



AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASININ PREZİDENTİ YANINDA ELMİN İNKİŞAFI FONDU

Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında
Elmin İnkişafı Fondunun 2014-cü ilin əsas qrant müsabiqəsi
çərçivəsində təqdim olunmuş kompleks elmi-tədqiqat
proqramlarının (EIF-2014-9(24)-KETPL) qalibi olmuş
layihənin yerinə yetirilməsi üzrə

YEKUN ELMİ-TEXNİKİ HESABAT

Layihənin adı: **Azərbaycan populyasiyasında süd vəzi xərçənginin yaranmasında iştirak edən
BRCA1/2 genlərinin mutasiyaları**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **Məlikova Leylaxanım Ərəstun qızı**

Qrantın məbləği: **430 000 manat**

Layihənin nömrəsi: **EIF-2014-9(24)-KETPL-14/12/3-M-07**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **30 iyul 2015-ci il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **36 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 avqust 2015-ci il – 01 avqust 2018-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

BRCA1 və BRCA2 genləri insan hüceyrələrində bədxassəli şişin əmələ gəlməsinin qarşısını alan (tumor suppressor) zülallar sintez edir. Zülallar genlərdə olan nuklein turşularının (DNA/RNA) zədələnmiş hissələrini təmir etməklə genetik materialın stabil qalmasını təmin edir. Bu genlərin hər hansı birində mutasiya baş verərsə və ya gen hər hansı bir başqa dəyişikliyə uğrayarsa, sintez edilən zülallar öz vəzifələrini yerinə yetirə bilmir. Bu işə böyük ehtimalla hüceyrədə bədxassəli şişin əmələ gəlməsinə səbəb olan yeni bir gen mutasiyasının əmələ gəlməsi ilə nəticələnə bilər [Ake Borg, 2010].

BRCA1və BRCA2 genlərinin irsən ötürülən mutasiyaları qadınlarda süd vəzi xərçəngi (SVX) əmələ gəlməsi riskini artırır və digər bədxassəli şişlərin əmələ gəlməsinə də səbəb ola bilər. SVX-də bu iki genin irsən ötürülən mutasiyaları 20-25% rast gəlinir, digər tərəfdən hər iki genin irsən ötürülməyən, somatik baş verən mutasiyaları SVX-də 5-10% arasında dəyişir (NİH, 2015 aprel). Eyni zamanda bu genlərin mutasiyalarına yumurtalıqların bədxassəli şiş toxumasında da 15%-ə kimi rast gəlinir. BRCA1və BRCA2 genlərinin irsən ötürülən mutasiyalarının daşıyıcısı olan

xəstələrdə SVX daha erkən yaşlarında əmələ gələ bilər. Genlərin irsən ötürülən mutasiyaları ata və anadan övlada keçir və hər bir övladın bu genlərin mutasiyalarının daşıyıcısı olması ehtimalı 50%-dir. BRCA1/2 genlərinin irsən ötürülən mutasiyalarının aşkar edilməsi həm bu mutasiyaların daşıyıcısı olan sağlam, həm də artıq bəd xassəli şiş aşkar edilmiş şəxslərdə profilaktik tədbirlərin görülməsi, müalicə prosesinin optimallaşdırılması və xəstəliyin proqnozunun təyin edilməsi üçün vacibdir. Layihənin məqsədi Azərbaycan populyasiyasında irsə ötürülən BRCA1/2 genlərinin yayılma sıxlığının öyrənilməsidir.

LAYIHƏDƏ GÖRÜLƏN İŞLƏR VƏ NƏTİCƏLƏR

1. Xəstələr və onların qruplaşdırılması haqqında məlumat

Layihənin keçirildiyi müddət ərzində əvvəlcədən hazırlanmış xüsusi sorğu blankları (sorğu blankı material və metod bölümündə göstərilib) vasitəsi ilə 263 xəstə sorğudan keçirilib, etik komitənin tələbinə uyğun olaraq xəstədən razılıq kağızı (xəstə razılığı blankı material və metodlar bölümündə göstərilib) alınıb. Qeyd etmək lazımdır ki, xəstələrin təqribən 32%-i Cədvəl 1-də göstərilən bir nəcə əlaməti daşıyır, amma işi asanlaşdırmaq və nəticələrin təhlilini keçirmək üçün xəstələr qruplarda ancaq bir əlamətə görə toplanmışdır. Xəstələr laborator "CancerReg"-də qeydiyyatdan keçdikdən sonra onlardan EDTA-lı tublarda 2mL qan götürülüb. Bütün qanlardan material və metodlar bölümündə göstərilən kimi genetik material alınıb və alınan materialın kəmiyyət və keyfiyyəti müəyyən olunandan sonra nümunələr -40°C sonrakı eksperimentlər üçün saxlanılıb. Qan nümunələri də eyni qayda ilə "qan" bazası arxivində saxlanılır. Əslində BRCA1/2 genlərində olan mutasiyaların qadın reproduktiv orqanlarında oynadığı rolu [Yoshda K., 2004] nəzərə alaraq biz əvvəlcədən layihədə nəzərdə tutulmayan yumurtalıq xərçəngi diaqnozu qoyulmuş xəstələri də layihəyə daxil etdik. Bu xəstələr anamnezində süd vəzi və ya yumurtalıq xərçəngi olan və ilk dəfə yumurtalıq xərçəngi diaqnozu qoyulan qadınlardır. Belə qadınların sayı 21-dir və onlar cədvəl 1-də 7-ci sırada yerləşiblər.

Cədvəl 1. Süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi diaqnozu qoyulmuş xəstələrin qruplar üzrə paylanması

No	Qrupun adı	Xəstə sayı (n)
1	Ailə anamnezi olan qadınlar: 1-ci və 2-ci dərəcəli qohumlarda süd vəzi xərçəngi, yumurtalıq xərçəngi, prostat vəzi və mədə altı vəzi xərçəngi olan qadınlar	141
2	Yaş qrupu: 35 yaşına qədər ailə anamnezi olmayan qadınlar	52
3	İki tərəfli süd vəzi xərçəngi olan qadınlar	11
4	Süd vəzi xərçəngi olan kişilər	7
5	İki tərəfli süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi olan qadınlar	2
6	Eyni zamanda süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi olan qadınlar	6
7	Yumurtalıq xərçəngi olan qadınlar	21
8	Xüsusi hormonal statusu olan qadınlar (3 qat neqativ)	29
Cəmi		n1=263

Göründüyü kimi ən çox xəstə ailə anamnezi olan qrupda toplanıb. Kişi süd vəzi xərçəngi olan qrupda 7 xəstədən 4-ü layihə qüvvəyə mündiyyəti vaxtda, qalan üçü isə əvvəlcədən Milli Onkologiya mərkəzinə (MOM) müraciyyət etmiş xəstələrdir. Bu üç xəstə dəvət edilmiş və razılıq alındıqdan

sonra xəstələr layihəyə daxil edilmişlər.

2.Layihənin ana xəttindən əlavə toplanan klinik və genetik material üzərində görülən işlər

Layihədə BRCA1/2 genlərinin mutasiyalarını aşkar edilməsi üçün material toplanması davam edərkən bəzi klinik və molekulyar-genetik parametrlər üzərində araşdırılma aparılmışdır. Layihədə iştirak etməsi nəzərdə tutulan xəstələr də daxil olmaqla ilkin müraciyyət edən 1058 xəstədə şişin mərhələsinə təsir edən faktorlar öyrənilmişdir. Xəstələrin hamısına süd vəzi diaqnozu qoyulmuşdur. Aşağıdakı cədvəllərdə (2, a-i) toplanan məlumatlar və onların tələb edilən şərtlərə görə paylanması göstərilib. Bu tədqiqatı aparmaqda məqsəd diaqnoz qoyulduğu vaxtda xəstəliyin real mərhələsinin təyin edilməsidir. Bəd xassəli şişlərin yaranmasına səbəb kimi hüceyrənin fəaliyyətində mühim rol oynayan genlərdə baş verən mutasiyalar olduğu göstərilir [David S. Wishart, 2015]. Buna əsaslanan tədqiqatçılar mərhələni göstərən klassik TNM sisteminin hal-hazırda xəstəliyin prognozunu verə bilmədiyini sübut etmişlər [Mahil B. Amin, 2017]. Tədqiqatda xəstəliyin prognozunu və prediktivliyi təyin edə biləcək yeni biomarkerlərdən istifadə edilib. Sonradan bu xəstə kontingentində irsən ötürülən BRCA1/2 genlərin mutasiyaları aşkar ediləcək və mutasiyaların xəstəliyin mərhələsinin formalaşmasında rolu öyrəniləcək.

Cədvəl 2 a. 3 yaş qrupuna ayrılmış xəstələrin mərhələlərə görə paylanması

Xəstənin yaşı	Xəstə sayı	Mərhələlər (%)			
		I	II	III	IV
18-35	80	7,3	7,6	9,4	3,0
36-60	799	79,7	75,8	74,9	74,5
60<	179	13,0	16,6	15,7	22,4
Cəmi	1058	100,0	100,0	100,0	100,0

Cədvəl 2 b. 189 xəstənin şişi təyin etmə müddətinin xəstəliyin mərhələsinə təsiri

Müddət (ay)	Xəstə sayı	Mərhələ (%)			
		I	II	III	IV
0-3	358	25,0	47,9	31,6	23,0
4-6	225	0	20,8	26,5	10,3
7-12	123	0	10,4	13,3	10,3
12-24	223	25,0	18,8	19,4	28,2
24	129	50,0	2,1	9,2	28,2
Cəmi	1058	100,0	100,0	100,0	100,2

Cədvəl 2 c. Sürd vəzi xərcənginin bioloji yarım tipinin xəstəliyin mərhələsinə təsiri

Bioloji yarım tip	Xəstə sayı	Mərhələ (%)			
		I	II	III	IV
LA*	152	13,0	16,4	12,6	14,5
LBH(-)*	522	49,3	48,1	49,7	50,9
LBH(+)*	154	8,7	10,8	17,9	18,2
Her2(+)*	112	10,2	12,2	10,6	6,7
TN*	118	18,8	12,5	9,2	9,7
Cəmi	1058	100,0	100,0	100,0	100,0

Qeyd: LA*-Lyuminal A; LBH(-)*-Lyuminal B, Her (-); LBH(+)*- Lyuminal B, Her (+); Her2 (+)* - müsbət qeyri lyuminal; TN*- Triple negative (üçlü mənfi)

Cədvəl 2 d. Sürd vəzi xərcənginin bədlik dərəcəsinin xəstəliyin mərhələsinə təsiri

Bədlik dərəcəsi	Xəstə sayı	Mərhələ (%)			
		I	II	III	IV
G1	92	11,6	5,8	9,9	11,5
G2	485	43,5	49,8	45,2	38,8
G3	195	24,6	21,7	16,9	11,5
Gx	286	20,3	22,7	28,0	38,2
Cəmi	1058	100,0	100,0	100,0	100,2

Cədvəl 2 a-d. Göründüyü kimi sürd vəzi xərcəngi diaqnozu qoyulmuş xəstələrdə yaşın, xəstəliyin təyin olunma müddətinin, xəstəliyin bədlik dərəcəsinin və bioloji yarım tipin xəstəliyin mərhələsinə təsiri yoxdur.

Tədqiqatda yeni biomarker kimi TUBB3 genindən istifadə edilib. Sürd vəzi xərcənginin TNM sistemi vasitəsi ilə formalaşmış mərhələlərində TUBB3 genin ekspresiya dərəcəsi öyrənilib. Genin ekspresiya dərəcəsi epigenetik olaraq (yəni gendə struktur dəyişikliyi olmadan) baş verir [Konovalenko M., 2010]. Bu mürəkkəb prosesin hansı səbəbdən baş verdiyini nəzərə almadan biz TUBB3 genin bədxassəli şiş toxumasında ekspresiya dərəcəsinə öyənmişik. Aşağıda göstərilən 3 a-c. cədvəllərdə 250 seçilmiş xəstə arasında aparılan işin nəticəsini görməkolar.

