

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI

Əlyazması hüququnda

AZƏRBAYCANDA XRONİKİ MİELOİD LEYKOZLU XƏSTƏLƏRİN GENETİK VARIASIYALARININ MOLEKULYAR İDENTİFİKASIYASI

İxtisas: 2409.01 – Genetika

Elm sahəsi: Biologiya

İddiaçı: **Kərimova Nigar İldırım qızı**

Fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün
təqdim edilmiş dissertasiyanın

AVTOREFERATI

BAKİ – 2023

Dissertasiya işi Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun "Molekulyar genetika və genomika" şöbəsinin "İnsan genetikası" laboratoriyasında, Ege Universitetinin "Tibbi biologiya" şöbəsində və Azərbaycan Respublikası Səhiyyə Nazirliyinin Hematologiya və Transfuziologiya Elmi-Tədqiqat İnstitutunda yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbərlər:

Tibb üzrə fəlsəfə doktoru, dosent
Əsədov Çingiz Daşdəmir oğlu

Biologiya elmləri doktoru, dosent
Əkpərova-Ben-Tzvi Günay Hafiz qızı

Rəsmi opponentlər:

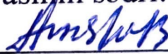
Biologiya elmləri doktoru, professor
Əliyeva Kamilə Əli Ağa qızı

Biologiya elmləri doktoru, professor
Əsgərova Tahirə Ələmşah qızı

Biologiya elmləri doktoru, professor
Qasimov Kərim Quli oğlu

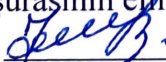
Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Ali Attestasiya Komissiyasının ETN Genetik Ehtiyatlar İnstitutu nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.37 Dissertasiya şurası

Dissertasiya şurasının sədri:



Biologiya elmləri doktoru, dosent
Abbasov Mehraq Əli oğlu

Dissertasiya şurasının elmi katibi:



Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru
Həsənova Səidə Qasım qızı

Elmi seminarın sədri:



Biologiya elmləri doktoru, dosent
Sadıqov Hamlet Bəykişi oğlu



GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı və işlənmə dərəcəsi. Xroniki mieloid leykoz (XML) proliferativ hematopoetik pluripotent kök hüceyrə xəstəliyidir. Dünyada bir il ərzində 100 min əhali arasında onun rastgəlmə tezliyi 1,1% (0,7-1,5%) təşkil edir. Statistik olaraq, bu, bütün hemablastozlu xəstəliklərin 15-20%-ni təşkil edir¹. Azərbaycanda leykozların bütün növləri arasında XML-ə 17% böyükldə, 5,2% isə uşaqlarda rast gəlinir¹.

XML-in genetik xüsusiyyətləri filadelfiya xromosomunun (Ph) formalaşması ilə təsvir olunur. Filadelfiya xromosomu 9-cu və 22-ci xromosomlar arasında baş verən resiprok translokasiya nəticəsində yaranır. Sitogenetik və molekulyar metodlardan istifadə etməklə aparılan çoxsaylı uğurlu tədqiqatlar *BCR* və *ABL1*-in qırılma nöqtələrində iştirak edən genlərin identifikasiyasına gətirib çıxarmışdır. İki genin birləşməsi nəticəsində yaranan *BCR-ABL1* onkogeninə xas ximerik məlumat RNT-yə (mRNT) transkripsiya olunur. Bu mRNT, öz növbəsində, konstitutiv tirozinkinaza aktivliyinə malik olan ximerik zülalın sintezinə səbəb olur. Bu zülal isə hüceyrə aktivliyi ilə bağlı signal yollarını aktivləşdirərək mieloid hüceyrələrin bədxassəli proliferasiyasına səbəb olur.

BCR-ABL-in fermentativ fəaliyyətini blokirə edən tirozinkinaz inhibitorları (TKİ) XML pasiyentlərinin hədəf müalicəsi üçün işlənilib hazırlanmışdır. TKİ terapiyası yüksək remissiya dərəcəsinə və daha çox XML xəstəsinin sağ qalmasına imkan yaradır. TKİ müalicə xətlərindən klinik tətbiqinə icazə verilən ilk preparat İmatinib Mezilat (İM) hesab olunur. Bu preparat, uzunmüddətli hematoloji və sitogenetik cavab göstəricisi və eləcə də yaxşı dözümlülük (aşağı toksiklik) profilinə sahib olması sayəsində, XML müalicəsinin birinci xəttinin “qızıl” standartı hesab olunur. Buna baxmayaraq, təəssüflər olsun ki, imatinib terapiyasında bəzən rezistentlik də müşahidə olunur.

İmatinibə qarşı rezistentliyin səbəblərinin araşdırılması nəticəsində məlum olmuşdur ki, rezistentlik müalicənin başlanmasından bir neçə ay

¹ Əsədov, Ç. Azərbaycanda Leykozların Epidemiologiyası / Ç.Əsədov, Z.Əlimirzəyeva, A.Kərimov // Xəzər Universitetinin Nəşriyyatı, – 2012. – 183 s.

və yaxud bir il sonra inkişaf etməyə başlayır və bir neçə mexanizmlə (məsələn, hədəf zülalının mutasiyası və ya amplifikasiyası, yaxud dərman preparatının modifikasiyası və xromosom aberrasiyaları) müəyyən olunur. Bu mexanizmlərdən ən çox rast gəlinənləri *BCR-ABL* tirozinkinazalarının müxtəlif bölgələrini kodlaşdıran mutasiyalar hesab olunur. Bunların arasında katalitik domen, bağlayıcı-ATF P-halqası və ya fosforlaşmanı aktivləşdirən A-halqasındakı genetik dəyişikliklər xüsusilə seçilir. Nəticədə, nöqtəvi mutasiyalar zülalın fəza konfigurasiyasını dəyişir. Bununla da dərman vasitələri ilə tirozin “ciblərinin” bağlanması pozulur və *BCR-ABL* tirozinkinazanın ATF qəbulunu bloklaşdırmağa səbəb olur.

İmatinibə qarşı rezistentliyin mümkün səbəblərindən biri də preparat sayəsində XML pasiyentlərində maddələr mübadiləsinin pozulması ola bilər. Məlumdur ki, orqanizmdə kənar kimyəvi maddələrin, o cümlədən dərman preparatlarının metabolizmi prosesində P450 sitoxrom zülalları iştirak edir (CYP). CYP genlərindəki tək nukleotid polimorfizmləri (TNP) zülal fəallığında, müalicə effektivliyində dəyişikliyə, dərmanların əlavə yan təsirinə, hətta, dərman intoksikasiyasına gətirib çıxara bilər. P450 sitoxromları, əksər dərmanların və digər lipofil ksenobiotiklərin turş biotransformasiyasını sürətləndirməyə qadir olan ferment ailələri arasında xüsusi yer tutur və bu səbəbdən klinik farmakologiya üçün xüsusi əhəmiyyət kəsb edir. Qaraciyərdə imatinibin metabolizmində iştirak edən P450 sitoxrom zülalları arasında *CYP3A5*3* *CYP3A4*18* və *CYP2B6*6* polimorfizmləri xüsusi yer tutur.

Müxtəlif TKİ müalicə xətlərinin XML müalicəsindəki effektivliyi bəzi xəstələrin, hədəf terapiyası olmadan da, yaşaya bilməsinə gətirib çıxarmışdır. Bu isə “müalicəsiz remissiya” adını almışdır. 2022-ci ildə terapeutik arsenalı dəyərləndirən XML üzrə mütəxəssislər əksər XML xəstələrinin normal ömür müddətinə malik olacaqları, lakin onların molekulyar deyil, funksional olaraq müalicə oluna biləcəyi barədə perspektivli vədlər verdilər. Gələcək perspektivlər tirazinkinaz inhibitorları terapiyası bitdikdən sonra tam molekulyar remissiyaya və

onun dayanıqlığına nail olmağa yönəlmişdir².

Tədqiqatın obyektı və predmeti. Cari tədqiqatın obyektı xroniki mieloid leykoz diaqnozu qoyulan xəstələrdir. Tədqiqatın predmeti XML xəstəliyinin inkişafına, həmçinin, XML xəstələrinin TKİ İmatinib Mezilat ilə terapiyaya qarşı müqavimətinə (ilkin və ya ikincil) cavabdeh ola biləcək genetik variasiyaların müəyyənləşdirilməsidir.

Tədqiqatın məqsədi və vəzifələri. Tədqiqatın məqsədi TKİ metabolizmində iştirak edən P450 sitoxrom gen ailəsinin polimorfizmləri ilə XML-in inkişafı arasındakı assosiasiyaları tədqiq etmək və onların imatinib terapiyasına qarşı rezistentliyin formalaşmasındakı mümkün rolunu öyrənmək, eləcə də XML-in birinci xətt preparatlarla müalicəsində rezistentlik yaradan *BCR-ABL* kinaz domeninin mutasiyalarını tədqiq etməkdir.

Tədqiqatın məqsədinə nail olmaq üçün qarşıya aşağıdakı vəzifələr qoyulmuşdur:

1. XML xəstələri və nəzarət qrupunda *CYP3A5*3* polimorfizminin paylanmasının öyrənilməsi.

2. XML xəstələri və sağlam insanlarda *CYP3A4*18* tezliyinin müəyyənləşdirilməsi və alınan nəticələrin müqayisəli analizi.

3. XML xəstələri və nəzarət qrupunda *CYP2B6*6* polimorfizminin tədqiqi.

4. İmatinib müalicəsinə rezistentlik göstərən XML xəstələrində *BCR-ABL* tirozinkinaz domenində mutasiya spektrinin araşdırılması.

