

«6D110100–Медицина» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін ізденуге ұсынылған Афонин Георгий Алексеевичтің «**50 жасқа дейінгі науқастарда колоректальды қатерлі ісігінің дамуының молекулалық-генетикалық талдауы**» тақырыбындағы диссертациялық жұмыстың

## АННОТАЦИЯСЫ

### Тақырыптың өзектілігі

Дүние жүзілік Денсаулық сақтау ұйымының (ДДСҰ) және Қатерлі ісік зерттеулер жөніндегі халықаралық агенттігі (IARC) деректері бойынша әлемде колоректальды қатерлі ісікпен (КРҚІ) сырқаттанушылықтың саны өсуде және 2030 жылға қарай жаңа сырқаттанушылар саны жылына 2.2 миллионға дейін (2018 жылға қатысты 77%-ға) және осы патологиядан орын алатын өлім-жітімнің 1.1 миллионға дейін (2018 жылға қатысты 80%-ға) өсуі күтілуде (Colorectum. Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018; Arnold M., 2016; Bray F., 2018).

Қазақстан Республикасында (ҚР) колоректальды қатерлі ісікпен (КРҚІ) ауыратындар саны кездесу жиілігі бойынша 3-ші орында тұр, сонымен қатар бұл аурудың жыл сайын өсуі байқалады. Ұлттық канцер-регистрінің деректеріне сәйкес, 2009 жылдан бастап КРҚІ скринингінің ұлттық бағдарламасының жұмыс істеуіне қарамастан, республикада ерлер мен әйелдерде КРҚІ-тен өлімнің тұрақты жоғары көрсеткіштері байқалуда (Қазақстан Республикасының онкологиялық қызметінің 2018 жылғы көрсеткіштері). Сондай-ақ, ҚР-да 50 жасқа дейінгі адамдарда КРҚІ-ке шалдыққан науқастар санының жыл сайынғы өсу үрдісі байқалады; 2008-2017 жылдар аралығында, 50 жасқа дейін КРҚІ-пен ауырған 3121 науқастар тіркелді. 50 жасқа дейінгі адамдарда аурулардың абсолюттік санының өсу қарқыны әртүрлі себептен дамуына қарамастан, КРҚІ сырқаттанушылар саны жыл сайын орта есеппен 2.3%-ға өсу заңдылығы байқалуда (Қазақстан Республикасы онкологиялық қызметінің 2008-2017 жылдардағы көрсеткіштері). Бұл топтағы науқастарда ауру скринингтің шекті жасы (50 жас) басталғанға дейін байқалып және диагноз қойылатын кезде, әдетте, жайылмалы асқынған ісік процесі байқалады (O'Connell J.V., 2004).

Когорттық зерттеулер нәтижесінде, жас науқастарда тоқ ішектің дистальды бөліктерінде ісіктің жиі орналасуы, аурудың «кеш» кезеңі, кейбір авторлардың пікірінше, олардың үлесі 70%-дан асатыны, сонымен қатар ағымның агрессивті сипаты және ісіктердің дифференциациясының төмен дәрежесіне тән екендігі анықталды (Gupta S., 2010; Negri F.V., 2005). Өз кезегінде мұндай фенотиптік сипаттамалар «агрессивті» салыстырмалы түрде тез ісіктің өсуі, дифференциацияның төменгі дәрежесі және эпидермальды өсу факторы рецепторларының ингибиторларымен терапияға жауап беру сипаты нақты генотиптік айырмашылықтарға байланысты (Семьянихина А.В., 2020; Владимирова Л.Ю., 2016).

АҚШ-та, Еуропа елдерінде, Оңтүстік Кореяда, Жапонияда, Қытайда көп орталықты зерттеулерде, іріктелген тиісті этникалық топ субпопуляциялар аурудың

мультифакторлық сипатын ескере отырып, жас кезінде КРҚІ даму қауіпі бар жеке генотиптердің ассоциативтілігін сипаттады (Johansen Taber K.A., 2014; Abecasis G.R., 2010; Lin P.H., 2016). Молекулалық-генетикалық зерттеулер жас пациенттердегі ісіктің негізгі қасиеттерін анықтады: p53 ақуыз экспрессиясының төмен деңгейі, ДНҚ репликациясының жоғары деңгейде, микросателлиттік тұрақсыздық түрінде кателесуі, KRAS генінің ерекше мутациясы және жалпы популяциядағы пациенттердің ісіктерімен салыстырғанда плоидтың жоғары индексі (Negri F.V., 2005; Беляева А.В., 2012).