Cədvəl 3 a. TUBB3 genin expressiya səviyyəsinin 250 xəstə arasında müqayisəli öyrənilməsi

n=250		
TUBB3 genin yüksək ekspressiyası olan xəstələr	TUBB3 genin normal ekspressiyası olan xəstələr	
n=98 (39,2%)	n=152 (60,8%)	
(I + II) mərhələ		(III+IV) mərhələ
n=18 (18,36%)		n=80 (81,64%)

Cədvəl 3 b. TUBB3 genin ekspresiya səviyyəsinin xəstəliyin mərhələsinə görə paylanması

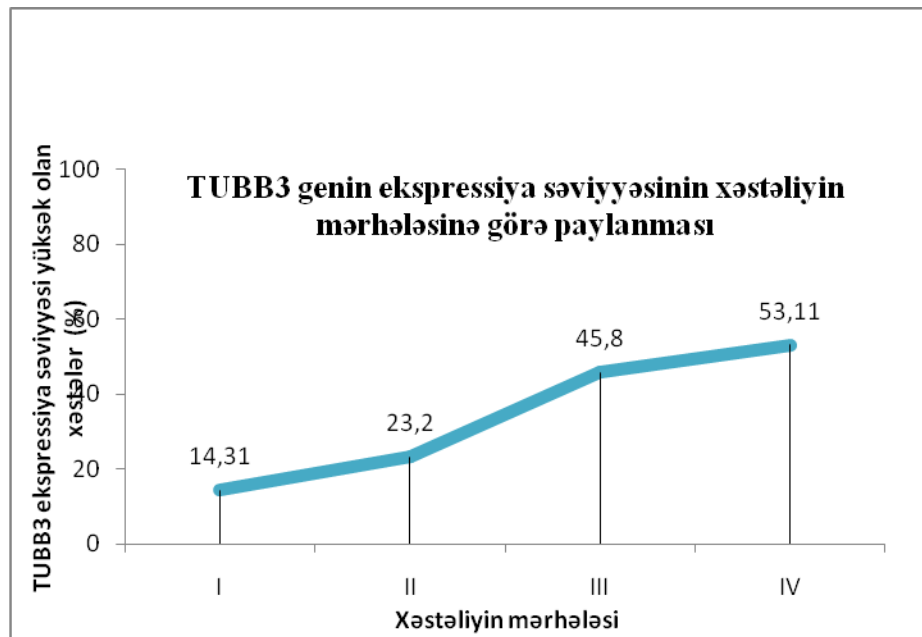
Xəstəliyin mərhələsi	Xəstə sayı	TUBB3 ekspresiya səviyyəsi yüksək olan (%)
I	14	14,31
II	69	23,2
III	118	45,8
IV	49	53,11
Cəmi	250	

Cədvəl 3 c. TUBB3 genin ekspresiya səviyyəsinin metastatik limfa düyünlərinin sayından asılılığı

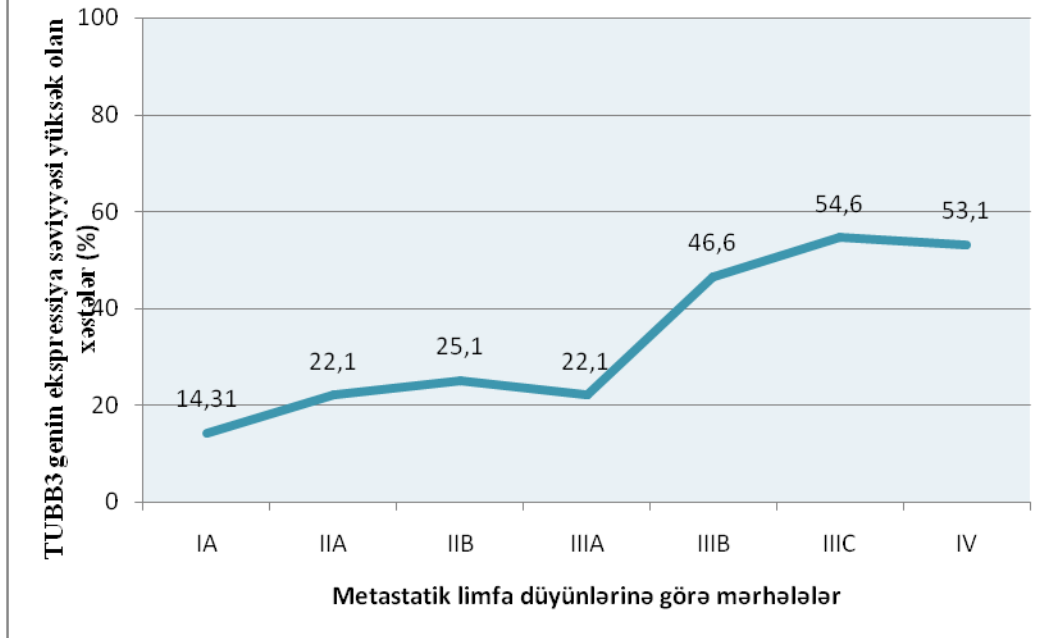
Metastatik limfa düyünlərinə görə mərhələlər	TUBB3 genin ekspresiya səviyyəsi (%)
IA	14,31
IIA	22,1
IIB	25,1
IIIA	22,1
IIIB	46,6
IIIC	54,6
IV	53,1

Cədvəllərdən göründüyü kimi xəstəliyin mərhələsinə təsir edən faktorlardan ən əsası gen mutasiyaları və ya genin ekspresiyasıdır.

Aşağıdakı qrafikdə TUBB3 genin ekspresiyasının xəstəliyin mərhələsinə təsiri göstərilib.



TUBB3 genin ekspresiya səviyyəsinin metastatik limfa düyünlərinin sayından asılılığı



Göründüyü kimi süd vəzi xərscəngi xəstələrində mərhələ artdıqca TUBB3 genin ekspresiyası da artır. Alınmış nəticələrə sonradan BRCA1/2 gen mutasiyaları haqqında məlumat əlavə ediləcək. Yuxarıda alınan nəticələr yerli jurnalda dərc edilib [Əliyev C. Ə., 2016]. Layihənin ana xətti başa çatandan sonra süd vəzi xərçəngi xəstəliyinin mərhələlərinə təsir edən molekulyar faktorlar prioritet istiqamət kimi araşdırılacaq.

3.Süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi xəstələrin regionlar üzrə paylanması.

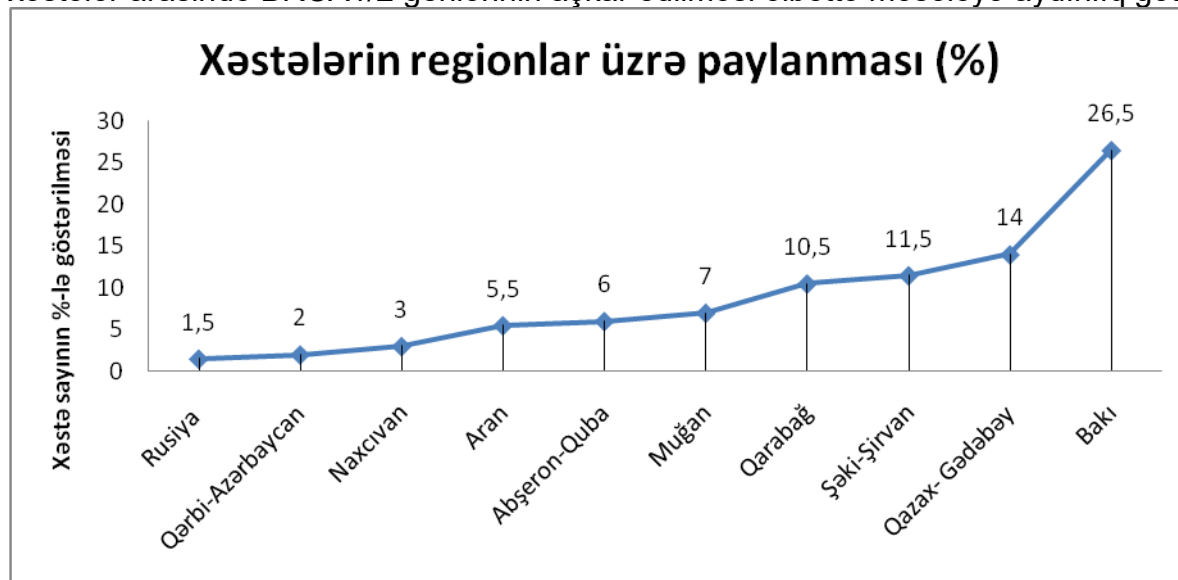
layihənin əsas vəzifələrindən biri toplanılan xəstələrin regionlar arası paylanmasıdır.

Cədvəl 4. Layihəyə daxil olan xəstələrin regionlar üzrə paylanması

Regionlar	Bakı	Abşeron-Quba	Şəki-Şirvan	Muğan	Aran	Qazax-Gədəbəy	Qarabağ	Naxçıvan	Qərbi Azərbaycan	Rusiya
Şəhər	Bakı	Abşeron	İsmayıllı	Saathı	İmişli	Goranboy	Ağdam	Naxçıvan		
Xəstə sayı	51	1	4	3	1	2	2	6	4	3
Şəhər	Xırdalan	Sumqayıt	Göyçay	Sabirabad	Şirvan	Gəncə	Bərdə			
Xəstə sayı		2	6	2	2	7	3			
Şəhər	Qaradağ	Qobustan	Qax	Masallı	Kurdəmir	Şəmkir	Çabrayıl			
Xəstə sayı	1	1	1	4	3	3	2			

Şəhər		Siyəzən	Qəbələ	Jardımlı	Ağdaş	Çadəbəy	Fizuli			
Xəstə sayı		1	5	1	1	4	7			
Şəhər		Şabran	Şəki	Lerik	Beyləqan	Qazax	Laçın			
Xəstə sayı		1	5	3	2	4	1			
Şəhər		Xaçmaz	Zakatala	Astara	Mingəcevir	Şamaxı	Qubadlı			
Xəstə sayı		3	2	1	2	4	2			
Şəhər		Quba				Xanlar	Şuşa			
Xəstə sayı		2				1	1			
Şəhər		Qusar				Ağstafa	Tərtər			
Xəstə sayı		1				2	2			
Şəhər						Sumax	Zəngilan			
Xəstə sayı						1	1			
Cəmi	53	12	23	14	11	28	21	6	4	3
Faizlə miqdarı	26,5%	6%	11,5%	7%	5,5%	14%	10,5%	3%	2%	1,5%

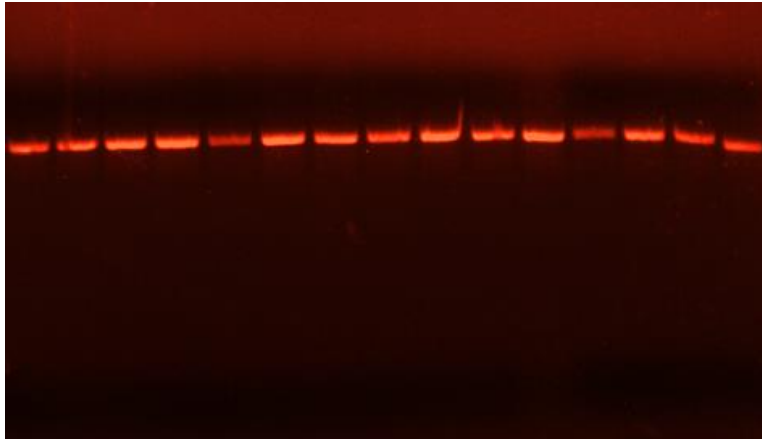
Cədvəldə ancaq 175 xəstə haqqında məlumat göstərilib. Layihədə irsi genlər haqqında məlumat istənilədiyi üçün insanlardan hal-hazırda yaşadıkları məkan haqqında deyil, əsil köklərin mənsub olduğu yerlər haqqında məlumat tələb edilib. Cədvəl 3-dən göründüyü kimi xəstələrin böyük əksəriyyəti Bakı şəhərində toplanıb. Digər böyük qrup isə Qazax-Gədəbəy zonasındadır. Qarabağ zonasından cəlb edilən xəstələrin sayı da lazımı qədər böyükdür. Qrafik 1-də xəstələrin regionlar üzrə paylanması daha aydın bir şəkildə göstərilib. Əlbəttə, xəstələrin sayının paytaxtda daha çox olması epidemioloji araşdırmalar vasitəsi ilə öyrənilməlidir və hal-hazırda da öyrənilir. Onlar bu faktı Bakı şəhərində illər ərzində sənaye müəssisələrinin olması, xüsusən də neft sənayesinin olması ilə əlaqələndirirlər. İllər ərzində Bakı-Abşeron ərazisində neft hasilatı keçirilib bu hasilat yaşayış məntəqələrinə çox yaxın yerləşmişdir. Amma bu risk faktorlarının hələ daha dərinədən, molekulyar səviyyədə öyrənilməsi vacibdir. Bakı-Abşeron zonasından olan qadınlar/xəstələr arasında BRCA1/2 genlərinin aşkar edilməsi əlbəttə məsələyə aydınlıq gətirə bilər.



Layihənin keçirildiyi müddət ərzində toplanan bu məlumatlar da sonrakı tədqiqatların bazası ola bilər.

4.Süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi xəstələrində BRCA1/2 genlərinin irsən ötürülən mutasiyalarının aşkar edilməsi

EDTA-lı tublarda toplanan periferal qandan “kolon”metodla ayrılan genetik material keyfiyyət və kəmiyyəti NanoDrop2000 və gel-elektroforez vasitəsi ilə yoxlanılıb. Şəkil 1-də elektroforez vasitəsi ilə yoxlanma zamanı alınmış fraqmentlərin tam olması materialın keyfiyyətini göstərir. NanoDrop2000 aparatı məhlulun 260nm/280nm ölçülən dalğa uzunluqlarının nisbətinin 1.8



olduğunu göstərib. Analizə götürülən xəstənin hər biri üçün belə keyfiyyət və kəmiyyət testi keçirilib.

Şəkil 1. Periferal qandan “kolon” metodla alınan genetik materialın keyfiyyətinin 0.3%-lı aqaroza gel-elektroforez yolu ilə yoxlanması. Quyucuqlara müxtəlif xəstələrdən görürülmüş müxtəlif qatılıqlı məhlul yüklənilib.

Göründüyü kimi DNT molekulu parçalanmayıb və bu yolla alınan

materialı uzun müddət dərin dondurucuda saxlamaq və genetik əməliyyatları keçirmək olar. Layihədə tələb edilən mutasiyaların aşkar edilməsi üçün bir necə metoddan istifadə edilib. Əslində ilkin olaraq testlərin NGS (Next Generation Sequencing) metodu ilə aparılması nəzərdə tutulurdu. Layihənin bu hissəsi MEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu ilə birgə görülməli idi. Amma reagentlərin çox baha olması (dolların məzənnəsinin qalxması və Genetik Ehtiyatlar İnstitutunda olan NGS maşınında keçiriləcək hər bir analizə maya dəyərinin yüksək olması) digər alternativ metodlara müraciyyət etmək məcburiyyəti yaratdı.

