



AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASININ PREZİDENTİ YANINDA
ELMİN İNKİŞAFI FONDU

MÜQAVİLƏYƏ ƏLAVƏ

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun
Gənc Alim və Tədqiqatçıların 5-ci qrant müsabiqəsinin
(EIF-GAT-5-2020-3(37)) qalibi olmuş
layihənin yerinə yetirilməsi üzrə

ALINMIŞ NƏTİCƏLƏRİN ƏMƏLİ (TƏCRÜBİ) HƏYATA KEÇİRİLMƏSİ
VƏ LAYİHƏNİN NƏTİCƏLƏRİNDƏN GƏLƏCƏK TƏDQIQATLARDAN
İSTİFADƏ PERSPEKTİVLƏRİ HAQQINDA
MƏLUMAT VƏRƏQİ

(Qaydalar üzrə Əlavə 16)

Layihənin adı: **Xərçəng kök hüceyrələrinin mədəaltı vəzi xərçəngində rolunun araşdırılması və yeni müalicə üsulunun işlənməsi**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **İsayev Orxan Rasim oğlu**

Qrantın məbləği: **35 000 manat**

Layihənin nömrəsi: **EIF-GAT-5-2020-3(37)-12/07/3-M-07**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **20 may 2021-ci il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **12 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 iyun 2021-ci il – 01 iyun 2022-ci il**

Diqqət! Bütün məlumatlar 12 ölçülü Arial şrifti ilə, 1 intervalla doldurulmalıdır

Layihənin nəticələrinin əməli (təcrübi) həyata keçirilməsi

1 Layihənin əsas əməli (təcrübi) nəticələri, bu nəticələrin məlum analoqlar ilə müqayisəli xarakteristikası

(burada doldurmalı)
Əsas elmi nəticələr:

- Xərçəng əleyhinə tətbiq olunan standart müalicənin XKH hədəf seçən müalicə ilə kombine olunması ən effektiv üsul sayıla bilər.
- İn vivo olaraq B7-H1-in qismən və ya tam inhibisyonu şiş həcmi azaltmağa və mədəalati vəzi xərçəngi daşıyan siçanların sağ qalmasını yaxşılaşdırdı. Bu onkoloji fayda, MDS hüceyrələr, makrofaglar, dendril hüceyrələr və Treg tərəfindən təmin edilən immunosupressiyanın ləğv edilməsindən qaynaqlanır və nəticədə antiiltihab

immun reaksiyasının bərpası, yəni effekt yaddaşlı CD4 və CD8 T hüceyrələrinin yığılması və funksionallığının yaxşılaşması ilə nəticələnir.

- B7-H1-in olmaması şiş həcmi və peritoneal karsinoma görünüşünü azaldır və PDAC daşıyan siçanların sağ qalmasını yaxşılaşdırır.
- B7-H1-in inhibəsi immunosupressiyanın qismən ləğvinə gətirib çıxarır.
- PDAC immunosupressiyası Treg və MDSC-nin modulyasiyasında özünü göstərən B7-H1 ifadəsinin vəziyyətindən, eləcə də onların immunosupressiv funksiyasından asılıdır.
- B7-H1-in inhibisiyonu PDAC daşıyan siçanlarda şiş əleyhinə immun reaksiyanın bərpasına gətirib çıxarır.
- B7-H1-in inhibəsi DC-nin funksionallığını yaxşılaşdırır.
- B7-H1-in inhibəsi şiş daşıyan siçanlarda dalaq və şiş M2 makrofaqlarının miqdarını azaldır və makrofaqların faqositar fəaliyyətini induksiya edir.
- INF gem müalicəsi zamanı PDAC hüceyrələrinin metabolik fəaliyyətinin inhibəsini gücləndirir.
- Gem ilə monoterapiya, eləcə də tək IFN ilə hər iki hüceyrə xəttindən xərçəng hüceyrələrinin apoptozuna səbəb olur.
- Gem və INF hüceyrə dövrünün S fazasında xərçəng hüceyrələrinin miqdarını azaldır.
- INF-nin gem ilə birləşməsi PDAC müalicəsi üçün terapevtik imkan ola bilər. INF xərçəng hüceyrələrinə qarşı müəyyən immunoloji təsirlər yarada bildiyi üçün bəzi in vivo məlumatlar siçanlarda istehsal edilmişdir ki, bu da immun sisteminin komponentləri olmadıqda belə birləşmiş müalicənin PDAC hüceyrələrinin sitotoksikliyinə səbəb olduğunu göstərir.

Layihənin elmi ideyası şiş hüceyrələrinin kiçik bir faizini təşkil edən xərçəng kök hüceyrələrinin İNF- α vasitəsilə aktivləşdirilməsi və bununlada tətbiq olunan kimyəvi terapiyanın effektivliyinin artırılması olmuşdur. Dünyada hal-hazırda mədəaltı vəzi xərçənginin müalicəsində görünən effektivsizliyin və bilavasitə dərman rezistentliyinin əsasında xərçəng kök hüceyrələrinin (XKH) olduğuna inanılır. XKH-nin mövcudluğu hələ bir neçə onilliklər əvvəldən bilindi ki, halda bu hüceyrələrin identifikasiyası ilk dəfə yalnız 1997-ci ildə Bonnet və Dick tərəfindən leykemiya xəstələrinin sümük iliyyində təsvir edilmişdir. Müəyyən edilmişdir ki, insanda leykemiya zamanı alınmış müəyyən şiş hüceyrələri immunodefisit siçanlarda şiş əmələ gətirmək qabiliyyətinə malikdir. 2007-ci ildə mədəaltı vəzi xərçəngində ilk dəfə xərçəng kök hüceyrələri bütöv şiş kütləsindən isolasiya və identifikasiya olunmuşdur. XKH özlüyündə normal kök hüceyrələrinə xarakterik olan xüsusiyyətləri, yəni kök hüceyrə markerlərinin ekspressiyası, özünü törətmə qabiliyyəti (simmetrik və asimmetrik bölünmə vasitəsilə), yüksək differensasiya qabiliyyəti, klonogenik böyümə və apoptoza qarşı rezistentlikə xarakterizə olunur. Bundan başqa yüksək DNT bərpaetmə və kimyəvi, eləcə də radioterapiyaya qarşı rezistentlik ilə də xarakterizə olunurlar, baxmayaraq ki, mədəaltı vəzi xərçəngində XKH bütövlükdə şiş hüceyrələrinin yalnız 0,2-0,8 %-ni təşkil edir. XKH-nin mənşəyi hələ də müzakirə mövzudur. Belə güman olunur ki, XKH öz başlanğıcını orqanizmdə sağlam kök və ya progenitor hüceyrələrdən götürür. Genetik mutasiyalar nəticəsində normal kök hüceyrələrin xərçəng kök hüceyrələrinə modifikasiyası baş verir. İlk dəfə XKH leykemiya xəstəsində tapılmasına baxmayaraq, daha sonralar süd vəzi, beyin, baş və boyun, bağırsağ, ağciyər, qaraciyər, uşaqlıq, prostat və mədəaltı vəzi kimi xərçəng növlərində XKH-nin mövcudluğu sübut edilmişdir. Layihədə təklif olunan elmi nəzəriyyə ondan ibarətdir ki, xərçəng kök hüceyrələri orqanizmin normal kök hüceyrələrinin xüsusiyyətlərinin təkrarlayaraq qeyri-aktiv vəziyyətdə olurlar. Bu xüsusiyyət onlara tətbiq olunan kimyəvi terapiya zamanı "görünməzlik" imkanı yaradır. Layihədə əsas məqsəd xərçəng kök hüceyrələrini İnterferon preparatı vasitəsilə aktivləşdirməklə, onları kimyəvi terapiya (gemsitabin) üçün "görünən" vəziyyətə gətirib çıxarmaqdır.

Layihənin bundan öncə aparılan analoji tədqiqatlardan fərqi və yeniliyi aşağıdakılardır:

- CapRI tədqiqatlarından fərqli olaraq 5-FU əvəzinə Gemsitabin preparatı istifadə olunub
- Analoji tədqiqatlardan fərqli olaraq məsələyə XKH aspektindən yanaşılıb. XKH-nin bu

prosesdə rolunun bioloji mexanizmləri analiz olunub;

- XKH markerləri geniş tərkibdə tədqiq olunacaq və diaqnostik əhəmiyyəti müəyyən edilib;
- Digər analoji işlərdən fərqli olaraq 5 nəzarət qrupu olub.