Tədqiqat metodları. XML xəstələrində və nəzarət qruplarında P450 sitoxrom gen ailəsi polimorfizmlərinin genotiplənməsi PZR-RFLP metodu ilə həyata keçirilmişdir. DNT ekstraksiyası üçün *Qiagen QiAmp DNA Blood mini* (Qiagen, Hilden, Almaniya) kitindən istifadə olunmuşdur. PZR-dən sonra RFLP metodu üçün hər polimorfizmə spesifik olan restriksiya fermentlərindən istifadə olunmuşdur (New England Biolabs (NEB), Restriction Enzymes, Massachusetts, ABŞ). Alınan nəticələr 3%-li aqaroz gel elektroforezi üsulu ilə təhlil edilmişdir. Məlumatların biostatik təhlili statistik *SPSS v.22* proqramı (versiya 22,

² Carella, A. M. Present results and future perspectives in optimizing chronic myeloid leukemia therapy /M. A.Carella, G.Saglio, X.F.Mahon [et al.] // Haematologica, – 2018. № 6 (103), – p. 928-930.

SPSS, Çikago, İllinoys, ABŞ) vasitəsilə həyata keçirilmişdir. *BCR-ABL* kinaz domeni mutasiyalarının təyini üçün *Qiagen PyroMark Q24* (Qiagen, Hilden, Almaniya) payrosekanslama metodu tətbiq olunmuşdur. Aşkar edilmiş kliniki cəhətdən əhəmiyyətli genetik dəyişikliklərin kəmiyyət və keyfiyyətə qiymətləndirilməsi *PyroMark Q24 Software 2.0* (Qiagen, Hilden, Almaniya) proqramının köməyi ilə həyata keçirilmişdir.

Müdafiəyə təqdim edilən əsas müddəalar:

1. XML xəstələrində *CYP3A5*3* geninin polimorfizmi XML-in inkişaf riski ilə əlaqəlidir.

2. P450 sitoxrom ailəsinin *CYP3A4*18* geninin polimorfizmi imatinib müalicəsinə verilən cavabla əlaqəlidir. Belə ki, bu polimorfizmin öncədən təyini bu preparata qarşı yaranan rezistentliyi proqnoz etmək baxımından əhəmiyyət kəsb edir.

3. P450 sitoxrom ailəsinin *CYP2B6*6* gen polimorfizmi ilə XML-in inkişaf riski və imatinib müalicəsi arasında assosiasiya yoxdur.

4. Azərbaycanda XML xəstələrində *BCR-ABL* geninin əsas sahələrində 5 müxtəlif mutasiya növü aşkarlanmışdır. Bu mutasiyalar genin P-halqası nahiyyəsində (E255K və Y253H), bağlantı domenində (T315I) və SH2 domenində (F359V və V299L) baş vermişdir.

Tədqiqatın elmi yenilikləri. İlk dəfə olaraq, Azərbaycan populyasiyasında XML xəstələri və sağlam şəxslər arasında P450 sitoxrom gen ailəsinin polimorfizmlərinin allel və genotip tezliklərinin müqayisəli təhlili aparılmışdır. Aşkarlanan polimorfizmlərin allel və genotip tezliyi demoqrafik və klinik göstəricilərə əsasən tədqiq edilmişdir. İlk dəfə P450 sitoxrom gen ailəsi polimorfizmlərinin XML-in inkişafına təsiri müəyyənləşdirilmişdir. Azərbaycan populyasiyasında *CYP3A5*3* geninin geniş yayılmış tək nukleotid polimorfizminin XML-in inkişafı ilə statistik əlaqəli olduğu, *CYP3A4*18* polimorfizminin isə imatiniblə müalicənin rezistentliyinə təsir göstərdiyi aşkar edilmişdir. İlk dəfə olaraq, *BCR-ABL* kinaz domeninin müfəssəl mutasiya təhlili həyata keçirilmiş və Azərbaycanda XML xəstələrinin imatiniblə müalicəsi zamanı rezistentliyə səbəb olan əsas mutasiyalar müəyyən olunmuşdur.

İşin elmi-praktiki əhəmiyyəti. Tədqiqat işində həm XML xəstələrində, həm də sağlam insanlarda P450 sitoxrom gen ailəsinə

mənsub üç genin – *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP2B6*-nin üç geniş yayılmış polimorfizminin – *CYP3A4*18*, *CYP3A5*3*, *CYP2B6*6* allel və genotip tezlikləri tədqiq edilmişdir. Bu isə epidemioloji məlumatların zənginləşməsinə öz töhfəsini vermişdir. Həmçinin, bu mutasiyalarla demoqrafik və kliniki göstəricilər arasındakı əlaqənin müqayisəli təhlili də tədqiq edilmişdir. Bu analizin biostatistik təhlilinin məlumatları, xəstəliyin gedişatı da daxil olmaqla, müalicəyə rezistent risk qruplarının aşkarlanmasına imkan yarada bilər.

Xəstəliyin inkişaf riski ilə assosiasiyaları müəyyən edilmiş polimorfizmlər XML-in erkən proqnozlaşdırılması üçün qeyri-invaziv biomarkerlər kimi istifadə edilə bilər. Bundan əlavə, imatiniblə müalicəyə rezistentlik göstərən xəstələrdə yeni nəsil sekanslama üsulu genetik polimorfizmlərin aşkarlanması, düzgün terapiya və uyğun dozanın seçilməsində əhəmiyyətli ola bilər. Bu isə, öz növbəsində, yeni müalicə metodlarının tətbiqinə və mövcud müalicə metodlarının təkmilləşməsinə imkan yarada bilər. *BCR-ABL* mutasiyalarının tədqiqi, eləcə də tirozinkinaza inhibitorları terapiyasına rezistentliyin genetik mexanizmlərin müəyyənləşdirilməsi fərdi müalicə yollarının inkişafına təkan verə bilər. Bununla da müalicənin effektivliyi yaxşılaşa və xəstələrin sağ qalması əhəmiyyətli dərəcədə arta bilər.

İşin aprobasiyası. Dissertasiyanın əsas nəticələri aşağıdakı elmi seminar və konfranslarda müzakirə olunmuşdur:

- Cəlal Əlirza oğlu Əliyevin 90 illik yubileyinə həsr olunmuş Gənc alim və tələbələrin “Müasir biologiya və Aqrar elmlərdə innovasiyalar və global problemlər” mövzusunda konfransı (Bakı, 2018).

- Hematologiya və onkologiya üzrə X Avrasiya Konqresi (Türkiyə, İstanbul, 2019).

- Avropa Hematoloji Assosiasiyasının 24-cü konqresi (Niderland, Amsterdam, 2019).

- Hematologiya mütəxəssislərinin 2-ci Beynəlxalq konqresi (Bakı, 2022).

- Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyinin Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun seminarları.

Nəşrlər. Dissertasiya işinə aid, 6-sı məqalə, 4-ü tezis olmaqla, 10 elmi əsər dərc edilmişdir.

Dissertasiya işinin yerinə yetirildiyi təşkilatın adı. Dissertasiya işi Azərbaycan Respublikası Elm və Təhsil Nazirliyi Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun “Molekulyar genetica və genomika” şöbəsinin “İnsan genetikası” laboratoriyasında, Ege Universitetinin “Tibbi biologiya” şöbəsində və Azərbaycan Respublikası Səhiyyə Nazirliyinin Hematologiya və Transfuziologiya Elmi-Tədqiqat İnstitutunda yerinə yetirilmişdir.

Dissertasiyanın struktur bölmələrinin həcmi göstərən işarələrin sayı ilə dissertasiyanın ümumi həcmi. Dissertasiya işi giriş, altı fəsil, nəticələr, tövsiyələr, 159 ədəbiyyat (155-i xarici) və ixtisarlar siyahısından ibarət olmaqla 157 səhifədə təqdim olunub. Dissertasiya 13 şəkil və 26 cədvəl özündə əks etdirir.

Dissertasiyada ümumi işarələrin sayı 203428-dir, bunlardan: titul vərəqi və mündəricat – 5001 işarə, giriş – 12056 işarə, I fəsil – 66974 işarə, II fəsil – 26744 işarə, III fəsil – 13002 işarə, IV fəsil – 12044 işarə, V fəsil – 9055 işarə, VI fəsil – 21572 işarə, nəticələr – 1592 işarə, praktiki tövsiyələr – 748 işarə, ixtisarlar siyahısı – 1138 işarə.

İŞİN ƏSAS MƏZMUNU

I FƏSİL. ƏDƏBİYYAT İCMALI

Dissertasiyanın ədəbiyyat icmalında XML-in epidemiologiyasını, molekulyar-genetik patogeneza mexanizmlərini, həmçinin, XML xəstələrinin yeni diaqnostik və müalicə metodlarını əhatə edən tədqiqatlar təhlil edilərək, müasir elmi əsərlərə istinadlar verilmişdir.

II FƏSİL. MATERIALLAR VƏ METODLAR

2.1. Materiallar. Tədqiqat qrupuna B.Eyvazov adına Hematologiya və Transfuziologiya İnstitutunda imatinib müalicəsi alan 153 XML xəstəsi (102 rezistent, 51 qeyri-rezistent) daxil edilmişdir. Nəzarət qrupu Hematologiya və Transfuziologiya İnstitutuna rutin müayinəyə gələn və müntəzəm müayinələrdən keçən 100 sağlam insandan ibarət olmuşdur. Tədqiqat qrupları Azərbaycan etnik qrupuna

aid olan və XML ilə yanaşı anamnezində xroniki və ya kəskin xəstəliklər, xərçəngin digər növləri, qaraciyər və ya qan xəstəlikləri, hepatit B, C və ya HIV infeksiyası aşkarlanmayan şəxslərdən ibarət olmuşdur.