İlk olaraq HRT (High Resolution melting) metodu yoxlanıldı. Metod genetik materialı təşkil edən nukleotidlərin ərimə temperaturlarının bir-birindən fərqlənməsinə əsaslanaraq [Martino A., 2010] istənilən genin tam ardıcılığını oxumağa imkan verir. Bu metod NGS yolu ilə aparılan analizlərə nisbətən ucuz olsa da, son nəticələrin Sanger seqvenslə yoxlanmasını tələb edir. Bu metodla 14 xəstənin ancaq BRCA1 geninin tam seqvensi keçirildi. Cədvəl 5-də keçirilən analizlərinin nəticələri göstərilib. Xəstələr N1- N14 ardıcılığı ilə düzülüb. Onlardan 5-də ekson 10-un mutasiyası, 2-də isə ekson 12 və ekson 15-in mutasiyası aşkar edilib. 3 xəstədə intron 7 və 2 xəstədə 3'UTR-də vəhşi tipə görə mutasiya aşkar edilib. Aşkar edilən normadan fərqli eksonlar Sanger seqvens yolu ilə tədqiq olunub. Analizlər HRM analizi keçirmək üçün primerlərin dizainını hazırlayan GenMark firması tərəfindən keçirilib (GenMark, Türkiyə Respublikası). Məlum olub ki, BRCA1 genin 4 halında nukleotid dəyişikliyi tripletlə (kodonda) dəyişiklik əmələ gətirmir. Belə ki, zülal zəncirində vəhşi tipə aid olan amin turşu sintez edilib. Belə mutasiyalar zülalın funksiyasına təsir edə bilməz. 1 halda qeyri-polyar amin tursusu olan Prolin, elə öz kimyasına görə qeyri-polyar olan Leysinə çevrilib. Bu halda da sintez ediləcək zülal öz funksiyasını saxlayır. Ancaq bir halda Glutamin turşusu qeyri-polyar amin turşusu olan Qlisiinə çevrilib. N4 xəstə müşahidə altına alınıb və nəzarətdə saxlanılır. Qeyd etmək lazımdır ki, data base-lərdə bu mutasiya görünmür. Cədvəl 3-də mutasiyanın pozisiyası N4 göstərilib: BRCA1 ekson 11, c.3113 (A/G), Glu1038Gly. İD169 xəstə, 1970-ci il təvəllüdü, 2015-çi ildə süd vəzi xərçəngi diaqnozu qoyulub. Ailə tarixçəsində süd vəzi xərçəngi diaqnozu qoyulmuş 1 nəfər (anası) olub və o diaqnoz təsdiq ediləndən təqribən 2 il

sonra, 63 yaşında vəfat edib. Xəstənin müalicədən sonra və planlı yoxlamalar zamanı müayənənin nəticələri laborator "CancerReg" saxlanılır.

Cədvəl 6. 14 xəstədə HRM metodu və sonradan secilmiş fraqmentlərin Sanger sekvens vasitəsi ilə BRCA1 genin tam analizindən alınan nəticələr

N	BRCA1 ekzonlar	Aşkar edilən mutasiyanın lokalizasiyası	Mümkün amin turşu dəyişikliyi	Qeyd
1	Ekzon 10	2082 ,C/T homoziqot	Ser694Ser	
2	Ekzon 10	2311, T/C homoziqot	Leu771Leu	
3	Ekzon 10	2612, C/T homoziqot	Pro871Leu	Qeyri-polyar amin turşusu Prolin(Pro), geyri-polyar amin turşusu olan Leucinə (Leu) çevrilib
4	Ekzon 10	3113, A/G homoziqot	Glu1038Gly	Glutamin turşusu (Glu) geyri-polyar amin tursusu olan Qlisinə (Gly) çevrilib
5	Ekzon 10	3548, A/G homoziqot	Lys1138Lys	
6	Ekzon 12	4308, T/C homoziqot	Ser1436Ser	
7	Ekzon 15	4837, A/G homozigot	Ser1613Gly	Polar amin tursusu olan Serin (Ser), geyri-polyar amin tursusu olan Qlisinə (Gly) çevrilib
8	Intron 7 (İVS 7)	İVS7-58delT homozigot		Şübhəli variant kimi göstərilib [25]
9	Intron 13 İV13	İVS13-137 T/A homoziqot		
10	Intron13 İV13	İVS13-63C/G homozigot		
11	3'UTR	Nukleotid pozisyonu 421G/T homozigot		
12	3'UTR	3'UTR+871-873delAAA		
13	Intron7	İVS7-34C>T heterozigot		
14	Intron 7	İVS7+36delCTT homoziqot		

Analizə götürülən xəstələr ailə tərixçəsi olan qrupdan secilmişdir. Çox təəsüf ki, metod NGS metoddan nisbətən ucuz olsa da, yenə də maya dəyəri yüksək olaraq qalmışdır. Digər tərəfdən vəhşi tipdən fərqlənən fraqmentlərin yenidən Sanger sekvenslə yoxlanması məcburiyyəti tələb edilir. Bu səbəbdən kiasik metodlardan birinə müraciyyət etməli olduq.

Beləliklə, ədəbiyyat mənbələrinə istinad edərək [Berry DA, 1997; Atoum MF, 2004; Walsh T, 2010; Andrew J.W., 2016] biz layihədə qarşımıza qoyduğumuz məqsədi yerinə yetirmək üçün allel-spesifik PCR və allel-spesifik praymerlər vasitəsi ilə BRCA1/2 genlərinin bütün populyasiyalarda müxtəlif tezliklərlə aşkar edilən klinikası məlum aktivləşdirici 8 mutasiyasının öyrənmək qərarına gəldik. NCCN-guideline (National Comprehensive Cancer network) 2015-ci il məsləhətlərində klinikalarda məhz bu metoddan istifadə etməklə BRCA1/2 genlərinin ən geniş yayılmış mutasiyalarını aşkar etmək məsləhət görülür [National Institutes of Health (NIH), 2015 aprel report]. Bu analizləri keçirməzdən əvvəl testlərin maya dəyəri hesablanmışdır. Reaktivlər və lazım olan kimyavi maddələrin bir hissəsi Rusiya Federatsiyasında zifariş edilib, digərləri ABŞ və Almaniyada istehsal olunan mallardır.

Biz layihədə analizlər keçirilməsi üçün Cədvəl 7 göstərilən mutasiyalar secildi. Bu mutasiyalar Qərbi Avropa və Cənub-Qəbrü Asiya ölkələrində ən geniş yayılan aktivləşdirici gen mutasiyalarıdır [Karami F., 2013; Yael L., 2013; Pohlreich P., 2013; Antonuo A.C., 2014; Balci A., 1999; Jeffrey N.H.; Любченко Л.Н., 2009]. Göstərilən mutasiyalar yaxın qonşularımızda, etnik yaxın populyasiyalarda aşkar edilməsi onların layihədə istifadə edilməsi üçün şərt olaraq göstərilib.

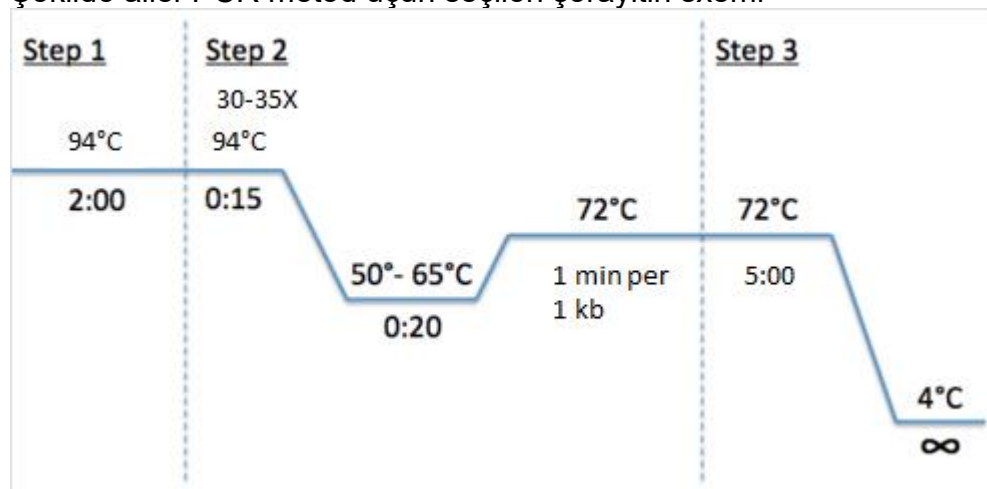
Cədvəl 7. BRCA1/2 genlərinin aktivləşdirici mutasiyalarının lokalizasiyası, praimerlərin strukturu, gözlənilən fraqmentlərin uzunluğu

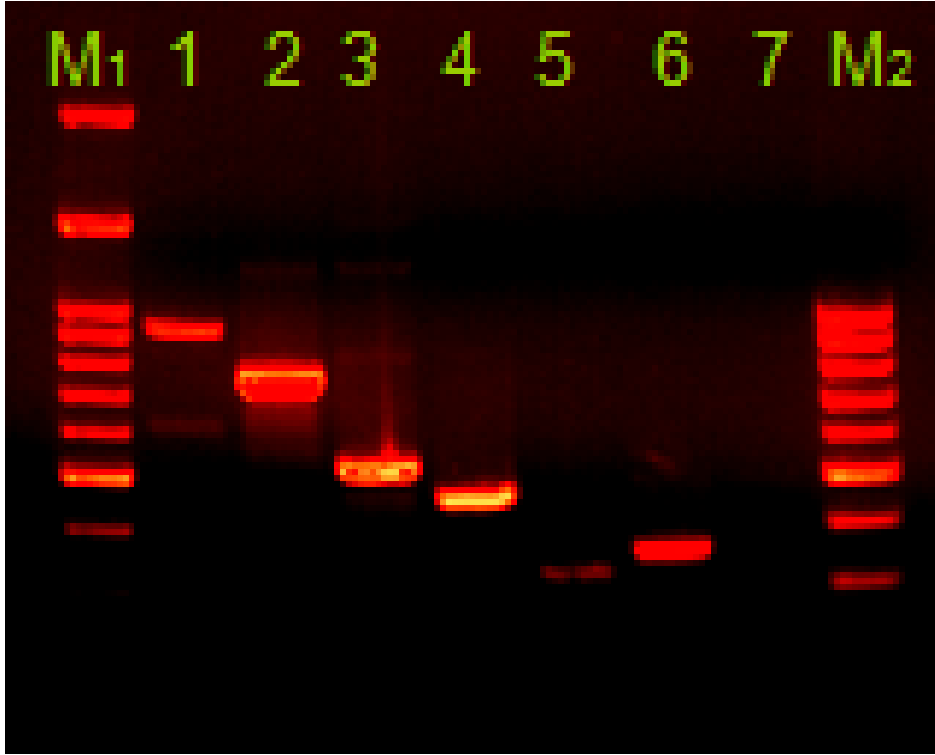
Genlər və Gen banklarında onların lokalizasiyası	Aktivləşdirici mutasiyaların genlərdəki pozisiyası	Praymerlərin strukturu	Gözlənilən fraqmentlərin uzunluğu (bp)
BRCA1 LRG_292 NG_005905.2	BRCA1_185delAG rs.93953 c. 185	5'-ctatgcagaaaatcttAGag-F (wt) 5'-tgctatgcagaaaatctt--ag-F (mt) 5'-cacctatcgtccctgctact- Rc	928 bp
	BRCA1_4153delA rs.126487 c.4153	5'-tggtttcagatgatgAag-F (wt) 5'-ttggtttcagatgatg-ag (mt) 5'- gtcggtgtgtgaaata-R	730bp
	BRCA1_5382insC rs.160917 c.5382	5'-ccaaagcgagcaagagaaTc-F (wt) 5'-caaagcgagcaagagaaTCc-F (mt) 5'- aaggcgggaggatcaca-Rc	530bp
	BRCA1_5622C>T rs.172216	5'-aggcacctgtggtgaccCg-F (wt) 5'- gaggcacctgtggtgaccTg- F (mt)	453bp

	c.5622	5'- ctctgtgcttccagcccta-Rc	
	BRCA1_T300G rs.111497 c.300	5'-aagaaaggg ccttcacagTg-F (wt) 5'- aagaaaggg ccttcacagGg- F(mt) 5'- caagattaacagacaatg -Rc	321bp
BRCA2 LRG_293, NG_012772.3	BRCA2_6174delT rs.29822 c. 6174	5'-ggatttttagcacagcaagTg-F (wt) 5'- ggatttttagcacagcaag-g-F (mt) 5'-cattttgtctagacgtaggt-R	358bp
	BRCA2_9254del5 rs.63343 c. 9254	5'- gagatacagaatttATCATc-F (wt) 5'- gaaagagatacagaattt-----ct-F (mt) 5'- gaattgagagaattgctttt-Rc	496bp

F_{wt}- vəhşi tipə aid düz praymerlər; F_{mt}- mutant tipə aid düz praymerlər; R_c- ümumi olan əks praymerlər; rs-genlərin uyğun nükleotid ardıcılığı; C- genin klonlaşmış (kDNA -ə çevrilmiş) ardıcılığında pozisiyası. LRG və NG-genlərin pasport informasiyası