2

Layihənin nəticələrinin əməli (təcrübi) həyata keçirilməsi haqqında məlumat (istehsalatda tətbiq (tətbiqin aktını əlavə etməli); tədris və təhsildə (nəşr olunmuş elmi əsərlər və s. – təhsil sisteminə tətbiqin aktını əlavə etməli); bağlanmış xarici müqavilələr və ya beynəlxalq layihələr (kimlə bağlanıb, müqavilənin və ya layihənin nömrəsi, adı, tarixi və dəyəri); dövlət proqramlarında (dövlət orqanının adı, qərarın nömrəsi və tarixi); ixtira üçün alınmış patentlərdə (patentin nömrəsi, verilmə tarixi, ixtiranın adı); və digərlərində)

(burada doldurulmalı)

Dərc olunmuş:

- **O.İsayev. “Xərçəng kök hüceyrələri. Müalicədə yeni hədəf?”// Sağlamlıq. № 1, s.15-22, 2021.**

Çapa göndərilmiş:

- **O. Isayev, D.V. Sokolova, N.Yu. Anisimova, T.S. Spirina, E. Gasimov. “Investigation of an anticancer activity of combination of interferon-alpha and gemcitabine on pancreatic cancer cells.” Biochemistry (Moscow). (İF=2,487)**

1. Layihənin nəticələrindən gələcək tədqiqatlarda istifadə perspektivləri

1

Nəticələrin istifadəsi perspektivləri (fundamental, tətbiqi və axtarış-innovasiya yönlü elmi-tədqiqat layihə və proqramlarında; dövlət proqramlarında; dövlət qurumlarının sahə tədqiqat proqramlarında; ixtira və patent üçün verilmiş ərizələrdə; beynəlxalq layihələrdə; və digərlərində)

(burada doldurulmalı)

Dünyada hər il mədəaltı vəzi xərçəngindən (MVX) təxminən 227 000 insan dünyasını dəyişir. Statistika nəzərə yetirsək, MVX Amerika Birləşmiş Ştatları kimi dünyanın inkişaf etmiş ölkəsində xərçəng səbəbindən ölümlər arasında 4-cü yeri tutur və ehtimal olunur ki, 2030-cu ildə xərçəng səbəbindən ölüm halları arasında 2-ci yeri tutacaqdır. Son 5 ildə MVX-də tətbiq olunan müalicə metodlarının, xüsusilə də, radioterapiya, kimyəvi dərman terapiyası və immunoterapiya sahəsində əldə olunan nailiyyətlərə baxmayaraq, diaqnoz qoyulduqdan sonra xəstələrin 1 illik sağqalma göstəricisi yalnız 24 faizdir. Ümumi xəstələrin isə 5 illik sağqalma göstəricisi 5 faizdir. Azərbaycan Respublikasında da MVX sahəsində vəziyyət analojidir. MVX-də diaqnostikanın və müalicənin istənilən səviyyədə olmamasını nəzərə alıb, xərçəng kök hüceyrələrinin (XKH) bu sahədə yeni hədəf nöqtəsi ola biləcəyini iddia etmək olar.

Hazırda kök hüceyrə texnologiyaları dünyanın bir sıra ölkələrində geniş yayılmışdır ki, bunlara misal olaraq, ABŞ, Almaniya, Böyük Britaniya, İspaniya, Çin, Cənubi Koreya, Rusiya, Türkiyə, Ukrayna və başqa ölkələri göstərmək olar. Ümumdünya Səhiyyə Təşkilatının məlumatına əsasən 2005-ci ildə kök hüceyrələr sahəsinə qoyulan vəsait 26,6 milyard dollar olmuşdusa, 2015-ci ildə bu rəqəm 96,3 milyard olmuşdur. 2020-ci ildə kök hüceyrə bazarının dövriyyəsi 12 milyarda dollara yaxın olmuşdur. ABŞ da daxil olmaqla, 2008-2012-ci illərdə kök hüceyrələr

sahəsində çap olunmuş məqalələrin sayı digər sahələrdə çap olunmuş məqalələrin sayından 2 dəfə çox olmuşdur. Kök hüceyrələr sahəsində çap olunmuş məqalələrə istinadların sayı ümumi məqalələrə olan istinadların sayında 50 faiz çoxdur. Təhlillər göstərir ki, Azərbaycanda kök hüceyrələr sahəsində araşdırmalar və kök hüceyrələrin tətbiqi istənilən səviyyədə deyildir. Kadr potensialının artırılmasına və bu sahədə elmi tədqiqatların təşviq olunmasına ehtiyac vardır. Azərbaycan layihə çərçivəsində bəhs edilən problem üzrə elmi tədqiqatların aparılmadığını nəzərə alaraq, ölkəmiz üçün çox aktual olmasını əminliklə söyləmək olar.

Müasir dövrdə elm və texnologiyanın inkişafına baxmayaraq, mədəaltı vəzi xərçənginin (MVX) müalicəsi istiqamətində ciddi irəliləyiş əldə olunmamış və bu xəstəliyin müalicəsi hazırda tibb elminin qarşısında duran ən böyük problemlərdən biri sayılır. Simptomların gec üzə çıxması, spesifik markerlərin olmaması xəstəliyi ancaq son mərhələlərdə aşkar etməyə imkan verir. MVX-nin kimyəvi terapiyaya qarşı yüksək davamlılıq göstərməsi xəstənin sağalma şanslarını minimuma endirir. Dünyada hazırda MVX-nin kimyəvi terapiyaya qarşı yüksək rezistentliyin əsasında xərçəng kök hüceyrələri (XKH) nəzəriyyəsinin olduğu ehtimal olunur. XKH-nin mövcudluğu süd vəzi, beyin, bağırsağ, ağciyər, qaraciyər, uşaqlıq, prostat, mədəaltı vəzi və s. kimi xərçəng növlərində eksperimental yolla sübut edilmişdir. MVX-də diaqnostikanın və müalicənin istənilən səviyyədə olmamasını nəzərə alaraq, XKH-nin bu sahədə yeni hədəf nöqtəsi ola biləcəyini iddia etmək olar. XKH-nin xəstəliyin diaqnostikası, identifikasiyası, xəstəliyin gedişi, fenotipi, proqnozunun müəyyən edilməsi, eləcə də, düzgün müalicə strategiyasının seçilməsi və tətbiqində yeni imkanlar açdığını qeyd etmək olar.

Layihə çərçivəsində əldə edilən nəticələr MVX ilə yanaşı, həmçinin digər xərçəng növləri üçün də aktual ola bilər. Son illər xərçəng xəstəliyinin müalicəsində XKH-in əhəmiyyətini nəzərə alıb, pre-kliniki və kliniki tədqiqatlar üçün əhəmiyyətli elmi və praktiki nəticələrin əldə olunması planlaşdırılır. Əldə olunacaq nəticələr Azərbaycanda onkologiya və molekulyar biologiya sahəsində aparılan elmi araşdırmalarda yeni tədqiqat istiqamətlərinin yaranmasına təkan verəcəkdir. Xərçəng kök hüceyrələri sahəsindəki tədqiqatlar eyni zamanda dünyanın müvafiq elmi mərkəzləri ilə elmi-praktiki əməkdaşlıqlar qurulması üçün imkan və perspektivlər yaradacaqdır. Layihə üçün əldə ediləcək xərçəng kök hüceyrə xətləri standartlara müvafiq olaraq, lazımi şəraitdə saxlanılaraq, gələcəkdə bu sahədə aparılacaq elmi tədqiqatlar üçün bank funksiyası daşıyacaqdır.

SİFARIŞÇI:

Elmin İnkişafı Fondu

Baş məsləhətçi

Quliyeva Mülayim Sahib qızı

(imza)

“ _ ” _____ 20_ -ci il

İCRAÇI:

Layihə rəhbəri

İsayev Orxan Rasim oğlu

(imza)

“ _ ” _____ 20_ -ci il



**AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASININ PREZİDENTİ YANINDA
ELMİN İNKİŞAFI FONDU**

MÜQAVİLƏYƏ ƏLAVƏ

**Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun
Gənc Alim və Tədqiqatçıların 5-ci qrant müsabiqəsinin
(EIF-GAT-5-2020-3(37)) qalibi olmuş
layihənin yerinə yetirilməsi üzrə**

**ALINMIŞ ELMİ MƏHSUL HAQQINDA MƏLUMAT
(Qaydalar üzrə Əlavə 17)**

Layihənin adı: **Xərçəng kök hüceyrələrinin mədəaltı vəzi xərçəngində rolunun araşdırılması və yeni müalicə üsulunun işlənməsi**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **İsayev Orxan Rasim oğlu**

Qrantın məbləği: **35 000 manat**

Layihənin nömrəsi: **EIF-GAT-5-2020-3(37)-12/07/3-M-07**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **20 may 2021-ci il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **12 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 iyun 2021-ci il – 01 iyun 2022-ci il**

Diqqət! Bütün məlumatlar 12 ölçülü Arial şrifti ilə, 1 intervalla doldurulmalıdır

1. Elmi əsərlər (sayı)

No	Tamliq dərəcəsi	Dərc olunmuş	Çapa qəbul olunmuş və ya çapda olan	Çapa göndərilmiş
1.	Monoqrafiyalar			
	həmçinin, xaricdə çap olunmuş			
2.	Məqalələr	1		1

	həmçinin xarici nəşrlərdə			1
3.	Konfrans materiallarında məqalələr	5		
	O cümlədən, beynəlxalq konfrans materiallarında	5		
4.	Məruzələrin tezisləri			
	həmçinin, beynəlxalq tədbirlərin toplusunda			
5.	Digər (icmal, atlas, kataloq və s.)			

2. İxtira və patentlər (sayı)

No	Elmi məhsulun növü	Alınmış	Verilmiş	Ərizəsi verilmiş
1.	Patent, patent almaq üçün ərizə			
2.	İxtira			
3.	Səmərələşdirici təklif			

3. Elmi tədbirlərdə məruzələr (sayı)

No	Tədbirin adı (seminar, dəyirmi masa, konfrans, qurultay, simpozium və s.)	Tədbirin kateqoriyası (ölkədaxili, regional, beynəlxalq)	Məruzənin növü (plenary, dəvətli, şifahi, divar)	Sayı
1.	Professor TAMERLAN ƏLİYEVİN anadan olunmasının 100 illiyinə həsr olunmuş "Təbabətin aktual problemləri" beynəlxalq konqres (06-08 oktyabr 2021)	Beynəlxalq	Şifahi	1
2.				
3.				

