

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ  
ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ АСОСИДАГИ  
БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**РЕСПУБЛИКА ИХТИСОСЛАШТИРИЛГАН ГЕМАТОЛОГИЯ  
ИЛМИЙ -АМАЛИЙ ТИББИЁТ МАРКАЗИ**

**БЕРГЕР ИННА ВИКТОРОВНА**

**ЎЗБЕКИСТОН RESPУБЛИКАСИДА АПЛАСТИК КАМҚОНЛИГИ  
БЎЛГАН БЕМОРЛАР ПЕРИФЕРИК ҚОНИ ВА СУЯК КЎМИГИДА  
ЦИТОКИН ВА CD4 ҲУЖАЙРАЛАРИНИНГ АҲАМИЯТИНИ  
ЎРГАНИШ**

**14.00.29–Гематология ва трансфузиология**

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФАДОКТОРИ (PhD)  
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент– 2020**

**Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата доктора философии (PhD) диссертации**

**Contents of the abstract of doctor of philosophy (PhD) dissertation**

**Бергер Инна Викторовна**

Ўзбекистон Республикасида апластик камқонлиги бўлган беморлар периферик қони ва суяк кўмигида цитокин ва CD4 хужайраларининг аҳамиятини ўрганиш..... 3

**Бергер Инна Викторовна**

Изучение роли цитокинов и CD4 клеток периферической крови и костного мозга у больных апластической анемией в Республике Узбекистан..... 21

**Berger Inna Viktorovna**

Study of the role of cytokines and CD4 cells in peripheral blood and bone marrow in patients with aplastic anemia in the republic of Uzbekistan..... 37

**Эълон қилинганишлар рўйхати**

Список опубликованных работ

List of published works ..... 40

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ  
ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02  
РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ АСОСИДАГИ  
БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**РЕСПУБЛИКА ИХТИСОСЛАШТИРИЛГАН ГЕМАТОЛОГИЯ  
ИЛМИЙ - АМАЛИЙ ТИББИЁТ МАРКАЗИ**

**БЕРГЕР ИННА ВИКТОРОВНА**

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИДА АПЛАСТИК КАМҚОНЛИГИ  
БЎЛГАН БЕМОРЛАР ПЕРИФЕРИК ҚОНИ ВА СУЯК КЎМИГИДА  
ЦИТОКИН ВА CD4 ҲУЖАЙРАЛАРИНИНГ АҲАМИЯТИНИ  
ЎРГАНИШ**

**14.00.29–Гематология ва трансфузиология**

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)  
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

**Тошкент– 2020**

**Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2018.1.PhD/Tib583 рақами билан рўйхатга олинган.**

Диссертация Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт марказида бажарилган.

Диссертация автореферати икки тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида ([www.tma.uz](http://www.tma.uz)) ҳамда «ZiyoNet» ахбороттаълим порталида ([www.ziyounet.uz](http://www.ziyounet.uz)) жойлаштирилган.

**Илмий раҳбар:**

**Махмудова Азиза Джумановна**  
тиббиёт фанлари доктори

**Расмий оппонентлар**

**Маткаримова Дилфуза Сабуровна**  
тиббиёт фанлари доктори, доцент

**Баховадинов Бурхонидин Баховадинович**  
тиббиёт фанлари доктори, профессор (Россия)

**Етакчи ташкилот:**

**Самарқанд давлат тиббиёт институти**

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 рақамли Илмий кенгаш асосидаги Бир марталик Илмий кенгашнинг 2020 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ соат \_\_\_\_\_ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100109 Тошкент, Олмазор тумани, Фаробий кўчаси 2-уй. Тел./факс: (+998 78) 150-78-25, e-mail: [tta2005@mail.ru](mailto:tta2005@mail.ru)).

Диссертация билан Тошкент тиббиёт академияси Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (\_\_\_ рақам билан рўйхатга олинган). Манзил: 100109, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Фаробий кўчаси 2-уй. Тел./факс: (99878) 150-78-14.

Диссертация автореферати 2020 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ куни тарқатилди.

(2020 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ даги \_\_\_\_\_ рақамли реестр баённомаси)

**А. Г. Гадаев**

Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш асосидаги Бир марталик илмий кенгаш раиси, тиббиёт фанлари доктори, профессор

**Д.А. Набиева**

Илмий даражалар берувчи Илмий кенгаш асосидаги Бир марталик илмий кенгаш илмий котиби, тиббиёт фанлари доктори, доцент

**Ш.А. Бабажанова**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш асосидаги Бир марталик илмий кенгаш қошидаги Илмий семинар раиси, тиббиёт фанлари доктори, профессор

## КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертациясининг аннотацияси)

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунёда эпидемиологик текшириш натижалари бўйича апластик камқонлик Европа, Жанубий ва Шимолий Америка ҳамда Яқин Шарқ каби минтақаларда бир хилда бўлмаган сонда учрайди. ISAAA (International studies of agranulocytosis and aplastic anemia) – гуруҳига мос ҳолда Европа мамлакатларида «...апластик камқонликни учраши йилига 1 млн аҳоли сонига 2 ҳолатни ташкил этади. Мазкур кўрсаткич тадқиқ қилинаётган мамалакатга боғлиқ ҳолда йилига 1 млн дан кўп аҳоли сонига 0,6 дан 4 гача ўзгариб туради...»<sup>1</sup>. Ҳозирги вақтда тадқиқотчиларнинг катта қисми томонидан апластик камқонлик бўлган беморларда қон ҳосил бўлишини етишмаслигини ривожланишида гемопоэзни цитокинли бошқарилишига алоҳида эътибор қаратилади. «...баъзи гемопоэтик омилларнинг маҳсулот хужайлари бўлиб Т-лимфоцитлар ҳисобланади ва улар қон зардобиди ҳамда суяк кўмигида аниқланади. Миелосупрессорларга тааллуқли бўлган цитокинлар гемопоэтик колониялар ўсишини *in vitro* ингибирлайди...»<sup>2</sup>. Одатда антигенлардан келиб тушувчи бошланғич механизмлар номаълумлигича қолади ёки назорат қилинмайди, улар апластик камқонликда (АК) доимий гемопоэзни издан чиқиши ёки иммун тизимни жадаллашиш жараёнларини ишга туширади. Имуносупрессив терапияларни (ИСТ) қўллаш билан беморларнинг умумий яшовчанлиги ишончли равишда ошади. Циклоспорин А (ЦСА), антитимоцитар (АТГ) ва антилимфоцитар (АЛГ) глобулинлар каби дори воситалари ҳозирги вақтда қон ҳосил қилиш апалазиясини даволашда биринчи навбатдаги дори воситалари деб ҳисобланади. АКни иммунодепрессантлар билан даволаш натижаларини ижобийлигига қарамасдан, ўлим билан яқунланишлар сони 30-40% ва ундан юқорини ташкил этиб, етарли даражада юқорилигича қолмоқда. Шу билан боғлиқ ҳолда, касалликни ривожланиш механизмларини келгусида баҳолаш ва уни даволашга патогенетик асосланган ёндошувларни излаш ўзининг муҳимлигини сақлаб қолмоқда.

Жаҳонда апластик камқонлиги бўлган беморлар периферик қони ва суяк кўмигида цитокин ва CD4+ хужайраларининг аҳамиятини оширишни такомиллаштиришга қаратилган қатор илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бу апластик камқонлик билан хасталанган беморларда касалликнинг авж олиш даврида клиник-лаборатор кўринишларининг ўзига хосликларини асослашдан иборат. Апластик камқонлик билан хасталанган беморларнинг периферик қонида Ig A, G, M ларни баҳолаш асосида иммун статус таҳлилини баҳолаш ҳамда апластик камқонлик билан хасталанган беморлар қон зардобиди цитокинлар даражасини: касалликни оғирлик даражасига боғлиқ ҳолда позитив (эритропоэтин (ЭПО), интерлейкини: ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8) ва негатив (интерферон (ИФН $\gamma$ ) ва ўсма некроз омили (ФНО $\alpha$ ))

<sup>1</sup>International studies of agranulocytosis and aplastic anemia, 2018.

<sup>2</sup> Tong Chen, Tian Zhang, Chunyan Liu, ChaoMeng Wang, Shaoxue Ding, ZongHong Shao, Rong Fu. NK cells suppress CD8+ T cell immunity via NKG2D in severe aplastic anemia. Cellular Immunology 335 (2019) 6-14

гемопозитик омилларни ҳамда суяк кўмигида CD4+ хужайраларни текширишни асослашдан иборат. Оппозитив цитокинлар асосида апластик камқонлик билан хасталанган беморларда иммуносупресив даволаш самарадорлигини замонавий механизмини ишлаб чиқиш алоҳида аҳамият касб этади.

Мамлакатимиз тиббиёт соҳасини ривожлантириш тиббий тизимни жаҳон андозалари талабларига мослаштириш, аҳоли орасида турли даражадаги камқонлик касалликлар тарқалишини камайтириш ва олдини олишга қаратилган қатор вазифалар юклатилган «...мамлакатимизда аҳолига кўрсатилаётган тиббий ёрдамнинг самарадорлиги, сифати ва оммабоплигини ошириш, шунингдек, касалликларни эрта ташхислаш ва даволашнинг юқори технологик усулларини жорий қилиш, патронаж хизматини яратиш орқали, соғлом турмуш тарзини қўллаб-қувватлаш ва касалликларни олдини олиш...»<sup>3</sup> каби вазифалари белгиланган. Ушбу вазифалар аҳоли орасида ўткир лейкозларни камайтириш, профилактик чора-тадбирларни ишлаб чиқишда замонавий технологияларни қўллашни такомиллаштириш орқали касаллик ривожланишининг хавф омилларининг асоратлари натижасида юзага келадиган ногиронлик ва ўлим кўрсаткичини камайтириш имконини беради.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, 2017 йил 16 мартдаги ПФ-4985 «Шошилич тиббий ёрдамни келгусида такомиллаштириш бўйича чора-тадбирлар тўғрисида»ги, 2018 йил 7 декабрдаги «Ўзбекистон Республикаси соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлари тўғрисида»ги ПФ-5590-сон Фармонлари, 2017 йил 20 июндаги ПҚ-3071-сон «Ўзбекистон Республикаси аҳолисига 2017-2021 йилларда ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги, 2017 йил 4 апрелдаги ПҚ-2866-сон «2017-2021 йилларда Профилактик чора-тадбирларни, диагностикани ва даво усулларини халқаро стандартлар даражасигача кўтариш. Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга мазкур диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларга мослиги.** Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

**Муаммони ўрганилиш даражаси.** АКни ташхислаш ва давланда юқори самарадорликка эришиш учун қатор илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда (Danielle V.Clucas, Lucy S. Fox, 2019). АК юзага келишини патогенетик механизмлари ва сабаблари ўрганилмоқда (Saracco P.,

---

<sup>3</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги 5590-сонли «Соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида»ги Фармони

Lorenzati A, 2011, 2014); АК супрессорларида, жумладан CD4+, CD20+ ва бошқа дифференциация кластерларида Т-хужайра бошқарувчиларининг популяциясида функционал ва миқдорий бузилишлари тўғрисидаги маълумотлар олимлар томонидан нашр этилмоқда (Jianzhi Zhao, Quanyun Qi, 2019); АКли беморларда ИЛ1,4,6,8, ФНО $\alpha$ , ИНФ $\gamma$  цитокин профилларини баҳолаш самарадорлиги исботланди (Kensuke Matsuda, 2019).

Бизнинг Республикамиздаги тадқиқотчилар томонидан АКда цитокин-воситали жараёнларнинг муаммолари ўрганилмаган. Сўнгги 20 йил давомида (Х.Я. Каримов, 2000; А.Р. Рахматуллаева, 1970; У.А. Алтибаева, 1986; О.М.Маликов, 2011) апластик камқонликни этиологияси ва даволашига бағишланган яқка холдаги ишлар мавжуд холос, бироқ, апластик камқонлиги бўлган беморлар периферик қони ва суяк кўмигида цитокин ва CD4+ хужайраларининг аҳамиятини баҳоланмаган.

Замонавий илмий тадқиқотчиларнинг нашр этган маълумотларини таҳлил қилиб, шундай хулосага келиш мумкинки, апластик камқонликни ривожланиши ва авжига чиққан вақтида цитокинларнинг даражаси ва уларни ҳосил бўлиши тўғрисидаги бир хил фикрлар мавжуд эмас. Бироқ, гемопозни бошқаришда цитокинларнинг аҳамияти ўрнатилган, аммо, ҳозирги кунгача АКли беморларда цитокин статусини бузилиш даражасини баҳоловчи тизим мавжуд эмас. Гарчи меъёрий қон ҳосил бўлиши цитокинлар гемопозини кучайиши ёки пасайишининг мувозанати билан таъминланиши тўғрисида илмий исботлар мавжуд бўлсада, ҳозирги вақтга қадар даволаш жараёнида динамикада уларнинг ўзаро алоқаси аниқланмаган. Суяк кўмиги ва периферик қонда CD+ хужайралар даражасини таҳлил қилиш ва цитокин статусини баҳолашга қаратилган бу каби тадқиқотлар олиб борилмаган.

**Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт марказининг илмий тадқиқот ишлари режасига мувофиқ №АДСС 14-2 «Цитокин статусини ўрганиш негизида апластик камқонликни диагностикаси, давоси ва касаллик кечишини прогнозлашни самарали усулларини ишлаб чиқиш» грант лойихаси доирасида (2012-2014) бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** апластик камқонлик билан хасталанган беморларни гемопозтик омиллари ва цитокин статусини асосида касаллик кечишини ташхислаш, даволаш ва башоратлашни такомиллаштиришдан иборат.