Şəkilə allel-PCR metod üçün seçilən şərayitin sxemi





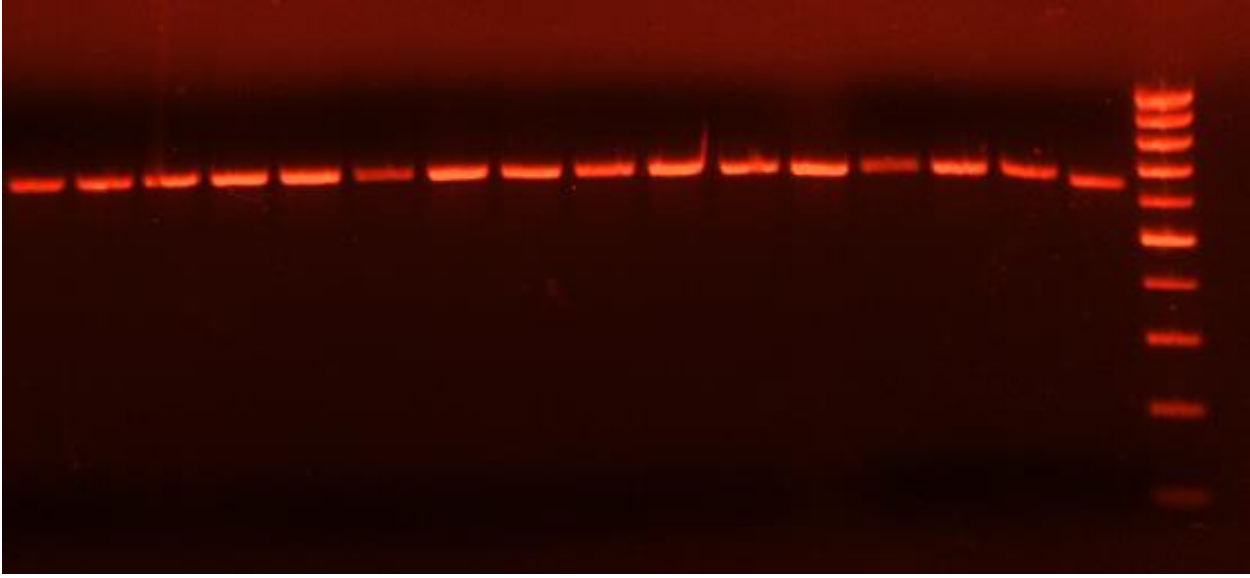
Şəkil 3. Gözlənilən fraqmentlərin PCR amplifikasiyadan sonra yoxlanması. M1 və M2 məlum molekul çəkilyə malik standart fraqmentlərdir. M1-3000bp-100bp; M2-1000bp-100bp-dir. N1-N7-də PCR-analizdən sonra gözlənilən fraqmentlərdə. Analizlərdə istifadə edilən DNT-nin miqdarı eyni götürülməyib Beləliklə, analizdə alınan fraqmentlərin molekul cəkisi cədvəl 2 göstərilən allel-spesifik praymerlərlə keçiriləcək PCR-amplifikasiya zamanı alınması gözlənilən fraqmentlərə uyğun gəlir. Təkcə N7 quyucuqda

gözlənilən 431bp-lik fraqment sintez olunmamışdır. Güman olunur ki, BRCA2_9254del5 mutasiyanı aşkar etmək üçün istifadə edilən praimerlər və allel-spesifik PCR ancaq nöqtəvi mutasiyaları (və ya SNP-ri) aşkar edə bilər. Göründüyü kimi 5 nukleod əskikliyi olduğu ardıcılıqda praymerin oturması çətin olmuşdur. Bunları nəzərə alaraq BRCA2_9254del5 mutasiyasına aid olan praymerlər tədqiqatdan çıxarılmışdır.

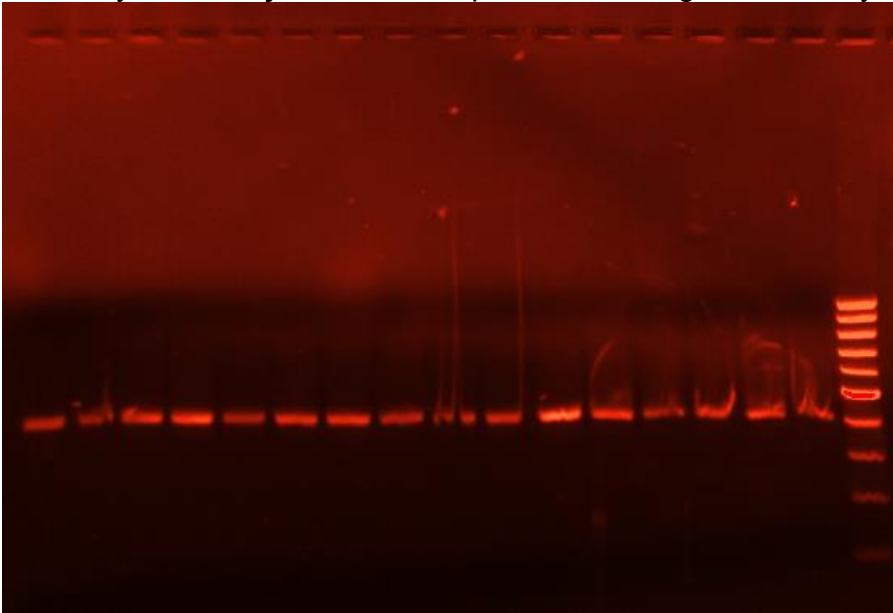
Beləliklə, analizdə alınan fraqmentlərin molekul cəkisi cədvəl 7 göstərilən allel-spesifik praymerlərlə keçiriləcək PCR-amplifikasiya zamanı alınması gözlənilən fraqmentlərə uyğun gəlir. Təkcə N7 quyucuqda gözlənilən 431bp-lik fraqment sintez olunmamışdır. Güman olunur ki, BRCA2_9254del5 mutasiyanı aşkar etmək üçün istifadə edilən praimerlər və allel-spesifik PCR ancaq nöqtəvi mutasiyaları (və ya SNP-ri) aşkar edə bilər. Göründüyü kimi 5 nukleod əksikliyi olduğu ardıcılıqda praymerin oturması çətin olmuşdur. Bunları nəzərə alaraq BRCA2_9254del5 mutasiyasına aid olan praymerlər tədqiqatdan çıxarılmışdır.

Digər mutasiyalara aid olan praymerlər normal nəticə verdiyi üçün tədqiqatlarda onlardan istifadə etmək nəzərdə tutulur. Diqqət çəkən əsas məsələlərdən biri işin 50% manual olaraq həyata keçirilməsidir. Hər analize nəticələrin arxivləşdirilməsi daxil təqribən 7-8 saat vaxt sərf edilib. Layihənin gedişi zamanı 1570 analiz keçirilib. Bir çox analizlər təkrar olunub. Bəzi analizlərin təkrar olunması gözlənilir. Xəstələrdən toplanılan qan -20°C, analizlərdən artıq qalan genetik material -40° C-də saxlanılır. Xəstə klinik material haqqında informasiya laborator "cancerReg" toplanıb.

İşi asanlaşdırmaq və nəticələrin oxunmasını tezləşdirmək üçün hər bir qrupda bütün xəstələrə 1 praymer tətbiq etməklə analiz keçirilib. Yəni bütün xəstələrdə bir mutasiyanın oxunması eyni vaxtda aparılıb. Şəkil 4-dən planlı şəkildə keçirilən belə bir analizlərin nəticələrini təsvir edilib. müxtəlif xəstələrin genetik materialları eyni zamanda analiz edilib. Analizə eyni miqdarda genetik material (DNA) sərf edilib. Bu analiz BRCA1_185delAG mutasiyasını aşkar etmək üçün dizayn olunan praymerlərlə aparılıb.



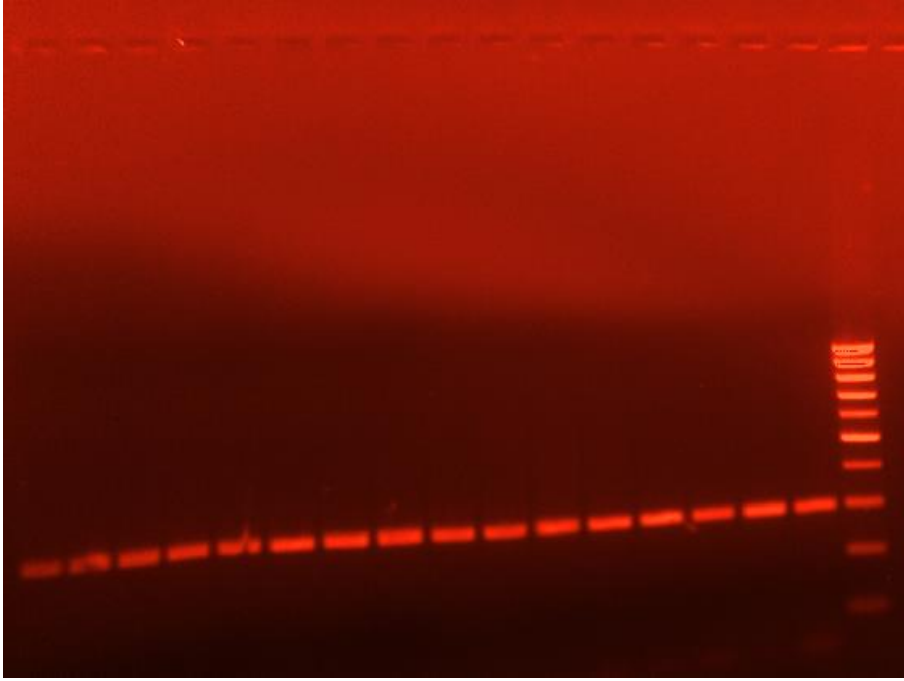
Şəkil 4. 3%-li agarozda gelində PCR-amplifikasiyadan sonra BRCA1_185delAG mutasiyasını aşkar etmək üçün keçirilən gel-elektroforez. Analizdə ancaq vəhşi tipə aid olan praymerlərdən istifadə edilib. Göründüyü kimi bütün quyucuqlarda gözlənilən fraqmentə komplementar fraqmentlər aşkar edilib. Şəkində sağda 3000bp-100bp-lik standart raqmentlərigörürsüz. Bu mutasiyanı aşkar etmək üçün keçirilən analizlərə aid dokumentlər bir qovluqda toplanmışdır. Hər bir xəstəyə aid olan analiz quyucuğu nömrələnmiş, laborator “CancerReg” saxlanılır. Digər praymerlərlər keçirilən analizlər də eyni qayda ilə fiksə edilib və materiallar dokumentləşdirilib. Mutasiyaların aşkar edildiyi xəstələrdə (aşağıdakı nümunələrdə göstəriləcək) quyucuqlar oxla göstərilib. Nümayəş edilən şəkllərdə göstərilən analizlər ancaq vəhşi tipə aid olan praimerlələ keçirilib. Qeyd etmək istəyirəm ki, PCR-amplifikasiyadan sonrakı fraqmentlər (elektroforezden sonra) laborator soyuducularında, -40°C-də saxlanılır. Mutasiya aşkar edilən fraqmentlərin sonradan təsdiqlənməsi üçün fraqmentlərin bəziləri Sanger sekvens (kamersiya) yolu ilə analiz edilib. Analizə yollamamışdan əvvəl fraqmentlərin saflığı və bütövlüyü elektroforez vasitəsi ilə yoxlanılıb.



Şəkil 5-də BRCA1_4153

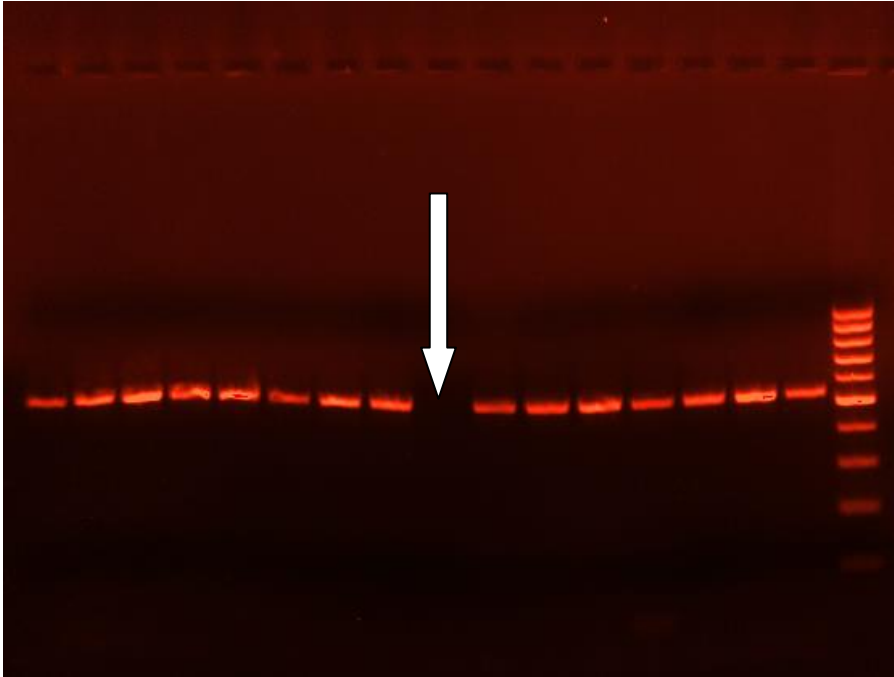
mutasiyasını aşkar etmək üçün keçirilən analizlərin fiksə edilmiş şəkilləri. Fraqment gözlənilən kimi 395bp uyğun gəlir. Standart fraqmentlər 1000bp-100bp arasında dır. Bu analizdə mutasiya

aşkar edilməyib.