SİFARIŞÇI:

Elmin İnkişafı Fondu

Baş məsləhətçi

Quliyeva Mülayim Sahib qızı

(imza)

"__" _____ 20__-ci il

İCRAÇI:

Layihə rəhbəri

İsayev Orxan Rasim oğlu

(imza)

"__" _____ 20__-ci il



AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASININ PREZİDENTİ YANINDA ELMİN İNKİŞAFI FONDU

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun
Gənc Alim və Tədqiqatçıların 5-ci qrant müsabiqəsinin
(EİF-GAT-5-2020-3(37)) qalibi olmuş
layihənin yerinə yetirilməsi üzrə

YEKUN ELMİ-TEKNİKİ HESABAT

Layihənin adı: **Xərçəng kök hüceyrələrinin mədəaltı vəzi xərçəngində rolunun araşdırılması və yeni müalicə üsulunun işlənməsi**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **İsayev Orxan Rasim oğlu**

Qrantın məbləği: **35 000 manat**

Layihənin nömrəsi: **EİF-GAT-5-2020-3(37)-12/07/3-M-07**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **20 may 2021-ci il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **12 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 iyun 2021-ci il – 01 iyun 2022-ci il**

Diqqət! Bütün məlumatlar 12 ölçülü Arial şrifti ilə, 1 intervalla doldurulmalıdır

Diqqət! Uyğun məlumat olmadığı təqdirdə müvafiq bölmə boş buraxılır

Hesabatda aşağıdakı məsələlər işıqlandırılmalıdır:

1 Layihənin həyata keçirilməsi üzrə yerinə yetirilmiş işlər, istifadə olunmuş üsul və yanaşmalar

- **FACS (Fluorescence-activated Cell Sorting)**
- **MACS (Magnetic-activated cell sorting)**
- **LUMINEX (Bioplex) assay**
- **Muse Hüceyrə Analizatoru və Muse Ki67 Proliferasiya Kitindən (Muse®, EMD Millipore Corporation, ABŞ) istifadə edərək Ki-67 hüceyrə proliferasiyasının xüsusi markerinin ekspressiya səviyyəsini qiymətləndirmək üçün aparılmışdır.**
- **MTT assay**

MTT analizi hüceyrənin metabolik fəaliyyətini qiymətləndirmək üçün kolorimetrik analizdir. NAD(P)H-dan asılı hüceyrə oksidoreduktaza fermentləri müəyyən şərtlərdə mövcud canlı hüceyrələrin sayını əks etdirə bilər. Bu fermentlər tetrazolium boyası MTT 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromidini bənövşəyi rəngə malik olan həll olunmayan formazana qədər reduksiya etməyə qadirdir. MTT, sarı bir tetrazol canlı hüceyrələrdə bənövşəyi formazana çevrilir. Həll olunmayan bənövşəyi formazan

məhsulunu rəngli məhlulda həll etmək üçün həlledici məhlul (adətən ya dimetil sulfoksid, turşulaşdırılmış etanol məhlulu və ya yuyucu natrium dodesil sulfatın seyreltilmiş hidroklor turşusunda məhlulu) əlavə edilir. Bu rəngli məhlulun udulması müəyyən bir dalğa uzunluğunda (adətən 500 ilə 600 nm arasında) spektrofotometrle ölçülməklə ölçülə bilər. Işığın udulma dərəcəsi hüceyrə daxilində və hüceyrə səthində yığılan formazan konsentrasiyasının dərəcəsiindən asılıdır.

• Mədəaltı vəzi xərcəngi hüceyrə xətlərində MiaPaCa-2 və PANC-1-də interferon alfa2b və gemitabinin birlikdə antitumor fəaliyyətini öyrənmək.

İstifadə olunan preparatlara dair:

• Gemitabin (Gemsartm, Eli Lilly Vostok S.A., İsveçrə). Dərman 5 ml 0,9% salin NaCl məhlulunda həll edildi. Hazır məhlulun saxlanma şəraiti: 150C-dən aşağı olmayan temperaturda bir gündən çox olmamalıdır.

• INFα2b 3.000.000 IU (Altevirtm, Pharmapark). Seriya nömrəsi: Saxlama şəraiti: 40C temperaturda.

• Həlledici: 0,9% NaCl fizioloji məhlulu (PanEko, Rusiya).

Eksperimental qruplar

• Qrup 1. Nəzarət: həlledici (salin NaCl 0,9%);

• Qrup 2. INFα2b 5000ME;

• Qrup 3. Gemitabin (tədqiq edilmiş konsentrasiya diapazonu: 1,56-200 μM)

• Qrup 4. INFα2b 5000ME + Gemitabin (C = 1.56-200μM)

Dərmanların hüceyrə proliferativ fəaliyyətinə təsirinin qiymətləndirilməsi (MTT testi)

MTT testini yerinə yetirmək üçün 180 μl tam 10%-li RPMI-1640 mədəni mühitində hər quyuda 6 × 10³ (MiaPaCa-2) və 7 × 10³ (Panc-1) miqdarında hüceyrələr 96 hücrələrə bərabər bölündü və 5% CO₂ atmosferində 37 °C temperaturda 24 saat inkubasiya edilmişdir. 2 və 4-cü qruplar üçün INFα2b 5000 IU yekun konsentrasiyaya qədər əlavə edildi. 24 saatdan sonra 20 μl Gemitabin məhlulu 3 və 4-cü qrupların hücrələrinə yekun konsentrasiyaya qədər əlavə edildi: 1,56-200 μM. Nəzarət Qrupunun və 2-ci Qrupun quyularına həlledici kimi istifadə edilən 20 μl 0,9% salin NaCl məhlulu ekvivalent olaraq əlavə edilmişdir. Hüceyrələrin preparatlarla inkubasiyasının ümumi müddəti 72 saat idi. İnkubasiyanın bitməsinə 3 saat qalmış hər hücrəyə 0,5 mq/ml (PanEko, Rusiya) yekun konsentrasiyada 20 μl MTT məhlulu əlavə edildi. İnkubasiyanın sonunda hüceyrələr 10 dəqiqə ərzində 1500 rpm-də mikroplitələrin sentrifüqalanması ilə çökdürüldü. Supernatant diqqətlə çıxarıldı, hər hücrəyə 200 μL DMSO əlavə edildi, hüceyrələr yenidən dayandırıldı və 37 ° C-də 10 dəqiqə inkubasiya edildi. Sonra lövhələr avtomatik çalkalayıcıda silkələnmiş və formazan məhlulunun optik sıxlığı dərhal Tirerteck Multiscan MCC / 340 spektrofotometrində (Flow Lab., ABŞ) 530 nm dalğa uzunluğunda müəyyən edilmişdir. Absorbsiya miqdarı canlı hüceyrələrin sayı ilə düz mütənasibdir. Canlı hüceyrələrin faizi düsturla hesablanır:

$$N_0 = \frac{[N_1 - n_1] \times 100\%}{N_2 - n_2}$$

	N0 - canlı hüceyrələrin faizi; N1 sınaq hücrələrində orta optik sıxlığıdır.
2	Layihənin həyata keçirilməsi üzrə planda nəzərdə tutulmuş işlərin yerinə yetirilmə dərəcəsi (faizlə qiymətləndirməli) 100 faiz
3	Hesabat dövründə alınmış elmi nəticələr (onların yenilik dərəcəsi, elmi və təcrübi əhəmiyyəti, nəticələrin istifadəsi və tətbiqi mümkün olan sahələr aydın şəkildə göstərilməlidir) <ul style="list-style-type: none"> • Xərçəng xəstəliyinin müalicəsi istiqamətində son illər aparılan elmi tədqiqat işlərinin sayının çox olmasına və yeni müalicə metodlarının kəşfinə baxmayaraq, bu xəstəlik dünya səhiyyəsi qarşısında duran ən mühüm problemlərdən biri sayılır. Son illərin statistikasına nəzər salsaq, görə bilərik ki, hər il dünyada 20 milyona yaxın yeni hal aşkarlanır, 10 milyona yaxın insan hər il dünyada bu xəstəlik səbəbindən vəfat edir və beləliklə, xərçəng xəstəliyi ikinci ən çox yayılmış ölüm səbəbi kimi qeyd olunur. Xərçəng xəstəliyini zamanı tətbiq olunan müalicənin istənilən səviyyədə olmamağı, müalicənin bəzi şiş hüceyrələrini məhv etməsi, bəzi şiş hüceyrələrinin isə sağ qalması və residiv ehtimalının yüksək olması şişin hüceyrə heterogenliyi ilə izah olunur. Bədxassəli şişlər daxildə xərçəng hüceyrələrinin və normal hüceyrələrin olduğu mürəkkəb bir kompleksdir. Hüceyrə heterogenliyi müxtəlif şişlərin bir-birindən fərqli inkişaf tempi, müalicəyə davamlılıq və residiv kimi xüsusiyyətlərdə özünü büruzə verir. Son illər dünyada qəbul edilən nəzəriyyəsinə əsasən, hüceyrə heterogenliyinin əsasında xərçəng kök hüceyrələri (XKH) durur. Xərçəng xəstəliyinin müalicəsində istifadə olunan dərman maddələri heçdə bütün şiş hüceyrələrini məhv etmək qabiliyyətinə malik deyildir. 21-ci əsrin əvvəllərində başlayaraq bir sıra xərçəng növlərində XKH-n mövcudluğunun eksperimental yolla təsdiq edilməsi və bu hüceyrələrin əldə edilməsi bədxassəli şişlərin müalicəsində yeni bir istiqamət açmışdır. Müasir araşdırmaları nəzərə alaraq, əminliklə qeyd etmək lazımdır ki, bədxassəli şişlərin müalicəsində XKH-n hədəf seçilməsi artıq məcburi xarakter almışdır. Nəticədə, residiv vermə və metastazların azalması, kimyəvi-radio müalicəyə qarşı davamlılığın zəifləməsi və xəstələrin sağ qalma müddətinin, habelə diaqnostikada XKH markerlərinin daha geniş istifadəsi xəstəliyin erkən mərhələlərdə aşkar olunmasına gətirib çıxaracaqdır. Qeyd olunanları nəzərə alaraq, hazırda xərçəng əleyhinə tətbiq olunan standart müalicənin XKH hədəf seçən müalicə ilə kombinə olunması ən effektiv üsul sayıla bilər. • İmmun yoxlama nöqtəsi molekulu B7-H1 xərçəng də daxil olmaqla müxtəlif patologiyalarda həlledici immün tənzimləyici rol oynayır və B7-H1 ekspressiyası manipulyasiyası xərçəng immunoterapiyasında cəlbedici bir yanaşma halına gəldi. Mədəalatı vəzi xərçəngi, açıq immunosupressiv mühit ilə xarakterizə olunur və B7-H1 ekspressiyası mədəalatı vəzi xərçənginin proqnozu ilə əlaqədardır. Ancaq xəstələrdə B7-H1 ekspressiyasını azaltmaq üçün ilk cəhdlər o qədər də uğurlu olmadı. Bu, mədəalatı vəzi xərçənginin immunosupressiv şəbəkəsinin çətinliyini göstərir və əlavə müayinələr tələb edir. Mədəalatı vəzi xərçəngində B7-H1 çatışmazlığının təsirini araşdırdıq. Nəticələrimiz açıq şəkildə göstərir ki, in vivo olaraq B7-H1-in qismən və ya tam inhibisyonu şiş həcmi azaltmağa və mədəalatı vəzi xərçəngi daşıyan siçanların sağ qalmasını yaxşılaşdırdı. Bu onkoloji fayda, MDS hüceyrələr, makrofaglar, dendril hüceyrələr və Treg tərəfindən təmin edilən immunosupressiyanın ləğv edilməsindən qaynaqlanır və nəticədə antiiltihab immün reaksiyasının bərpası, yəni effekt yaddaşı CD4 və CD8 T hüceyrələrinin yığılması və funksionallığının yaxşılaşması ilə nəticələnir. Nəticələrimiz, B7-H1 molekulunun

PDAC-da immunosupressiv şəbəkəni idarə etmək potensialını vurğulayır və sonrakı klinik araşdırmalar üçün yeni məsələlər təqdim edir.

B7-H1-in olmaması şiş həcmi və peritoneal karsinoma görünüşünü azaldır və PDAC daşıyan siçanların sağ qalmasını yaxşılaşdırır.

Əvvəlcə B7-H1KO və vəhşi tipli BL6 heyvanları (co) Panc02 hüceyrələri ilə ortotopik olaraq köçürüldü və şişin həcmi, metastazları və şiş daşıyan siçanların sağ qalması təhlil edildi. B7-H1KO siçanları PDAC şiş həcmində azalma və peritoneal karsinoma azalması göstərdi. Qaraciyər və kolon metastazlarında heç bir fərq müşahidə edilməmişdir. Əhəmiyyətli olan, B7-H1KO şiş daşıyan siçanlar WT heyvanları ilə müqayisədə aydın sağ qalma faydası nümayiş etdirdi. İkinci yanaşma üçün biz WT siçanlarını işlətdik və onları B7-H1 (abB7-H1)-ə qarşı monoklonal antikor və ya izotip nəzarət IgG (co) ilə müalicə etdik. abB7-H1 müalicəsi şiş həcmi azaldı və PDAC daşıyan siçanların sağ qalmasını yaxşılaşdırıb. Biz qaraciyər metastaz bir sıra azalma da aşkar lakin fərq əhəmiyyətli deyil. Beləliklə, B7-H1-in inhibisyonu PDAC daşıyan hostların onkoloji parametrlərinin yaxşılaşmasına səbəb olur.

Güman etdik ki, PDAC daşıyan siçanlarda müşahidə edilən onkoloji yaxşılaşma şiş əleyhinə immun reaksiyanın bərpası ilə bağlıdır. Bu fərziyyəni sübut etmək və ya təkzib etmək üçün PDAC daşıyan siçanlarda şiş əleyhinə toxunulmazlığın dərin tədqiqi aparılmışdır.

B7-H1-in inhibəsi immunosupressiyanın qismən ləğvinə gətirib çıxarır

Daha əvvəl göstərdiyimiz kimi, Panc02 PDAC modelinin şişləri yüksək miqdarda Treg və MDSC şiş yığılması, həmçinin immunosupressiv sitokin mühitinin qurulması səbəbindən güclü immunosupressivdir. Beləliklə, əvvəlki bölmədə tədqiq edilən şiş daşıyan siçanların serumunda pro- və antiinflamatuar sitokinləri araşdırdıq. B7-H1KO PDAC daşıyan siçanların serasında biz daha az VEGF, eləcə də KC (CXCL1) və IL10 istehsalının azalması tendensiyası aşkar etdik. IL1b, TGFβ, IL4, IL6 və IL13-ün miqdarı əhəmiyyətli dərəcədə dəyişməyib. Maraqlıdır ki, B7-H1 antikorunu ilə müalicə olunan PDAC daşıyan siçanların serumunda biz əlavə olaraq TGFβ konsentrasiyasında əhəmiyyətli azalma aşkar edə bildik. Bu nəticələr B7-H1 olmayan şiş daşıyan hostlarda sitokin səviyyəsində immunosupressiyanın aşağı səviyyəsini əks etdirir.

Növbəti addımda B7-H1 ifadəsi olan və ya olmayan şiş daşıyan siçanlarda hüceyrə səviyyəsində immunosupressiyanı dərinlənən araşdırdıq. Biz B7-H1KO siçanlarının şişlərində və abB7-H1 ilə müalicə olunan WT PDAC daşıyan heyvanlarda daha az Treg aşkar etdik. Qeyd etmək lazımdır ki, dalaqda biz təhlil edilən siçan suşları arasında Treg miqdarında heç bir fərq görə bilmədik (məlumatlar göstərilir). Həmçinin Şiş İnfiltrasiya edən Leykositlərin (TILs) analizi MDSC miqdarında hər hansı bir dəyişiklik aşkar etməmişdir. Bununla belə, şiş daşıyan siçanların splenositləri B7-H1KO siçanlarında, eləcə də B7-H1-ə qarşı antikorla müalicə olunan PDAC daşıyan heyvanlarda MDSC miqdarının azaldığını nümayiş etdirdi. Qeyd etmək vacibdir ki, qranulositik MDSC (gMDSC) B7-H1KO heyvanları ilə müqayisədə WT şiş daşıyan siçanların TIL-lərində, monositik MDSC (mMDSC) isə B7-H1KO siçanlarının TIL-lərində daha çox aşkar edilmişdir. Bundan əlavə,

onların iNOS və B7-H1KO Arg ifadəsinin aşağı tənzimlənməsinə əsaslanaraq, MDSC aşağı immunosupressiv qabiliyyətə malik olmalıdır. Həqiqətən də, hədəf hüceyrələr kimi T-lenfositlərdən istifadə edərək yayılma analizi, WT siçanlarından olan MDSC-nin B7-H1KO siçanlarından MDSC-dən daha güclü immunosupressiv olduğunu ortaya qoydu.

Beləliklə, ümumi PDAC immunosupressiyası Treg və MDSC-nin modulyasiyasında özünü göstərən B7-H1 ifadəsinin vəziyyətindən, eləcə də onların immunosupressiv funksiyasından asılıdır.

MDSC yüksək miqdarda B7-H1 ifadə etdiyindən bu immunosupressiv molekulun bu hüceyrələrin immunosupressiv təsirini gücləndirə biləcəyini anlamaq maraqlı idi. Biz WT siçanlarından təcrid olunmuş MDSC istifadə edərək yuxarıda qeyd edildiyi kimi bir daha proliferativ analiz apardıq və onları B7-H1-ə qarşı antikorlu və ya antikorsuz T-limfositlərlə inkubasiya etdik. Biz antikorun (məlumat göstərilir) yayılmasına heç bir təsirini qeyd etmədik. Bununla belə, anti-B7-H1 antikorunun in vitro əlavə edilməsi, birgə kultura supernatantlarında IFN γ konsentrasiyasının artmasına gətirib çıxardı, bu da B7-H1-in MDSC tərəfindən immunosupressiyada qismən iştirak etdiyini göstərir.