2.2. Metodlar. Dissertasiya işində periferik qandan DNT və RNT ekstraksiyası, DNT-nin kəmiyyət və keyfiyyətinin spektrofotometrik üsulla ölçülməsi, PZR-RFLP, aqaroz gəldə elektrofarez, Sanger sekvensləmə, yeni nəsil sekvensləmə (payrosekanslama), eləcə də bir sıra biostatistik analiz metodlarından istifadə olunmuşdur.

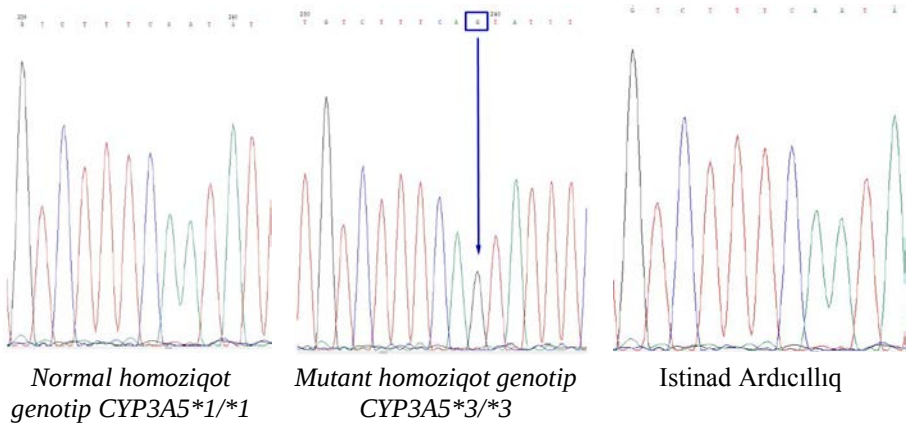
Genom DNT-si xüsusi DNT ekstraksiya kitinin – *Qiang DNA Blood Mini* (Qiagen, Hilden, Almaniya) köməyilə və istehsalçı firmanın kit təlimatına uyğun şəkildə izolyasiya edilmişdir. Əldə edilmiş DNT-nin keyfiyyət və kəmiyyəti NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Uoltem, Massaçusets, ABŞ) spektrofotometr cihazı vasitəsilə yoxlanılmışdır.

P450 sitoxrom ailəsindəki polimorfizmlər PZR-RFLP metodu ilə və hər gen üçün spesifik olan restriksiya fermentlərindən istifadə edilərək tədqiq edilmişdir. Hər bir restriksiya enzimi üçün istehsalçı-firma (New England Biolabs (NEB), Massaçusets, ABŞ) tərəfindən göstərilən xüsusi reaksiya şəraiti optimalaşdırılmışdır. Aqaroz gel elektrofarezi vasitəsilə fraqmentlərin uzunluğu analiz olunmuş, *CYP3A5*3*, *CYP3A4*18* və *CYP26*6* genlərinin TNP-ləri identifikasiya edilmişdir.

Tədqiqat işində payrosekanslama metodu ilə *BCR-ABL* kinaz domeninin ən çox rast gəlinən 14 mutasiyası analiz olunmuşdur. Yeni Nəsil Sekvensləmənin (payrosekanslamanın) hazırlıq prosesi iki ardıcıl polimeraz zəncirvari reaksiyadan ibarət olmuşdur. Tədqiqatın nəticələrinin izahatı *PyroMark Q24 Software 2.0* (Qiagen, Hilden, Almaniya) proqramı vasitəsilə həyata keçirilmişdir.

Ksi-kvadrat (χ^2) və Fişerin dəqiq meyarları rezistent və qeyri-rezistent xəstələr arasında genotip tezliklərinin müqayisəli analizi məqsədilə tətbiq olunmuşdur. Həmçinin, 95% etibarlıq intervalı (Eİ) ilə ehtimal nisbətini hesablamaq üçün ikili logistik reqressiya üsulundan istifadə edilmişdir. Əhəmiyyətlik dərəcəsi $p < 0,05$ olaraq qəbul edilmişdir. Statistik təhlil *SPSS* statistik proqramı (22-ci versiya, SPSS, Çikaqo, İllinoys, ABŞ) vasitəsilə yerinə yetirilmişdir.

Nəticələrin təsdiqi üçün nümunələrin on faizi (10%) random şəkildə toplanılmış və Sanger sekvensləmə (Sanger Sequencing, Applied Biosciences, Massachusetts, ABŞ) ilə Yeni Nəsil sekvensləmə (Myseq, İllumina, San-Dieqo, ABŞ) üsullarından istifadə edilərək həyata keçirilmişdir (Şəkil 1).



Şəkil 1. *CYP3A53 allelinin elektroferoqramması.** Elektroferoqrammada göstərilən hər bir pik DNT ardıcılığında bir nukleotidi təmsil edir. Gözlənilmədiyi kimi, mutant genotipin ardıcılığında (*CYP3A5**3/*3) intron 3-də adenindən guaninə (A>G) dəyişiklik aşkar edilmişdir (orta şəkil). Soldakı şəkil normal genotipi (*CYP3A5**1/*1) nümayiş etdirir, sağdakı şəkil isə istinad ardıcılığıdır.

III FƏSİL. P450 SİTOXROM GEN AİLƏSİNİN GENİŞ YAYILMIŞ MUTASIYALARI İLƏ XML-HƏSSASLIĞI ARASINDAKI ASSOSİASIYALARININ TƏHLİLİ

Xroniki mieloid leykozun molekulyar patogenezinin ən əhəmiyyətli hissəsi dərman vasitələrinin mübadiləsində iştirak edən və fermentlərin aktivliyini dəyişdirə bilən genetik variasiyaların genomda tədricən toplanmasıdır. Bu fermentlər ksenobiotiklərin detoksikasiyasında və dərman vasitələrinin biotransformasiyasında mühüm rol oynayır.

P450 sitoxrom superailəsi dərman vasitələrini mübadilə edən ən vacib komplekslərdən biridir. Bu kompleks dərmanları hidrofob

formadan hidrofilya hala transformasiya edir. Beləliklə, sitoxrom genlərinin lokuslarında baş verən dəyişikliklər xərcəngin inkişafı ilə əlaqəli ola bilər. Onu da qeyd etmək lazımdır ki, xərcəngə qarşı dərman preparatlarının metabolizmində sitoxromların rolu çox önəmlidir və bu genlər tumor supressor rolunda çıxış edə bilərlər³.

CYP fermentlər ailəsi arasında CYP3A izoforması qaraciyər və nazik bağırsaqda baş verən metabolik proseslərdə mühüm rol oynayır. Müasir dərman preparatlarının 50%-dən çoxunun, o cümlədən kanserogenlərin və zərərli kimyəvi maddələrin mübadiləsi, eləcə də transformasiyası CYP3A metabolizatorları tərəfindən idarə olunur. İnsan qaraciyərində CYP3A izoailəsinin 50%-i CYP3A5 fermenti ilə təmsil olunur. CYP3A izoailəsinin üzvü olan CYP3A4 isə dərmanların metabolizminin birinci fazasının 40-45%-inə cavabdehdir və mədə-bağırsaq sisteminin CYP aktivliyində vacib rol oynayır (70%-ə qədər). Beləliklə, CYP3A5 və CYP3A4 izoformaları dərman metabolizmində fərdlərarası fərqlər baxımından həlledici genetik amillər hesab olunurlar. CYP2B6 sitoxromu bu gen ailəsinin ən az tədqiq olunmuş izoformlarından biridir. Lakin məhz, bu gen izofamin, tamoksifen, ketamin, propofol, imatinib, efavirens kimi bir çox dərman preparatlarının və hətta bir sıra kanserogenlərin mübadiləsində həlledici rol oynayır⁴.

P450 sitoxrom ailəsi genlərinin ən çox rast gəlinən CYP3A5*3, CYP3A4*18 və CYP2B6*6 polimorfizmləri ilə XML-ə qarşı həssaslıq arasında assosiasiyaları müəyyənləşdirmək üçün 153 XML xəstəsi və 100 nəfər sağlam insan tədqiqatına cəlb edilmişdir. Cədvəl 3.1-də xəstələrin kliniki xüsusiyyətləri təqdim edilmişdir. Digər yaş qrupları ilə müqayisədə, xəstələrin əksəriyyəti 40 yaşdan yuxarı olmuşdur (60%). Tədqiqatın klinik parametrlərinə gəldikdə, xəstələrin əksəriyyəti, XML-in akselerasiya (16%) və blast krizi (3%) fazalarına nisbətən, xroniki

³ Керимова, Н.И. Семейство цитохромов P450: структура, функция и роль в метаболизме лекарственных препаратов // Труды Института Генетических Ресурсов Национальной Академии Наук Азербайджана, – 2022. № 2 (11), – с. 159-170.

⁴ Manikandan, P. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review / P.Manikandan, S.Nagini // Current Drug Targets, – 2018. № 1 (19), – p. 38-54

fazada müşahidə edilmişdir (81%). Demoqrafik göstəricilərlə (yaş, cins) XML-in inkişafı arasında statistik əhəmiyyətli assosiasiya aşkarlanmamışdır ($p>0,05$). Həmçinin TNP-lər ilə xəstəlik fazası arasında da statistik əlaqə müşahidə olunmamışdır ($p>0,05$). Bundan əlavə, qeyd etmək lazımdır ki, TNP-lə demoqrafik göstəricilər (yaş, cins) arasında da statistik əlaqə aşkarlanmamışdır ($p>0,05$) (Cədvəl 1).