#### **Тадқиқотнинг вазифалари:**

апластик камқонлик билан хасталанган беморларда касалликнинг авж даврида клиник-лаборатор кўринишларнинг ўзига хосликларини баҳолаш;

апластик камқонлик билан хасталанган беморларнинг периферик қонида Ig A, G, M ларни баҳолаш асосида иммун статус таҳлилинини баҳолаш;

апластик камқонлик билан хасталанган беморлар қон зардобида цитокинлар даражасини: касалликни оғирлик даражасига боғлиқ холда позитив (ЭПО, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8) ва негатив (ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ )

гемопозитик омилларни ҳамда суяк кўмигида CD4+хужайраларни текширишни баҳолаш;

оппозитив цитокинлар асосида апластик камқонлик билан хасталанган беморларда иммуносупрессив даволаш самарадорлигини баҳолаш;

касалликни кечишини башоратлаш мезонларини аниқлаш ва ташхислаш, даволаш усулларини такомиллаштириш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт марказининг шифохонасида рўйхатда турган 18 ёшдан 65 ёшгача бўлган апластик камқонлик билан хасталанган 118 нафар беморлар олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** сифатидақон зардоби ва суяк кўмигининг пунктанти материаллари олинган.

**Тадқиқот усуллари:** Тадқиқотда клиник, гемостазиологик, морфологик, иммунофермент ва цитофлуометрик тадқиқот усулларида фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

цитокин маҳсулотларига гемопозитик омилларининг бузилиши ва АК беморларини даволаш жараёнида уларнинг ўзаро нисбати асосланган;

апластик камқонликда оппозитив цитокинлар нисбатининг динамикаси, касалликни такрорланишида ФНО $\alpha$  даражаси ортиши, клиник-гематологик ремиссия босқичида эса ЭПО, ФНО $\alpha$ , ИНФ $\gamma$  даражасининг меъёрлашиши исботланган;

апластик камқонликда гемодепрессия даражаси билан мос ҳолда АК беморларида иммунитетнинг ҳужайра ва гуморал бўғинларининг ҳолати баҳолаш ва касалликни башорати ва кечиш оғирлигига I синф Т-хелперлари CD4+ субпопуляциясининг ўрни исботланган;

апластик камқонликда динамикада гемопозитик цитокинларни ўрниниасослаш ва касалликни даволаш самарадорлигига баҳо бериш ва эрта босқичларда касалликни башоратлашга имкон бериши исботланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

касалликни кечиш оғирлини лшаклланишида АК беморларида ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ЭПО, ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$  цитокинларининг башоратлашдаги аҳамияти баҳоланган;

цитокин статусини таҳлил қилиш асосида мазкур патологияни кечишидаги ташхислаш, даволаш ва башоратлаш усуллари оптималлаштирилган;

CD4+ хужайралар ва цитокинлар гемопозитини бошқариш динамикасини таҳлили асосида апластик камқонликни кечишини башоратлаш шкаласи ҳамда ташхислаш алгоритми ишлаб чиқилган.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқотнинг илмий аҳамияти апластик камқонлик касаллигининг гемостазиологик ва иммунологик намоён бўлишининг ўзига хослиги, гемостаз тизимида ўзига хос бўлган ўзгаришларни, тромб ҳосил бўлишини ички йўли бўйича гемостаз тизимини фаоллашиши ҳисобига гиперкоагуляция юзага келиши, АК беморларида гемопозитик омилларнинг ЭПО, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 асосий бошқарувчи позитив ва (ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ )



негатив цитокинларининг ҳамда суяк кўмигининг CD4+ хужайраларини ўрнини баҳолаш ҳамда касалликни ташхислашни такомиллаштириш ва касалликни башоратлаш мезонлари таклиф этилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқотнинг амалий аҳамияти шундан иборатки, апластик камқонлик касаллигининг ташхислаш босқичларини оптималлаштириш, оғир даражада кечишини башоратлаш учун мезонларни белгилаш ва танланган даволаш йўриқномасини тўғрилигини ўрнатишга имкон берганлиги билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** ишда қўлланилган назарий ёндашувни тўғрилиги, статистик ишлов берилгани, рационал баҳолангани ва олинган натижалар халқаро ҳамда маҳаллий тадқиқотлар билан таққослангани, беморлар сонининг етарлилиги ва ўтказилган таҳлиллар натижаларининг аниқлиги, апластик анемияда фойдаланиладиган монад ва замонавий юқори технологияли, бири иккинчисини тўлдирадиган клиник, биокимёвий, цитофлуорометрик усулларни қўлланилиши, ҳамда ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқлаганлиги билан асосланган.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Ўзбекистон Республикасида апластик камқонлиги бўлган беморлар периферик қони ва суяк кўмигида цитокин ва CD4+ хужайраларининг аҳамиятини ўрганиш бўйича тадқиқотнинг илмий натижалари асосида:

«Апластик камқонлик. Апластик камқонликни ташхислашни янги усулларини жорий этиш» номли услубий тавсияномаси ишлаб чиқилган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2020 йил 13 мартдаги 8н-д/57-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома апластик камқонликни ташхислашни самардорлигини ошириш ва касалликни даволаш самардорлигини ошириш ва даволашга сарфланадиган харажатларни камайтириш имконини берган;

Ўзбекистон Республикасида апластик камқонлиги бўлган беморлар периферик қони ва суяк кўмигида цитокин ва CD4+ хужайраларининг аҳамиятини бўйича олинган илмий натижалар соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан, Самарқанд вилояти болалар кўп тармоқли шифохонаси ҳамда Самарақанд давлат тиббиёт институтининг биринчи шифохонаси клиник амалиётига татбиқ этилган (Соғлиқни сақлаш 2020 йил 2 октябрдаги № 8н-з/121-сон маълумотномаси). Олинган илмий натижаларнинг амалиётга жорий қилиниши касалликни эрта башоратлаш ва даволашга индивидуал ёндошиш учун ишлаб чиқилган услубий тавсиянома ва беморлар ҳаёт сифатини яхшилашга ва вақтинча меҳнат қобилиятини йўқотиш муддатларини қисқартириш, шунингдек, шифохонада бўлиш муддатларини камайтиришга ҳамда бир йил учунапластик камқонликли беморларнинг умумий миқдоридан 37,2%га давлат бюджет воситаларини иқтисодий фойдаси билан даволаш таннарҳини пасайтириш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 4 та илмий анжуманларда муҳокома қилинган, жумладан 2 та халқаро ва 2 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокомадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 23 илмий иш чоп этилган бўлиб, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 9 та мақола, жумладан, 7 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши.** Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 120 бетни ташкил этган.

## **ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ**

**Кириш** қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва аҳамияти, ушбу ишга талаб асослаб берилган, тадқиқот мақсади, вазифалари, объекти ва предметлари тавсифланган, мазкур тадқиқотнинг республика фан ва технологияларининг устувор йўналишларига мос келиши кўрсатиб берилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва унинг амалий натижалари ўз ифодасини топган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот илмий натижаларининг амалиётга жорий қилиниши, уларнинг назарий ва амалий аҳамиятлари очиб берилган, олинган натижаларнинг ишончлилиги асосланган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш рўйхати, ишнинг апробацияси натижалари, эълон қилинган ишлар ва диссертациянинг тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Апластик камқонликни ташхислаш ва даволаш муаммосининг ҳолати ва ривожланиш механизмлари тўғрисидаги замонавий таъсаввурлар»** деб номланган биринчи бобида адабиётлар таҳлили келтирилган, апластик камқонликнинг эпидемиологияси ва ривожланиш механизмлари, этиологияси баён этилган, апластик камқонлик патогенезида иммун тизимнинг ўрини, замонавий ташхислаш усуллари ва даволаш мезонлари ёритилган. Майда қисмларгача ўрганишни талаб этувчи масалалар белгиланган. Мазкур боб тадқиқотни ўрганиш заруриятини асослаш хулосаси билан яқунланган.

Диссертациянинг **«Апалстик камқонлик билан хасталанган беморларни текшириш материал ва усуллари»** деб номланган иккинчи бобида текширилган беморларнинг умумий тавсифи ва махсус текшириш усуллари баён этилган. Мазкур диссертацион ишнинг асосига иммуннофермент (ИФА) йўли билан цитокин статусини ўрганишни таҳлили ва цитофлоуметрик тадқиқот ўтказиш йўли билан CD4+ дифференциацияси кластерларини ўрганиш қўйилган.

Беморларни клиник текшириш ўз ичига қуйидагиларни олади: шикоятларни аниқ ўрганиш билан махсус анамнезни тўлиқ йиғиш, яқин қариндошларда анамнезида онкогематологик касалликларни ва шунга ўхшаш шикоятларни мавжудлиги. Беморни умумий клиник кўриги: беморнинг умумий ҳолати, геморагик тошмаларни кўриш учун шиллик қаватлар ва тери қопламасини кўриқдан ўтказиш, периферик лимфа тугунларини

пальпация қилиш, талоқ ва жигар пальпацияси, шишларнинг мавжудлиги. Текширилувчи гуруҳга ташхисни аниқлаш ва даволаш вақтида Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт маркази клиникасида даволанган апластик камқонлик билан оғриган 118 нафар беморлар киритилди. Улардан аёллар 42% (49) нафарни ва эркеклар 58% (69) нафарни ташкил этди. Текширилувчиларнинг ёши 16 ёшдан 60 ёш оралиғида ( $39,6 \pm 3,6$ ) бўлди. 2012-2018 йиллар орасида ретроспектив йўли билан 416 та беморнинг касаллик тарихлари ўрганилди. Проспектив текшириш усуллари 24 ой давомида ўтказилди. Қўйилган мақсад ва вазифаларга мос холда мазкур тадқиқот иши 4 босқичда ўтказилди. Биринчи босқич - қоннинг умумий таҳлили, миелограмма ва гемостазиограмма каби мунтазам олиб бориладиган лаборатор усуллари ўтказиш бўлди.

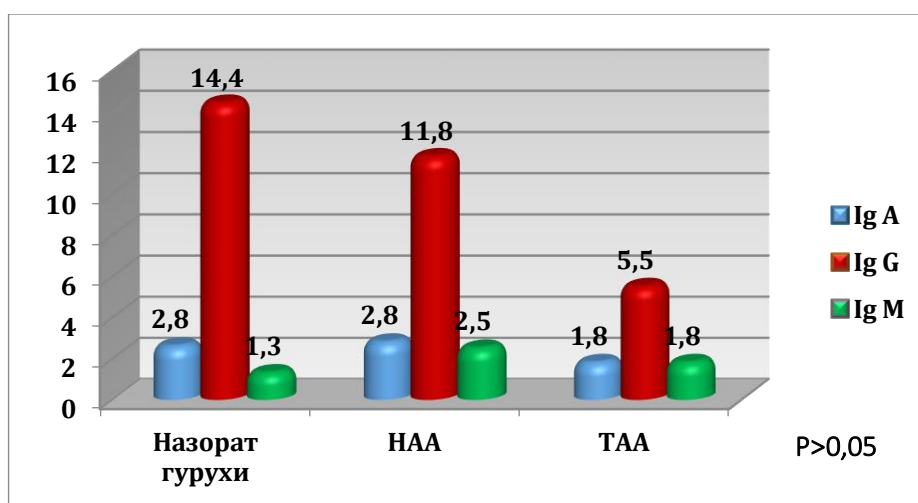
Иккинчи босқич - иммуноглобулинларни (Ig) А, G, М ўрганишни ўтказиш бўлди. Қон зардобининг иммуноглобулинлари антиген-антителанинг ўзаро таъсирга асосланган турбодиметрик усул билан аниқланди. Тадқиқотлар «Mindray ВА 88А» (Хитой) ярим автоматик биокимёвий анализаторида ва Human (Германия) фирмаси томонидан IgA, IgG и IgMлар учун махсус ишлаб чиқарилган синамалар билан ўтказилди. Калибраторнинг мақсадли аҳамияти ва тестнинг сезувчанлиги Халқаро референс белгилари билан мос холда стандартлаштирилди.

Учинчи босқич бўлиб, апластик камқонликли беморлардагемопоезнинг асосий координаторлари-эритропоэтин (ЭПО), интерлейкин -1, интерлейкин-4, интерлейкин-6, интерлейкин-8,  $\gamma$ -интерферон (ИНФ $\gamma$ ) ва ФНО $\alpha$ ни ўрганиш бўлиб ҳисобланди. Ўрганиладиган цитокинлар ва аплазиянинг оғирлиги ўртасидаги корреляция аниқланди ва касалликнинг авж олиши ва ремиссияси даврида даволашнинг турига қараб цитокинлар динамикаси ўрганилди. Эритропоэтин, ФНО $\alpha$ , интерлейкин 1,4,6,8, ва  $\gamma$ -интерферон (ИНФ $\gamma$ ) ларни аниқлаш учун «Вектор-БЕСТ» фирмасининг реактивлари, Хитойда ишлаб чиқарилган «MR-96А» иммуноферментатив таҳлил аппаратида фойдаланилди.

Тўртинчи босқичда фокусланган лазер нури орқали ўтувчи якка хужайранинг оптик хусусиятларини ўлчовчи ва таҳлил қилувчи оқимли цитофлоуметрия аппаратида ўтказилган юзлаб хужайраларнинг сониялик таҳлили периферк қон ёки суяк кўмиги аспиратида I синф Т-лимфоцитларининг CD4+ хужайралари ва В-лимфоцитларининг CD20+ хужайраларини тадқиқ қилинаётган намунадаги статистик ишончли кўринишини таъминлайди.

Тадқиқот даври яқунлангандан кейин олинган маълумотлар статистик қайта ишлашни ўтказиш учун Excel (Statistica 5.0 for Windows) муҳаррирлик жадвалига киритилди. Ҳар бир параметрни статистик таҳлил қилишда қуйидаги асосий тавсифлар ҳисобланди: ўртача, ўртача квадратик оғиш, ўртача статистик ишончлилик. Гуруҳлар ўртасидаги натижалар ишончлилигини баҳолашда Стьюдент мезонлари қўлланилди. Натижалар  $p < 0,05$  бўлганда ишончли деб ҳисобланди.

Диссертациянинг «Ўзбекистонда апластик камқонлик билан хасталган беморларни клиник-лаборатор текширувлари» деб номланган учинчи бобида апластик камқонликни ривожланишини шаклланишида миелограмма ва гемостаз, қоннинг умумий таҳлили кўрсаткичлари аҳамиятини объектив баҳолаш таҳлил қилинди. Шу билан боғлиқ холда, геморрагик синдромни мавжудлигига қарамасдан гиперкоагуляцияга мойиллик каби ўзига хосликлар аниқланган гемостазиограмма кўрсаткичлари маълум даражада қизиқиш уйғотади. Шу билан бирга гемопознинг дизрегуляция даражасига боғлиқ холда апластик камқонлик беморларининг гуморал иммунитетини ўзига хосликлари текширилди: касалликнинг оғир бўлмаган ва оғир даражалари билан хасталанган беморларда зардоб иммуноглобулинларининг даражаси тавсифланди (1-расмга қаранг).