B7-H1-in inhibisyonu PDAC daşıyan siçanlarda şiş əleyhinə immun reaksiyanın bərpasına gətirib çıxarır.

Biz güman etdik ki, B7-H1KO şiş daşıyan siçanlarda immunosupressiyanın aşağı səviyyəsi şişə qarşı immun reaksiyanın bərpasına gətirib çıxara bilər ki, bu da şiş daşıyan heyvanların daha yaxşı onkoloji nəticələrinə cavabdeh ola bilər. Buna görə də, ümumiyyətlə iştirak edən lenfosit populyasiyalarını ətraflı araşdırdıq. Bu məqsədlə T hüceyrələri və onların alt qrupları WT və B7-H1KO şiş daşıyan siçanların həm dalağında, həm də şişində təhlil edilmişdir. Təhlil B7-H1KO şiş daşıyan heyvanların dalaqlarında və WT siçanlarının şişlərində yüksək miqdarda CD4+ lenfositləri aşkar etdi. Əhəmiyyətli olan, WT heyvanları ilə müqayisədə B7-H1 KO siçanlarında effektor-yaddaş CD4+ lenfositlərinin daha güclü yığılması aşkar edilmişdir. CD8+ lenfositlərinə gəldikdə, onların yüksək miqdarı WT siçanları ilə müqayisədə B7-H1KO heyvanlarının həm şişində, həm də dalağında aşkar edilmişdir. Bundan əlavə, şişdə, eləcə də B7-H1KO siçanlarının dalağında effektor-yaddaş CD8+ limfositlərinin aydın yığılması aşkar edilmişdir. B7-H1-ə qarşı antikorla müalicə edilən WT şiş daşıyan siçanlarda CD8+ limfositlərini B7-H1KO siçanlarından əldə edilən TIL-lər və splenositlər tərəfindən hüceyrədaxili IFN γ istehsalını ölçdük. Biz WT olanlarla müqayisədə B7-H1KO heyvanlarından təcrid olunmuş TIL-lərdə və splenositlərdə immun hüceyrələrin müxtəlif subpopulyasiyasının aktivləşdirilməsinin daha yüksək səviyyəsini tapdıq. İmmun hüceyrələrin digər mühüm anti-şiş xarakteristikası TIL-lərin şiş hüceyrələrinə qarşı sitotoksikliyi təmsil edir. B7-H1KO siçanlarından alınan TIL-lərin WT heyvanlarından alınan TIL-lərdən daha yaxşı sitotoksikliyə malik olacağını fərz etdik. Bu məqsədlə CD45+ hüceyrələri hər iki siçan ştamının şişlərindən təcrid olunmuş və Panc02 hüceyrələri ilə birgə becərilmişdir. Təcrübələr hipotezimizi sübut etdi. Buna görə də, CD4 və CD8 hüceyrələrini istehsal edən IFN γ miqdarı B7-H1KO şiş daşıyan siçanların TIL-lərində, eləcə də müvafiq birgə kulturalarda öldürülmüş şiş hüceyrələrinin faizində həqiqətən daha yüksək idi. Bu o deməkdir ki, B7-H1-in hətta yalnız şiş olmayan

hüceyrələrdə ləğvi TIL-lərin şiş əleyhinə sitotoksikliyi yaxşılaşdırır.

Beləliklə, B7-H1 olmadıqda anti-şiş immun cavabı, daha yüksək immun hüceyrə aktivasiyası və təkmilləşdirilmiş sitotoksiklik, həmçinin şiş daşıyan siçanlarda effektor-yaddaş limfositinin toplanması hesabına bərpa olunur.

B7-H1-in inhibəsi DC-nin funksionallığını yaxşılaşdırır

Məlumdur ki, B7-H1 molekulu DC-nin qüsursuz funksiyası üçün vacibdir. Ona görə də biz bu immun hüceyrə bölməsini daha dəqiq araşdırdıq. Plazmositoid (p) DC miqdarı WT olanlarla müqayisədə B7-H1KO şiş daşıyan siçanların dalağında azaldılsa da, bu DC onların yetişmə vəziyyətində yaxşılaşma göstərdi. Bununla belə, CD80-nin pDC səthində birgə ifadəsi B7-H1 olmadıqda azalmışdır. Adi cDC-də CD80 ifadəsinə gəldikdə, biz CD80 ifadə intensivliyində azalma aşkar etdik. B7-H1KO şiş daşıyan siçanların splenositləri də CD86+ yetkin cDC miqdarında artım göstərdi. Lakin onların ifadə intensivliyi azalmışdır. Bundan əlavə, abB7-H1 ilə müalicə olunan siçanların dalağında cDC miqdarının azalması qeydə alınıb. Nəhayət, hər iki modelin şiş DC-də heç bir fenotipik fərq görmədik. DC ilə birgə inkubasiyadan sonra CD4+ limfositlərinin aktivləşməsi və yayılması DC-nin funksionallığı üçün oxunuş kimi xidmət edir. Buna görə də, biz nəzarət WT şiş daşıyan siçanların dalaqdan şişdən DC və CD4+ hüceyrələrini təcrid etdik və onları B7-H1-ə qarşı antikorla və ya antikor olmadan birgə inkubasiya etdik. Qeyd etmək lazımdır ki, tək antikor CD4+ lenfositlərində CD69 və CD25 markerlərinin ifadəsinə və onların yayılmasına təsir göstərməmişdir (məlumatlar göstərilmir). Bununla belə, B7-H1-in antikor ilə birgə kulturalarda bloklanması lenfositlərin daha yaxşı aktivləşməsinə (CD69 və CD25-in ifadəsi) gətirib çıxardı və onların yayılmasına təsir etdi. Beləliklə, B7-H1 ifadəsinin inhibə edilməsi PDAC şişinin DC funksiyasını yaxşılaşdırır.

B7-H1-in inhibəsi şiş daşıyan siçanlarda dalaq və şiş M2 makrofaqlarının miqdarını azaldır və makrofaqların faqositar fəaliyyətini induksiya edir.

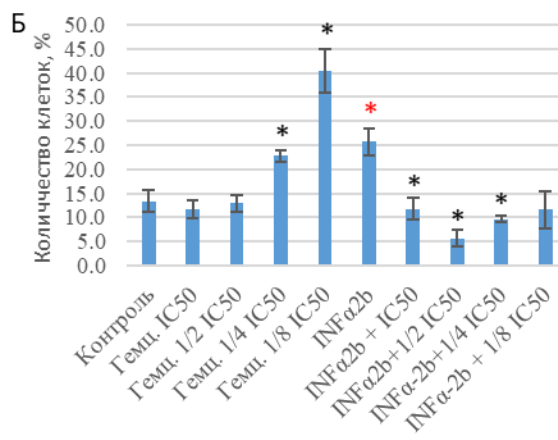
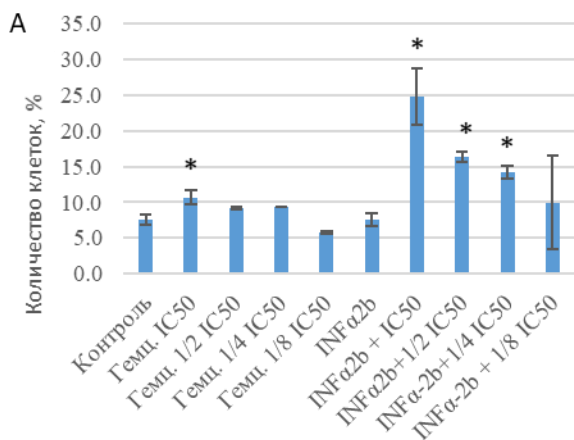
Makrofaqlar şiş daşıyan ev sahiblərində ikili rol oynayır: M1 makrofaqları ümumiyyətlə anti-şiş immun reaksiyasında iştirak edir, M2 isə sevimli şiş inkişaf edir. Bizim PDAC model dalaq və şiş macrophages də onların səthində B7-H1 ifadə edir. Buna görə də, B7-H1 inhibisiyonunun bu immun hüceyrələr qrupuna təsir edib-etməyəcəyini sorğuladıq. Biz makrofaqların miqdarının (CD11b+Gr1- hüceyrələri) nəzarət WT heyvanları ilə müqayisədə B7-H1KO siçanlarının şiş və dalaqında azaldığını aşkar etdik. Əhəmiyyətli olan, M2 (CD206+ hüceyrələri) makrofaqlarının miqdarı B7-H1KO siçanlarının həm dalağında, həm də şişində azalmışdır. Faqositar fəaliyyət makrofaqların mühüm xüsusiyyəti olduğundan, biz onu hər iki şiş daşıyan siçan ştammindən əldə edilən şiş makrofaqlarında təhlil etdik. Həqiqətən də, B7-H1KO siçanlarının şişindən olan makrofaqlar, şiş daşıyan WT sahiblərinin CD11b+Gr1-TIL-lərindən daha yaxşı faqositar qabiliyyətə malik idi. Bu nəticələr göstərir ki, B7-H1 ifadəsi makrofaqlar n daha yüksək şiş yığılması və onların effektor yaddaş subpopuliyası müşahidə edildi, nəzarətlə müalicə olunan heyvanlarda isə bu hüceyrələrin daha az yığılması müşahidə edildi. Qeyd etmək lazımdır ki, tədqiq edilən şiş daşıyan heyvanlarda B-hüceyrə və NK-hüceyrə paylanmasında nə şişdə, nə də

dalaqda heç bir fərq aşkar edilməmişdir.