Qeyd edək ki, bu dissertasiya Azərbaycanda P450 sitoxrom ailəsi genlərinin geniş yayılmış polimorfizmləri ilə XML-in inkişaf riski arasındakı assosiasiyaların tədqiqinə həsr olunmuş tətqiqat işidir⁵.

Cədvəl 1
Xəstələrin demoqrafik və klinik xüsusiyyətləri

Parametrlər	Xəstələr (n=153), (%)	Nəzarət qrupu (n=100), (%)	P vahidi (χ^2)
Cins			
Kişi	79 (51.6)	46 (46)	$p=0.712$ $\chi^2=0.135$
Qadın	74 (48.4)	54 (54)	
Yaş			
<20	7 (4.7)	3 (3)	$p=0.807$
20-40	54 (35.2)	37 (37)	
>40	92 (60.1)	60 (60)	
XML mərhələləri			
Xroniki	125 (81)		
Akselerasiya	24 (16)		
Blast krizi	4 (3)		

3.1. TNP CYP3A5*3 ilə XML-həssaslığı arasındakı əlaqənin tədqiqi

Müasir elmi ədəbiyyatlarda CYP3A4 və CYP3A5 genlərinin çoxsaylı funksional polimorfizmləri barəsində məlumatlar öz əksini tapmışdır. Lakin məlumdur ki, ən çox rast gəlinən variasiyalar arasında 6986-cı mövqedə (A>G, rs776746), 3-cü intronda yerləşən CYP3A5*3

⁵ **Karimova, N.** CYP3A5*3, CYP3A4*18 and CYP2B6*6 genotypes and chronic myeloid leukemia development in Azerbaijan / N.Karimova, A.Asadov, A.Hasanova [et al.] // Advances in Biology & Earth Sciences, – 2023. 8 (2), – p. 204-215

variantı *CYP3A5*-in ən geniş yayılmış polimorfizmlərindən hesab edilir. Bu TNP *CYP3A5* zülalının ekspressiyasına və fermentin aktivliyinə təsir edərək, splayinq prosesi zamanı funskiyasını itirmiş bölgənin yaranmasına səbəb olur.

Azərbaycan populyasiyasında *CYP3A5**3 tezliklərinin təhlili göstərmişdir ki, nəzarət qrupunda normal homoziqot AA genotipin malik olan fərdlər aşkarlanmamış, yalnız bir xəstədə AA genotipinə rast gəlinmişdir (0,07%). Nəzarət qrupunda heteroziqot AG genotipinin rastgəlmə tezliyi 5% olduğu halda, xəstə qrupunda AG genotipi müəyyən olunmamışdır. Homoziqot mutant GG genotipi və homoziqot mutant G (*3) allelinin tezlikləri, nəzarət qrupuna (müvafiq olaraq, 95% və 97,5%) nisbətən, xəstələrdə (müvafiq olaraq, 99,3% və 99,3%) daha yüksək olmuşdur. Bu fərqlər statistik əhəmiyyətli olmuşdur ($p < 0,05$). *3 mutant allelin daşıyıcılarında XML riskinin dördqat yüksək olduğu aşkarlanmışdır (95% Dİ: 0,7683- 20,8246), lakin fərqlər statistik əhəmiyyətli olmamışdır ($p = 0,0996$) (Cədvəl 2).

Beləliklə, bu tədqiqat nəticəsində *CYP3A5**3 polimorfizmi ilə XML-in inkişaf riski arasında statistik əhəmiyyətli əlaqə müəyyən olunmuşdur.

*CYP3A5**3 allel tezliyinin yüksəlməsi, *CYP*-in ekspressiyasına təsir etməklə, ksenobiotiklərin detoksikasiya mexanizminin pozulmasına və bununla da xəstəliyin inkişafına səbəb ola bilər. Bu, müalicə rezistentliyinə, dərman toksikliyinə və XML xəstələri arasında aşağı səviyyəli sağqalma göstəricisinə təsir göstərə bilər.

Bu tədqiqatın nəticələrinə əsasən müəyyən edilmişdir ki, Azərbaycan populyasiyasında geniş yayılmış *CYP3A5**3 polimorfizmi XML-in inkişafına əhəmiyyətli dərəcədə təsir göstərir. Bu da onun XML-in inkişaf riskinin təyində genetik marker qismində rolu olduğunu ehtimal etməyə imkan verir.

3.2. *CYP3A418 polimorfizmi ilə XML-a meyillik arasındakı əlaqənin təyini**

Məlum olduğu kimi, *CYP3A4* çoxlu sayda ksenobiotiklərin metabolizminə cavabdehdir. Bu mexanizm iki əsas ferment qrupunu özündə cəmləşdirir: *CYP* 450 I faza və fermentləri birləşdirən II faza. Sitoxrom genlərinin əksəriyyəti polimorf olduğuna görə, bu genlər

ksenobiotiklərin detoksikasiyasında nəzərəçarpan fərqlər nümayiş etdirir və xərçəngə fərdi meylliliyin yaranmasında iştirak edirlər. *CYP3A4* geninin ən geniş yayılmış variyasiyası *CYP3A4*18* hesab olunur. Bu TNP fermentlərin ikiistiqamətli aktivliyinə təsir edir. Məlumdur ki, bu polimorfizm testosteron və xlorpirfosun yüksək, lakin midazolam və nifedipinin aşağı səviyyələri ilə əlaqəlidir⁶.

*CYP3A4*18* polimorfizminin tədqiqinin nəticələrinə əsasən, nəzarət qrupunda bütün insanlar normal *TT* genotipinə malikdir. Xəstə qrupunda normal homoziqot və heteroziqot genotiplər, müvafiq olaraq, 98% və 2% təşkil etmişdir.

Xəstə qrupunda *T* və *C* allellərinin paylanması, müvafiq olaraq, 99% və 1% təşkil edir. Tədqiqat işində *CYP3A4*18* ilə XML-in inkişaf riski arasında statistik əhəmiyyətli əlaqə müəyyən edilməmişdir ($p=0,159$).

3.3. *CYP2B6*6* polimorfizminin XML-həssaslığına təsirinin tədqiqi

CYP2B6 geninin polimorfizmləri arasında *CYP2B6*6* polimorfizmi ən geniş yayılmış genetik dəyişikliklərdən biridir ki, məhz bu TNP qaraciyər *CYP2B6*-nın mRNT-sinin ekspressiyasını və nəticədə, *CYP2B6* geninin ümumi ferment aktivliyini zəiflədə bilər. Son illərin ədəbiyyat mənbələrinə əsasən, bu genetik dəyişiklik müxtəlif nəhiyələrdəki bədxassəli şişlərlə, məsələn süd vəzi xərçəngi və ya kəskin leykozla əlaqəlidir⁷.

Azərbaycan populyasiyasında XML-ə qarşı həssaslıqla bağlı aparılan tədqiqatların nəticələrinə görə, *CYP2B6*6*-nın normal homoziqot *GG* genotipinin tezliyi həm xəstə, həm də nəzarət qrupunda, müvafiq olaraq, 48,4% və 55% təşkil etmişdir. Nəticələrə əsasən, heteroziqot *GT* genotipi XML xəstələri arasında 35,3%, nəzarət

⁶ Asadov, C. Association of *CYP3A5*3*, *CYP3A4*18* & *CYP2B6*6* polymorphisms with imatinib treatment outcome in Azerbaijani chronic myeloid leukaemia patients / C.Asadov, N.Karimova, A.Hasanova [et al.] // Indian Journal of Medical Research, – 2023. 158(2), – p. 151-160.

⁷ Berköz, M. Association of *CYP2B6* G15631T polymorphism with acute leukemia susceptibility / M,Berköz, S.Yalin // Leukemia Research, 2009. № 7 (33). C. 919–923.

Cədvəl 2
Xəstə və nəzarət qruplarında CYP TNP allel və genotip tezliklərinin paylanması

TNP, rs nömrəsi	Genotip	Tezlik <i>Xəstələr</i>	Nəzarət qrupu	Risiklər <i>ŞN (95% Eİ)</i>	P	Allel <i>Xəstələr</i>	Allelin tezliyi <i>Nəzarət qrupu</i>	Risiklər <i>ŞN (95% Eİ)</i>	P
CYP3A5*3 rs776746	AA	0,007	0			A	0,07		
	AG	0	0,5	-		G	0,993	4 (0,7683– 20,8246)	0,0996
	GG	0,993	0,95	-					
CYP3A4*18 rs28371759	TT	0,98	1			T	0,99	1	
	TC	0,2	0	-		C	0,01	0	
	CC	0	0	-				--	
CYP2B6*6 rs3745274	GG	48,4	0,55			G	0,65	0,725	
	GT	35,3	0,35	1,2019, (0,6921– 2,0873)	0,5137	T	0,35	0,275	1,3573 (0,9188 – 2,005)
	TT	16,3	0,1	1,8919 (0,8405– 4,2587)	0,1235				0,1249

qrupunda isə 35% olmaqla, oxşar nəticələr göstərmişdir. Bundan əlavə, *CYP2B6**6 geninin homoziqot *TT* mutant genotipinə, eləcə də *T* mutant allelinə, nəzarət qrupu ilə müqayisədə (müvafiq olaraq, 10% və 27,5%), XML xəstələrində (müvafiq olaraq, 16,3% və 34%) daha yüksək tezlikdə rast gəlinmişdir. Ancaq buna baxmayaraq, fərqlər statistik əhəmiyyətli olmamışdır ($p=0,2910$).