1-расм. Касалликнинг оғирлик даражаси билан Igнинг қиёсий таҳлили

Апластик камқонликнинг оғир бўлмаган даражаси билан хасталанган беморлар қон зардобидаги IgA  $2,8 \pm 0,1$  г/мл ни ташкил этди ва назорат  $0,9-4,0$  мг/мл билан қиёсий бўлди, апластик камқонликнинг оғир турида унинг концентрацияси эса  $1,8 \pm 0,1$  г/мл ни ташкил этди. Ҳар икки гуруҳ беморлари қон зардобида IgMнинг даражаси сезиларсиз ошди ва апластик камқонлик оғир турли беморларида  $1,8 \pm 0,3$  г/мл, апластик камқонликнинг оғир бўлмаган беморларида эса  $2,5 \pm 0,3$  г/л ни ташкил этди. Оғир ва оғир бўлмаган турлари билан беморлар гуруҳлари ўртасида фақат IgG – P (1-2)  $\geq 0,05$  бўйича ишончли фарқлар аниқланди. Шундай қилиб аниқландики, иммуноглобулинлар, гуморал иммунитет омиллари каби статистик аҳамиятсиздир. Апластик камқонлик беморлари периферик қондаги IgM, IgA, IgG даражаси даволашгача ва даволашдан сўнг йўл қўйиладиган меъёрлар даражасида бўлди ва патогенетик ҳамда башоратлаш аҳамиятига эга бўлмади.

Диссертациянинг «Апластик камқонлик билан оғирган беморларда CD4+ ҳужайралар ва цитокин статусини тадқиқ қилиш» деб номланган тўртинчи бобида илмий ишнинг асосий вазифаларини ҳал этишни кўзда

тутувчи тадқиқот натижалари тақдим этилган. Мазкур боб цитокинларни: пролиферацияни қўллаб қувватловчи омилларни синтези ва ҳосил бўлишини, шунингдек, мос ҳолда апластик камқонлик беморларида заиф бўлиб ҳисобланган гемопозга таъсирини ўрганишга бағишланган. Илмий ишда клиник кўринишларнинг авж олиш даврида апластик камқонлик билан ҳасталанган беморларда позитив ва негатив гемопозетик омиллар эритропозтин, интерферон, интерлейкин, ўсма некрози омилларини (ЭПО, ИНФγ, ИЛ -1,-4,-6,-8, ФНОα) экспрессиясини қиёсий баҳолаш олиб борилди (1-жадвалга қараган).

Апластик камқонлик беморларида асосий гемопозетик омиллар ўрганилди ва бу кўрсаткичларни касалликни кечиш оғирлиги билан алоқасини ўрганишдан олдин, уларни ташхисни қўйиш вақтидаги динамикаси, клиник белгиларнинг кенгайган даври ва иммуносупрессив даволашнинг стандарт баённомалари билан даволаш босқичлари ва Циклоспорин Ани қўллаш билан замонавий даволаш схемаларини қўллаш ўрганилди.

### 1-жадвал

#### Меъёра ва апластик камқонликда гемопознинг асосий бошқарувчиларини периферик қондаги мононуклеарлар билан ишлаб чиқарилиши

Цитокинлар (N)	Назорат (n=40) пг/мл	АК беморлари (n=118) пг/мл	P
ИЛ-1β (0-10)	1,17±0,2	10,7±5,0	>0,05
ИЛ-6 (0-10)	2,37±0,2	42,11±9,49	<0,001
ИНФγ (0-5)	3,33±0,19	9,15±1,14	<0,001
ФНОα(0-6)	0,02±0,003	14,02±4,54	<0,001
ИЛ-4 (0-10)	0,1±0,03	0,11±0,05	>0,05
ИЛ-8 (0-10)	3,61±0,64	47,24±3,1	<0,001
ЭПО мМЕ/мл	8,0±0,2	580,7±42,8	<0,001

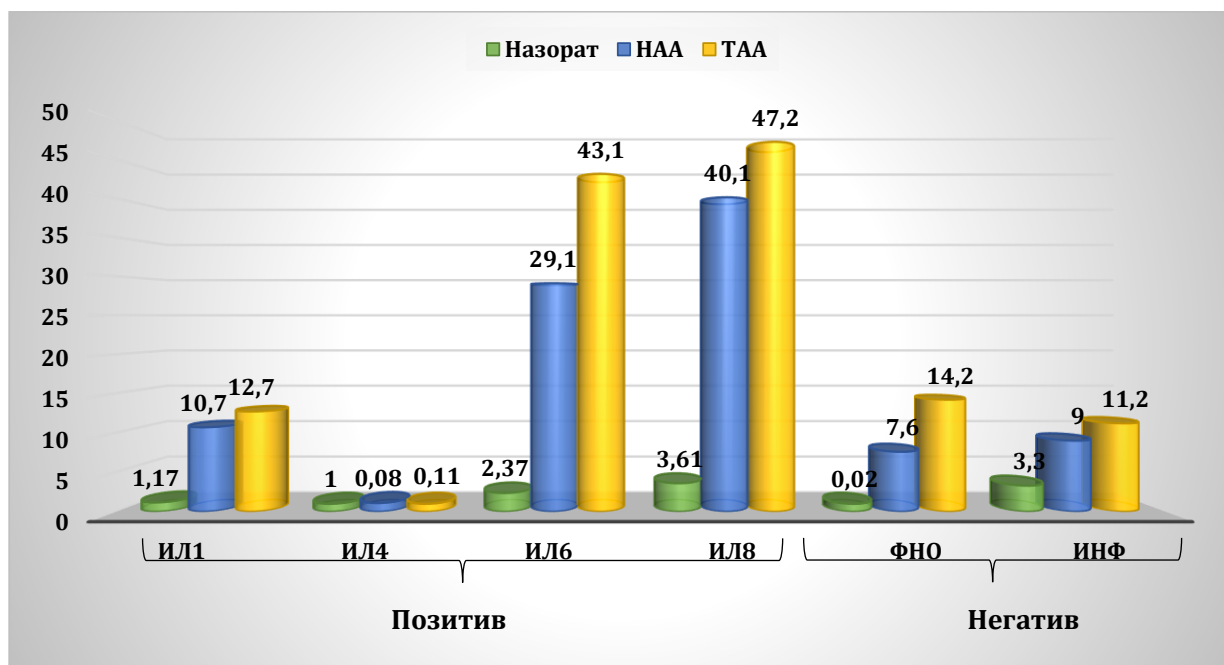
Апластик камқонликли беморларининг периферик қонидаги эритропозтин (ЭПО) белгиларининг таҳлили кўрсатдики, омилни 205,0дан 1050,0 мМЕ/мл гача ўзгариши меъерий белги кўрсаткичларидан паст бўлмади, ҳатто ошган бўлиб чиқди.

Апластик камқонлик беморлари қон зардобиди интерлейкин 1β (ИЛ-1β) ни ўз-ўзидан ҳосил бўлиши, меъёр билан таққосланганда енгил ошганлиги (10,7±5,0 пг/мл), аммо ўртача статистик белгиларга кўра –ишончли бўлмаган (p>0,05) ҳолатда бўлди. ИЛ-6 позитив цитокинини ҳосил бўлиши назорат гуруҳ кўрсаткичлари билан солиштириш бўйича 17 марта ошди (42,11±9,49 пг/мл ва 2,37±0,2 пг/мл). Қон зардобиди ИЛ-8 маҳсулотларининг миқдори амалий жиҳатдан соғлом бўлган назорат гуруҳ кўрсаткичларидан 13 марта юқори бўлди (47,24±3,1 пг/мл ва 3,61±0,64 пг/мл, мос ҳолда, p<0,001). Беморларнинг периферик қонидаги ИЛ-4 ўз ўзидан ҳосил бўлувчи маҳсулоти меъёр билан қиёсий (>0,05) бўлди ва 0,8 пг/мл ни ташкил этди.

Ўрнатилдики, ИЛ-4 ўсма некрози омилининг (ФНО $\alpha$ ) бевосита антагонисти бўлиб ҳисобланади ва ушбу иккита гемапозитик омиллар ўртасида яққол намоён бўлган тескари корреляцион алоқа ( $r=-0,63$ ) аниқланди. Апластик камқонлик учун хос бўлган ФНО $\alpha$  нинг юқори ҳосилдорлигига асосланиб, шунини айтиш мумкинки, мазкур патологияда ИЛ-4 гемапозитининг негатив антагонистлари мутлақо мос бўлмаган ҳолда оз миқдорда ҳосил бўлади.

Гемопозитинг негатив бошқарувчилар сифатида ФНО $\alpha$  ва ИНФ $\gamma$  ўрганилди. Апластик камқонлик беморлари периферик қонда ИНФ $\gamma$ нинг ўз ўзидан ҳосил бўлиши  $9,15 \pm 1,14$  пг/мл ни ташкил этди, бу назорат гуруҳининг белгиларидан  $3,33 \pm 0,19$  пг/мл деярли уч марта юқори бўлди. Бизлар томонимиздан аниқланишига кўра, бошқа негатив гемапозитик омил ФНО $\alpha$  назоратнинг ўртача белгиларидан кескин 700 марта ( $14,02 \pm 4,54$  пг/мл ва  $0,02 \pm 0,003$  пг/мл, мос ҳолда) юқори бўлди.

Меъёрда қон ҳосил қилувчи, қон ҳосил бўлишини оғир ва ўртача тормозланишидаги гуруҳлар сезиларли фарқланади. Апластик камқонликда ИЛ-4 цитокиннинг етарли бўлмаган миқдори ҳосил бўлади, у ўсма некрози омили (ФНО $\alpha$ ) цитокини гемапозитини ингибирловчи антагонист ҳисобланади. АК оғир бўлмаган беморларда ижобий омиллар синтезининг тезлиги бошқа цитокинлар маҳсулотларидан (4-5 марта) устунликка эга бўлади, бунда, касаллик оғир бўлган беморларида эса салбий цитокинлар синтезида ўсма некрози омили (ФНО $\alpha$ )— $14,02$  пг/мл (14 меъёрдан гача) сезиларли устунликка эга бўлади, бу эса гемапозит депрессияси оғирлигини чақиради (2-расмга қаранг).



2-расм. Аплазиянинг оғирлик даражаси ва гемапозитик омил маҳсулотлари ўртасидаги нисбат таҳлили

Беморлардаги ИЛ-6 колония ҳосил қилувчи омиллар синтезини назорат гуруҳи кўрсаткичлари ( $2,37 \pm 0,2$  пг/мл) билан солиштирилганда, апластик

камқонликниг оғир бўлмаган гуруҳида 10 мартага ошганлиги ( $29,1 \pm 7,4$  пг/мл), оғир турдаги гуруҳида эса - 20 мартадан кўпга ( $43,1 \pm 4,9$  пг/мл) ошганлигини кўриш мумкин. ИЛ-8 цитокинлар даражасини таҳлил қилиб шуни таъкидлаш мумкинки, уни периферик қондаги моноклеарлар билан ҳосил бўлиши ҳар икки гуруҳда ишончли равишда ошди ва оғир бўлмаган гуруҳида  $31,0 \pm 3,9$  пг/мл (назорат гуруҳида  $3,61 \pm 0,64$  пг/мл), оғир гуруҳида эса  $47,24$  пг/млга юқори бўлди. Апластик камқонлик оғир ва оғир бўлмаган гуруҳларида ИЛ-1 цитокини мос ҳолда  $12,7 \pm 2,8$  пг/мл ва  $10,7 \pm 4,8$  пг/мл ни ташкил этди аниқ ва ишончли даражада, назорат гуруҳида мазкур кўрсаткич  $1,17 \pm 0,2$  пг/мл ортиқ бўлди. Апластик камқонликнинг оғир бўлмаган гуруҳида ҳам оғир гуруҳида ҳам ИЛ-4 нинг ҳосил бўлиши назорат гуруҳи билан ҳам, меъерий кўрсаткичлар билан ҳам ўзаро қиёсий бўлди ва оғир бўлмаган беморларида  $0,8 \pm 0,12$  пг/мл (назорат гуруҳидан  $0,1 \pm 0,03$  пг/млга фарқли равишда) тенг бўлди. Апластик камқонликнинг оғир турли беморларида эса ИЛ-4 -  $0,11 \pm 0,05$  пг/мл ни ташкил этди ва бу пасайиш статистик жиҳатдан аҳамиятсиз ( $>0,05$ ) бўлди. Назорат гуруҳида ИНФү маҳсулоти  $3,33 \pm 0,1$  пг/мл ни ташкил этди, апластик камқонликнинг оғир бўлмаган турида эса уни ҳосил бўлиши  $9,0 \pm 1,7$  пг/млга, оғир турли беморларида эса  $11,2 \pm 1,4$  пг/млга тенг бўлди.

ФНО $\alpha$  ни ҳосил бўлишини цитокинли пўртана деб тавсифлаш мумкин, чунки, уни ишлаб чиқарилиши камқонликнинг оғир бўлмаган турида  $8,8 \pm 2,0$  пг/мл, касалликни оғир даражасида  $18,02 \pm 4,54$  пг/мл, назорат гуруҳида эса  $0,02 \pm 0,003$  пг/мл ни ташкил этади. Шунингдек, бу бобда периферик қон ва суяк кўмигидаги CD 4+ ва CD 20+ хужайраларни тадқиқ қилиш бўйича маълумотлар тақдим этилган, бу ерда маълум қонуният аниқланган бўлиб, унга кўра CD4+ хужайра маҳсулотлари апластик камқонликнинг оғир турида беморларининг суяк кўмиги ва периферик қонида  $294,5 \pm 3,6$  кл/мл ва  $267,5 \pm 6,3$  кл/мл мос ҳолда сезиларли пасайган (2-жадвалга қаранг).