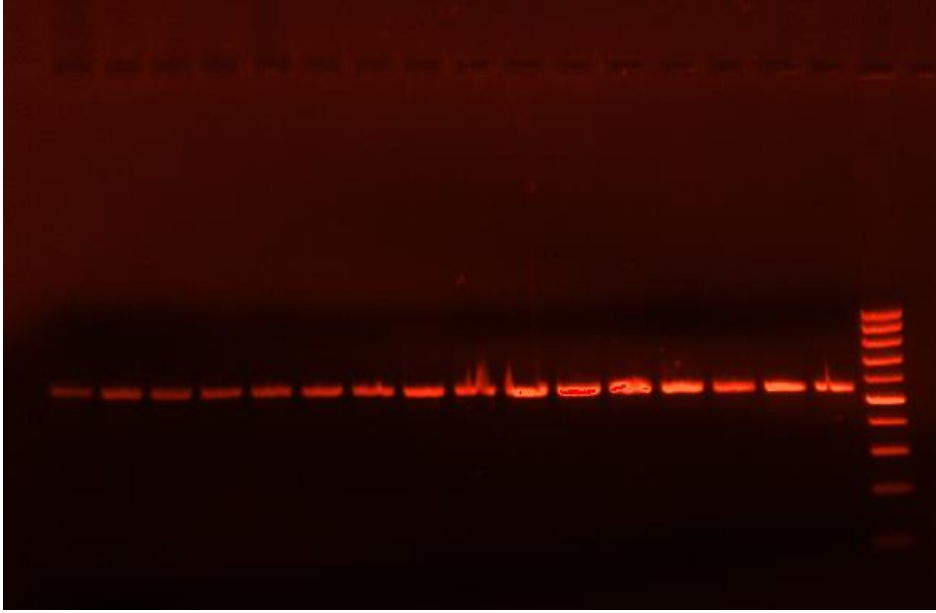
Şəkil 6-da BRCA1_5382insC

mutasiyasını aşkar etmək üçün keçirilən analizlərin fiksə edilmiş şəkilləri. Fraqment gözlənilən kimi 310bp uyğun gəlir. Standart DNT fraqmentləri 1000bp-100bp arasındadır.



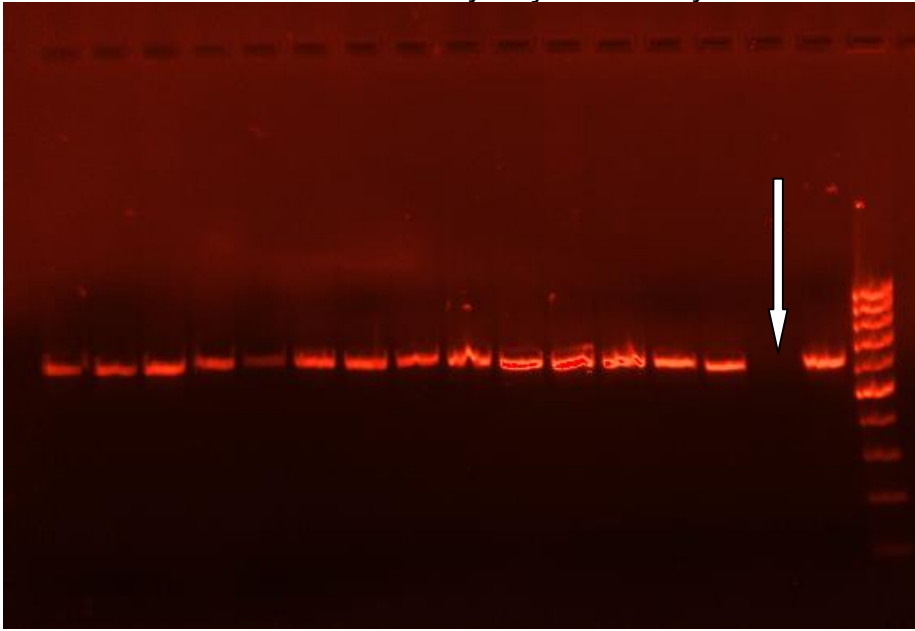
Şəkil 7-da BRCA1_5622C

mutasiyasını aşkar etmək üçün keçirilən allel-spesifik PCR amplifikasiyadan sonrakı fraqmentlərin aqaroza-gel elektro-farezdəki identifikasiyası. Standart fraqmentlər 1000bp-100bp olmaqla yuxarıdan aşağıya oxunur. Fraqment gözlənilən kimi 502bp uyğun gəlir. Oxla göstərilən quyucuqda mutasiya aşkar edilib.



Şəkil 8-da BRCA1_T300G

mutasiyasını aşkar etmək üçün keçirilən analizlərin aqarozagel-elektroforez vasitəsi ilə fiksə edilməsi. Fraqment gözlənilən kimi 540bp uyğun gəlir. Standatr fraqmentlər 1000bp-100bp əhatədir. Azalız zamanı mutasiya aşkar edilməyib.



Şəkil 9-da

BRCA2_6174delT mutasiyasını aşkar etmək üçün keçirilən analizlərin aqaroza gel-elektroforezdən sonra fiksə edilməsi. Fraqment gözlənilən kimi 610bp uyğun gəlir. Standart markerlər 1000bp-100bp-yə uyğundur. Şəkildə aşkar edilən mutasiya 2-ci quyucuqda oxla göstərib.

Analiz keçirilən xəstələrin nəticələri laborator "CancerReg" saxlanılır. Layihinin sonuncu hesabatı üçün hazırlanan nəticələr aşağıdakı cədvəldə göstərib.

Cədvəl 5. Layihədə iştirak edən süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi xəstələrinin qrupları və hər qrupda aşkar edilmiş aktivləşdirici gen mutasiyaları

No	Qrupun adı	Xəstə sayı (n1)	Aşkar edilən mutasiya sayı (n2)
1	Ailə anamnezi olan qadınlar: 1-ci və 2-cı dərəcəli qohumlarda süd vəzi xərçəngi, yumurtalıq xərçəngi, prostat vəzi və mədə altı vəzi xərçəngi olan qadınlar	141	12/141
2	Yaş qrupu: 35 yaşına qədər ailə anamnezi olmayan qadınlar	52	6/52
3	İki tərəfli süd vəzi xərçəngi olan qadınlar	11	2/11
4	Süd vəzi xərçəngi olan kişilər	7	0
5	İki tərəfli süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi olan qadınlar	2	2/2
6	Eyni zamanda süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi olan qadınlar	6	2/6
7	Yumurtalıq xərçəng olan qadınlar	21	1/21
8	Xüsusi hormonal statusu olan qadınlar (3 qat neqativ)	29	4/19
Cəmi		n1=263	n2=29

Kişi süd vəzi xərçəngi diaqnozu qoyulmuş xəstə qrupundan başqa bütün qruplarda mutasiya aşkar edilmiş xəstələr mövcuddur. Əslində statistik məlumat almaq üçün hər bir qrupda xəstə sayının daha çox olması gərəkdir. Aparılan işdə yetərli xəstə sayı ancaq ailə anamnezi olan qrupda var. Bunu nəzərə alaraq layihədə statistik təhlilə yer verilmədi. Digər tərəfdən işin respublikamız üçün aktuallığını nəzərə alaraq irsən ötürülən və bəd xassəli şişlərin yaranmasına səbəb olan BRCA1/2 kimi genlərin tədqiqatının həm fundamental, həm də klinik istiqamətdə aparılması planlaşdırılır. Bu baxımdan əvvəlcədən nəzərdə tutulan qruplarda xəstə toplanması davam edir. Sonuncu statistik məlumata əsaslanaraq 263 təhlil olunmuş xəstədən əlavə daha 130 təhlil olunmamış genetik material mövcuddur. Bu xəstələr qruplar arasında paylanılıb, onlardan EDTA-tubda qan toplanılıb və genetik material ayrılıb. Ayrılan genetik material sonrakı tədqiqatlar üçün -40°C saxlanılır, götürülən qan genetik material alınandan sonra -20° C saxlanılır. Cədvəl 6-da layihəyə cəlb edilən qadınlarda təqdim edilən metodlarla aşkar edilən mutasiyaların siyahısı göstərilib. Mutasiya aşkar edilmədiyi hallar xətlərlə işarə edilib. Amma qeyd etmək istəyirəm ki, mutasiyaların aşkar olmaması onların populyasiyada mövcud olmaması qənaitinə gəlmək deyil, hətta "qizil standart" sayılan Sanger sekvens də mutasiya aşkar edilən və edilməyən fraqmentlərin təkrar sekvensini tələb edir [Andrey J. W., 2016].

Cədvəl 8. Allel-spesifik praymer / allel-spesifik PCR-metodla təyin edilən BRCA1/2 genlərin irsən ötürülən mutasiyaları və onların Azərbaycan populyasiyasında yayılma sıxlığı

Genlər, mutasiyaların tipi və lokalizasiyası	Aktivləşdirici gen mutasiyalarının yayılma sıxlığı
BRCA1_5382insC	10
BRCA1_5622T	7
BRCA1_185delAG	5
BRCA1_T300G	2
BRCA1_4153delA	-----
BRCA2_6174delT	5
BRCA2_9254del5	-----
Cəmi	29

BRCA1_4153delA və BRCA2_9254del5 mutasiyaları tədqiqatda aşkar edilməmişdir. BRCA1_4153delA mutasiyası Polşa [Rataiska M., 2008], Rusiya [Chasonikova I.V., 2002] və Belarusi populyasiyasında [Baqdanova R.C., 2008] aşkar edilib. Digər aşkar edilməyən mutasiya BRCA2_9254del5-dir. Biz güman edirik ki, mutasiya istifadə etdiyimiz metod və dizayn etdiyimiz praymerlərlə təyin edilə bilmir. Belə ki, sintez edilən praymerlərin vəhşi tipdə gözlənilən fraqmentləri sintez etməməsi buna subut ola bilər. Əslində mutasiyaya bağlı olaraq seçilən praymerlərin ərimə temperaturları (Tm) çox vaxt PCR şəraitinin standartda uyğun olmaması ilə səciyyələnir. Adı gedən mutasiyanın təyinində istifadə ediləcək praymerlərin ərimə temperaturu 48°C olun. Bu mutasiya İspan [Nerta C., 2003; Milne R.L., 2008], İngilis [Neuhausen S.N., 1998] populyasiyasında aşkar edilib. Əslində BRCA2_9254del5 mutasiya “çərçivə sürüşməsi” ilə əlaqədar olduğu üçün və daha çox cavan yaşlı xəstələrdə [Milne R.L., 2008] aşkar edildiyi üçün mutasiyanın lokalizasiya olduğu regionun araşdırılması lazımdır. Gələcəkdə toplanan arxiv materiallar üzərində adı cəkilən sahənin NGS və ya hər hansı bir sekvens cihazla tədqiqi planlaşdırılır

Layihədə iştirak edən qadınlar arasında aşkar edilməsi məqsədə uyğun sayılan BRCA1/2 genlərinin irsən ötürülən mutasiyaları arasında BRCA1 genin c.5382insC pozisiyasında lokalizasiya olunan aktivləşdirici növtəvi mutasiyası yayılma sıxlığına görə birinci yerdə gedir. Mutasiya Rusiya [Любченко Л.Н., 2014], Türk [Manguoglu E, 2010], Ruminiya [Negura N., 2010], Yunan [Anagnostopoulos T., 2008] populyasiyaları arasında yayılıb. İkinci yerdə aşkar olma tezliyinə görə BRCA1_5622T mutasiyası durur. 3-cü yerdə BRCA1/2 genlərinin irsi mutasiyalarını tədqiqat obyektinə seçən bütün millətlərdə aşkar edilmiş BRCA1_185delAG gedir. Bu mutasiya hal-hazırkı ədəbiyyat məlumatlarına görə [Mehdipour P., 2013] bütün populyasiyalarda aşkar edilib. BRCA1 genin 2-ci eksonunda yerləşir və genin funksiyonal fəaliyyətini təmin edən domenə aiddir [Ake Borg., 2010]. Yayılma tezliyinə görə BRCA1_185delAG mutasiyadan geridə qalmayan BRCA1_T300G mutasiyası da Azərbaycan populyasiyasında aşkar edilib. BRCA1_T300G mutasiyası keçmiş sovet ölkələri arasında daha çox Sibir xalqlarına məxsus mutasiyadır [Cherdyntsova N. V., 2014]. Mutasiyanın Asiya xalqları arasında yayılması haqqında da məlumat var [Ma V., 2006, 2010 və Xiong J., 2009]. BRCA2_6174delT mutasiyası yayılma sıxlığına görə BRCA2 genin ən çox aşkar edilən mutasiyasıdır. Klinikası əsasən yumurtalıq xərçəngi olan qadınlarda təsvir edilib [Bougie O., 2011]. İlk dəfə olaraq Aşqazi yəhudi populyasiyasında [Neuhausen S., 1993] aşkar edilib. BRCA2 genin 11-ci eksonunda yerləşir. Funksiyonal domendə baş verən mutasiya BRCAs-əlaqəli süd vəzi, yumurtlıq, mədə altı vəzi xərçəngi riski yaradır [Golan T., 2014].