Жаңа топты (NGS) секвенирлеу негізінде жас пациенттердің гендерін талдау КРҚІ жағдайларын синдромдық (~5%) және спорадиялық (~95%) сипаттағы түрлерін анықтауға мүмкіндік береді (Семьянихина А.В., 2020). Бұл белгілі бір науқас пен оның туыстары үшін қауіп деңгейін стратификациялауға, диагностикалық және терапевтік тәсілдерді өзгертуге және медициналық бақылауға мүмкіндік береді. Гендердің функциональды маңыздылығын және КРҚІ-пен байланысты тұқым қуалайтын синдромдардың «фенотиптердің қабаттасуын» ескере отырып, сондай-ақ, қатерлі ісік ауруында бірнеше гендерде мутация болуы мүмкін жағдайларды ескере отырып, көп гендік тестілеу (MGT) молекулалық-генетикалық талдаудың үнемді әдісі болып табылады, өйткені ол көптеген гендерді, соның ішінде ауру ағымына және терапияға жауап беруді бір уақытта талдауға мүмкіндік береді (Stanislaw C., 2016; Gallego S.J., 2015).

Бүгінгі күні Қазақстан Республикасында осы саланы зерттеу нәтижелері бірыңғай басылымдарда берілген.

Осылайша, 50 жасқа дейінгі адамдарда КРҚІ ауруының жоғарылауы, қатерлі ісіктің осы түрінің тұқым қуалайтын формаларында скринингтің болмауы, аурудың стадиясының жоғары сатысы және өмір сүрудің төменгі деңгейі (пилоттық зерттеулер деректері бойынша III және IV кезеңдегі жинақталған және 5-жылдық өмір сүру деңгейі сәйкесінше 59.4% және 39.5% құрайды), аурудың молекулалық-генетикалық негізін зерттеуді қажет етеді.

**Зерттеу мақсаты** – 50 жасқа дейінгі генетикалық тұрғыдан ауыруға бейімділігі бар адамдарда колоректальды қатерлі ісік ауруын алдын-алу және ерте диагностикалауды оңтайландыру.

**Зерттеу міндеттері:**

1. Қазақстан Республикасындағы 50 жасқа дейінгі адамдарда КРҚІ-нің эпидемиологиялық аспектілерін зерттеу.
2. 50 жасқа дейінгі және 65 жастан асқан КРҚІ-мен ауырған науқастарға клиникалық-фенотиптік ерекшеліктеріне салыстырмалы талдау жүргізу.
3. ДНҚ жиынтығын құра отырып, 50 жасқа дейінгі пациенттердің тіркелімін қалыптастыру.
4. 50 жасқа дейінгі пациенттердің жаңа буынына секвенирлігі негізінде ДНҚ-на молекулалық-генетикалық зерттеу жүргізу.

5. Молекулалық-генетикалық талдауға негізделе отырып, 50 жасқа дейінгі генетикалық тұрғыдан бейімділігі бар адамдарда колоректальды қатерлі ісік ауруын ерте диагностикалау және алдын-алу алгоритмдерін жасау.

**Зерттеу объектілері:** верификацияланған диагнозы бар 50 жасқа дейінгі КРҚІ-мен ауырған, аурудың әр түрлі сатылары бар науқастар болып табылады.

**Зерттеу пәні** – КРҚІ-пен ауыратын 50 жасқа дейінгі науқастардың тұқым қуалайтын, отбасылық және спорадикалық түрлері болып табылады.

**Зерттеу әдістері:** клиникалық, клиникалық және генеалогиялық (аурудың тұқым қуалау схемасын жасау), эндоскопиялық (колоноскопиялық), морфологиялық (гистологиялық зерттеу), молекулалық-генетикалық (жаңа ұрпақ секвенирлеу), биоинформатикалық талдау, статистикалық талдау.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы:**

Алғаш рет жыныстық және жас ерекшеліктерін ескере отырып, 10 жыл ішінде, республика ауқымында және өңірлер деңгейінде, 50 жасқа дейінгі адамдарда КРҚІ-мен сырқаттанушылыққа кешенді эпидемиологиялық бағалау жүргізілді.

Қазақстан Республикасында 50 жасқа дейінгі және 65 жастан асқан адамдарда КРҚІ-нің клиникалық-фенотиптік ерекшеліктері алғаш рет, жынысын, ауру сатысын, гистологиялық құрылымын және ісіктің орналасуын ескере отырып зерттелді.