## 2-жадвал

### Касалликнинг авж олиш даврида апластик камқонлик беморларида CD 4+ хужайраларининг кўрсаткичлари

Кўрсаткичлар	СК - CD4+ (500-1600к/мл)	ПҚ - CD4+ (500-1600 к/мл)	P1-2	P1-3	P2-3
1-назорат гуруҳи (n=10)	$1485,5 \pm 8,71$	$1469,3 \pm 8,2$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$
2-апластик камқонлик оғир тури (n=26)	$294,5 \pm 3,6$	$267,5 \pm 6,3$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$
3-апластик камқонлик оғир бўлмаган тури (n=14)	$470 \pm 3,9$	$432,3 \pm 5,2$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,01$

**Изоҳ:** P1-2 P1-3 ташкил этди ( $<0,001$ ) биринчи ва иккинчи гуруҳга нисбатан фарқлар ишончли.

Апластик камқонликнинг оғир бўлмаган беморларида мазкур кўрсаткич  $470 \pm 3,9$  кл/мл и  $432,3 \pm 5,2$  кл/мл ни ташкил этди. CD 4+ гипоантигенларининг ҳолати Т-лимфоцитларнинг фаоллаштирилган шакллари ни ўсишига олиб

келади, бу эса ўз навбатида негатив гемопозитик омиллар маҳсулотларини фаоллашишига сабаб бўлади. Суяк кўмигида CD 4+ ҳужайраларининг таҳлили кўрсатдики, CD 4+ лимфоцитларини апластик камқонликнинг оғир турли 67% беморларда белгиларни 202 дан 387 кл/мл гача тарқоқликда пасайиши, камқонлик оғир бўлмаган турли беморларда эса 425 дан 515 кл/мл гача пасайиши аниқланди. Апластик камқонлик беморларида периферик қон (ПҚ) ва суяк кўмиги (СК)да CD 20+ (В-лимфоцитларнинг субпопуляцияси) миқдори тўғрисидаги маълумотлар 3-жадвалда тақдим этилган.

### 3-жадвал

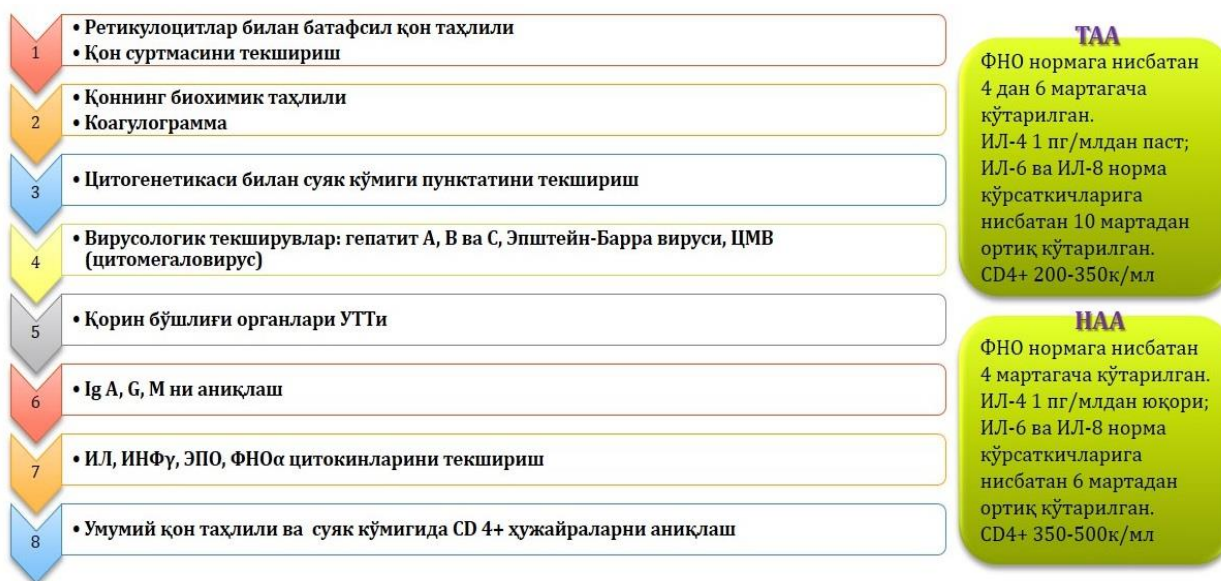
#### Касалликнинг авж олиш даврида апластик камқонлик беморларида CD 20+ ҳужайраларининг кўрсаткичлари

	СК - CD 20+ (90-250 к/мл)	ПҚ - CD 20+	P1-2	P1-3	P2-3
Назорат гуруҳи (n=10)	161,4±1,0	167,1±1,6	>0,05	>0,05	>0,05
Апластик камқонлик оғир тури (n=26)	117,4±3,9	121,8±3,1	>0,05	>0,05	>0,05
Апластик камқонлик оғир бўлмаган тури(n=14)	125,1±2,0	195,3±3,3	>0,05	>0,05	>0,05

**Изоҳ:** P1-2, P1-3, P2-3 фарқлар биринчи ва иккинчи гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли ташкил этди (P>0,05).

Апластик камқонлик оғир бўлмаган турида олинган белгилар назорат гуруҳига мос келиб, натижалар 125,1±2,0 к/млга қарши 161,4±1,0,ни ташкил этди. Апластик камқонлик оғир турли беморлар гуруҳида эса CD20<sup>+</sup> ҳужайралар миқдори сезиларсиз даражада (117,4±3,9) пасайди, аммо ташхислаш меъёрлари чегарасида қолди.

Тадқиқотлар натижасида апластик камқонлик билан хасталанган беморларни текшириш ва ташхислаш алгоритми ишлаб чиқилди (3-расмга қаранг).



#### 3-расм. Апластик камқонлига гумон қилинган беморлар текшируви ва ташхислаш алгоритми



Диссертациянинг «**Опозитив цитокинлар асосидаги иммуносупрессив даволаш самарадорлигини баҳолаш**» деб номланган бешинчи бобда ўтказиладиган опозитив цитокинлар асосидаги иммуносупрессив даволашни баҳолаш билан амалга оширилди. Касалликнинг турли оғирлик даражасида бўлган беморларда (яъни даволашгача бўлган ва даволаш бошлангандан сўнг 6 ойдан кейин) ремиссия босқичида ҳамда клиник белгиларнинг авж олган босқичларида асосий қарама қарши цитокинлар нисбатини қандай ўзгариши аниқланди. Апластик камқонлик беморларини Циклоспорин А (ЦсА) билан иммуносупрессив даволашни анъанавий даволаш усуллари билан таққослаб, унинг даволаш самарадорлиги таҳлил қилинди ва даволашнинг эрта босқичларида гемопоэз кўрсаткичларини тикланишини ўзига хосликларига баҳо берилди.

Исботландики, апластик камқонликли беморларда ўтказиладиган Иммуносупрессив терапия вақтида асосий бошқарувчи цитокинлар ва хемокинларни тадқиқ қилиш, касалликни оғирлик шакли, шунингдек, уларнинг динамикасига боғлиқ бўлмаган ҳолда даволаш самарадорлик коэффициенти ва касаллик кечишини башорати бўлиб ҳисобланиши мумкин.

Ўтказилаётган даволаш самарадорлигини баҳолаш учун қабул қилинаётган даволаш турига кўра беморлар 3 гуруҳга тақсимланди: Циклоспорин А гуруҳининг неорал, сандимун, биорал ва бошқа дори воситаларини қабул қилувчи – 1 гуруҳ (56 нафар бемор); таркибига глюкокортикостероид дори воситалари киритилган даволаш қўлланилган – 2 гуруҳ беморлари (30 нафар бемор); 3 гуруҳ даво олиш жараёнида, агарда беморлар томонидан ЦсАли курсни тўлиқ олишни имкони бўлмаганда ва ГКСли гуруҳга ўтказилганда ёки уларда спленэктомия амалга оширилганда шакллантирилди. Аралаш гуруҳда цитокин статусини келгусида ўрганиш амалга оширилмади, чунки бундай ҳолатларда цитокин статус натижаларини ишончли баҳолашни имкони мавжуд эмас. Шундай қилиб цитокин статусини охиригача тадқиқ қилиш 86 нафар беморда кузатилди. Шундай қилиб, апластик камқонликнинг бўлган беморларнинг 2 гуруҳи аниқланди: 1 гуруҳ-6 ой давомида 5мг/кг/кун миқдорда Циклоспорин А билан даволанган беморлар ва 2 гуруҳ-1 мг/кг/кун миқдорда ГКС (преднизалон) билан даволанган беморлардир (4-жадвалга қаранг).

#### 4-жадвал

#### Даволашгача ва даволашдан кейин IgM, IgA, IgG иммуноглобулинларининг миқдори

Ташхислаш меъёрлари	1 гуруҳ (даволашгача)	2 гуруҳ (даволашгача)	1 гуруҳ (даволашдан сўнг)	2 гуруҳ (даволашдан сўнг)
IgA(0,9-4,0 мг/мл.)	1,2 ±1,01	1,5 ±1,2	1,11±0,3	1,3±1,4
IgG(5,3-16,5мг/мл.)	8,62±2,2	8,2±2,5	8,22±3,5	8,4±2,5.
IgM(0,5-2,0 мг/мл.)	0,8±0,2	0,7±0,7	0,7±0,15	0,6±0,7

Апластик камқонликли 56 нафар беморда (14 нафар эркак ва 11 нафар аёл), шунингдек, ГКС+нинг стандарт тартиби бўйича даволаш қабул қилган 30 нафар беморда ЦсА қабул қилингандан кейин ЭПО, ИЛ -1,-4,-6,-8, ИНФγ, ФНОαни миқдорий таҳлили ўтказилди (5-жадвалга қаранг). ЦсА билан даволашда ҳам ГКСни қабул қилишда ҳам ФНОα даражаси ишончли равишда  $10,2 \pm 1,5$  пг/мл ва  $12,3 \pm 3,4$  пг/мл га мос ҳолда пасайди ( $P < 0,001$ ). ИНФγни тадқиқ қилишда фарқлар янада камроқ сезиларли бўлди, гуруҳлар ўртасидаги ишончлилик даражаси -  $< 0,05$ , ЦсА қабул қилган беморларда  $7,2 \pm 1,1$  пг/мл ва ГКС протоколи бўйича даволанган беморларда эса  $8,3 \pm 1,15$  пг/мл ни ташкил этди.

ИЛ-4 Т-лимфоцит ўсиш омилларининг таҳлилида дастлабки вақтда паст бўлган унинг маҳсулотини ортиши кузатилди, циклоспорин Ани қабул қилувчи беморларда натижа  $2,2 \pm 0,5$  пг/мл га тенг бўлган бўлса, стандарт даволашни қабул қилган беморларда эса бу кўрсаткич етарли даражада пастлигича-  $0,8 \pm 0,01$  пг/мл қолди. ИЛ-6нинг ўз ўзидан юзага келувчи маҳсулот даражаси 17 марта ортиб,  $41,2 \pm 9,9$  пг/млга тенг бўлди. Даволашдан кейин ЦсА қабул қилган беморларда бу кўрсаткич  $29,3 \pm 4,5$  пг/мл ташкил қилган бўлса, ГКС қабул қилган беморларда  $36,1 \pm 6,2$  пг/мл ни ташкил этди. Апластик камқонликли беморлар периферик қонидаги ИЛ-8 маҳсулотлари соғлом одам кўрсаткичларидан 13 марта юқори ( $45,3 \pm 3,15$  пг/мл) бўлди. Даволанишдан кейин ҳам у юқори даражада эканлиги билан қолди, бу балки пасайиши учун узоқ вақтни талаб этади, чунки мазкур кўрсаткич фаол кетаётган яллиғланиш жараёнини кўрсаткичи бўлиб ҳисобланади. Шу билан ЦсА қабул қилган беморларда у бу кўрсаткич  $32,2 \pm 6,1715$  пг/мл ва стандарт тартибда даволанганларда эса  $35,8 \pm 4,5$  пг/млни ташкил этди ( $P_{1-2} < 0,001$ ;  $P_{1-3} < 0,001$ ;  $P_{2-3} < 0,05$ ).

### 5-жадвал

#### Циклоспорин А билан даволашдан олдин ва кейинги цитокин статусининг динамикаси

Цитокинлар (N) (пг/мл)	Даволашни бошлашдан олдин (n=86)	ЦсА билан даволаш бошлангандан 6 ойдан сўнг (n=56)	ЦсАсиз даволаш бошлангандан 6 ойдан сўнг (n=30)	P1-2	P1-3	P2-3
ИЛ-1β(0-10)	$10,6 \pm 4,8$	$9,8 \pm 2,1$ ↓	$10 \pm 1,8$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$
ИЛ-6(0-10)	$41,2 \pm 9,9$	$29,3 \pm 4,5$ ↓	$36,1 \pm 6,2$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,05$
ИНФγ(0-5)	$9,1 \pm 1,1$	$7,2 \pm 1,1$ ↓	$8,3 \pm 1,15$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,05$
ФНОα(0-6)	$14,2 \pm 4,4$	$10,2 \pm 1,5$ ↓	$12,3 \pm 3,4$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,05$
ИЛ-4(0-10)	$0,1 \pm 0,05$	$2,2 \pm 0,5$ ↑	$0,8 \pm 0,01$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$
ИЛ-8(0-10)	$45,3 \pm 3,15$	$32,2 \pm 6,17$ ↓	$35,8 \pm 4,5$	$< 0,001$	$< 0,001$	$< 0,05$

**Изоҳ:** P1-2, P1-3, P2-3 фарқлар биринчи ва иккинчи гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли ташкил этди ( $P > 0,05$ )

Тадқиқотнинг барча натижалари асосида касалликда учрайдиган махсус фарқ қилувчи белгиларни ҳисобга олиш билан ишлаб чиқилган. АҚни кечиш ривожланишини башоратлаш шкаласи таклиф этилди: биринчи марта бир бирини тўлдирувчи гемопоэтик цитокинларнинг бирга келишини танлаб олинди. Таклиф этилган мезонлар асосида ишлаб чиқилган башоратлаш усули, аплазиянинг нохуш башорати ривожланиши ва кечиш оғирлигини баҳолашни стандартлаштиришга имкон беради (6-жадвалга қаранг).