Eyni zamanda, kliniki göstəricilərlə genotiplər arasında da statistik əhəmiyyətli əlaqə müşahidə olunmamışdır.

Heteroziqot *GT* ($\$N: 1,2019$; 95% Eİ: 0,6921–2,0873) və homoziqot mutant *TT* ($\$N: 1,8919$, 95% Eİ: 0,8405–4,2587) genotipləri və *T* ($\$N: 1,3573$; 95% Eİ: 0,9188–2,0053) alleli ilə XML-in inkişafı riski arasında müəyyən əlaqənin müşahidə edilməsinə rəğmən, bu əlaqə statistik əhəmiyyətli olmamışdır (Cədvəl 2).

Xəstələrdə *CYP2B6**6-nın mutant *TT* genotipinin tezliyi nəzarət qrupuna nisbətən çox olsa da, fərqlər yenə də statistik olaraq əhəmiyyətli olmamışdır.

IV FƏSİL. P450 SİTOXROM AİLƏSİ GENLƏRİNİN POLİMORFİZMLƏRİNİN İMATİNİBLƏ MÜALİCƏYƏ TƏSİRİNİN ÖYRƏNİLMƏSİ

Müasir dövrümüzdə imatinib preparatının XML xəstələrinə tətbiqi XML müalicəsinin gedişatını tamamilə dəyişmişdir. Bu preparat *BCR-ABL* ximer geni hüceyrələrinin böyüməsini blokirə etmək məqsədilə işlənilib hazırlanmışdır. Bununla belə, onun təsirindən tirozinkinaz kök hüceyrə faktoru reseptoru c-kitinin və hətta, trombositlərin böyümə faktoru hüceyrələrinin susdurulmasında istifadə olunur.

Xəstəliyin müalicəsində imatinibin qızıl standart hesab olunmasına baxmayaraq, bəzi xəstələrdə ciddi klinik problem yaradan rezistentlik müşahidə olunur. Müasir tədqiqatlara əsasən, XML xəstələrinin 25%-i həyatı boyu, ən azı bir dəfə imatinib rezistentliyi göstərə bilər. Rezistentliyin səbəbləri arasında *BCR-ABL* kinaz domeninin mutasiya və ya amplifikasiyası, *MDR-1* geninin aktivasiyası və fermentlərin genetik dəyişkənliyi əsas yer tutur. Lakin son zamanlar, bu mexanizmlərlə yanaşı, P450 sitoxrom ailəsinin imatinib metabolizmində iştirakının rezistentliyə səbəb olduğunu göstərən müasir tədqiqatlara tez-

tez rast gəlmək olur.

CYP kompleksi dərman metabolizminin, xolesterin, steroid və digər yağların sintezinin əksər reaksiyalarına katalizatorluq edir. CYP3A fermenti yüksək induksiya dərəcəsinə malik olub, qaraciyər və mədə-bağırsaq traktında dərman vasitələrinin metabolizmində vacib rol oynayır. Qeyd etmək lazımdır ki, İmatinib, əsasən, CYP3A5, CYP3A4, CYP2C9, CYP2B6 və CYP1A2 fermentləri ilə birgə metabolizmə uğrayır. Beləliklə, hüceyrədaxili və plazma səviyyələrində baş verən genetik dəyişkənliklər terapevtik nəticəyə təsir göstərən imatinibin xəstələr arasında bioloji yararlılıq fərqlərini izah edə bilər⁸.

Tədqiqat işində cins və yaş kimi demoqrafik göstəricilərlə İmatinib müalicəsinə cavab arasında statistik əlaqə aşkar olunmamışdır. Lakin, XML-ın fazaları klinik parametri İmatinib terapiyası ilə statistik əhəmiyyətli dərəcədə əlaqələndirilmişdir.

Tədqiqat nəticəsində, Azərbaycanda sitoxrom ailəsi genlərinin TNP-ləri CYP3A5*3 (G6986A), CYP3A4*18 (C878T) və CYP2B6*6 (G15631T) və İmatinib terapiyasına qarşı rezistentlik arasında assosiasiyalar tədqiq olunmuşdur (Cədvəl 3)⁹.

4.1. İmatiniblə müalicəyə rezistentliklə CYP3A5*3 və CYP3A4*18-in tək nukleotidli poliforfizmləri arasındakı əlaqə

CYP3A5 izoformlarının ən geniş yayılmış variantlarından olan CYP3A5*3 (A6986G, rs776746) splayinq qüsurlarında əhəmiyyətli rol oynayır. Digər vacib variasiya 10-cu ekzonda yerləşən və 878-ci mövqeyində sitozinin (S) timinlə (T) əvəzlənməsinə səbəb olan CYP3A4*18 (rs28371759) polimorfizmidir. Bu polimorfizm CYP3A4-ün fermentativ aktivliyinə təsir göstərə bilər.

Qeyd etmək lazımdır ki, bu tədqiqatın nəticələrinə əsasən,

⁸ Pena, M. Effect of Cytochrome P450 and ABCB1 Polymorphisms on Imatinib Pharmacokinetics After Single-Dose Administration to Healthy Subjects / M.Pena, J. Muriel, M.Saiz-Rodriguez [et al.] // Clinical Drug Investigation, – 2020. № 7 (40), – p. 617-628.

⁹ Asadov, A. Association of CYP3A5*3, CYP3A4*18, and CYP2B6*6 Polymorphisms with Imatinib Treatment Outcome in Azerbaijani Chronic Myeloid Leukemia Patients / C.Asadov, N.Karimova, A.Hasanova [et al.] // Indian Journal of Medical Research, – 2023. 158 (2), – p. 151-160.

*CYP3A4*18* polimorfizmi imatiniblə müalicəyə əhəmiyyətli dərəcədə təsir edir ($p=0,013$). (Cədvəl 3).

Bu tədqiqatda *CYP3A5*3*, *CYP3A4*18* allellərinin tezliyi müvafiq olaraq 99,3% və 1% təşkil etmişdir. *CYP3A5*3* allelinin rastgəlmə tezliyini rezistent (100%) və qeyri-rezistent xəstələrdə (99,02%) müqayisə etdikdə, statistik əhəmiyyətli fərqlər müşahidə olunmamışdır. Lakin *CYP3A4*18* allelinin tezliyi rezistent xəstələrdə (100%), qeyri-rezistent (97,01%) xəstələrə nisbətən, daha yüksək olmuşdur ($p=0,036$).

Cədvəl 3

Xəstə və nəzarət qruplarında CYP TNP-in genotip və allel tezlikləri

TNP		Tezlik (%)		P vahidi, (χ^2)
		İM rezistent n= 51 (%)	İM qeyri- rezistent n= 102 (%)	
<i>CYP3A5*3</i> (rs776746)	Genotip			
	AA	0 (0)	1 (0,98)	p=0,478
	AG	0 (0)	0 (0)	
	GG	51 (100)	101 (99,02)	
	Allel			
	A	0 (0)	2 (0,98)	p=0,316
	G	102 (100)	202 (99,02)	
<i>CYP3A4*18</i> (rs28371759)	Genotip			
	TT	48 (94.12)	102 (100)	p=0,013
	TC	3 (5.88)	0 (0)	
	CC	0 (0)	0 (0)	
	Allel			
	T	99 (97.1)	204 (100)	p=0,036
	C	3 (2.9)	0 (0)	
<i>CYP2B6*6</i> (rs3745274)	Genotip			
	GG	24 (47.06)	50 (49.02)	p=0,737
	GT	17 (33.33)	37 (36.27)	
	TT	10 (19.61)	15 (14.71)	
	Allel			
	G	65 (63.7)	137 (67.1)	p=0,609
	T	37 (36.3)	67 (32.9)	

Xüsusilə qeyd etmək lazımdır ki, *CYP3A5**3 polimorfizmi hər iki qrup xəstələrin əksəriyyətində (99,93%) homoziqot mutant *GG* və yalnız bir xəstədə normal homoziqot *AA* genotipi ilə təmsil olunmuşdur. *GG* genotipinin tezliyinə görə qeyri-rezistent xəstələrlə (100%) müalicəyə rezistentlik göstərən xəstələr (99,02%) arasında önəmli fərq nəzərə çarpmamışdır. Bu tədqiqatda *CYP3A4**18 üzrə homoziqot mutant genotip *CC* aşkar edilməmişdir. Rezistent xəstələrlə (100%) müqayisədə, qeyri-rezistent xəstələrdə (94,12%) homoziqot normal genotipi *TT* rastgəlmə tezliyi əhəmiyyətli dərəcədə aşağı olmuşdur ($p=0,013$). Buna baxmayaraq, heteroziqot genotipin *TC* tezliyi imatiniblə müalicəyə cavab verən xəstələrdə nəzərəçarpacaq dərəcədə yüksək olmuşdur (0% ilə müqayisədə, 5,88%).

Həmçinin, tədqiqat işində, XML xəstələrinin epidemioloji və klinik göstəriciləri ilə polimorfizmlərin qarşılıqlı əlaqəsi qiymətləndirilmişdir. Təhlilin nəticələrinə əsasən, *CYP3A5**3 və *CYP3A4**18 polimorfizmləri ilə yaş, cins və XML-in fazaları arasında əhəmiyyətli fərq müşahidə olunmamışdır.