Қазақстан Республикасында алғаш рет жаңа буынды секвенирлеу негізінде 50 жасқа дейінгі пациенттерде КРҚІ-мен байланысты патогендік мутациялар және белгісіз функциональдық мәні бар түрлерге молекулярлық-генетикалық талдау жүргізілді.

Алғаш рет жас кезіндегі КРҚІ-нің дамуымен байланысты 17 жаңа, бұрын сипатталмаған мутациялар анықталды.

Қазақстан Республикасында алғаш рет молекулярлық-генетикалық талдау негізінде, 50 жасқа дейінгі колоректальды ісікке генетикалық бейімділігі бар адамдарда ерте диагностикалау және алдын алу алгоритмдері ұсынылды.

**Қорғауға ұсынылған негізгі тұжырымдар:**

Эпидемиологиялық талдау 50 жасқа дейінгі адамдар арасында колоректальды қатерлі ісікпен ауыратындар санының жыл сайын орта есеппен 2.3%-ға өскенін, таралған ісік процесінің (III, IV сатылар) ұлғаю үрдісін анықтады.

Патогенді мутациялар жиілігі жоғары пенетрантты гендерде (*APC*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *BRCA1*, *BRCA2*) тұқым қуалайтын күрделі анамнезі бар науқастармен (21.1% қарсы 3.1%;  $p=0.0002$ ) және алғашқы-көптеген қатерлі ісіктері бар адамдарды (20.0% қарсы 3.1%;  $p=0.0004$ ) спорадикалық аурулары бар науқастармен салыстырғанда айтарлықтай статистикалық нақты (3.1%;  $p<0.005$ ).

Колоректальды қатерлі ісіктің дамуын туындататын патогенді мутациялар консерватизмнің жоғары деңгейімен сипатталатын гендердің учаскелерінде (тиісті протеиндердің функциональдық маңызды аудандарын кодтайтын, промоторлық және реттеуші жүйелілік) анықталған. Ең консервативті аймақтардағы мутациялар геномның тұрақтылығын қамтамасыз ететін гендерде ісік өсуінің супрессиясы (*APC*), мутация деңгейін бақылау, ДНҚ-ның қалпына келтіру және генетикалық тұрақтылықты сақтау

(*BRCA2*), жасуша циклін бақылау (*CHEK2*), гендік экспрессияны реттеу (*DICER1*), хромосомалық тұрақтылықты сақтау (*FANCI*), ДНҚ-ның мисматч-репарациясын қалпына келтіру (*MSH2*, *PMS2*) және апоптозды реттеу және тотығу стрессіне реакция (*MUTYH*) анықталған.

Бұрын әдебиеттерде сипатталмаған *FANCI*, *APC*, *BMPRIA*, *ATM*, *DICER1*, *NBN* гендеріндегі 9 жаңа патогендік мутация және *ATM*, *NSD1*, *RB1*, *FANCD2*, *BLM*, *MSH2*, *DICER1*, *PMS1* гендеріндегі *in silico* талдауы бойынша 8 жаңа нұсқа анықталды, бұл оларды одан әрі молекулалық-генетикалық өзгерістер ретінде зерттеуді қажет етеді.

Молекулярлық-генетикалық талдау негізінде колоректальдық қатерлі ісікті ерте диагностикалау және оның алдын алу алгоритмдері әзірленді және енгізілді, бұл емдеу іс-шараларын және арнайы іс-шараларды жүзеге асыра отырып, тұқым қуалауға бейімділігі бар адамдарда ерте диагностика жүргізуге мүмкіндік береді.

#### **Жұмыстың тәжірибелік маңыздылығы:**

Молекулярлық-генетикалық талдау негізінде, 50 жасқа дейінгі генетикалық тұрғыдан бейімділігі бар адамдарда колоректальдық қатерлі ісікті ерте диагностикалау және алдын алу алгоритмдері құрастырылып, енгізілді.

Полипоздық және полипоздық емес синдромдары бар пациенттер және олардың қандас туыстары үшін жекеленген диспансерлік бақылау алгоритмдері әзірленді және енгізілді.

Жас адамдарда КРҚІ-нің даму қаупін бағалау үшін мультигенді тестілеу жинақтамасы жетілдірілді.