**6-жадвал**

**Апластик камқонлиги кечишини прогнози шкаласи**

Мезонлари	Таснифи	Баллар
Ёши	16-45	0
	45 ва ундан катта	1
Касаллик тури	оғир бўлмаган	0
	оғир	1
Сурункали касалликлар борлиги	йўқ	0
	бор	1
УҚТ кўрсаткичлари	Гемоглобин – 80-100г/л, Тромбоцитлар – $50 \times 10^9$ ва ундан баланд Лейкоцитлар - $1,5 \times 10^{12}$ ва ундан баланд Ретикулоцитлар $20 \times 10^9$ ва ундан баланд	0
	Гемоглобин –80 г/л дан паст, Тромбоцитлар – $50 \times 10^9$ дан паст Лейкоцитлар - $1,5 \times 10^{12}$ дан паст Ретикулоцитлар – $20 \times 10^9$ дан паст	1
Позитив цитокинларнинг дастлабки даражаси	ИЛ-4 1 пг/млдан баланд	0
	ИЛ-4 1 пг/млдан паст	1
Негатив цитокинларнинг дастлабки даражаси	ФНО $\alpha$ – 6 нормадан паст	0
	ФНО $\alpha$ – 6 нормадан баланд	1
Иммунитетнинг хужайра босқичи ҳолати	CD4+ баланд	0
	CD4+ паст	1
Дастурий терапияни танлаш	ЦсА/АТГАМ	0
	Глюкокортикостероидлар	1
Бошланғич 3 ой давомида қўлланилаётган терапияга клиник жавоб	Тўлиқ жавоб	0
	Қисман жавоб	1
	Жавоб йўқ	2

**Изоҳ:** 0-4 бал: қулай башорат, яхши кечиши (касалликдан тўлиқ тузалиши назарда тутилади, касаллик кечиши даражасидан қатъий назар);

**5-7 бал:** ноқулай башорат (касаллик узоқ муддат давом этиши назарда тутилади, рецидивлар эҳтимоли бор, 5-йиллик омон қолиш даражаси 50%);

**8-11 бал:** ўта ноқулай башорат, хавфли кечиши (юқори ўлим кўрсаткичи, тезкор кечиши)

Мазкур балли шкала апластик камқонлик билан хасталанган беморлардаги индивидуал башоратни баҳолашда қўлланилиши мумкин. Беморларни назорат юритиш тактикаси ва касаллик кечишини эрта мезонларини аниқлашда ушбу башоратлаш шкаласини қўллаш шифокор гематологларга беморларни юритишни зарурий тактикасини танлаб олишга, дори воситаларини зарурий миқдорини тез ва аниқ белгилашга ёки паллиатив

даволашни ўтказиш зарурияти тўғрисида қарор қабул қилишга, шунингдек, олиб борилган даволаш самарадорлигини баҳолашга имкон беради.

Касаллик кечишини башоратлаш объектив даволаш тактикасини танлаб олишга, самарадорликни баҳолашга ва қўлланилган даволаш усулини мақсадга мувофиқлигини иқтисодий асослашга, шу билан соғлиқни сақлаш ресурслари ишончлилигини оширишга имкон беради.

## ХУЛОСАЛАР

«Ўзбекистон Республикасида апластик камқонлик беморларида периферик қон ва суяк кўмигидаги цитокинлар ва CD4+ хужайралари ролини ўрганиш» мавзусидаги тиббиёт фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертация бўйича тадқиқотлар асосида қуйидаги хулосалар берилди:

1. Апластик камқонлик беморларида касалликнинг авжолиш даврида гемостаз тизими томонидан тромб ҳосил бўлишини ички йўллари фаоллашиши ҳисобига гиперкоагуляция ривожланади, бу эса касалликни сурункали кечишида капилляр деворлар ўтказувчанлигини ва тромбоцитлар емирилишининг ошиши аниқланди ва шу йўл билан геморрагик синдром компонентини мураккаблаштириб ёпиқ халқани шакллантиради.

2. Гуморал иммунитет омиллари апластик камқонликнинг оғир бўлмаган ва оғир бўлган беморлар ўртасида ишончли фарқга эга бўлмадлиги ( $p > 0,05$ ) ва олиб борилган даволашдан олдин ва кейин ўзгармаслиги аниқланди.

3. Т-хужайралар билан миелосупрессив ФНО $\alpha$ нинг антогонистлари бўлиб ҳисобланган ИЛ-4 цитокинларининг мос бўлмаган миқдори шаклланади ( $p \leq 0,001$ ), у эса 6 ва ундан ортиқ мартага кўтарилганлиги аниқланди ( $p \leq 0,001$ ). Апластик камқонликда ЭПОНинг ҳосил бўлиши 700 мартага ошди ва аплазияни шаклланишида патогенетик аҳамиятга эга бўлмади. CD4+ хужайралар Т-лимфоцитларнинг фаоллашишига олиб келувчи гипомаҳсулотли билан ва бунинг оқибатида эса гемопоезис ингибирловчи цитокинларнинг янада кучлироқ ишлаб чиқарилиши билан тавсифланади.

4. Аплазиянинг оғирлиги ва цитокин статусининг мувозанатлашмаганлиги ўртасидаги алоқа ўрнатилди. Барча тадқиқ қилинган цитокин бошқарилувчилари орасида (ИЛ – 1, 4, 6, 8, ФНО $\alpha$  ва ИНФ $\gamma$ ) апластик камқонликнинг оғир тури ва оғир бўлмагандан фақат битта кўрсаткич - ФНО $\alpha$  гемопоезис ингибирланишини ҳосил бўлиш жадаллиги билан ишончли фарқ қилади ( $p \leq 0,001$ ). Ташхислашни такомиллаштириш ва касаллик кечиши башоратини аниқлашда цитокин статусни таъсири баҳоланди.

5. Даволашнинг дастлабки 2 ойида ИЛ-1 ва ИЛ-4 гемопоезис цитокинларини кучайишини фаоллаштирилиши тикланиши билан бир қаторда ФНО $\alpha$  ни ўз ўзидан юзага келадиган цитокинларини камайиши танлаб олинган иммуносупрессив даволаш тактикасини тўғрилигини тасдиқловчи ижобий башоратлаш мезони бўлиб ҳисобланади. Касалликни такрорланиши цитокин ва цитокин ишлаб чиқарувчи хужайраларнинг нисбати мувозанатини ривожланиши билан белгиланади.

**РАЗОВЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02  
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ  
ПРИ ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ**

---

**РЕСПУБЛИКАНСКИЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ**

**БЕРГЕР ИННА ВИКТОРОВНА**

**ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ЦИТОКИНОВ И CD4 КЛЕТОК  
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ  
АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ УЗБЕКИСТАН**

**14.00.29–Гематология и трансфузиология**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ  
ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО МЕДИЦИНСКИМ НАУКАМ**

**Ташкент – 2020**

**Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за №В2018.1.PhD/Tib583.**

Диссертация выполнена в Республиканском специализированном научно - практическом медицинском центре Гематологии

Автореферат диссертации на двух языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ([www.tma.uz](http://www.tma.uz)) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» ([www.ziyo.net](http://www.ziyo.net)).

**Научный руководитель:** **Махмудова Азиза Джумановна**  
доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты:** **Маткаримова Дилфуза Сабуровна**  
доктор медицинских наук, доцент

**Баховадинов Бурхонидин Баховадинович**  
доктор медицинских наук, профессор (Россия)

**Ведущая организация:** **Самаркандский государственный медицинский институт**

Защита диссертации состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Разового научного совета DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 при Ташкентской медицинской академии. (Адрес: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Фароби, дом 2. Тел./факс: (+99878) 150-78-25; e-mail: [tta2005@mail.ru](mailto:tta2005@mail.ru)).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрирована за \_\_\_\_\_). Адрес: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, улица Фароби, дом 2. Тел./факс: (+99878)150-78-14.

Автореферат диссертации разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 года.  
(реестр протокола рассылки № \_\_\_\_\_ от «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2020 года).

**А.Г. Гадаев**

Председатель Разового научного совета по присуждению ученых степеней, доктор медицинских наук, профессор

**Д.А. Набиева**

Ученый секретарь Разового научного совета по присуждению ученых степеней, доктор медицинских наук, доцент

**Ш.А. Бабаджанова**

Председатель научного семинара при Разовом научном совете по присуждению ученых степеней, доктор медицинских наук, профессор

## ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире по результатам многих эпидемиологических обследований, апластические анемии встречаются с неодинаковой частотой на таких территориях, как Европа, Южная и Северная Америка, и Ближний Восток. Согласно группе ISAAA (International studies of agranulocytosis and aplastic anemia) – «...в странах Европы распространенность апластической анемии составляет 2 случая на 1 млн. населения в год. Данный показатель колеблется в зависимости от исследуемой страны от 0,6 до 4 и более на 1 млн. населения в год...»<sup>1</sup>. В настоящее время большая часть исследователей, отводят главную роль дисбалансу в цитокиновой регуляции гемопоэза при развитии недостаточности кроветворения у пациентов с апластическими анемиями. «...продуцентами некоторых гемопоэтических факторов являются Т-лимфоциты, которые определяются в костном мозге и в сыворотке крови. Цитокины относящиеся к миелосупрессорам ингибируют рост гемопоэтических колоний *in vitro*...»<sup>2</sup>. Как правило, остается неизвестным или не отслеживаемым пусковой механизм поступающий от антигенов, который запускает процесс активации иммунной системы или срыв регулярного гемопоэза при апластических анемиях. С применением иммуносупрессивной терапии (ИСТ) достоверно увеличилась общая выживаемость больных, а такие препараты как - циклоспорин А (ЦСА), антитимоцитарный (АТГ) и антилимфоцитарный (АЛГ) глобулины - в настоящее время они считаются препаратами первой линии в лечении аплазии кроветворения. Несмотря на вселяющие надежду результаты лечения апластической анемии (АА) иммунодепрессантами, достаточно высоким остается количество летальных исходов, составляя до 30-40% и более. В связи с этим, сохраняется важность дальнейшего изучения механизмов развития болезни и поиска патогенетически обоснованных подходов лечения.

Во всем мире проводится ряд научных исследований направленных на изучение роли цитокинов и CD4+ клеток периферической крови и костном мозге у пациентов с апластической анемией. В связи с этим необходимо обосновать специфичность клинико-лабораторных исследований у больных с АА в пиковый период заболевания. Оценка и анализ иммунного статуса на основе изучения Ig A, G, M в периферической крови больных АА и уровня цитокинов в сыворотке крови позитивных (ЭПО, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8) и негативных (ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ ) гемопоэтических факторов, а также исследование CD4+ клеток в костном мозге. Особое значение имеет разработка современных способов исследования эффективности иммуносупрессивной терапии у пациентов апластической анемией на основе изучения оппозитных цитокинов.

---

<sup>1</sup>International studies of agranulocytosis and aplastic anemia 2018

<sup>2</sup> Tong Chen, Tian Zhang, Chunyan Liu, ChaoMeng Wang, Shaoxue Ding, ZongHong Shao, Rong Fu. NK cells suppress CD8+ T cell immunity via NKG2D in severe aplastic anemia. Cellular Immunology 335 (2019) 6-14

В нашей стране для развития медицинской сферы ставится ряд задач, направленных на адаптацию медицинской системы к мировым стандартам, снижению и предотвращению распространения апластической анемией среди населения. А также «...внедрение высокотехнологичных методов ранней диагностики и лечения заболевания, создания патронажной службы, пропагандирование здорового образа жизни и профилактика заболеваний...»<sup>3</sup>. Эти задачи позволят снизить заболеваемость и смертность от осложнений факторами риска развития заболевания за счет снижения гематологических заболеваний среди населения, улучшения использования современных технологий при разработке профилактических мероприятий среди населения.

Данное диссертационное исследование в определенной степени соответствуют задачам предусмотренных в Указах Президента Республики Узбекистан № УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года, № УП-4985 «О мерах по дальнейшему совершенствованию системы экстренной медицинской помощи» от 16 марта 2017 года, № УП-5590 «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан» от 7 декабря 2018 года, в Постановлении Президента Республики Узбекистан № ПП-3071 «О мерах по дальнейшему развитию специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан на 2017-2021 годы» от 20 июня 2017 года, ПП №2866 от 04 апреля 2017 года, в которых за период 2017-2021 года, предусмотрен подъем качества профилактических мероприятий, диагностических и лечебных процедур до уровня международных стандартов, а также в других нормативно-правовых актах, принятых в данном направлении.

**Соответствие исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий республики.** Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологии республики VI «Медицина и фармакология».

**Степень изученности проблемы.** Ведется ряд научных исследований для достижения высокой эффективности диагностики и лечения АА (Danielle B. Clucas, Lucy C. Fox, 2019). Изучаются причины и патогенетические механизмы возникновения АА (Saracco P., Lorenzati A, 2011, 2014); учеными публикуются данные о функциональных и количественных нарушениях в популяциях регуляторных Т-клеток супрессоров при АА, в частности CD4+, CD20+ и других кластеров дифференцировки (Jianzhi Zhao, Qianyn Qi, 2019); доказана эффективность оценки цитокинового профиля интерлейкинов (ИЛ1,4,6,8), фактора некроза опухоли (ФНО $\alpha$ ), интерферона (ИНФ $\gamma$ ) у пациентов с АА (Kensuke Matsuda, 2019).

Исследователи в нашей Республике практически не изучают проблемы цитокин-опосредованных процессов при АА. За последние 20 лет имеются единичные работы под руководством Х.Я. Каримова, 2000; А.Р.

---

<sup>3</sup>Указ Президента Республики Узбекистан № 5590 от 7 декабря 2018 года «О комплексных мерах по коренному улучшению системы здравоохранения Республики Узбекистан».



Рахматуллаева, 1970; У.А. Алтыбаева, 1986; О.М. Маликова, 2011) посвященные этиологии и лечению апластической анемии, однако не была оценена значимость цитокинов и CD4+ клеток в костном мозге и периферической крови у больных апластической анемией.