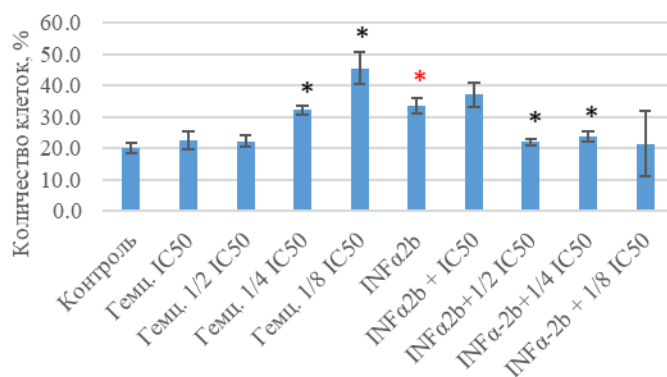
- MTT assay vasitəsilə hüceyrələrin müxtəlif qruplarda sağqalma qabiliyyəti yoxlanılıb. Layihənin elmi ideyasında qeyd edildiyi kimi, eksperimentin məqsədi kombine olunmuş qrupda hüceyrələrin sağqalma faizinin digər qruplarla müqayisə olunması olub. Eksperimentdə mədəaltı vəzi xərçəng hüceyrə xətləri Mia-PacCA2 və PANC-1 istifadə olunub. Yerinə yetirilmiş MTT assay-in nəticələrinə diqqət yetirsək qeyd etmək lazımdır ki, kombine olunmuş qrupda hüceyrələrin sağqalma faizi digər qruplara nəzərən daha az olub. Bu isə kombine olunmuş müalicənin effektivliyini göstərir və bu effektivliyinin əsasında xərçəng kök hüceyrələrinin xüsusiyyətlərinin olduğu ideyası irəli sürülür. Onu qeyd etmək lazımdır ki, kombine olunmuş qrupda elmi ideya olaraq ehtimal olunur ki, interferon preparatı hüceyrələrin dərman maddələrinə qarşı rezistentliyini azaltmış, nəticədə mədəaltı vəzi xərçənginin müalicəsində tətbiq olunan standart terapiya olan gemsitebin prepatının təsiri güclənib. Nəticədə digər qruplara nəzərən, kombine olunmuş qrupda xərçəng hüceyrələri daha çox məhv olmuşdur.
- Pankreas xərçəngi hüceyrələrində apoptoz markerlərinin ifadəsində dəyişikliklərin öyrənilməsi:

Təhlil zamanı əldə edilən məlumatlar əsasında hüceyrə ölümünün mərhələləri üzrə hüceyrə populyasiyasının kəmiyyət paylanmasını əks etdirən histqramlar qurulmuşdur: erkən apoptoz, gec apoptoz, eləcə də apoptotik hüceyrələrin ümumi sayı (Şəkil 1).

MiaPaCa-2 hüceyrə xətti üçün əldə edilmiş histqramlardan (Şəkil 1 AB) görünə bilər ki, Gemcitabinin mono rejimdə təsiri altında erkən apoptoz mərhələsində hüceyrələrin sayında əhəmiyyətli artım var. IC50-yə $10,7 \pm 1,0\%$ uyğun gələn dərman konsentrasiyasında nəzarətə, nəzarət qiymətinə qarşı – $7,6 \pm 0,7\%$ ($p=0,044$) (Şəkil 1A).



B



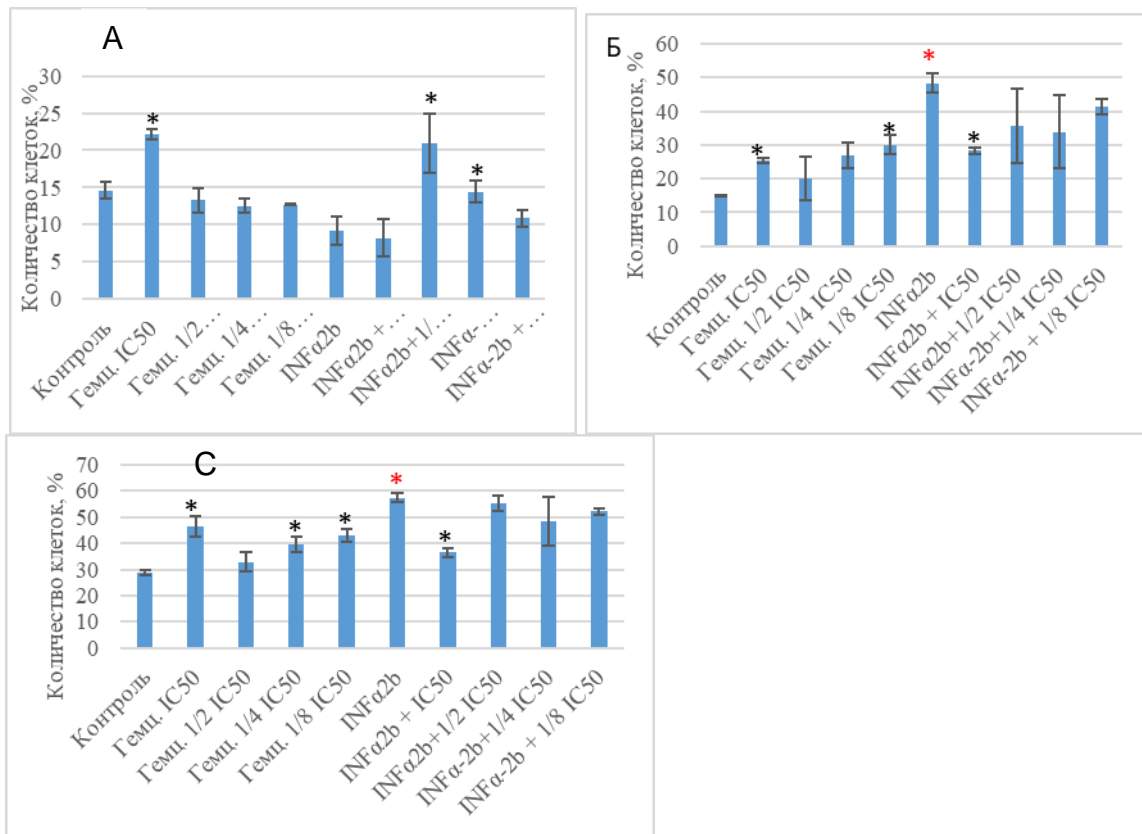
Şəkil 1. MiaPaCa-2 hüceyrə xətti populyasiyasının apoptoz mərhələləri üzrə kəmiyyət bölgüsü: A - erkən apoptoz, B - gec apoptoz/hüceyrə ölümü, C - apoptotik hüceyrələrin ümumi sayı.

Hüceyrələrin mono rejimdə INFα2b ilə birgə inkubasiyasından sonra aktivləşdirilmiş kaspazları 3/7 olan hüceyrələrin sayı nəzarətdəki dəyərdən fərqlənməmişdir – $7,6 \pm 0,9\%$ ($r > 0,05$). Dərmanların sınaqdan keçirilmiş kombinasiyasının tədqiqi, gemcitabinin IC50, 1/2 IC50 və 1/4 IC50-yə uyğun konsentrasiyasında erkən apoptoz mərhələsində hüceyrələrin sayında dozadan asılı olaraq əhəmiyyətli artım aşkar etdi. mono rejimdə INFα2b-yə məruz qaldıqda aktivləşdirilmiş hüceyrələr - müvafiq olaraq $24,7 \pm 3,9\%$ ($p = 0,046$), $16,3 \pm 0,6\%$ ($p = 0,001$) və $14,3 \pm 0,9\%$ ($p = 0,006$) $7,6 \pm 0,9\%$ -ə qarşı.

Gec apoptotik mərhələdə hüceyrələrin paylanmasına uyğun gələn histqramların təhlili (Şəkil. 1 B) Gemcitabine-nin təsiri altında olan hüceyrələrin sayının 1 / 1-ə uyğun bir dərman konsentrasiyasında nəzarət dəyəri ilə müqayisədə 1,7 dəfə əhəmiyyətli dərəcədə artdığını aşkar etdi. 4 IC50 ($22,8 \pm 1,2\%$ ($p = 0,004$)) və 1/8 IC50-yə uyğun gələn konsentrasiyada 3 dəfə artım ($40,4 \pm 4,5\%$ ($p = 0,022$)). Hüceyrələrin 5000 IU konsentrasiyasında INFα2b ilə inkubasiyası, nəzarətlə (bütün hüceyrələr) ilə müqayisədə gec apoptoz mərhələsində olan hüceyrələrin sayının əhəmiyyətli dərəcədə artmasına səbəb oldu - nəzarətdə $13,4 \pm 2,2\%$ -ə qarşı $25,7 \pm 2,9\%$ ($p = 0,002$). Dərmanların birləşməsinin təsirini qiymətləndirərkən apoptozun gec mərhələsində olan hüceyrələrin sayı IC50, hesablanmış IC50 dəyərinin 1/2 və 1/4-ə uyğun konsentrasiyalarda INFα2b monomodu üçün əldə edilən dəyərdən əhəmiyyətli dərəcədə aşağı idi. gemcitabin üçün - $11,8 \pm 2,2\%$ ($p = 0,005$), $5,7 \pm 1,7\%$ ($p = 0,001$) və $9,6 \pm 0,7\%$ ($p = 0,003$), yalnız INFα2b ilə $25,7 \pm 2,9\%$ -ə qarşı.