Колоректальдық қатерлі ісікті ерте диагностикалау және алдын алу алгоритмдері бұдан кейін Қазақстан Республикасының онкологиялық көмек көрсететін барлық мекемелерінде қолданылуы мүмкін.

#### **Қорытындылар:**

1. Қазақстан Республикасында 50 жасқа дейінгі адамдар арасында тоқ ішек қатерлі ісігімен сырқаттанушылықтың өсуі байқалады. Ауру санының жыл сайынғы өсімі 2.3%-ды құрайды. Ең жоғары стандартталған аурушандық көрсеткіштері Солтүстік Қазақстан, Павлодар және Шығыс Қазақстан облыстарында, ең төмені – Оңтүстік Қазақстан, Жамбыл және Қызылорда облыстарында белгіленді. Бұл ретте Солтүстік Қазақстан облысында стандартталған көрсеткіш Түркістан облысында бұл көрсеткіштен 2.2 есе, Қызылорда облысында 1.9 есе жоғары.

2. 50 жасқа толмаған науқастарда 65 жастан асқан науқастармен салыстырғанда жергілікті асқынған ісік процесінің (III кезең) 15% көп жағдайлары байқалды. 50 жасқа дейінгі науқастарда аурудың IV сатысы әйелдерге қарағанда ерлерде 27.3% жиі кездеседі. Пациенттердің жасы ұлғайған сайын тоқ ішектің оң жақ жартысында локализацияланған ісіктердің жиілігінің жоғарылау үрдісі анықталды.

3. Зерттеу барысында ҚР БҒМ Генетика және физиология институты базасында 50 жасқа дейінгі тоқ ішек қатерлі ісігімен ауыратын науқастардың тізілімі қалыптастырылды және ДНҚ банкі құрылды.

4. Жоғары пенетранттылығы бар гендердегі патогендік мутациялардың жиілігі (*APC*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *BRCA1*, *BRCA2*) тұқым қуалайтын тарихы бар (21.1% қарсы 3.1%;  $p=0.0002$ ) және көптеген бастапқы ісіктері бар науқастарда айтарлықтай жоғары. (20.0% қарсы 3.1%;  $p=0.0004$ ) аурудың спорадикалық нұсқасы бар науқастармен салыстырғанда (3.1%). Көбінесе патогендік мутациялар мен жоюшы әсері бар нұсқалар Линч синдромымен (13%), Ли-Фраумени синдромымен (13%), отбасылық аденоматозды полипозбен (9,67%), отбасылық сүт безі және аналық без обырымен (6.4%) байланысты гендерде байқалды және Фанкони анемиясының комплементациялық тобының гендерінде (6.4%).

5. Әдебиетте бұрын сипатталмаған жоғары және орташа пенетранттылығы бар гендердегі 17 жаңа мутация анықталды, олар жалпы популяциямен салыстырғанда тоқ ішек қатерлі ісігінің ертерек дамуына әкелетін себеп-салдарлық өзгерістер ретінде жағдайды бақылау зерттеулерінде валидациялануы қажет.

6. 50 жасқа дейінгі және генетикалық ауыртпалықпен ауыратын анамнезі бар адамдарда тоқ ішек қатерлі ісігі ерте диагностикалау және алдын алу алгоритмдері әзірленді және енгізілді. Олар отбасылық анамнезінде тоқ ішек қатерлі ісігі және оның ассоциацияланған ісіктер болған жағдайда науқастың қан туыстарындағы қоздырғыш мутацияларды анықтау және ауруды ерте анықтау мақсатында қолданылуы керек.

#### **Автордың жеке қосқан үлесі:**

Автор жас ерекшелік аспектісін ескере отырып, әлемдегі және Қазақстан Республикасындағы КРҚІ ауруының қарқынды және стандартталған көрсеткіштерін, онкологиялық қызметтің электрондық ресурстарының деректерін (госпитальдық және популяциялық канцер-регистрілер, онкологиялық науқастардың электрондық регистрі) талдай отырып, зерттеу нәтижелеріне статистикалық өңдеу жүргізілді. Автордың жеке үлесі зерттеу дизайны мен хаттамасын жасау, клиникалық (пациенттерді іріктеу және емдеу) және эксперименттік (материал жинау, сауалнама мен жеке тіркеу картасын әзірлеу, ДНҚ дерек қоры мен банкін қалыптастыру) зерттеу бөлімдерін орындау, молекулалық-генетикалық зерттеу (ДНҚ секвенирлеу) нәтижелерін талдау, қорытындылау және түсіндіру болып табылады.