Анализируя публикации современных научных исследователей можно сделать вывод, что не существует однозначного мнения об уровне цитокинов и их синтезе при развитии и разгара апластической анемии. Однако, установлена значимость цитокинов в регуляции гемопоэза, но до сих пор не существует оценочной системы степени расстройства цитокинового статуса у пациентов с АА. И, хоть и имеется научное утверждение, что нормальное кроветворение обеспечивается балансом стимулирующих и подавляющих гемопоэз цитокинов, до настоящего времени не определена их взаимосвязь и динамика в процессе терапии. Изучение цитокинового статуса и анализ уровня CD+ клеток в костном мозге и периферической крови – подобных исследований по Узбекистану не проводилось.

**Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация.** Диссертационное исследование выполнено в рамках проекта Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра Гематологии «№ АДСС-14-2 «Разработка эффективных способов диагностики, лечения и прогноза течения апластической анемии на основе изучения цитокинового статуса» (2012-2014гг).

**Целью исследования** является совершенствование способов диагностики, лечения и прогноза течения заболевания на основе изучения гемопоэтических факторов и цитокинового статуса больных с апластической анемией.

**Задачи исследования:**

определение особенностей клинико-лабораторных проявлений в период разгара у больных апластической анемией;

проведение анализа иммунного статуса на основе изучения Ig A, G, M в периферической крови у больных апластической анемией;

исследование уровня цитокинов в сыворотке крови больных апластической анемией: позитивных (ЭПО, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8) и негативных (ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ ) гемопоэтических факторов и CD4 клеток костного мозга в зависимости от тяжести заболевания;

оценить эффективность иммуносупрессивной терапии у больных апластической анемией на основе оппозитных цитокинов;

усовершенствовать методы диагностики, лечения и определить прогностические критерии течения заболевания.

**Объектом исследования** явились 118 пациентов с апластической анемией в возрасте от 18 до 65 лет, находящихся на учете в течении 2012 по 2018 годах в Ресупубликанском специализированном научно-практическом медицинском центре Гематологии.

**Предметом исследования** являлись сыворотка крови и пунктат костного мозга.

**Методы исследования:** В диссертации использованы общеклинические, клинические, гемостазиологические, морфологические, иммуноферментные, цитофлуометрические методы.

**Научная новизна исследования:**

обоснована и установлена оценка нарушения цитокинового статуса на основании изучения способности мононуклеаров периферической крови к продукции цитокинов;

выявлена динамика соотношения оппозитных цитокинов в процессе заболевания: в рецидиве повышается уровень ФНО $\alpha$ , а в стадии клинико-гематологической ремиссии происходит нормализация уровней ЭПО, ФНО $\alpha$ , ИНФ $\gamma$ ;

оценено состояние гуморального и клеточного звеньев иммунитета у больных АА в соответствии со степенью гемодепрессии и в динамике течения заболевания. Установлена роль субпопуляции CD4+ Т-хелперов I класса во влиянии на тяжесть течения и прогноз заболевания;

доказано, что изучение динамики гемопоэтических цитокинов позволяет дать оценку эффективности терапии АА, и определить прогноз течения заболевания на ранних этапах.

**Практические результаты исследования:**

определена прогностическая значимость цитокинов ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ЭПО, ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$  у пациентов АА в формировании тяжести течения заболевания;

совершенствованы и оптимизированы способы диагностики, лечения и прогноза течения данной патологии на основе анализа цитокинового статуса;

разработаны и внедрены алгоритм диагностики и шкала прогноза течения апластической анемии на основании анализа динамики регулирующих гемопоэз цитокинов и CD4+ клеток.

**Достоверность полученных результатов исследования** обосновывается правильностью использованного в работе теоретического подхода, применением адекватных и высокоспецифичных современных взаимодополняющих клинических, биохимических и цитофлуометрических методов исследования апластической анемии, достаточным числом пациентов и точностью результатов проведенных анализов, подвергнутых статистической обработке, рациональной оценкой и сопоставлением полученных результатов с международными и отечественными исследованиями, одобрением выводов полученных результатов уполномоченными структурами.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Теоретическая значимость работы заключается в том, что выявлены гемостазиологические и иммунологические особенности проявления заболевания АА. Выявлены характерные изменения в системе гемостаза: за счет активации системы гемостаза по внутреннему пути протромбинообразования происходит гиперкоагуляция, однако в условиях длительного течения заболевания усиливается потребление тромбоцитов и повышение проницаемости сосудистой стенки, тем самым усиливая развитие

геморрагического синдрома. Оценена роль основных регуляторных позитивных цитокинов ЭПО, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и негативных (ИФН $\gamma$ , ФНО $\alpha$ ) гемопоэтических факторов и CD 4+ клеток костного мозга у пациентов АА, по результатам исследования усовершенствован алгоритм диагностики изученного заболевания и предложены прогностические критерии течения болезни.

Практическая значимость исследования заключается в том, оптимизированы этапы диагностического исследования, определены критерии для прогнозирования тяжести течения заболевания, и определены исследования позволяющие установить правильность выбранного протокола терапии.

**Внедрение результатов исследования.** На основе научных результатов проведено исследование о значении цитокинов и CD4+ клеток в периферической крови и костном мозге больных апластической анемией в Республике Узбекистан:

разработаны методические рекомендации «Апластические анемии. Внедрение новых методов диагностики апластической анемии» (заключение Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан за №8н-д/57 от 13 марта 2020 года). Данная методическая рекомендация позволила повысить эффективность диагностики апластической анемии и повысить эффективность лечения, а также снизить финансовые затраты на лечение;

Полученные научные результаты о значении цитокинов и CD4+ клеток в периферической крови и костной поддержке больных апластической анемией в Республике Узбекистан были применены в медицинской практике, в том числе в практической деятельности Самаркандской областной детской многопрофильной больницы и первой больницы Самаркандского государственного медицинского института (заключение Министерства Здравоохранения Республики Узбекистан за 8н-з/121 от 2 октября 2020 года). Внедрение полученных научных результатов в практику: разработаны методические рекомендации для индивидуального подхода к прогнозированию и лечению, что способствуют улучшению качества жизни и сокращению сроков временной нетрудоспособности, а также сокращению сроков пребывания в стационаре и снижению стоимости лечения, с экономической выгодой государственных бюджетных средств на 37,2% от общего количества больных апластической анемией за год.

**Апробация результатов исследования.** Результаты данного исследования были обсуждены на 2 международных и 2 республиканских научно-практических конференциях.

**Публикация результатов исследования.** По теме диссертации опубликованы 23 научные работы, из них: 9 в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертаций, в частности 7 республиканских и 2 зарубежных изданиях.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 120 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** обоснована актуальность и востребованность диссертационной работы, сформулированы цель, задачи, объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и техники Республики Узбекистан, излагается научная новизна и практические результаты работы, раскрываются научная и практическая значимость, внедрение в практику результатов исследования, сведения об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Современные представления о механизмах развития и состоянии проблемы диагностики и лечения апластической анемии»** приведен обзор литературы, изложены этиология, эпидемиология и механизмы развития АА, освещена роль иммунной системы в патогенезе апластической анемии, современные методы диагностики и принципы лечения. Определены вопросы требующие детального изучения. Завершает главу резюме с обоснованием необходимости проведения настоящего исследования.

Во второй главе диссертации под названием **«Матриалы и методы исследования больных с апластической анемией»** дана общая характеристика обследованных больных и описаны специальные методы исследования. В основу данной диссертационной работы положен анализ изучения цитокинового статуса путем иммуноферментного анализа (ИФА) и изучение кластеров дифференцировки CD4<sup>+</sup> путем проведения цитофлуориметрического исследования.

Клиническое обследование больных включало: подробный специализированный сбор анамнеза с детализацией жалоб, наличием подобных жалоб и онкогематологических заболеваний в анамнезе у близких родственников. Общий клинический осмотр пациента: общее состояние пациента, осмотр кожных покровов и видимых слизистых оболочек на предмет геморрагического синдрома, пальпацию периферических лимфатических узлов, пальпация печени и селезенки, наличие отеков. В группу обследуемых вошли 118 больных с апластической анемией находящихся на момент установления диагноза и лечения в РСНПМЦ Гематологии. Из них женщины составили 42% (49) и мужчины 58% (69). Возраст обследованных находился в диапазоне от 16 до 60 лет ( $39,6 \pm 3,6$ ). Ретроспективным путем изучено 416 историй болезни за 2012-2018 года. Проспективное исследование проводилось в течении 24 месяцев. В соответствии с поставленной целью и задачами данное исследование было проведено в 4 этапа. Первым этапом были проведены рутинные лабораторные методы исследования – общий анализ крови, миелограмма и гемостазиограмма.

Вторым этапом было проведено изучение иммуноглобулинов Ig A, G, M. Иммуноглобулины сыворотки крови определялись турбодиметрическим методом, основанным на взаимодействии антиген-антитело. Исследование проводилось на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «mindrayBA 88A» (Китай) и реактивами для IgA, IgG и IgM– производства Human (Германия). Чувствительность теста и целевое значение калибратора были стандартизованы в соответствии с Международными референсными значениями.

Третьим этапом был изучен синтез основных координаторов гемопоэза – ЭПО, Ил-1, Ил-4, Ил-6, Ил-8, ЭПО, ИНФγ, и ФНОα у пациентов с АА. Выявлена корреляция между изучаемыми цитокинами и тяжестью аплазии. И, изучена динамика цитокинов на разных протоколах терапии, в разгаре и ремиссии заболевания. Для определения ЭПО, ФНОα, ИЛ-1,4,6,8, ИНФγ использовались реагенты фирмы «Вектор-БЕСТ». Аппарат иммуноферментного анализа «MR-96А» производства Китай.

Четвертым этапом изучали CD4+ клетки Т-лимфоцитов I класса и CD20+ клетки В лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии на аппарате BD FACS Calibur который измеряет и анализирует оптические свойства одиночной клетки, проходящей через сфокусированный лазерный луч, а анализ сотен клеток в секунду, обеспечивает статистически достоверную картину исследуемого образца периферической крови и/или аспирата костного мозга.

После окончания периода исследования полученные данные заносились в таблицы редактора Excel (Statistica 5.0 for Windows) для проведения статистической обработки. При статическом анализе каждого параметра были вычислены основные характеристики: среднее, среднее квадратическое отклонение, средняя статистическая достоверность. Для оценки между группами достоверности результатов применялся критерий Стьюдента. Достоверными считались результаты при  $p < 0,05$ .

В третьей главе диссертации «Клинико-лабораторные исследования у пациентов с апластической анемией в Узбекистане» проанализирована объективная оценка значимости показателей общего анализа крови, миелограммы и гемостаза в формировании развития АА. В этой связи представляет определённый интерес показатели гемостазиограммы, где выявлена особенность – склонность к гиперкоагуляции несмотря на наличие геморрагического синдрома. Вместе с тем были исследованы особенности гуморального иммунитета больных АА в зависимости от степени дисрегуляции гемопоэза: охарактеризованы уровни сывороточных иммуноглобулинов у пациентов с нетяжелой (НАА) и тяжелой степенью заболевания (ТАА) (смотрите рис. 1).

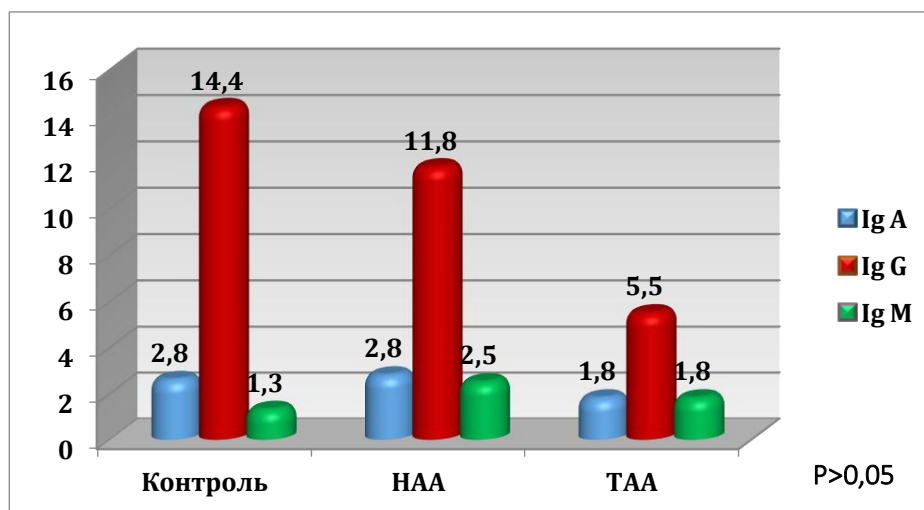


Рисунок 1. Сравнительный анализ Ig со степенью тяжести заболевания

IgA в сыворотке крови у больных с нетяжелой степенью АА составил  $2,8 \pm 0,1$  г/мл и был сопоставим с контролем –  $0,9-4,0$  мг/мл., а его концентрация у ТАА составляла  $1,8 \pm 0,1$  г/мл. Уровень IgM в сыворотке крови обеих групп больных был незначительно повышен и составил у больных ТАА  $1,8 \pm 0,3$  г/мл, а у больных НАА достиг  $2,5 \pm 0,3$  г/л. Выявлены достоверные различия между группами с ТАА и НАА только по IgG –  $P(1-2) \geq 0,05$ . Таким образом, установлено, что иммуноглобулины, как факторы гуморального иммунитета статистически незначимы. Уровни IgM, IgA, IgG в периферической крови у пациентов с АА до и после лечения оказался в пределах допустимых норм и патогенетического и прогностического значения не имеет.

В четвертой главе «**Исследование цитокинового статуса и CD4 клеток у пациентов с апластической анемией**» представлены результаты исследований, которые подразумевают решение основных задач научной работы. Эта глава посвящена изучению синтеза и образованию цитокинов: факторов, поддерживающих пролиферацию плюрипотентных стволовых клеток, а также соответственно влияющих на гемопоэз, который уязвим у пациентов с АА. В таблице 1 проведена сравнительная оценка экспрессии позитивных и негативных гемопоэтических факторов (ЭПО, ИНФγ, ИЛ -1,-4,-6,-8, ФНОα) у больных апластической анемией в период разгара клинических проявлений. Были изучены основные гемопоэтические факторы у пациентов с АА, и прежде чем изучать взаимосвязь этих показателей с тяжестью течения заболевания была изучена их динамика во время установления диагноза, в период развернутых клинических проявлений и на этапах лечения стандартными протоколами иммуносупрессивной терапии и при применении современных схем с использованием Циклоспорина А.