Cari tədqiqat nəticəsində XML xəstələrində *CYP3A5**3 və imatinibə cavab arasında əhəmiyyətli statistik fərq aşkar olunmamışdır. Lakin alınan nəticələr *CYP3A4**18 polimorfizminin imatiniblə müalicəsiyə əhəmiyyətli dərəcədə təsir etdiyini göstərmişdir ($p=0,013$).

4.2. *CYP2B66 tək nukleotid polimorfizminin imatiniblə müalicənin nəticələrinə təsirinin tədqiqi**

İnsanda ən polimorf *CYP* genləri ailəsinə daxil olan və 19q13.2 xromosomunda yerləşən *CYP2B6* geni – transkripsiya, splicing, mRNT və zülal ekspressiyası, eləcə də ümumi katalitik aktivliyin tənzimlənməsinə təsir göstərir. Bu genin yüksək tezliklə rast gəlinən *CYP2B6**6 (Q172H, G15631T) variantı substratdan asılı və asılı olmayan mexanizmlər arasında mürəkkəb qarşılıqlı təsirlərlərə malikdir. G15631T (rs3745274) tezliyi müxtəlif populyasiyalarda 15-60% arasında dəyişir.

Tədqiqatın nəticələri göstərmişdir ki, Azərbaycanda XML xəstələri arasında *CYP2B6**6 allelinin tezliyi 34% təşkil edir. *CYP2B6**6 polimorfizminin allel tezliyi qeyri-rezistent xəstə qrupunda (36,3%) rezistent qrupdakından (32,9%) daha yüksək olsa da, bu fərq statistik

əhəmiyyət daşımamışdır.

CYP2B6-nın genotipik tezlikləri (*GG*, *GT*, *TT*) rezistent xəstələrlə müqayisədə, qeyri-rezistent xəstələrdə daha yüksək olmuş, amma buna baxmayaraq, fərqlər statistik əhəmiyyətli olmamışdır (Cədvəl 3).

İkili logistik regressiyanın nəticələrinə əsasən *CYP2B6**6-nın heteroziqot daşıyıcıları rezistentliyin əldə olunması baxımından daha yüksək ($\$N$ 1,04; 95% Eİ: 0,492–2,218), homoziqot mutant genotiplər isə daha aşağı ($\$N$ 0,72; 95. % Eİ: 0,283-1,836) risk nümayiş etdirmişlər. Lakin bu fərqlər statistik əhəmiyyətli olmamışdır (müvafiq olaraq, $p=0,909$ və $p=0,491$).

*CYP2B6**6 ilə XML xəstələrinin demoqrafik və klinik göstəriciləri arasında əhəmiyyətli fərq aşkar olunmamışdır.

V FƏSİL. P450 SİTOXROM GEN AİLƏSİ POLİMORFİZMLƏRİNİN ALLEL VƏ GENOTİP TEZLİKLƏRİNİN NƏZARƏT QRUPUNDA PAYLANMASI

CYP3A və *CYP2B* fermentlərinin aktivliyi fərdi xarakterə malik olmaqla, əhəmiyyətli dərəcədə dəyişikliklərə məruz qala bilər və bu dəyişkənlik, substratı *CYP3A* və *CYP2B* olan bütün dərman vasitələrinin təhlükəsizliyinə və effektivliyinə təsir göstərə bilər. Beləliklə, P450 sitoxrom genlərinin tezliklərinin müəyyənləşdirilməsi gələcəkdə farmakogenetik tədqiqatlarda və fərdi terapiyanın yeni metdolarının işlənilib hazırlanmasında önəmli parametrlər oynaya bilər.

5.1. *CYP3A53 polimorfizminin allel və genotip tezliyinin nəzarət qrupunda paylanması**

PZR-RFLP metodu ilə 100 DNT nümunəsində *CYP3A5**3 allel və genotiplərinin tezlikləri hesablanmışdır. *3 allelinin tezliyi 0,975 (100-dən 95 nəfər), *1 allelinin tezliyi isə 0,025 (100-dən 5 nəfər) təşkil etmişdir. Heteroziqot (*CYP3A5**1/*3) və mutant homoziqot (*CYP3A5**3/*3) genotiplərin tezlikləri, müvafiq olaraq, 0,05 (5/100) və 0,95 (95/100) təşkil etmişdir. Tədqiqatda iştirak edən heç bir azərbaycanlıda *CYP3A5**1/*1 genotipi aşkar olunmamışdır. Bu dəyərlər

Hardi-Vaynberq tarazlığının proqnozları ilə uyğunluq təşkil edir¹⁰.

5.2. Sağlam insanlarda *CYP3A4*18* polimorfizminin allel və genotip tezliyinin tədqiqi

Azərbaycan populyasiyasında bu gen polimorfizmi tədqiqat işimiz çərçivəsində, ilk dəfə olaraq, tədqiq olunmuşdur. Sağlam insanlar arasında *CYP3A4*18* polimorfizminin genotip və allel tezliklərinin öyrənilməsi nəticəsində bütün şəxslərin (100/100) *CYP3A4*18* allelinin normal genotipinin daşıyıcıları olduqları müəyyən edilmişdir.

5.3. Nəzarət qrupunda *CYP2B6*6* polimorfizminin allel və genotip tezliyinin tədqiqi

Tədqiqatda yüz sağlam insanın DNT nümunələrindən istifadə olunmuşdur. *6 allelinin tezliyi 0,275, *1 allelinin tezliyi isə 0,725 təşkil etmişdir. Homoziqot (*CYP2B6*1/*1*), heteroziqot (*CYP2B6*1/*6*) və mutant homoziqot (*CYP2B6*6/*6*) genotiplərin tezliyi, müvafiq olaraq, 0,55, 0,35 və 0,1 təşkil etmişdir.

Bu tədqiqatın nəticələri Azərbaycanda fərdi terapiyanın idarə olunmasının təkmilləşməsinə təkan verəcəkdir¹¹.

VI FƏSİL. ÜMUMİ *BCR-ABL* KİNAZ DOMEN MUTASIYALARININ YENİ NƏSİL SEKVENSLƏMƏ ÜSULU İLƏ TƏDQIQI

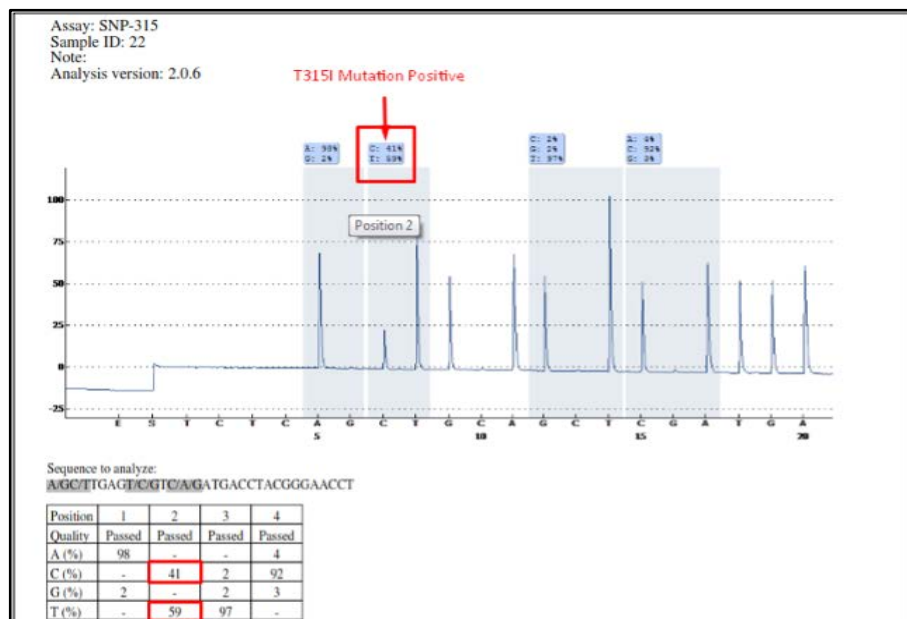
ABL1 kinaz domeninin aktivliyini ingibitorlaşdırən TKİ-lər arasında imatinib xüsusi yer tutur. imatinib leykemik klonların böyük əksəriyyətini hüceyrəvi toksiklik nümayiş etdirmədən ingibisiya edir. Məhz bu səbəbdən, imatinib onkohematologiyada XML-in birinci xətt müalicəsi kimi qəbul olunmuşdur. Lakin mükəmməl nəticələrə baxmayaraq, bir qrup xəstələrdə imatinibə qarşı ikincili (qazanılmış) rezistentlik formalaşır. Bu da onlarda sitogenetik cavabını itirilməsi ilə

¹⁰ **Karimova, N.** Preliminary study of *CYP3A4*18* and *CYP3A5*3* single nucleotide polymorphisms in an Azerbaijani population / N.Karimova, A.Hasanova, B.Bayramov // Polymorphism, – 2022. № 8, – p. 1-10.

¹¹ **Karimova, N.** *CYP2B6* single nucleotide polymorphisms in an Azerbaijani population // Georgian Medical News, – 2022. 330, – p. 90-93.

müşayiət olunur. İmatinib terapiyasına qarşı ikincili rezistentlik göstərən xəstələrin yarısında *BCR-ABL1* kinaz domenində imatinibin hədəfi ilə əlaqəsini pozan qazanılmış mutasiyalar müşahidə olunur. Hal-hazırda, *BCR-ABL1* tirozinkinaz domenində 100-dən çox mutasiya identifikasiya olunmuşdur¹².