BRCA1 genin 2-ci eksonu 20 xəstədə Sanger sekvens yolu ilə analiz edilib. Analizlər Türkiyə

Respublikasında komersiya yolu ilə analiz etdirilib (GenMark, Tr). 20 xəstənin 5-də allel-spesifik PCR metodu BRCA1_185delAG mutasiya aşkar edib, qalan 15 xəstədə BRCA1-in 2-ci eksonu vəhşi tip kimi qiymətləndirilib. 20 xəstənin hər birinə Sanger sekvens metodu tətbiq edilib. Sekvensdən alınan nəticələr və allel-spesifik PCR metodun nəticələri 18 xəstədə uyğun gəlib, 1 xəstədə Sanger analiz üçün göndərilən genetik material kifayət olmayıb, analizlərin təkrar oxunmasına ehtiyaç olub. Digər xəstədə genetik material parçalanmaya məruz qalıb. Hər iki genetik material allel-spesifik PCR metodla genin vəhşi tipi kimi qiymətləndirilib. Analizlər komersiya yolu ilə keçirilib, bunu nəzərə alaraq nəticələr hesabatla əlavə edilməyib

MATERIAL VƏ METODLAR

I. Xəstələr və yaradılan xəstə qrupları haqqında məlumat

Grant layihəsində iştirak edəcək xəstələr ədəbiyyatda göstərilən [] və təcrübəyə əsaslanaraq Milli Onkologiya Mərkəzinə (MOM) 2015-2018-ci ildə müraciyyət edən süd vəzi xərçəngi diaqnozu qoyulmuş xəstələr arasından seçilmişdir. Bu xəstələrin seçilmə parametrləri aşağıda göstərilən kimi olmuşdur:

1. Süd vəzi xərçəngi 35 yaş və ya daha tez aşkar olunub
2. Süd vəzi xərçəngi 45 yaş və ya daha tez aşkar olunub və xəstədə aşağıda qeyd olunanlardan biri varsa:

a) 45 yaş və ya daha tez yaşda süd vəzi xərçəngi aşkarlanmış en azı bir yaxın qan qohumu,
b) epitelial yumurtalıq xərçəngi aşkar olunmuş en azı bir yaxın qan qohumu,
c) xəstədə bilateral və ya iki birincili süd vəzi xərçəngi qeyd olunur və bunlardan birincisi 45 yaş və ya daha tez aşkar olunub,
d) xəstənin məhdud ailə tərkibi var və ya xəstə övladlığa götürüldüyü üçün ailə tarixçəsi məlum deyil

3. Xəstədə süd vəzi xərçəngi hər hansı bir yaşda aşağıdakı göstərilənlərlə birlikdə aşkar olunub:

a) ailədə,eyni tərəfdə en azı iki yaxın qan qohumu süd vəzi və ya epitelial yumurtalıq xərçəngi ilə xəstələnibsə

b) xəstədə iki birincili süd vəzi xərçəngi diaqnozu təsdiqlənib,həmçinin xəstənin en azı bir yaxın qan qohumunda 50 yaş və daha tez süd vəzi xərçəngi aşkar olunub,və ya

c) xəstədə iki birincili süd vəzi xərçəngi diaqnozu təsdiqlənib,həmçinin xəstənin en azı bir yaxın qan qohumunda epitelial yumurtalıq xərçəngi aşkar olunub,və ya

d) kişi cinsindən olan yaxın qan qohumunda süd vəzi xərçəngi aşkarlanıbsa,və ya

e) xəstənin əlavə ailə anamnezi tələb olunmayan,yüksək mutasiya tezliyi rast gəlinən etnik mənsubiyyəti (Aşkenazi yəhudiləri)

f) ailədə,eyni tərəfdə iki yaxın qan qohumunda istənilən yaşda pankreas adenokarsinoması rast gəlinibsə

4. Xəstədə 60 yaş və daha tez “triple negative” süd vəzi xərçəngi diaqnozu qoyulubsa

5. Süd vəzi xərçəngi diaqnozu qoyulmuş kişi xəstələr

Xəstələri sorğu blankı bu hissənin sonuna əlavə edilib. Bu sorğu blankları həm həkim-onkoloqlara, həm də laborator işçilərə paylanılıb.

Bu şərtləri nəzərə alaraq layihinin keçirildiyi müddət ərzində toplanan 263 süd vəzi və yumurtalıq xərşəngi diaqnozu qoyulmuş xəstə 8 yarıq qrup arasında paylanılıb. Bu qruplar nəticələrin təsvir edildiyi hissədə cədvəl 1-də göstərilib.

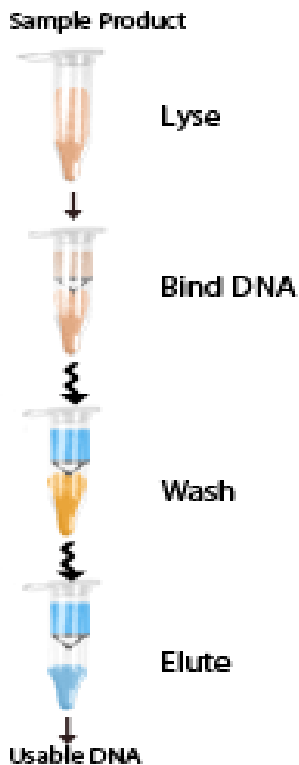
II. Biomaterial və genetik material

Biomaterial olaraq xəstələrin periferal qanından istifadə edilib. 2 mL qan EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) tublarda toplanılıb. Qanı soyuduçuda (2-8C) dərəcədə 7 gün ərzində saxlamaq olar. İstifadədən sonra toplanan biomaterial sonrakı tədqiqatlar üçün -40° C keçirilib. Hər bir material kodlaşdırılıb və laborator komputerlərdə saxlanılıq.

Genetik materialın alınması Qiagen firmasının kitləri vasitəsi ilə aparılıb (Qiagen, Gr). Analizlər Qiagen Hand book (<https://www.qiagen.com>) protokolları əsasında aparılıb. Aşağıdakı sxemdə kitlər və analiz sxemi göstərilib.



a) Layihədə istifadə edilən reagentlər



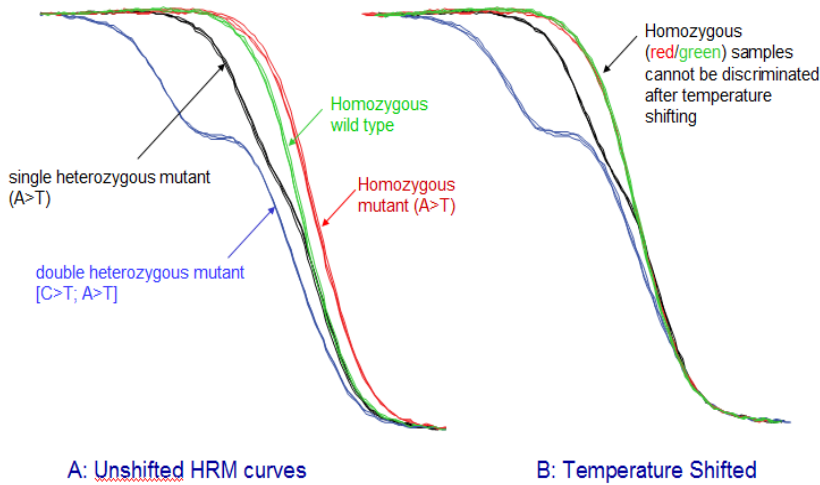
b) Genetik materialın alınması sxemi. Bu metodla biomaterialdan 20 dəqiqə əzində DNT molekulası almaq olur. Alınan genetik materialın kəmiyyət və keyfiyyəti NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, US)

spektrofotometrində yoxlanılıb. Alınan məhlulun 260nm/280nm dalğa uzunluğunda olan ölçülər nisbətinin təqribən 1.8 bərabər olması genetik materialın iş üçün yararlı olmasını göstərmişdir. Bu yolla işlədiləcək məhlulun 1 mikrolitrində olan maqqəmiqdarı da aşkar edilir.

Bəzi hallarda alınan materialın keyfiyyəti gel-elektroforez yolu ilə də yoxlanılıb. Nəticə bölümündə Şəkil 1 alınan DNT molekulunun saflığını göstərir. İstifadədən sonra DNT məhlulu arxivləşdirilib və -40°C saxlanılıb.

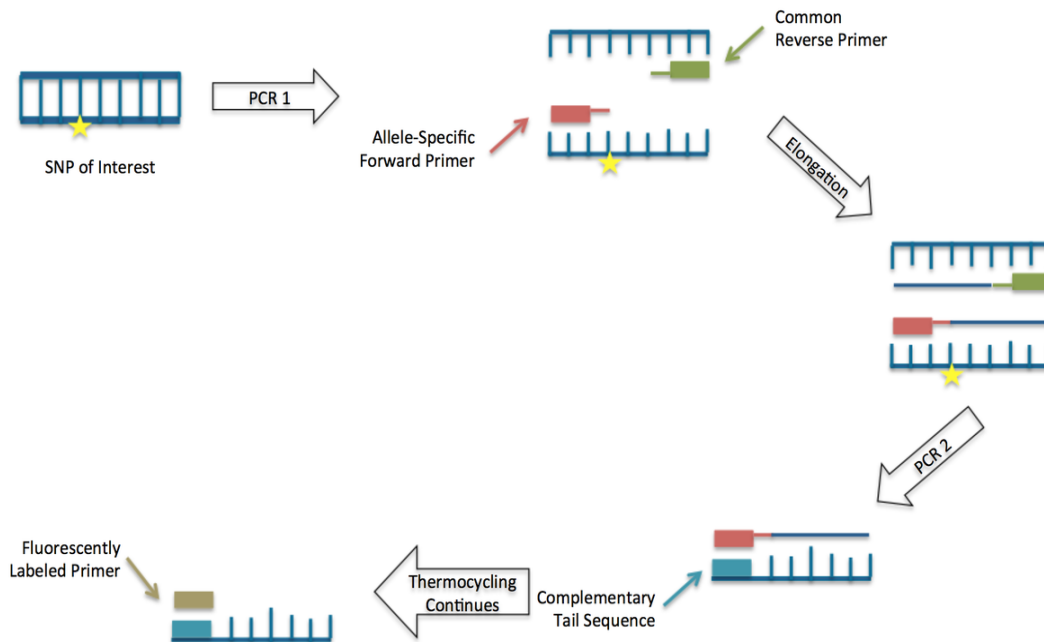
Layihədə BRCA1/2 genlərində olan mutasiyaları aşkar etməküçün 2 metoddan istifadə edilir.

1. HRM (High Resalution Melting) metodu: metod nukleodların müxtəlif ərimə temperaturuna əsaslanır. Şəkildən görüldüyü kimi uyğun fraqmentlərdə olan nukleotid dəyişikliyi alınan qrafiklərinformasını dəyişir. Həm soldakı, həm sağdakı qrafikdə analiz edilən nümunə ilə vəhşi tipin konkret temperatur dəyişikliyinə uğradığı zaman alınmış nəticəsi göstərilib. Görüldüyü kimi analiz edilən nümunə vəhşi tiplə eynidirsə, yeni mutasiya aşkar edilməyibse, qrafiklər sağda görüldüyü kimi olacaq, əks halda vəhşi tipə aid olan qrafiklə



analiz edilən nümunənin qrafiki biri-birindən fərqlənəcək. Bu vəziyyət şəkildə solda göstərilib.

2. İstifadə edilən 2-ci metod isə klissik allel-spesifik PCR metodudur. Bu metodla gendə istənilən nöqtəvi mutasiyanı aşkar etmək olar. Metod primer dizain edilməsi, allel- spesifik PCR texnologiya və sonradan gel-elektroforezle aşkar eidlməyə əsaslanır. Layihədə 1.5%-lı agarozla gel-elektroforezdən istifadə edilib. Nəticə bölümündə yerləşdirilən Cədvəl 2-də primerlərin strukturu və BRCA1/2 genlərin aktivləşdirici mutasiyalarının lokalizasiyası götürülib. Allel-spesifik PCR, secilən PCR-şərayiti praymerlərin qaynama temperaturundan asılı olub. Agarozla gen elektroforez və gellərinoxunması Gel-Doc EZ image (BioRad, US) aparatı vasitəsi ilə aparılıb. Praymerlərin dizainı <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank> saytında uyğun genlərin nukleod ardıcılığını tapmaq (rs), axtarılan gen mutasiyalarını kDNT ardıcılığında lokalizasiyasını (c) tapmaqla aparılıb. Metoda daha çox insan əməyi sərf edilir. Amma daha ucuz və sərfəli hesab edilir. Layihədə məhz bu metoddan istifadə edilib.



Şəkil 2. Allel-

spesifik polimeras zəncir reaksiyasının (PZR) keçirilmə prinsipi.

III. Etik normalar və biomaterialin toplanması qaydaları

Etik komisiyanın şərtlərinə əsasən bütün xəstələr layihənin məqsədi, layəhdə iştirakın könüllü olması, analizlərin keçirilmə tarixinin və metodunun hələ tam müəyyən edilməməsi, alınan nəticələrin təhlili və təlimi üçün layihə iştirakçılarının dəvət olunacağı və nəticələrin gizliliyinin saxlanılacağı haqda şifahi və yazılı olaraq məlumatlandırılıblar. Aşağıda layihədə iştirak edən xəstələrə təqdim edilən razılıq kağızı göstərilib. Blanklar aşağıdakı formada hazırlanıb və hazır blanklar laboratoriyada saxlanılır.