**Таблица 1**

**Продукция мононуклеарами периферической крови основных регуляторов гемопоэза в норме и при апластической анемии**

Цитокины (N)	Контроль (n=40) Спонт. (пг/мл)	Больные АА (n=118) Спонт. (пг/мл)	P
ИЛ-1β (0-10)	$1,17 \pm 0,2$	$10,7 \pm 5,0$	$>0,05$
ИЛ-6 (0-10)	$2,37 \pm 0,2$	$42,11 \pm 9,49$	$<0,001$
ИНФγ (0-5)	$3,33 \pm 0,19$	$9,15 \pm 1,14$	$<0,001$
ФНОα (0-6)	$0,02 \pm 0,003$	$14,02 \pm 4,54$	$<0,001$
ИЛ-4 (0-10)	$0,1 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,05$	$>0,05$
ИЛ-8 (0-10)	$3,61 \pm 0,64$	$47,24 \pm 3,1$	$<0,001$
ЭПО мМЕ/мл	$8,0 \pm 0,2$	$580,7 \pm 42,8$	$<0,001$

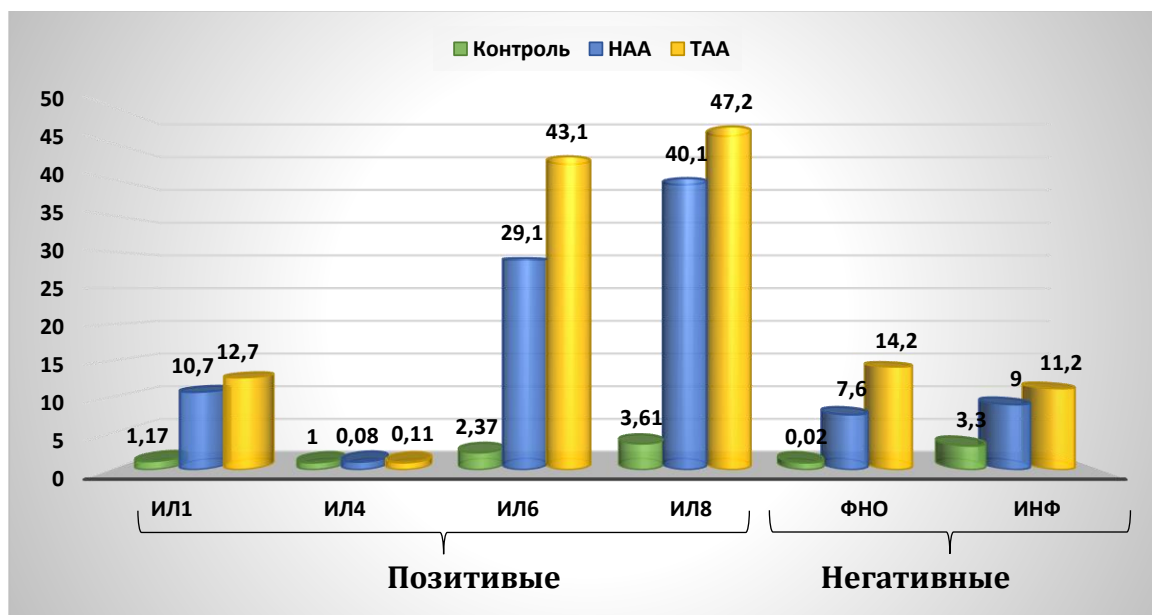
Анализ значений ЭПО в периферической крови пациентов АА показало, что при колебаниях от  $205,0$  до  $1050,0$  мМЕ/мл, содержание фактора оказалось не ниже показателей нормальных значений, даже оказывалось завышенным. Спонтанное образование ИЛ-1β в сыворотке крови больных АА, по сравнению с нормой, было слегка повышено ( $10,7 \pm 5,0$  пг/мл), но по средним статистическим значениям - не достоверно ( $p > 0,05$ ). Синтез позитивного цитокина ИЛ-6 был увеличен в 17 раз по сравнению с показателями контрольной группы

(42,11±9,49 пг/мл и 2,37±0,2 пг/мл, соответственно). Количество продукции ИЛ-8 в сыворотке крови в 13 раз превышал показатель контрольной группы практически здоровых людей (47,24±3,1 пг/мл и 3,61±0,64 пг/мл, соответственно,  $p < 0,001$ ). Спонтанная продукция ИЛ-4 в периферической крови пациентов была сопоставима с нормой ( $>0,05$ ) и составила 0,8 пг/мл.

Установлено, что ИЛ-4 является прямым антагонистом ФНО $\alpha$ , и между этими гемопоэтическими факторами была выявлена выраженная обратная коррелятивная связь ( $r = - 0,63$ ). Основываясь на характерной для АА сверхпродукции ФНО $\alpha$ , можно сказать, что при данной патологии синтезируется неадекватно малое количество антагониста негативных гемопоэтинов ИЛ-4.

В качестве негативных регуляторов гемопоэза были изучены ФНО $\alpha$  и ИНФ $\gamma$ . Спонтанный синтез ИНФ $\gamma$  периферической крови пациентов АА составил 9,15±1,14 пг/мл, что почти в 3 раза превышало значения контрольной группы 3,33±0,19 пг/мл. Другой же негативный гемопоэтический фактор ФНО $\alpha$ , как было нами установлено, резко, в 700 раз превышал среднее значение в контроле (14,02±4,54 пг/мл и 0,02±0,003 пг/мл, соответственно).

Группы с нормальным кроветворением, умеренным и тяжелым торможением кроветворения значительно различаются. Таким образом, ясно, что при АА синтезируется недостаточное количество цитокина ИЛ - 4, который является антагонистом ингибирующего гемопоэз цитокина ФНО $\alpha$ . У пациентов с НАА скорость синтеза положительных факторов преобладает над продукцией других цитокинов (в 4-5 раз), тогда как у ТАА при синтезе отрицательных цитокинов значительно преобладает ФНО $\alpha$  – 14,02 пг/мл (до 14 норм), по-видимому, вызывающий тяжесть депрессии гемопоэза (смотрите рис. 2).



**Рисунок 2. Анализ соотношения между продукцией гемопоэтических факторов и степенью тяжести аплазии**

Синтез колониестимулирующего фактора ИЛ-6 у пациентов в сопоставлении с показателями контрольной группы (2,37±0,2 пг/мл) увеличен в группе с НАА в 10 раз (29,1±7,4 пг/мл), а в группе с ТАА – более чем в 20 раз (43,1±4,9 пг/мл). Анализируя уровень продукции ИЛ-8, можно отметить, что

его синтез мононуклеарами периферической крови достоверно увеличен в обеих группах и составил у НАА  $31,0 \pm 3,9$  пг/мл ( $3,61 \pm 0,64$  пг/мл в контроле), а у ТАА завышен до  $47,24$  пг/мл. Продукция ИЛ-1 составляя  $12,7 \pm 2,8$  пг/мл и  $10,7 \pm 4,8$  пг/мл в группах с ТАА и НАА, соответственно, существенно и достоверно была завышена, а в группе контроля данный показатель составил  $1,17 \pm 0,2$  пг/мл. Синтез ИЛ-4 в группах как НАА так и ТАА по сравнению с контролем был сопоставим с нормой и был равен у больных НАА  $0,8 \pm 0,12$  пг/мл (в отличии от контрольной группы  $0,1 \pm 0,03$  пг/мл).

У больных ТАА уровень ИЛ-4 составил  $0,11 \pm 0,05$  пг/мл, и это снижение явилось статистически незначимым ( $>0,05$ ). Продукция ИЛ-6 в контрольной группе составила  $3,33 \pm 0,1$  пг/мл, у НАА его синтез был равен  $9,0 \pm 1,7$  пг/мл, а у больных ТАА  $11,2 \pm 1,4$  пг/мл. Синтез ФНО $\alpha$  можно охарактеризовать как цитокиновый шторм, так как его выработка составила при НАА  $8,8 \pm 2,0$  пг/мл, при тяжелой степени заболевания  $18,02 \pm 4,54$  пг/мл тогда как в контроле  $0,02 \pm 0,003$  пг/мл. Так же в этой главе представлены данные по результатам исследования CD4+ и CD20+ клеток периферической крови и костного мозга где выявлена определенная закономерность, что продукция CD4+ клеток значительно снижена у пациентов ТАА в костном мозге и периферической крови  $294,5 \pm 3,6$  кл/мл и  $267,5 \pm 6,3$  кл/мл соответственно (смотрите таблицу 2).

**Таблица 2**

**Показатели CD 4+ клеток у пациентов с апластической анемией в разгаре заболевания**

Показатели	КМ - CD4+ (500-1600 к/мл)	ПК - CD4+ (500-1600 к/мл)	P1-2	P1-3	P2-3
Контроль (n=10)	$1485,5 \pm 8,71$	$1469,3 \pm 8,2$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,01$
ТАА (n=26)	$294,5 \pm 3,6$	$267,5 \pm 6,3$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,01$
НАА (n=14)	$470 \pm 3,9$	$432,3 \pm 5,2$	$<0,001$	$<0,001$	$<0,01$

**Примечание:** P1-2 P1-3 составили ( $<0,001$ ) разница достоверна по сравнению с первой и второй группой

У НАА данный показатель составил  $470 \pm 3,9$  кл/мл и  $432,3 \pm 5,2$  кл/мл. Состояние гипопродукции CD4+ приводит к росту активированных форм Т-лимфоцитов, что в свою очередь способствует активации продукции негативных гемопоэтических факторов. Анализ на CD4+ в костном мозге показал, что снижение CD4+ лимфоцитов определялось у 67% пациентов ТАА, с разбросом значений от 202 до 387 кл/мл, а у пациентов с НАА от 425 до 515 кл/мл. Содержание CD 20+ (субпопуляция В-лимфоцитов) в костном мозге (КМ) и периферической крови (ПК) больных АА представлено в таблице 3.

**Таблица 3**

**Показатели CD 20+ клеток у пациентов с апластической анемией в разгаре заболевания**

	КМ - CD 20+ (90-250 к/мл)	ПК - CD 20+	P1-2	P1-3	P2-3
Контроль (n=10)	$161,4 \pm 1,0$	$167,1 \pm 1,6$	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$
ТАА (n=26)	$117,4 \pm 3,9$	$121,8 \pm 3,1$	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$
НАА (n=14)	$125,1 \pm 2,0$	$195,3 \pm 3,3$	$>0,05$	$>0,05$	$>0,05$

**Примечание:** P1-2 P1-3 разница с первой и второй группой значима и составила ( $P > 0,05$ )



В группе НАА полученные значения соответствовали контрольной группе и составили  $125,1 \pm 2,0$  к/мл против  $161,4 \pm 1,0$ , а количество CD20<sup>+</sup> клеток в группе больных ТАА было незначительно снижению ( $117,4 \pm 3,9$ ), но также оставалось в пределах диагностических норм.

В результате исследований был разработан алгоритм обследования и диагностики пациентов с апластической анемией (смотрите рисунок 3).



**Рисунок 3. Алгоритм обследования и диагностики с подозрением на апластическую анемию**

В пятой главе диссертации представлена «**Оценка эффективности иммуносупрессивной терапии на основе оппозитных цитокинов**». В данной главе произведена оценка проводимой иммуносупрессивной терапии на основе оппозитных цитокинов. Определено, как соотношение основных противоположных цитокинов изменяется в стадии развернутых клинических проявлений и в стадии ремиссии у пациентов с различной степенью тяжести (то есть до лечения и через 6 месяцев после начала лечения). Проанализирована лечебная эффективность иммуносупрессивной терапии больных АА Циклоспорином А (ЦсА) в сравнении с традиционными методами лечения и дана оценка особенностей восстановления показателей гемопоэза на начальных этапах лечения.

Доказано, что исследование основных регуляторных цитокинов и хемокинов во время проводимой ИСТ у пациентов с АА, независимо от формы тяжести, а так же их динамика может являться коэффициентом эффективности терапии и прогнозом течения болезни.

Чтобы оценить эффективность проводимой терапии пациенты были разделены на 3 группы по виду получаемого лечения. 1 группа которые принимали препараты циклоспорина А – неорал, сандимун, биорал и др. (56 человек); 2 группа пациентов которым использовалась терапия включающая глюкокортикостероидные препараты (30 человек); 3 группа образовалась в ходе получаемого лечения, в случае если пациенты не смогли до конца получить курс с ЦсА и перешли в группу ГКС или им была произведена спленэктомия. Дальнейшее изучение цитокинового статуса в смешанной группе не

проводилось, так как в этом случае невозможно было достоверно оценить результат цитокинового статуса. Таким образом до конца исследования цитокинового статуса наблюдалось 86 пациентов. Таким образом определились 2 группы пациентов: 1 группа получавших лечение - Циклоспорином А в дозе 5мг/кг/сут в течении 6 месяцев и 2 группа получавших лечение - ГКС (преднизолоном) в дозе 1 мг/кг/сут (смотрите таблицу 4).

**Таблица 4**

**Содержание иммуноглобулинов IgM, IgA, IgG до и после лечения**

Диагностические нормы	1 группа (до лечения)	2 группа (до лечения)	1 группа (после лечения)	2 группа (после лечения)
IgA (0,9-4,0мг/мл.)	1,2. ±1,01	1,5 ±1,2	1,11±0,3	1,3±1,4
IgG (5,3-6,5мг/мл.)	8,62±2,2	8,2±2,5	8,22±3,5	8,4±2,5.
IgM (0,5-2,0мг/мл.)	0,8±0,2	0,7±0,7	0,7±0,15	0,6±0,7

У 56 больных АА (14 мужчин и 11 женщин) после применения ЦсА проведен количественный анализ ЭПО, ИЛ -1,-4,-6,-8, ИНФγ, ФНОα, а также 30 пациентам получавшим лечение по стандартной схеме ГКС + заместительная терапия (смотрите таблицу 5). Уровень ФНОα достоверно снизился при лечении как с ЦсА, так и при приеме ГКС и составил 10,2±1,5 пг/мл и 12,3±3,4 пг/мл соответственно. (P<0,001). Менее существенной была разница в исследовании ИНФγ, уровень достоверности между группами - <0,05 и составил 7,2±1,1 пг/мл у пациентов получавших ЦсА и 8,3±1,15 пг/мл на протоколе ГКС. При анализе фактора роста Т-лимфоцитов ИЛ-4 наблюдалось повышение исходно сниженной его продукции, у пациентов получающих циклоспорин А результат был 2,2±0,5 пг/мл, тогда как у пациентов на стандартной терапии, он оставался довольно низким - 0,8±0,01 пг/мл. Уровень спонтанной продукции ИЛ-6, который был повышен в 17 раз 41,2±9,9 пг/мл.