Dissertasiya işində İmatinib Mezilat terapiyasına rezistentlik göstərən 48 XML xəstəsində 14 ən geniş yayılmış kinaz domeni variasiyaları tədqiq edilmişdir. Analizin həssaslığı isə 5% təşkil etmişdir¹³ (Şəkil 2).



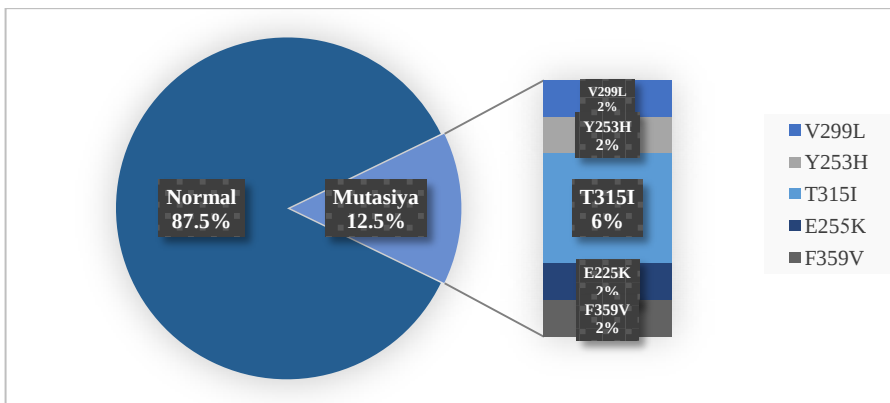
Şəkil 2. 22 nömrəli xəstədə T315I mutasiyasını nümayiş etdirən payroqram

¹² Loscocco, F. BCR-ABL Independent Mechanisms of Resistance in Chronic Myeloid Leukemia / F.Loscocco, G.Visani, S.Galimberti [et al.] // Frontiers in Oncology, – 2019. (9), – p. 939.

¹³ Schumacher, J. A pyrosequencing-based test for detection and relative quantification of the BCR-ABL1 T315I point mutation / J.Schumacher, P.Szankasi, D.Bahler [et al.] // Journal of Clinical Pathology, – 2011. № 7 (64), p. 618-625.

6.1. Mutasiyalarının təhlili

Ümumilikdə, 48 xəstədə *BCR-ABL1* genindəki mutasiyaların analizi həyata keçirilmişdir. Analiz nəticəsində 6 xəstədə (12,5%) *BCR-ABL* kinaz domenində beş müxtəlif mutasiya aşkar olunmuşdur (Şəkil 3).



Şəkil 3. *BCR-ABL* mutasiyalarının təhlili

Tədqiqat nəticəsində aşkarlanan E255K və Y253H mutasiyaları P-halqası nahiyyəsində baş verən variasiyalara aid olmuşlar. Bu isə cari tədqiqatda identifikasiya olunan mutasiyaların 33,32%-ini təşkil edir (Cədvəl 4). Kontakt bağlanma bölgəsində və SH2 domenində, müvafiq olaraq, T315I və F359V mutasiyaları aşkar olunmuşdur. Mutasiyaların nisbəti, müvafiq olaraq, 33,32% və 16,67% təşkil etmişdir. Analiz nəticəsində bir xəstədə iki müxtəlif mutasiya (T315I və E255K) aşkar edilmişdir. Lakin tədqiqat işində sözügedən mutasiyaların mürəkkəb və ya poliklon olduğunu təsdiqləmək mümkün olmamışdır. Həmçinin, bir xəstədə V299L (16,67%) variasiyası aşkar edilmişdir.

Xəstələrdə *BCR-ABL* mutasiyalarının təhlili

Bölgə	Mutasiya	Nisbət (%)	Xəstələrin sayı
P-halqası	Y253H	16,67	1
	E255K	16,67	1
Bağlanma saytı	T315I	33,32	3
SH2-domeni	F359V	16,67	1
Başqaları	V299L	16,67	1

Müəyyən olunmuşdur ki, T315I variasiyası mutasiya daşıyıcılarının əksəriyyətini (50%) əhatə etmişdir. Bu tədqiqat zamanı T315I mutasiyası aşkar olunan 3 xəstədən 2-si XML-in blast krizi, bir xəstə isə akselerasiya mərhələsində olmuşlar.

Qeyd etmək lazımdır ki, iki mutasiyaya (T315I və E255K) sahib olan xəstə tədqiqat bitməmiş dünyasını dəyişmişdir. Beləliklə, bu tədqiqatın nəticələri göstərmişdir ki, çoxsaylı *BCR-ABL1* mutasiyaları daşıyan xəstələrin proqnozu heç də ürəkaçan deyil. Lakin onu qeyd etmək lazımdır ki, xəstələrin sağqalma dərəcəsi (Kaplan-Meyer düsturu) ölüm hallarının məhdud sayına görə təhlil edilə bilməmişdir.

P-halqası nəhiyəsi, digər bölgələrlə müqayisədə, daha çox mutasiyanı əhatə edir. P-halqası mutasiyalarının tezliyi akselerasiya və blast krizi fazalarında artaraq xəstəliyin gedişatına və müalicəsinə təsir göstərir. Ona görə də, məhz, bu mərhələlərdə XML xəstələrində imatinibə qarşı rezistenlik tendesiya izlənilir. Həqiqətən də, P-halqası mutasiyalarının müşahidə olduğu hər iki xəstə XML-in akselerasiya mərhələsində olmuşlar.

Cari tədqiqatda xəstələrdən birində SH2 domenində F359V mutasiyası müşahidə olunmuşdur. Həmçinin, blast kirizi mərhələsində olan bir xəstədə V299L mutasiyası aşkar edilmişdir.

6.2. *BCR-ABL* kinaz domeni mutasiyasının aşkarlamasında payrosekanslamanın üstünlükləri

Cari təcrübələrin nəticələri payrosekanslamanın *BCR-ABL1* transkriptində kinaz domeni mutasiyalarının identifikasiyasında sürətli və etibarlı metod olduğunu nümayiş etdirmişdir. Onu da

vurğulamaq lazımdır ki, bu metod TKİ ilə müalicə dəyişdirildikdən sonra tirozinkinaz inhibitorlarına cavabın izlənməsində də aktiv şəkildə tətbiq oluna bilər.

Üsulun, 5% həssaslığından əlavə, multiallel mutasiyaların təyininə, leykoz hüceyrələrinin heterogen populyasiyasında yaranan kinaz domen mutasiyalarının sayının müəyyən olunmasında da unikal rolu vardır¹⁴.

6.3. BCR-ABL kinaz domenində mutasiyalarla əlaqəsi olmayan rezistentlik mexanizmləri

Tədqiqatın nəticələri nümayiş etdirmişdir ki, bu tətqiq olunan xəstələrin əksəriyyəti İmatinib Mezilat terapiyasına qarşı rezistentliyə cavabdeh olan ən geniş yayılmış *BCR-ABL1* mutasiyasının daşıyıcısı deyillər. Buradan belə nəticə çıxarmaq olar ki, BCR-ABL geninin mutasiyalarının tirozinkinaza ingibirləşdirilməsi yeganə rezistentlik mexanizmi deyil. Məsələn, farmakokinetik faktorlar eləcə də şiş hüceyrələrinin mikromühiti rezistentliyin ya inkişafına, ya da yaranmasına şərait yarada bilər. Bundan əlavə, TKİ-nin yan təsirləri də vacib rol oynayır. Təəssüf ki, bu tədqiqatda imatinib terapiyasına rezistentliyin səbəbi ola biləcək əlavə xromosom modifikasiyaları tədqiq olunmamışdır. Hal-hazırda məlumdur ki, sümük iliyyində yerləşən leykoz kök hüceyrələrinin əksər hissəsi dinclik halında ənənəvi kimyaterapiyaya dayanıqlıdır. Ərafdakı stromal hüceyrələr spesifik siqnalların köməyi ilə hüceyrə tsiklini durudurmağa təşviq edərək, leykoz kök hüceyrələrinə təsir göstərə bilər. Bu da, həmin patoloji kök hüceyrələrin TKİ terapiyasında sonra da sağ qalmasına imkan yaradır. Kök hüceyrə və nəsillərinin sabitləşməsi və tənzimlənməsi uzunmüddətli hematopoezə birlikdə, sümük iliyyinin mikromühitində parakrin və avtokrin böyümə faktorları və sitokinlərlə dəstəklənir.

Son illər immun sisteminin XML-in təkcə irəliləməsində deyil, həmçinin proqnoz və müalicəyə cavabında da vacib rol oynadığı haqda məlumatlar meydana çıxmışdır. Bu yaxınlarda müəyyən olunmuşdur

¹⁴ Alikian, M. BCR-ABL1 kinase domain mutations: Methodology and clinical evaluation / M.Alikian, G.Gerrard, P.G.Subramanian [et al.] // American Journal of Hematology, – 2012. № 3 (87), – p. 298-304.

ki, TKİ müalicəsinə tam molekulyar cavab verən pasiyentlərdə müalicəsiz remissiya (xəstəliyin tapılmadığı pasiyentlərdə toksiklik dərəcəsinin azaldılması) əsas hədəflərdən birinə çevrilmişdir.