Xəstə haqqında məlumat blankı

Xəstə № _____

“ ” “ ” “ ”

			Qəbul tarixi			
A.S.F				Ambulator kart №		
Ünvan	Xəstə haqqında məlumat			Yaşı		
Tel:		e-mail		Cins	Qadın	Kişi
Ailə tarixçəsi				Vətəndaşlığı		
1-ci dərəcəli qohumlarda SVX*	Hə	yox	Etnik və milli mənsubiyyət			
2-ci dərəcəli qohumlarda SVX*	Hə	yox				
1,2-ci dərəcəli qohumlarda yumurta x.	Hə	yox	Xəstənin genetik göstəriciləri			
Qohumlarda digər bəd xasisəli törəmələr	Hə	yox	Genetik analiz nəticəsi	var	yox	
Varsa, törəmənin lokalizə olduğu yer			BRCA1			
			BRCA2			
			PALP2			
Ailə tarixçəsi varsa			PTEN			

Qohumluq dərəcəsi	Diaqnoz və onun təyin olunduğu yaş		Ata tərəfdər qohum	Ana tərəfdər qohum	TP53		
					NBN		
					RAD50		
					RAD51C		
					CHEK2		
Qohumlarda BRCA1/2 analizi keçirilibsə, kimdə			Hə	yox	STK11		
Aşkar edilən mutasiyalar					sairə		
Aşkar edilən mutasiyalar					Aşkar edilən mutasiyalar		
Aşkar edilən mutasiyalar					Metodun adı		
Şişin histoloji tipi		TNM və uzaq metasta	Mərhələ	Diaqnoz olunduğu ya	Bilateral	premenopaus	
IDC-invasive dictal carcinoma							
ILC-invaisve lobular carcinoma							
DCIS-ductal carcinoma in situ							
LCIS-lobular carcinoma in situ							
Endokrin status			Rutin lab. informasiyalar		Qeyd		
ER	+	-					
PR	+	-					
Her2/neu	+	-					
Digər məlumatlar							
Ki67 (%)							

Qeydiyyatı keçirən həkim:

BRCA1 və BRCA2 genlərinin genetik skrining məlumatı

BRCA1/2 genlərin genetik analiz metodu	HRM proqramı ilə genin tam skriningi					
Aşkar olunan problemləli fraqmentlər						
Aşkar edilən problemləli fraqmentlərdə SNP analizi (artıq məlum mutasiyaların olduğu fraqmentlərdə aşkar edilərsə)						
Aşkar edilən fraqmentlərin tam sekvins analizi (imkan daxilində bütün fraqmentlərə şamil edilməli)						
Qeyd:						
Aşkar edilən problemləli fraqmentlərin parafin blokdan alınmış bəd xasisəli şiş toxumasında araşdırılması (imkan daxilində)						
Periferal qanda keçirilən analizin cavabı neqə						

olarsa, bəzi hallarda mutasiya parafin blokda alınmış Genom materialında aparılır (inkan daxilində)					
Qeyd:					
SVX –ilə əlaqədar digər əlaqəli genlərin SNP/sekvens (inkan daxilində) analizi					
Qeyd:					

Genetik analiz keçirmə tarixləri və digər məlumatlar

Xəstəni məlumatlandırılması və qarşılıqlı razılıq forması

Vacib – zəhmət olmasa diqqətlə oxuyun: Bu forma xəstənin məlumatlandırılmış razılığı və mümkün analiz təyin etmənin məqsədi, qaydaları, əhəmiyyəti, məhdudiyyətləri və riskləri, bəd xassəli törəmələrin yaranmasında genetik meyilliliyin rolunu təsvir edir. Bu könüllü bir testdir və bu blankı imzalamadan öncə genetik məsləhət ala bilərsiniz.

Məqsəd: bu testin əsas məqsədi bəd xassəli törəmələrdə irsi həssaslıq ilə bağlı genlərin spesifik dəyişikliklərini (mutasiyalarını) təyin etməkdir. Mutasiya genin strukturunun dəyişikliyi ki, bu variant sonrakı nəsillərə ötürülə bilər. Bu test irsi xərçənglər üçün bir fərdin (və ya ailənin bir üzvünün) genetik risk dəyərləndirilməsidir. Bu məlumatlar bəd xassəli şişin yaranmasında iştirak edən bütün digər risk faktorları, irsi və ya sonradan yaranmış xərçəng tarixinin klinik dəyərləndirilməsi ilə birlikdə istifadə olunur.

Test Qaydası: bu testin keçirilməsi üçün biomaterial SVX-gi diaqnozu qoyulmuş xəstənin periferal qanından və ya parafin blokda saxlanılan bəd xassəli şiş toxumasından götürülür. Nümunələrdən DNT alınır və dərin dondurucuda saxlanılır. Bəzi hallarda, başlanğıc nümunənin keyfiyyət və ya vəziyyəti test üçün kifayət etmədikdə əlavə nümunəyə ehtiyac ola bilər.

Vacib – Test nəticələri və şərh: Bu testlər AR Prizidenti yanında Elmin inkişafı fondu və Azərbaycan respublikası Səhiyyə nazirliyi MOM-nin Molekulyar Onkologiya laboratoriyasının birgə səyi ilə keçirilir. Təqdim edilən blanklardakı (forma 1) şərtlərə uyğun gələn qadınlar skriningdə iştirak edə bilər. Qrantin şərtlərinə əsasən testin nəticələri ilkin mərhələdə xəstəyə təqdim edilməyə bilər: bu materillərin toplanması, onların bir müstəvidə analizi və ancaq problemlə qarşılaşmaların aşkar edilməsi ilə əlaqədardır. Mutasiyaların tipinin aşkarlanması daha sonrakı mərhələlərdə imkan daxilində keçiriləcək.

Sizin həkiminiz və ya genetik məsləhətçiniz tibbi müalicənin ən yaxşısını təyin etmək məqsədilə Sizin genetik fərdi və irsi xərçəng tarixinizi tələb edərsə, Siz və ya həkiminiz bəzi ilkin məlumatları toplamaq üçün Molekulyar Onkologiya laboratoriyasına müraciət edə bilər. Testin hətta ilkin nəticəsi də həkim üçün pozitiv, neqativ, şübhəli olmaqla yararlı ola bilər. Şübhəli test : genetik dəyişiklik təyin edilib, ancaq bu dəyişikliklərin elmi məlumatlara əsaslanaraq xərçəng riski yarada biləcəyi aydın deyil.

Testin əhəmiyyəti : Bu genetik testlərin nəticələri Sizə və Sizin həkiminizə daha düzgün dərman

seçimi , cərrahi seçimlər və müalicə də daxil olmaqla sizin tibbi istiqamətinizi müəyyən edə bilər. Əgər bu testin nəticəsi pozitivdirsə, siz həkiminizlə və ya genetik məsləhətçinizlə ailəvi xərçəng necə ötürülür və sizin uşaqlarınızda və qan qohumlarınızda eyni genlərdə mutasiyaların mümkünlüyünü müzakirə edə bilərsiniz .Əgər bu test nəticəsi negativdirsə , siz mutasiyaları uşaqlarınıza ötürə bilməzsiniz və siz ümumi populyasiyada olan riskə sahibsiniz.

Risiklər : Testlərin keçirilməsində heç bir risk ola bilməz. Amma analiz keçirilən şəxs testin nəticələrinin hər-hansı bir səbəbdən gizli qalmasını tələb edirsə, bu tələb mütləq yerinə yetirilməlidir.

Məhdudiyyətlər: bu testlər sadəcə spesifik irsi xərçənglə əlaqəli vacib genlərdə mutasiyaların varlığını təyin edir. Və bu testlər bəd xassəli törəmələrin yaranmasına səbəb olan tək genlər deyil. Sizin həkiminiz həmçinin bəd xassəli törəmə yaranmasında iştirak edən digər genlərin də araşdırmasını tövsiyyə edə bilər .

İrsən ötürülən xərçəng genetik testləri haqqında əlavə məlumatları Medical Diagnostic Laboratories, LLC (MDL) xəstə veb saytında tapa bilərsiniz. www.mdlab.com/BRCA.

Məlumatlandırılmış razılıq

Aşağıdakını imzalamaqla , mən bu formu oxudum və tam başa düşdüm və aşağıdakıları qəbul edirəm .

1. Mən testin məqsədi , proseduru, yararları ,məhdudiyyətləri barəsində həkimim və ya genetik məsləhətçim tərəfindən məlumatlandırılmışam. Mənə sual vermək imkanı verilmişdir və bu genetik test haqqında bütün suallara cavab almışam
2. Mən həkimim və ya genetik məsləhətçimlə pozitiv və ya negativ test nəticəsinin etibarlılığı və müəyyən səviyyədəki test olunmuş gen mutasiyaları üçün pozitiv test nəticəsinin genetik xərçəngin xəbərçisi kimi xidmət etdiyi barəsində müzakirə etmişəm
3. Mən bu sənədin hamısını oxudum və məlumatların nüsxəsini götürə biləcəyim haqqında məlumatlandırılmışam
4. Bu irsi xərçəngin meyillilik analizi üçün razılıq verirəm və mən həkimim və ya genetik məsləhətçimlə uyğun tibbi istiqaməti müzakirə edəcəm
5. Mən başa düşürəm ki, mənim tibbi məlumatlarım və bu test nəticələrim ilə əlaqədar mənim icazəm olmadan və ya müalicə ilə əlaqəli olmadıqca 3-cü bir şəxslə müzakirə olunmayacaq. Mən yuxarıdakıları oxudum və tam başa düşdüm və bu genetik testin icrasına razılıq verirəm və bu qərarın nəticələrini qəbul edirəm

Xəstənin adı _____

Xəstə /qanuni qoruyucu İmza _____

Tarix _____

Araşdırma üçün nümunə istifadəsi xəstə razılığı

Sizin DNT nümunənizdən əldə edilən informasiyalar elmi yayımlarda və presentasiyalarda istifadə oluna bilər, bütün nümunələr açıqlanmamış şəkildə emal ediləcək .Araşdırma üçün razılıq verən bütün fərdlərin şəxsiyyəti heç bir yayım və ya presentasiyada açıqlanmayacaq. Öncə altdakı seçənlər

_____ **Bəli**, Mən DNT nümunələrimi arasdırma məqsədilə istifadə etməyə razılıq verirəm

_____ **Xeyr** , Mən DNT nümunələrimi arasdırma məqsədilə istifadə etməyə razılıq vermirəm.

2	Layihənin həyata keçirilməsi üzrə planda nəzərdə tutulmuş işlərin yerinə yetirilmə dərəcəsi (faizlə qiymətləndirməli)
	Layihədə nəzərdə tutulan işlər 100% yerinə yetirilib.
3	Hesabat dövründə alınmış elmi nəticələr (onların yenilik dərəcəsi, elmi və təcrübi əhəmiyyəti, nəticələrin istifadəsi və tətbiqi mümkün olan sahələr aydın şəkildə göstərməlidir)
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tədqiqata cəlb edilən xəstələrin Azərbaycan Respublikasının regionları üzrə paylanması keçirilib. Sorqu zamanı insanların hal-hazırda məskunlaşdıqları məkanlar yox, nəsil şəcərəsinin əmələ gəlmə tarixi nəzərə alınıb. Bu zaman 263 xəstənin ancaq 175-də real (xəstənin sözündən) nəsil ağacı çəkmək mümkün olub. Tədqiqatın nəticəsi göstərir ki, süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi diaqnozu qoyulmuş xəstələrin böyük əksəriyyəti paytaxt Bakı şəhərində məskunlaşmışdır. Bu xəstələrin nəsil şəcərəsi bir necə əsri əhatə edir. Ailələrin 56%-i əsrin əvvəlində Bakı ətrafında yerləşən neft istehsal edən kəndlərdə yaşamış və sonradan sənaye mərkəzi olan paytaxta köçmüşlər. Beləliklə, güman etmək olar ki, süd vəzi və yumurtalıqda bəd xassəli şişlərin əmələ gəlməsində mühim rol oynayan ekoloji amirlərdən bir insanların iri sənaye mərkəzlərinin yaxınlığında uzun müddət yaşamsıdır. Bu şişlərin irsi-asılı və ya somatik olmasının aşkarlanması sonrakı fundamental araşdırmaların vəzifəsidir. 2. Süd vəzi və yumurtalıq xərçəngi diaqnozu qoyulmuş xəstələrin kinik əlamətlərə görə qruplara ayrılması göstərdi ki, daha çox xəstə toplamış qrup ailə anamnezi olan qrupdur. Bu qrupda xəstələrin 53.6% toplanmışdır. Aşkar edilən mutasiyaların 41.34%-i bu qrupdan olan xəstələrin payına düşür. Beləliklə, xəstələrdə diaqnoz olunan şişin irsi-asılı və ya somatik olmasının seleksiyası zamanı xüsusi diqqət məhz ailə anamnezi olan xəstələrə verilməlidir. Bu xəstələrdə moleulyar-genetik testlərin keçirilməsi şərtidir 3. BRCA1/2 genlərinin Avropa və Asiya xalqları arasında aşkar edilən və klinik əhəmiyyət kəsb edən aktivləşdirici mutasiyaları Azərbaycan populyasiyasında da aşkar edilib. Tədqiqatda iştirak edən xəstələr arasında BRCA1 geni aşkarlanma tezliyi ilə biri-birindən fərqlənən 4 aktivləşdirici mutasiya ilə təmsil edilib: BRCA1_5382insC; BRCA1_5622T; BRCA1_185delAG; BRCA1_T300G. BRCA1 genin BRCA1_4153delA mutasiyası tədqiqat obyektı olan qadınlarda aşkar edilməyib. Layihədə iştirak edən qadınlarda BRCA2 genin kinik əhəmiyyətli BRCA2_6174delT mutasiyası aşkar edilib. BRCA2 genin tədqiqata daxil edilmiş ikinci BRCA2_9254del5 mutasiyaya aid praymerlər analiz edilən bütün hallarda (mutant və vəhşi tip) işləməmiş və mutasiyalar içində ən aqressiv sayılan mutasiya haqqında məlumat almaq mümkün olmamışdır.

