерттелетін топта тиісінше  $-16,0 \pm 1,0$  айды құрады.
4. Арглабин қабылдаған H-Ras оң экспрессиясы бар науқастарда  $p < 0,05$  кезінде АС ( $13,5 \pm 1,1$  ай) стандартты режимімен салыстырғанда,  $16,5 \pm 1,1$  айға дейін қайталанусыз тіршілік ету көрсеткішінің статистикалық маңызды артуы, АС стандартты режиміне Арглабиннің қосылуы да осы көрсеткішті  $16,4 \pm 1,2$  айға ( $p < 0,05$ ) дейін арттырды.
5. Her2neu оң және H-Ras жоғары деңгеймен (9-12 ұпай) қайталанусыз тіршілік ету кезеңі  $16,98$  айды құрады, H-Ras орташа айқындылық дәрежесі кезінде (6-8 ұпай) –  $21,33$  ай, H-Ras төмен дәрежесі кезінде –  $25,68$  ай. H-Ras онкогенділігінің теріс экспрессиясы кезінде (0-3 ұпай) және СБР бар емделушілерде оң Her2neu рецепторларында қайталанбас тіршілік ету болжамдық кезеңі  $32,00$  айды құрады. Теріс экспрессия екі жағдайда да  $30,00$  айды құрайтын болжамдық үлгіге сәйкес қайталаусыз тіршілік етудің қысқа кезеңімен сүйемелденді.

**Орындаушы: А.М. Жумакаева**