Yaxşı məlumdur ki, epigenetik distənziqləmə xərcəngin yaranması və inkişafında üçün digər anomaliyalar qədər əhəmiyyətli rola malikdir. Son illərin tədqiqatları həm də onu göstərir ki, epigenetik disregulyasiya TKİ rezistentliyində də vacib rol oynaya bilər. Məsələn, leykemiya klonunun immun sistemindən yayınması xəstəliyin yayılmasına səbəb ola bilər. Epigenetik dəyişikliklər ən azı üç fərqli sistem – histon və onların modifikasiyası, DNT metilləşməsi və kodlaşdırmayan RNT tərəfindən başlanılır. Histonasetil və ya metiltransferaza, histondeasetilaza və ya demetilaza, müvafiq olaraq müəyyən amin turşusu qalıqlarında və ya DNT-də CpG adacıqlarındakı variasiyaları əlavə və ya məhv etməyə qadir fermentlərdir. Missens transkriptlər və mikroRNT mRNT səviyyəsini və zülalın translyasiyasını tənzimləyə bilər. Onlar birlikdə DNT-nin zədələnməsinə və ya bərpa və replikasiyasına təsir edərək transkripsiyayı birbaşa tənzimləyə, transkripsiyadan sonra RNT sabitliyini və səviyyələrini modullaşdırır, zülalların translyasiyasına və yaxud translyasiyadan sonrakı modifikasiyasına təsir edə bilərlər. Bu isə artıq XML-in inkişafı ilə TKİ müalicəsinə rezistentlik və CpG adacıqları arasındakı əlaqəni nümayiş etdirir. Lakin TKİ XML-in idarə olunmasını mühüm şəkildə dəyişsə də, hal-hazırda, leykoz kök hüceyrələrinə geniş təsir gücünə malik və bununla da XML pasiyentlərinin əksəriyyətini sağaldabilən müalicə metodu olmaqdən çox uzadır¹⁵.

NƏTİCƏLƏR

1. P450 sitoxrom ailəsinin ən çox rast gəlinən *CYP3A5**3 gen polimorfizmi ilə XML-in inkişaf riski arasında statistik əhəmiyyətli assosiasiya müşahidə edilmişdir ($p < 0,05$). Riskin dördqat artdığı məlum olsa da (Eİ 95%: 0,7683 - 20,8246), lakin bu fərqli statistik cəhətdən əhəmiyyətli olmamışdır ($p = 0,0996$).

¹⁵ Poudel, G. Mechanisms of Resistance and Implications for Treatment Strategies in Chronic Myeloid Leukemia / G.Poudel, M.Tolland, T.Hughes [et al.] // Cancers, – 2022. № 14 (14), – p. 3300.

2. XML xəstələri arasında *CYP3A4*18* polimorfizminin imatinib terapiyasına qarşı rezistentliyə əhəmiyyətli dərəcədə təsir göstərdiyi aşkar edilmişdir ($p < 0,05$).

3. İmatiniblə müalicəyə rezistentlik və XML qarşı həssaslıq proseslərində *CYP2B6*6* homoziqot mutant *TT* genotipinin, eləcə də *T* allelinin tezlikləri nəzarət qrupuna (müvafiq olaraq, 10% və 27,5%) nəzərən XML xəstələrində (müvafiq, olaraq 16,3% və 34%) nəzərəcarpacaq dərəcədə yüksək olmasına baxmayaraq, bu fərqlər statistik əhəmiyyətli olmamışdır ($p = 0,291$). Həmçinin, ikili logistik regressiya nəticələrinə əsasən, heteroziqot (GT) genotip rezistentlik baxımından daha yüksək risk daşımışdır ($\$N$ 1.04; 95% Eİ: 0,492–2,218). Homoziqot mutant genotipin daşıyıcılarının isə preparata qarşı rezistentlikdə daha aşağı risk nümayiş etdirdikləri aşkar olunmuşdur ($\$N$ 0,72; 95% Eİ: 0,283–1,836). Lakin aşkar olunan nəticələr statistik əhəmiyyət kəsb etməmişdir (müvafiq olaraq, $p = 0,909$ və $p = 0,491$).

4. XML diaqnozu qoyulan 48 xəstədə *BCR-ABL* kinaz domeninin payrosekvensləməsi nəticəsində 6 xəstədə (12,5%) *BCR-ABL* mutasiyaları müəyyən edilmişdir. Genetik dəyişikliklər genin əsasən P-halqası bölgəsi (E255K (16,67%) və Y253H (16,67%) mutasiyaları), bağlanma bölgəsi (T315I (33,32%) variasiyası) və SH2 domenini (F359V (16,67%) və V299L (16,67%) variasiyaları) əhatə etmiş, ümumilikdə 5 fərqli mutasiya növü müəyyən edilmişdir.

TÖVSIYƏLƏR

1. Müqayisəli təhlil nəticəsində əldə olunmuş korrelyasiyaya əsasən, XML-in inkişaf tendensiyasının müəyyənləşdirilməsi və xəstəliyin proqnozlaşdırılması, eləcə də onun gedişatının monitorinqi zamanı *CYP3A5*3* polimorfizminin nəzərə alınması tövsiyə olunur.

2. *CYP3A4*18* polimorfizminin genotiplənməsi XML xəstələrində TKİ İmatinib preparatına qarşı rezistentliyin terapevtik proqnozlaşdırıcısı kimi istifadə oluna bilər.

3. *BCR-ABL* onkogenində mutasiyaların təyini tirozinkinaz inhibitorları ilə müalicə zamanı dərmana davamlılığın molekulyar mexanizmlərinin aydınlaşdırılmasında istifadə edilə bilər.

4. *BCR-ABL* kinaz domen mutasiyalarının payrosekvensləmə yolu ilə skriningi imatinibə həm ilk, həm də ikincili rezistentliyi olan XML xəstələrinin fərdi müalicəsinin təyini və diaqnostikası məqsədilə həyata keçirilə bilər.

DİSSERTASIYA MÖVZUSUNA DAİR DƏRC OLUNMUŞ ELMİ ƏSƏRLƏRİN SİYAHISI

1. **Karimova, N.** Impact of P450 (CYP) Gene Families Polymorphisms on Specific Drug Response Among Chronic Myeloid Leukemia Patients in Azerbaijan // Conference of Young Scientists and Students "Innovations and Global Problems in Modern Biology and Agrarian Sciences" dedicated to the 90th anniversary of Academician Jalal Aliyev, – Baku, – 2018, – p. 136.
2. Asadov, C., **Karimova, N.**, Hasanova, A., Shirinova, A., Alimirzoyeva, Z. CYP3A5*3, CYP3A4*18 and CYP2B6 gene polymorphisms in chronic myeloid leukemia patients in Azerbaijan // Leukemia Research, Abstracts of the Xth Eurasian Hematology Oncology Congress, – Istanbul, – 2019, – p. S30.
3. Asadov, C., Hasanova, A., Shirinova, A., **Karimova, N.**, Alimirzoyeva, Z. BCR-ABL gene ABL kinase domain mutations in imatinib resistant chronic myeloid leukemia patients in Azerbaijan // HemaSphere, 24th European Hematology Oncology Association Congress, – Amsterdam, – 2019, – p. 3010.
4. **Karimova, N.** Preliminary study of CYP3A4*18 and CYP3A5*3 single nucleotide polymorphisms in an Azerbaijani population / N.Karimova, A.Hasanova, B.Bayramov // Polymorphism, – 2022. № 8, – p. 1-10.
5. **Karimova, N.** CYP2B6 single nucleotide polymorphisms in an Azerbaijani population // Georgian Medical News, – 2022. 330, – p. 90-93.
6. **Керимова, Н.И.** Семейство цитохромов P450: структура, функция и роль в метаболизме лекарственных препаратов // Труды Института Генетических Ресурсов Национальной Академии Наук Азербайджана, – 2022. № 2 (11), – с. 159-170.

7. **Karimova, N.** CYP2B6*6 SNP in an Azerbaijani population // Second Azerbaijan International Hematology Specialists Congress, – Baku, – 2022, – p. 224
8. **Karimova, N.** CYP3A5*3, CYP3A4*18 and CYP2B6*6 genotypes and chronic myeloid leukemia development in Azerbaijan / N.Karimova, A.Asadov, A.Hasanova [et al.] // Advances in Biology & Earth Sciences, – 2023. 8 (2), – p. 204-215
9. Asadov, A. Association of CYP3A5*3, CYP3A4*18, and CYP2B6*6 Polymorphisms with Imatinib Treatment Outcome in Azerbaijani Chronic Myeloid Leukemia Patients / C.Asadov, **N.Karimova**, A.Hasanova [et al.] // Indian Journal of Medical Research, – 2023. 158 (2), – p. 151-160.
10. **Karimova, N.** BCR-ABL Dependent and Independent Mechanisms in Tyrosine Kinase Inhibitors Treatment Outcome / N.Karimova, R.Khalilov, A.Eftekhari [et al.] // Baku State University Journal of Life Sciences and Biology, – 2023. (*in print*)

Dissertasiyanın müdafiəsi "OS" "Sevər" 2023-cü il tarixində saat 14:00-də AR ETN Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun nəzdində fəaliyyət göstərən FD 1.37 Dissertasiya şurasının iclasında keçiriləcək.

Ünvan: Bakı ş., AZ1106, Azadlıq prospekti, 155.

Dissertasiya ilə AR ETN Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun kitabxanasında tanış olmaq mümkündür.

Avtoreferatın elektron versiyası AR ETN Genetik Ehtiyatlar İnstitutunun rəsmi internet saytında yerləşdirilmişdir (<https://www.genres.az/>).

Avtoreferat "OL" "Nəyər" 2023-cü il tarixində zəruri ünvanlara göndərilmişdir.

Çapa imzalanıb: 01.11.2023

Kağızın formatı: A5

Həcm: 37458

Tiraj: 30