4. BRCA2 genin BRCA2_9254del5 mutasiyasından başqa tədqiqata daxil edilmiş BRCA1/2 genlərin digər klinikasi məlum olan aktivləşdirici mutasiyaları allel-spesifik PCR metodu və təqdim edilən allel-spesifik praymerlər vasitəsi ilə təyin edilə bilər. Bu metodun maya dəyəri istifadə edilməsi məsləhət görülən bütün digər metodlardan aşağıdır. Belə ki, onkoloji klinikalarda allel-spesifik PCR metod BRCA1/2 genlərin ən çox yayılmış mutasiyalarını aşkar etmək üçün rutin test siyahısına salına bilər.
5. BRCA2 genin BRCA2_9254del5 mutasiyası “çərçivə sürüşməsi” ilə əlaqədar aqressiv mutasiya hesab edilir. Ədəbiyyat məlumatlarına görə bu mutasiyanın daşıyıcısı olan insanlarda xəstəlik əsasən cavan yaşlarında meydana çıxır. Tədqiqatçılar bu mutasiyanın İranda yaşayan Azərbaycanlı əhali arasında aşkar edildiyi haqqında məlumat yayıb. Allel-spesifik PCR metod və təqdim edilən praymerlər adı çəkilən mutasiya haqqında məlumat verə bilmədi. Cənubi Azərbaycanda yaşayan azərbaycan populyasiyası arasında bu mutasiya həm süd vəzi, həm də yumurtalıq xərçəngi olan insanlar arasında aşkar edildiyi üçün BRCA2_9254del5 mutasiyasını aşkar edilmə yolları sonrakı tədqiqatlarda planlaşdırılmalıdır.
6. Layihənin gedişində toplanan klinik informasiya və biomaterial üzərində bir sıra layihədə nəzərdə tutulmayan tədqiqatlar aparılmışdır. Bütün tədqiqatlar süd vəzi və yumurtalıq xərçəngində yeni prognostik və prediktiv molekulyar biomarkerlərin axtarışı, bu biomarkerlərin müalicə prosesində rolunun öyrənilməsinə həsr edilmişdir. Sonrakı tədqiqatlarda bu qrup biomarkerlərin BRCA1/2 genlərlə əlaqəsi öyrəniləcək
7. Tədqiqatın nəticələrinə əsaslanaraq onkoloji klinikalara bir sıra tövsiyələr təqdim etmək olar: a) klinikalarda BRCA-sılı süd vəzi, yumurtalıq, mədə altı və prostat vəzi xərçəngini aşkar etmək üçün maya dəyəri daha ucuz olan allel-spesifik PCR metod və allel-spesifik praymerlərdən istifadə edilə bilər; b) BRCA1/2 mutasiyasının aşkar edilməsi vacib olan xəstələrin seçilməsi layihədə təqdim edilən blankları vasitəsi ilə aparıla bilər; b) BRCA1/2 genlərinin analizi keçirilən xəstələrə bu analizin nəticələri ilə birlikdə “irsən ötürülən” mutasiyalar haqqında layihədə təqdim edilən məlumat kağızı/kitabçası təqdim edilə bilər; d) şübhəli test cavablarının Sanger (və ya digər metod) metoddla sekvensi məsləhət görülə bilər seçilmiş qruplarda geniş yayılmış aktivləşdirici mutasiyalar axtarışı ilə aparılan molekul
8. BRCA1/2 genlərinin irsən ötürülən mutasiyalarının xüsusi yar-genetik analizi məsələyə qismən aydınlıq gətirsə də, Azərbaycan populyasiyasında bu genlərin mutasiyalarının yayılma sıxlığı və tipi haqqında tam məlumat verə bilməz. Bu məsələnin həlli üçün tədqiqata çoxsaylı xəstə kontingenti toplanmaqla geniş skrining proqramlarının tətbiq etməkdir. Bu zaman NGS (genlərin tam ardıcılığının öyrənilməsi) metodunun tətbiqi vacibdir.
9. Layihə zamanı ilk dəfə olaraq respublikamızda genetik materiallar toplanan (DNT, RNT, cDNT) bank yaradılıb və onun saxlama şəraitini öyrənilib.

10. İlk dəfə olaraq laboratoriyada "BRCA1/2 CancerReg" yaradılıb. Bu arxivdə toplanan və daima zənginlənən klinik-laborator informasiya sonradan elmi işlərin keçirilməsində istifadə ediləcək. Buna oxşar registerlər hal-hazırda TUBB3, RMM1, ERCA1, EGFR, KRAS, BRAF və TYMS genlər üçün yaradılıb.
11. Layihədə məqsədyonlu toplanan elmi-kliniki-genetik arxiv materialları molekulyar onkologiya sahəsində planlaşdırılacaq elmi işlərin istiqamətlənməsində mühim rol oynamaqla respublikamızda adi çəkilən sahənin inkişafına yardım edəcək.
12. Layihənin keçirilməsində iştirak edən icraçılar, valantorlar, tələbələr, elmi işçilər, hətta xəstələr də profilaktik metodların tətbiqi ilə tanış olmuşlar. Molekulyar-genetik metodlarla tanışlıq bir çox elmi işlərin yerinə yetirilməsi üçün zəmin yaradmışdır. Mövzu ətrafında 2 fəlsəfə doktory, 2 magist çalışır.

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, Impact Factor, həmmüəlliflər və s. bunun kimi məlumatlar - ciddi şəkildə dəqiq olaraq göstərilməlidir) *(surətlərini kağız üzərində və CD şəklinə əlavə etməli!)*

1. L.Ə.Məlikova, E.E.Bağirova, E.B. Mansurov, X.Ü. Salmanova, R.R. Soltanova, F.E. Əliyeva. "İrsən ötürülən BRCA1/2 genlərin mutasiyalarının HRM metodu ilə aşkar edilməsinin üstünlükləri", Azərbaycan Onkologiya Jurnalı 1, 2016, 36-38 s., Bakı, Azərbaycan, CBS mətbəəsində, ISSN 2413-0044.
www.mom.gov.az
2. C.Ə. Əliyev, L.Ə.Məlikova, E.B. Mansurov, F.E. Əliyeva, R.R. Soltanova, X.Ü. Salmanova, E.E.Bağirova, "BRCA1/2 genlərinin tam nukleotid ardıcılığının HRM metodu ilə oxunması və ilkin nəticələrə bioinformatik baxış", Azərbaycan Tibb Jurnalı 2, 2016, 27-35 s., Bakı, Azərbaycan Respublikası "Mətbuat və İnformasiya Nazirliyi"-də qeydə alınıb, ISSN 0005-2513
www.azerb.med.journal.com
3. Elcim Mansurov, "Breast cancer stage IIIC: results of non-adjuvant chemotherapy combination of Gemcitabine with Cisplatin as first line treatment", GAP2017 Conference May 9-11, 2017., E-poster Presentations, breast section, poster number #371, pp.79., Final program April 25, 2017
www.mdanderson.org/gapconference
4. Leyla Melikova, "Prognostic significance of the TUBB3 expression in breast cancer patients in Azerbaijan population", GAP2017 Conference May 9-11, 2017., E-poster Presentations, breast section, poster number #295, pp.79., Final program April 25, 2017
www.mdanderson.org/gapconference

5. Алияров Ю.Р. Меликова Л.А, Керимов А.Х., Багирова Э.Э., Мехдизаде С.Г. “Роль тимидилат синтетазы в качестве предиктивного фактора в неоадъювантной химиолучевой терапии при раке прямой кишки”, Казанский Медицинский журнал, 2017, Т. 98, № 4, с. 576-580, редакция “ТАТМЕДИА”, Science Index*, импакт фактор РИНЦ 2015-0,303
<http://www.kazan-medjournal.ru>
6. BƏD XASSƏLİ ŞİŞLƏRİN MÜALİCƏSİNDƏ PROSPEKTİV BİOMARKER SEÇİMİ. F.Ə. Mərdanlı, T.S. Quliyeva, A.S. Nəcəfova, E.B Mansurov, L.Ə. Məlikova //Azərbaycan Onkologiya Jurnalı. 2018. N1. s.1-12
WWW.mom.gov.az
7. Azərbaycan respublikasında irsən ötürülən və süd vəzi xərçənginin yaranmasına səbəb olması güman edilən BRCA1/2 genlərinin aktivləşdirici mutasiyalarının yayılma sıxlığı. Bağırova E.E., Nəcəfova A.S., Mehdizadə S.Q., Mnasurov E.B., Məlikova L.Ə. // Ümummilli lider H.Ə. Əliyevin ad gününə həsr olunmuş elmi-praktik konfransın materialları 2018, səh.24-26
8. АКТИВИРУЮЩИЕ ТОЧЕЧНЫЕ МУТАЦИИ ГЕНОВ BRCA1/2 У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЯИЧНИКА В АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ. // Дж. А. Алиев, Л.А. Меликова, А.Е. Алиева, Е.Е. Вагирова, Научно-практический журнал «Молекулярная медицина» // ISSN 1728-2918 // eISSN 2499-9490/ сара verilib
9. Tumor response to concurrent chemoradiotherapy depending on PIK3CA gene mutational status among Azerbaijanian cervical cancer patient // European Journal of Cynaecological Oncology, An International Journal, WWW.irog.net/ Kamal Akbarov, Leylakhanim Melikova сара qabul olunub
10. ROLE OF TUBB3 GENE EXPRESSION IN EARLY AND ADVANCE D BREAST CANCER STAGE FORMULATION // J.A.Aliyev, S.I.Ragimzade, E.B.Mansurov, L.A.Melikova, NCCN Global Academy, 2018, Abstrakt сара göndərilib
11. Allele –specific PCR for detection girmlines BRCA1/2 mutation in breast and ovarian cancer .A.Aliyev, S.I.Ragimzade, E.B.Mansurov, L.A.Melikova, NCCN Global Academy, 2018, Abstrakt сара göndərilib

5 İxtira və patentlər, səmərələşdirici təkliflər
yox

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 göstərilməlidir)
Türkiyə respublikası, İstanbul, GenMark laboratorisi: Elnara Bağırova, Leylakhanim Məlikova

	2015, Rusiya Fedarasiyası, Moskva şəhəri, Bloxin adına Onkoloji Mərkəz, Sultanova Ruxsara, 2016
7	Layihə üzrə elmi ekspedisiyalarda iştirak (əgər varsa) yox
8	Layihə üzrə digər tədbirlərdə iştirak Milli Onkologiya mərkəzində dayimi seminarlar, Onkoloqların elmi cəmiyyətində 4 çıxış, "Süd vəzi xərcəngi ilə mübarizə" adı altında keçirilən tədbirlərdə iştirak
9	Layihə mövzusu üzrə elmi məruzələr (seminar, dəyirmi masa, konfrans, qurultay, simpozium və s. çıxışlar) (məlumat tam şəkildə göstərilməlidir: a) məruzənin növü: plenar, dəvətli, şifahi və ya divar məruzəsi; b) tədbirin kateqoriyası: ölkədaxili, regional, beynəlxalq) Milli Onkologiya mərkəzində dayimi seminarlar: yerli və beynəlxalq mütəxəssislərlə
10	Layihə üzrə əldə olunmuş cihaz, avadanlıq və qurğular, mal və materiallar, komplektləşdirmə məmulatları BioRad CFX-96, US RT-PCR maşın
11	Yerli həmkarlarla əlaqələr Milli Onkologiya mərkəzi, AMEA Genetik Ehtiyatlar İnstitutu
12	Xarici həmkarlarla əlaqələr MD Anderson Cancer Centar, Huston, ABŞ
13	Layihə mövzusu üzrə kadr hazırlığı (əgər varsa) Molekulyar Onkologiya laboratoriyasını 2 üzvi-İ.İ.Meçnikov adına Odessa Milli universitetinin Biologiya fakültəsi məzunu Nəcəfova A.S. öz diplom işində layihənin fraqmentlərindən istifadə etmişdir, T.Şevçenko adına Kiev Milli universitetinin magistr tələbəsi Bağırova E.E. diplom işi layihə ilə əlaqədərdir. laboratoriyada biologiya və tibb fakültəsinin məzunları qısa müddətli təcrübə keçiriltəcrübə keçirlər
14	Sərgilərdə iştirak (əgər baş tutubsa) (burada doldurmalı)
15	Təcrübəartırmada iştirak və təcrübə mübadiləsi (əgər baş tutubsa) yox
16	Layihə mövzusu ilə bağlı elmi-kütləvi nəşrlər, kütləvi informasiya vasitələrində çıxışlar, yeni yaradılmış internet səhifələri və s. (məlumatı tam şəkildə göstərilməlidir) yox

SİFARİŞÇİ:

Elmin İnkişafı Fondu

Aparıcı məsləhətçi

Həsənli Günay Xudayət qızı

(imza)

“ _ ” _____ 201_-ci il

İCRAÇI:

Layihə rəhbəri

Məlikova Leylaxanım Ərəstun qızı

(imza)

“ _ ” _____ 201_-ci il