Həm erkən, həm də gec apoptozda hüceyrələrin ümumi sayını əks etdirən histqramların təhlili (Şəkil 1 C) 1/1 konsentrasiyada Gemcitabine ilə mono rejimdə inkubasiya edildikdən sonra 3/7 aktivləşdirilmiş kaspazları olan hüceyrələrin sayında statistik əhəmiyyətli artım aşkar etdi. 4 və 1/8 IC50 - nəzarət qrupunda $20,0 \pm 1,7\%$ ilə müqayisədə $32,2 \pm 1,5\%$ ($p = 0,009$) və $45,5 \pm 5,2\%$ ($p = 0,034$). INFα2b-yə məruz qalma bütöv hüceyrələrlə müqayisədə apoptotik hüceyrələrin ümumi sayının 1,7 dəfə əhəmiyyətli dərəcədə artmasına səbəb olub və müvafiq olaraq $33,7 \pm 2,4\%$ və $20,0 \pm 1,7\%$ ($p = 0,003$) təşkil edib. Gemcitabine və INFα2b kombinasiyası ilə birgə inkubasiya zamanı nəzarətdən (INFα2b ilə monomod) kaspaza-3/7+7AAD+ hüceyrələrinin sayının azalmasına doğru əhəmiyyətli fərq yalnız 1/2 dəyərinə uyğun konsentrasiyalarda qeydə alınıb. 2 və 1/4 Gemcitabine IC50 dəyəri - INFα2b monomodu ilə $33,7 \pm 2,4\%$ -ə qarşı müvafiq olaraq $22,0 \pm 1,0\%$ ($p = 0,003$) və $23,9 \pm 1,6\%$ ($p = 0,006$).

Panc-1 hüceyrələrində aparılan oxşar tədqiqatda apoptoz mərhələləri üzrə hüceyrələrin paylanmasını əks etdirən histqramlar da əldə edilmişdir (Şəkil 2 A-B).



Şəkil 2. Panc-1 hüceyrə xətti populyasiyasının apoptoz mərhələləri üzrə kəmiyyət paylanması: A - erkən apoptoz, B - gec apoptoz/hüceyrə ölümü, C - apoptotik hüceyrələrin ümumi sayı.

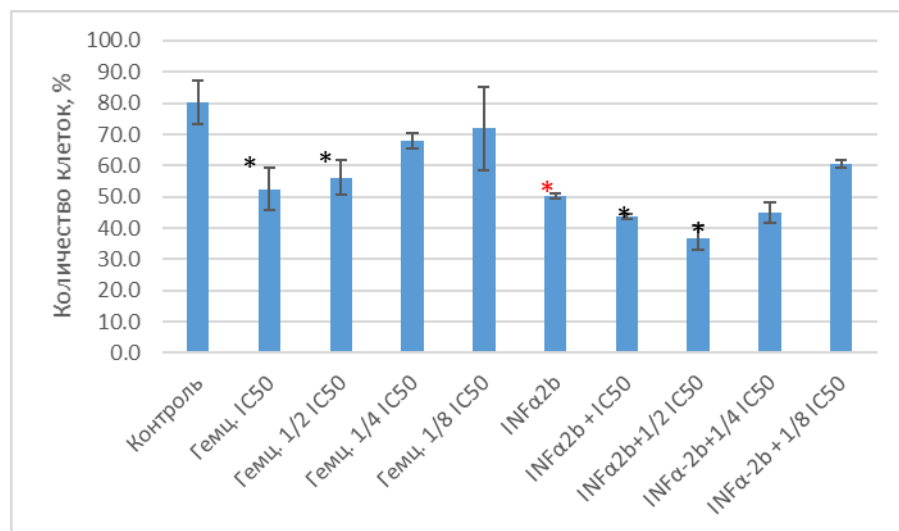
Erkən apoptoz vəziyyətində hüceyrələrin kəmiyyət paylanmasını əks etdirən histoqramlardan görmək olar ki, təkəcə gemitabin onun IC50 - $22,1 \pm 0,7\%$ -ə uyğun konsentrasiyada kaspaza-3/7 müsbət hüceyrələrin sayının əhəmiyyətli dərəcədə artmasına səbəb olmuşdur. nəzarətdə $14,6 \pm 1,1\%$ -ə qarşı ($p=0,013$). Hüceyrələrin INFα2b ilə birgə inkubasiyası yerli nəzarətlə müqayisədə erkən apoptoz mərhələsində hüceyrələrin sayında əhəmiyyətli dəyişiklik yaratmadı - müvafiq olaraq $14,6 \pm 1,1\%$ -ə qarşı $9,2 \pm 1,9\%$ ($p=0,347$). Hüceyrələrin sınaqdan keçirilmiş dərman kombinasiyasına məruz qalması onun IC50-nin 1/2 və 1/4 hissəsinə uyğun gələn gemitabinin konsentrasiyasında kaspaza-3/7 aktivləşdirilmiş hüceyrələrin əhəmiyyətli dərəcədə artmasına səbəb oldu və $20,9 \pm 3,9\%$ təşkil etdi ($p=0,051$).) və $14,4 \pm 1,5\%$ ($p=0,051$) INFα2b monomodunda olan dəyərlə müqayisədə – $9,2 \pm 1,9\%$.

Gec apoptoz vəziyyətində hüceyrələrin kəmiyyət paylanmasını xarakterizə edən histoqramlardan görünür ki, mono rejimdə Gemitabine ara nöqtələrdə dozadan asılı aktivlik olmadan IC50 və 1/8 IC50-yə uyğun konsentrasiyalarda statistik əhəmiyyətli dərəcədə aktiv idi. kaspaz-3/7+ 7AAD+ hüceyrələrinin sayı yerli nəzarətdə $15,0 \pm 0,1\%$ -ə qarşı $25,3 \pm 0,7\%$ və $30,1 \pm 2,7\%$ olmuşdur. Hüceyrələrin INFα2b-yə mono rejimdə məruz qalması aktivləşdirilmiş hüceyrələrin sayının nəzarətlə müqayisədə 3,2 dəfə - $15,0 \pm 0,1\%$ -ə qarşı $48,3 \pm 2,7\%$ artmasına səbəb olub. Hüceyrələr dərmanların kombinasiyası ilə inkubasiya edildikdə, gemitabinin IC50-yə uyğun konsentrasiyasında daha aşağı konsentrasiyalarda nəzarətdən əhəmiyyətli fərqlər olmadan gec apoptotik hüceyrələrin sayında əhəmiyyətli azalma müşahidə edildi və $48,3 \pm 2,7\%$ -yə qarşı $28,3 \pm 0,9\%$ təşkil etdi. % nəzarətdə ($p=0,001$). Apoptoz vəziyyətində hüceyrələrin ümumi kəmiyyət paylanmasını əks etdirən

histoqramların təhlili (Şəkil 8C) IC50, 1/4 uyğun dərman konsentrasiyalarında əhəmiyyətli olan Gemcitabine tərəfindən induksiya edilmiş proqramlaşdırılmış hüceyrə ölümü vəziyyətində hüceyrələrdə dozadan asılı artım aşkar etdi. və 1/8 IC50: nəzarətdə 28,7±1,1-ə qarşı müvafiq olaraq 46,4 ±4,2% (p=0,044), 39,6±3,0 (p=0,007) və 43,0±2,4% (p=0,021). Hüceyrələrin INFα2b-yə məruz qalması bütöv hüceyrələrlə müqayisədə apoptotik hüceyrələrin ümumi sayında 2 dəfə əhəmiyyətli artımla nəticələnmiş və 28,7±1,1%-ə qarşı 57,4±1,9% təşkil etmişdir (p=0,003). Gemcitabin və INFα2b kombinasiyası ilə hüceyrələrin 72 saatlıq koinkubasiyası apoptotik vəziyyətdə olan hüceyrələrin ümumi sayında əhəmiyyətli artım aşkar etmədi, əksinə, konsentrasiyada INFα2b monomodu üçün əldə edilən IC-yə uyğun olan Gemcitabinin konsentrasiyasında. 5000ME, 57,4±1,9% (p=0,001) təşkil edir.

İnterferonun Gemcitabin ilə birləşməsinin insan mədəaltı vəzi xərçənginin proliferativ hüceyrələrinə təsirinin qiymətləndirilməsi:

Mi-aPaCa-2 hüceyrələri ilə bağlı tədqiqat zamanı (Şəkil 3) aşkar edilmişdir ki, Gemcitabinin mono rejimdə məruz qalması onun IC50-yə uyğun olan dərman konsentrasiyalarında aktiv şəkildə proliferasiya olunan hüceyrələrin hovuzunun əhəmiyyətli dərəcədə azalmasına səbəb olmuşdur. və 1/2 IC50 - 52,5± 6,8% (p=0,045) və 56,3±5,6% (p=0,043) nəzarətdə 80,2±7,1%-ə qarşı.