#### **Негізгі ғылыми жұмыс жоспарымен байланыс**

Диссертациялық зерттеу келесі ғылыми-техникалық бағдарламалар аясында жүргізілді:

1. 055 «Ғылыми және/немесе ғылыми-техникалық қызмет» бюджеттік бағдарламасы бойынша мемлекеттік тапсырыс шеңберінде «Қазақстанда колоректальдық қатерлі ісікті диагностикалауға арналған эпигенетикалық тест-жүйесін әзірлеу». Қаржыландыру – ҚР Білім және ғылым министрлігі. Ғылыми-зерттеу жұмыстарын орындауға арналған шарт: «Өмір туралы ғылымдар» 29.04.2016 ж. № 196 гранттық жобаларды орындауға арналған және «зияткерлік әлеует» 12.02.2015 ж. № 24. Зерттеу мерзімі 2015-2017 жж.

2. 013 «Денсаулық сақтау саласындағы қолданбалы ғылыми зерттеулер» бюджеттік бағдарламасы бойынша «Бір қатар маңызды ауруларды (жаңа буынның

секвенирленуі негізінде колоректалдық қатерлі ісіктің молекулярлық-генетикалық талдауы) симптомға дейінгі диагностикалау мен емдеудің жаңа молекулярлық-генетикалық тәсілдері». Қаржыландыру – ҚР Денсаулық сақтау министрлігі. 10.07.2017 ж. № 164/07.17, 17.07.2017 ж. № 026-17 ғылыми-зерттеу жұмыстарын орындауға арналған шарттар, зерттеу жүргізу мерзімі 2017-2019 жж.

#### **Жұмысты апробациясы:**

Диссертацияның нәтижелері мен негізгі ережелері келесі іс-шараларда ұсынылды:

1. «Технологиялар мен білімнің интеграциясы» Қазақстан Республикасының онкологтары мен радиологтарының VI съезі (Алматы қ., 28 сәуір 2017 ж.);
2. Қазақстан Республикасының онкологтары мен радиологтарының VII съезі (Нұр-Сұлтан қ., 18 қазан 2019 ж.);
3. Molecular Analysis for personalized Therapy Congress 2019 халықаралық конгресі (Лондон қ., 8 қараша 2019 ж.);
4. Онкологиялық диспансерлердің мамандандырылған клиникалық-диагностикалық бөлімшелері (МКДБ) басшыларының Республикалық семинар-кеңесі (Шымкент қ., 4 ақпан 2020 ж.);
5. «Форум Урал Онко 2020» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы (Екатеринбург қ., 12 наурыз 2020 ж.);
6. «Қазақстан онкологиясы: кеше, бүгін, ертең» халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясы (Алматы қ., 11 желтоқсан 2020 ж.);
7. Қазақстан Республикасының онкологтары мен радиологтарының халықаралық қатысумен VIII съезі (Түркістан қ., 15 қазан 2021 ж.).

#### **Жарияланымдар:**

Диссертация материалдары бойынша 28 жұмыс, оның ішінде Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Білім және ғылым сапасын қамтамасыз ету комитеті ұсынған басылымдардағы 7 мақала, Scopus және Web of Science ғылыми ақпарат базаларында индекстелетін шетелдік рецензияланатын басылымдардағы 3 мақала – Tumor Biology (процентиль 40%, Q2, импакт-фактор 2.926), South African Medical Journal (процентиль 44%, Q2, импакт фактор 1.500), Frontiers in Oncology (процентиль 46%, Q2, импакт-фактор 4.848), Scopus және Web of Science ғылыми ақпарат базаларында индекстелетін шетелдік рецензияланатын басылымдардағы 2 тезис – FEBS Journal (Q2, импакт-фактор 3.986), Annals of Oncology (процентиль 98%, Q1, импакт-фактор 18.279), жас ғалымдардың халықаралық ғылыми-практикалық конференция материалдарындағы 3 тезис, халықаралық ғылыми конференциялар материалдарындағы 2 мақала және 7 тезис жарияланды.

#### **Диссертацияның көлемі және құрылымы**

Диссертация 220 беттен тұрады. Мұнда кіріспе, 4 бөлім (әдебиеттерге шолу, материалдар мен әдістер, нәтижелер, талқылау), қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі, 7 қосымшадан тұрады. Мәтінде 31 кестелер және 64 суреттер бар. Әдебиеттер тізіміне 267 дереккөз кіреді.