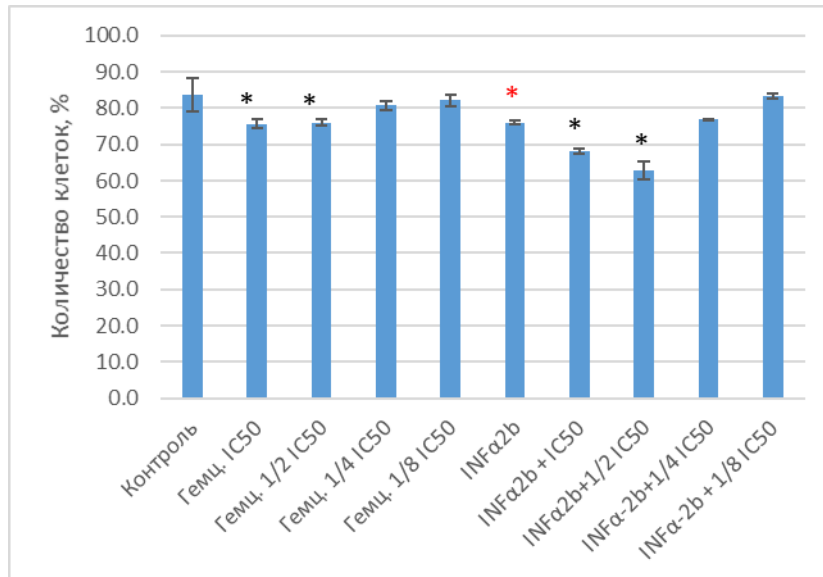


Şəkil. 3. Ki-67 proliferasiya markerinin ifadə səviyyəsinə görə MiaPaCa-2 hüceyrə populyasiyasının kəmiyyət paylanması.

Mono rejimdə interferon bütöv hüceyrələrlə müqayisədə proliferasiya edən hüceyrələrin sayının 1,5 dəfə əhəmiyyətli azalmasına səbəb oldu - Ki-67+ hüceyrələrinin sayı nəzarətdə 80,2±7,1%-ə qarşı 50,1±0,9% təşkil etdi (p=0,048). Dərmanların sınaqdan keçirilmiş kombinasiyası ilə mədəniyyətə məruz qalma, kəmiyyət baxımından 43,6 olan INFα2b monomodu ilə əldə edilən təsirlə müqayisədə IC50 və 1/2 IC50-yə uyğun gələn Gemcitabine konsentrasiyalarında Ki-67+ hüceyrələrinin sayında əhəmiyyətli azalma aşkar etdi. ±0,6% (p=0,018) və 36,9±3,4% (p=0,021) 50,1±0,9%-ə qarşı.

Panc-1 xəttinin aktiv şəkildə çoxalmış hüceyrələrinin populyasiyasını kəmiyyətce xarakterizə edən histoqramların təhlili (Şəkil 10) IC50 və 1-ə uyğun dərman konsentrasiyalarında Gemcitabine mono rejimdə məruz qaldıqda Ki-67+ hüceyrələrinin sayında əhəmiyyətli azalma aşkar etdi. /2 IC50 - nəzarətdə 83,7±4,5%-ə qarşı 75,7± 1,3%

($p=0,045$) və $76,0\pm 0,9\%$ ($p=0,050$).



Şəkil. 4. Ki-67 proliferasiya markerinin ifadə səviyyəsinə görə Panc-1 hüceyrə populyasiyasının kəmiyyət paylanması.

Hüceyrələrin mono rejimdə INFα2b-yə məruz qalması, Ki-67+ hüceyrələrinin sayının hesablanmış dəyərləri ilə sübut olunduğu kimi, bütöv nəzarətlə müqayisədə hüceyrə proliferativ aktivliyində əhəmiyyətli bir azalmaya səbəb oldu - $83,7\pm 4,5\%$ -ə qarşı $76,1\pm 0,7\%$ ($r = 0,051$). Dərmanların sınaqdan keçirilmiş kombinasiyası ilə hüceyrələrin birgə inkubasiyası, Gemitabinin IC50 və 1/2 IC50-yə uyğun konsentrasiyada hüceyrə proliferasiyasının əhəmiyyətli dərəcədə azalmasına səbəb oldu - Ki-67+ hüceyrələrinin sayı $68,1\pm 0,8\%$ ($p=$ 0,007) və $62,8\pm 2,4\%$ ($p=0,015$) INFα2b monomodu ilə $76,1\pm 0,7\%$ -ə qarşı.

4 Layihə üzrə **elmi nəşrlər** (elmi jurnallarda məqalələr, monoqrafiyalar, icmallar, konfrans materiallarında məqalələr, tezislər) (dərc olunmuş, çapa qəbul olunmuş və çapa göndərilmişləri ayrılıqda qeyd etməklə, uyğun məlumat - jurnalın adı, nömrəsi, cildi, səhifələri, nəşriyyat, indeksi, İmpact Factor, həmmüəlliflər və s. bunun kimi məlumatlar - ciddi şəkildə dəqiq olaraq göstərilməlidir) (*surətlərini kağız üzərində və CD şəklinə əlavə etməli!*)

Dərc olunmuş:

- **O.İsayev. “Xərçəng kök hüceyrələri. Müalicədə yeni hədəf?”// Sağlamlıq. № 1, s.15-22, 2021.**

Çapa göndərilmiş:

- **O. Isayev, D.V. Sokolova, N.Yu. Anisimova, T.S. Spirina, E. Gasimov. “Investigation of an anticancer activity of combination of interferon-alpha and gemcitabine on pancreatic cancer cells.” Biochemistry (Moscow). (İF=2,487)**

5 İxtira və patentlər, səmərələşdirici təkliflər

Yoxdur

6 Layihə üzrə ezamiyyətlər (ezamiyyə baş tutmuş təşkilatın adı, şəhər və ölkə, ezamiyyə tarixləri, həmçinin

	ezamiyyə vaxtı baş tutmuş müzakirələr, görüşlər, seminarlarda çıxışlar və s. dəqiq göstərməlidir)
	Yoxdur
7	Layihə üzrə elmi ekspedisiyalarda iştirak (əgər varsa)
	Yoxdur
8	Layihə üzrə digər tədbirlərdə iştirak
	<ul style="list-style-type: none"> • 4th Health Sciences and Innovation Congress, July 5-6, 2021. Baku. • Professor TAMERLAN ƏLİYEVİN anadan olunmasının 100 illiyinə həsr olunmuş “Təbabətin aktual problemləri” beynəlxalq kongres (06-08 oktyabr 2021). • “VII Конгресс хирургов Казахстана с международным участием «Хирургия: вчера, сегодня, завтра», посвященный 75-летию со дня основания Национального научного центра хирургии им.А.Н.Сызганова”, 30 сентября – 1 октября, 2021. Алматы. • First International Bilateral Workshop on Science between Dokuz Eylül University and Azerbaijan National Academy of Sciences, 19 November 2021.
9	Layihə mövzusu üzrə elmi məruzələr (seminar, dəyirmi masa, konfrans, qurultay, simpoziyum və s. çıxışlar) (məlumat tam şəkildə göstərməlidir: a) məruzənin növü: plenar, dəvətli, şifahi və ya divar məruzəsi; b) tədbirin kateqoriyası: ölkədaxili, regional, beynəlxalq)
	<p>Professor TAMERLAN ƏLİYEVİN anadan olunmasının 100 illiyinə həsr olunmuş “Təbabətin aktual problemləri” beynəlxalq kongres (06-08 oktyabr 2021)</p> <p>Məruzənin adı: “Bədxassəli şişlərin eksperimental modellərində xərçəng kök hüceyrələrin rolunun araşdırılması və yeni müalicə sxeminin işlənməsi”</p> <p>Məruzəçi: Orxan İsayev</p>
10	Layihə üzrə əldə olunmuş cihaz, avadanlıq və qurğular, mal və materiallar, komplektləşdirmə məmulatları
	Yoxdur
11	Yerli həmkarlarla əlaqələr
	<ul style="list-style-type: none"> • AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutu • AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu
12	Xarici həmkarlarla əlaqələr
	<ul style="list-style-type: none"> • Ludwig Maximilian University Hospital, Immunology of pancreatic cancer WG (Munich, Germany) • National Medical Research Center of Oncology. N.N. Blokhin (Moscow, Russia)
13	Layihə mövzusu üzrə kadr hazırlığı (əgər varsa)
	Yoxdur
14	Sərgilərdə iştirak (əgər baş tutubsa)
	İştirak edilməyib
15	Təcrübəartırmada iştirak və təcrübə mübadiləsi (əgər baş tutubsa)
	Türkiyə Cumhuriyyətinin İstinye Universitetinin Kök Hüceyrə Mərkəzinin alimləri ilə online təcrübə mübadiləsi
16	Layihə mövzusu ilə bağlı elmi-kütləvi nəşrlər, kütləvi informasiya vasitələrində çıxışlar, yeni yaradılmış internet səhifələri və s. (məlumatı tam şəkildə göstərməlidir)
	Yoxdur

SİFARİŞÇİ:

Elmin İnkişafı Fondu

Baş məsləhətçi

Quliyeva Mülayim Sahib qızı

(imza)

“ _ ” _____ 20_-ci il

İCRAÇI:

Layihə rəhbəri

İsayev Orxan Rasim oğlu

(imza)

“ _ ” _____ 20_-ci il