**Таблица 5**

**Динамика цитокинового статуса до и после лечения Циклоспорином А**

Цитокины (N) (пг/мл)	1. До начала лечения (n=86)	2. После 6 месяцев лечения ЦсА (n=56)	3. После 6 месяцев лечения без ЦсА (n=30)	P1-2	P1-3	P2-3
ИЛ-1β(0-10)	10,6±4,8	9,8±2,1 ↓	10±1,8	>0,05	>0,05	>0,05
ИЛ-6 (0-10)	41,2±9,9	29,3±4,5 ↓	36,1±6,2	<0,001	<0,001	<0,05
ИНФγ (0-5)	9,1±1,1	7,2±1,1 ↓	8,3±1,15	<0,001	<0,001	<0,05
ФНОα (0-6)	14,2±4,4	10,2±1,5 ↓	12,3±3,4	<0,001	<0,001	<0,05
ИЛ-4 (0-10)	0,1±0,05	2,2±0,5 ↑	0,8±0,01	>0,05	>0,05	>0,05
ИЛ-8 (0-10)	45,3±3,15	32,2±6,17 ↓	35,8±4,5	<0,001	<0,001	<0,05

**Примечание:** P1-2, P1-3, P2-3 P1-2 P1-3 разница с первой и второй группой значима и составила (P>0,05)

После лечения он составил 29,3±4,5 пг/мл у больных принимавших ЦсА и 36,1±6,2 пг/мл на терапии ГКС. Продукция ИЛ-8 в периферической крови,

у пациентов с АА он в 13 раз превышала показатели здорового человека ( $45,3 \pm 3,15$  пг/мл). После лечения он также оставался на высоком уровне, что по видимому требует большего количества времени для его снижения, так как он является показателем активно идущего воспалительного процесса. Тем самым у пациентов получавших ЦсА он составил  $32,2 \pm 6,1715$  пг/мл и  $35,8 \pm 4,5$  пг/мл на стандартной терапии ( $P1-2 < 0,001$ ;  $P1-3 < 0,001$ ;  $P2-3 < 0,05$ )

На основании всех результатов исследования предложена шкала прогноза развития течения АА, разработанная с учетом специфических отличительных признаков встречающихся при этом заболевании: впервые подобрано сочетание гемопоэтических цитокинов взаимно дополняющих друг друга. Разработанный метод прогнозирования на основе предложенных критериев, позволяет стандартизировать оценку тяжести течения и развития неблагоприятного прогноза аплазии (смотрите таблицу 6).

**Таблица 6**

**Шкала прогноза развития течения АА**

Критерии	Характеристика	Баллы
Возраст	16-45	<b>0</b>
	45 и старше	<b>1</b>
Форма заболевания	не тяжелая	<b>0</b>
	тяжелая	<b>1</b>
Наличие сопутствующих хр. заболеваний	нет	<b>0</b>
	да	<b>1</b>
Данные ОАК	Гемоглобин – 80-100г/л, Тромбоциты – $50 \times 10^9$ и выше Лейкоциты - $1,5 \times 10^{12}$ и выше Ретикулоциты $20 \times 10^9$ и выше	<b>0</b>
	Гемоглобин – ниже 80 г/л, Тромбоциты – менее $50 \times 10^9$ Лейкоциты - менее $1,5 \times 10^{12}$ Ретикулоциты – менее $20 \times 10^9$	<b>1</b>
Исходный уровень позитивных цитокинов	ИЛ-4 выше 1 пг/мл	<b>0</b>
	ИЛ-4 ниже 1 пг/мл	<b>1</b>
Исходный уровень негативных цитокинов	ФНО $\alpha$ – менее 6 норм	<b>0</b>
	ФНО $\alpha$ – более 6 норм	<b>1</b>
Состояние клеточного звена иммунитета	CD4+ выше	<b>0</b>
	CD4+ ниже	<b>1</b>
Выбор программной терапии	ЦсА/АТГАМ	<b>0</b>
	Глюкокортикостероиды	<b>1</b>
Клинический ответ на проводимую терапию в течении первых 3х месяцев	Полный ответ	<b>0</b>
	Частичный ответ	<b>1</b>
	Нет ответа	<b>2</b>

**Примечание:** 0-4 бала: благоприятный прогноз, доброкачественное течение (предполагается полное выздоровление от заболевания, не зависимо от тяжести течения);

**5-7 баллов:** неблагоприятный прогноз (предполагается длительное течение заболевания, вероятны рецидивы, 5-летняя выживаемость 50%);

**8-11 баллов:** крайне неблагоприятный прогноз, злокачественное течение (высокая летальность, молниеносное течение)

Данная бальная шкала может использоваться в практике при оценке индивидуального прогноза у пациентов с апластической анемией. Используя

данную шкалу прогнозирования в тактике ведения пациентов и определения ранних критериев течения заболевания, даст возможность врачам гематологам подобрать необходимую тактику ведения пациентов, быстро и точно определить нужную дозировку лекарственных средств или принять решение о необходимости проведения паллиативной терапии, а также оценить эффективность проводимых лечебных мероприятий. Прогнозирование течения заболевания дает возможность выбрать объективную лечебную тактику, оценить эффективность и экономическую обоснованность целесообразности применяемой методики терапии, тем самым повысит надежность планирования ресурсов здравоохранения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований по диссертации (PhD) доктора философии по медицинским наукам на тему: «Изучение роли цитокинов и CD4 клеток периферической крови и костного мозга у больных апластической анемией в Республике Узбекистан» представлены следующие выводы:

1. Определено, что в разгаре заболевания: со стороны системы гемостаза у пациентов с АА развивается гиперкоагуляция за счет активации внутреннего пути протромбиназообразования, что при хроническом течении заболевания формирует замкнутый круг, увеличивая проницаемость капиллярной стенки и потребляемость тромбоцитов, тем самым усугубляя компонент геморрагического синдрома.

2. Установлено, что факторы гуморального иммунитета не имеют достоверных различий ( $p > 0,05$ ) между пациентами с НАА и ТАА, и не изменяются до и после проведенной терапии.

3. Определенно, что Т-клетками образуется неадекватно малое количество цитокина ИЛ-4 ( $p \leq 0,001$ ), являющегося антагонистом миелосупрессивного ФНО $\alpha$ , который завышен в 6 и более раз ( $p \leq 0,001$ ). При АА синтез ЭПО завышен до 700 раз и не имеет патогенетического значения в формировании аплазии. CD4+ клетки характеризуются гипопродукцией приводящей к активации Т-лимфоцитов и как следствие к еще более усиленной выработке ингибирующих гемопоэз цитокинов.

4. Установлена взаимосвязь между тяжестью аплазии и дисбалансе цитокинового статуса. Из всех исследованных регуляторных цитокинов (ИЛ – 1, 4, 6, 8, ФНО $\alpha$  и ИНФ $\gamma$ ) ТАА достоверно отличается от НАА одним параметром - интенсивности образования ингибирующего гемопоэз–ФНО $\alpha$  ( $p \leq 0,001$ ). Оценено влияние цитокинового статуса в совершенствовании диагностики, и определении прогноза течения заболевания.

5. Уменьшение спонтанной продукции ФНО $\alpha$ , наряду с возобновлением активации стимулирующих гемопоэз цитокинов ИЛ- 1 и ИЛ - 4 в первые 2 месяца терапии является прогностически благоприятным критерием, подтверждающим правильность выбранной тактики иммуносупрессивной терапии. Рецидив болезни определяется прогрессированием дисбаланса в соотношении цитокинов и цитокин-продуцирующих клеток.

**ONE - TIME SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING  
THE SCIENTIFIC DEGREE DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 AT  
THE TASHKENT MEDICAL ACADEMY**

---

**REPUBLICAN SPECIALIZED SCIENTIFIC-PRACTICAL MEDICAL  
CENTER OF HEMATOLOGY**

**BERGER INNA VIKTOROVNA**

**STUDY OF THE ROLE OF CYTOKINES AND CD4 CELLS IN  
PERIPHERAL BLOOD AND BONE MARROW IN PATIENTS WITH  
APLASTIC ANEMIA IN THE REPUBLIC OF UZBEKISTAN**

**14.00.29 – Hematology and transfusiology**

**ABSTRACT OF THE DISSERTATION  
OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD) ON MEDICAL SCIENCES**

**TASHKENT – 2020**

**The theme of the dissertation of the Doctor of Philosophy (PhD) was registered by the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under № B2018.1.PhD/Tib583.**

Doctoral dissertation was carried out in Republican specialized scientific-practical medical center of hematology.

The abstract of the dissertation was posted in two (uzbek, russian, english (resume)) languages on the website of the Scientific Council at ([www.tma.uz](http://www.tma.uz)) and on the website of «ZiyoNet» information-educational portal at ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)).

**Scientific supervisor:** **Makhmudova Aziza Djumanovna**  
Doctor of medical sciences

**Official opponents:** **Matkarimova Dilfuza Saburovna**  
Doctor of medical sciences, docent

**Bakhovadinov Burkhonidin Bakhovadinovich**  
Doctor of medical sciences, professor (Russia)

**Leading organization:** **Samarkand State Medical Institute**

The defence of the dissertation will be held on « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020, at \_\_\_\_ at the meeting of the One-time Scientific Council DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 at Tashkent Medical Academy (Address: 2 Farobi str., Almazar district, 100109 Tashkent. Tel./Fax (+99878) 150-78-25, e-mail: [tta2005@mail.ru](mailto:tta2005@mail.ru)).

The dissertation can be looked through in the Information Resource Centre of Tashkent Medical Academy (registered under No. \_\_\_\_\_). Address: 2 Farobi str., Almazar district, 100109 Tashkent. Tel./Fax (+99878) 150-78-14.

The abstract of dissertation was distributed on « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020.  
(Registry record No. \_\_\_\_ dated « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020).

**A.G. Gadaev**

Chairman of the One-time Scientific Council for the Award of Scientific Degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor

**D.A. Nabieva**

Scientific Secretary of the One-time Scientific Council for the Award of Scientific Degrees, Doctor of Medical Sciences, docent

**Sh.A. Babadjanova**

Chairman of the One-time Scientific Seminar at the Scientific Council for the Award of Scientific Degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor

## INTRODUCTION (abstract of the PhD dissertation)

**The aim of the study is** to improve methods of diagnosis, treatment and prognosis of the disease based on the study of hematopoietic factors and cytokine status of patients with aplastic anemia.

**The object of the research** was 118 patients with aplastic anemia aged 18 to 65 years, registered at the Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan.

**Scientific novelty of the research** consists of the following:

the assessment of cytokine status disorders was based on the study of the ability of peripheral blood mononuclears to produce cytokines;

the dynamics of the ratio of oppositional cytokines in the course of the disease was revealed: in relapse, the level of TNF $\alpha$  increases, and in the stage of clinical and hematological remission, the levels of EPO, TNF $\alpha$ , and INF $\gamma$  normalize;

the state of humoral and cellular immunity in AA patients was evaluated in accordance with the degree of hemodepression and in the dynamics of the disease. The role of a class I CD4+ t helper subpopulation in influencing the severity and prognosis of the disease has been established;

it is proved that the study of the dynamics of hematopoietic cytokines allows us to evaluate the effectiveness of AA therapy and determine the prognosis of the disease at the early stages.

**Implementation of the research results.** Based on scientific results, a study was conducted on the value of cytokines and CD4+ cells in the peripheral blood and bone marrow of patients with aplastic anemia in the Republic of Uzbekistan:

developed methodological recommendations of "Aplastic anemia. Introduction of new methods for the diagnosis of aplastic anemia" (conclusion of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan No. 8n-d/57 dated March 13, 2020). This methodological recommendation made it possible to increase the effectiveness of the diagnosis of aplastic anemia and improve the effectiveness of treatment, as well as reduce the financial costs of treatment;

The obtained scientific results on the significance of cytokines and CD4+ cells in the peripheral blood and bone support of patients with aplastic anemia in the Republic of Uzbekistan were applied in medical practice, including in the clinical practice of the Samarkand regional children's multi-specialty hospital and the first hospital of the Samarkand state medical Institute (conclusion of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan for 8n-z/121 dated October 2, 2020). The introduction of scientific results into practice: guidelines for an individual approach to the prediction and treatment that contribute to improving the quality of life and reduce the period of temporary incapacity, as well as shortening hospital stay and reducing the cost of treatment, with the economic benefit of the state budget funds 37.2% of the total number of patients with aplastic anemia for a year.

**The structure and volume of the dissertation.** The dissertation consists of an introduction, five chapters, conclusions, practical recommendations and a list of references. The volume of the dissertation is 120 pages.

**ЭЪЛОНҚИЛИНГ АНИШЛАР РЎЙХАТИ**  
**СПИСОКОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**

**I бўлим (I часть; I part)**

1. Бергер И.В., Махмудова А.Д., Сахарова О.И., Ачилова О.У. Иммуносупрессивная терапия у больных апластической анемией. // Журнал Теоретической и Клинической медицины №5. - 2013. - С. 138-142. (14.00.00; №3)

2. Махмудова А.Д., Бергер И.В., Сахарова О.И., Мухитдинов М.М., Набиева М.И. Состояние системы гемостаза у больных апластической анемией. //Инфекция, иммунитет и фармакология. – №5-6. – 2013. – С. 96-101 (14.00.00; №15)

3. Сахарова О.И. Махмудова А.Д., Бергер И.В., Мустафина Л.К. Исследование цитокинового статуса у больных апластической анемией в период разгара клинических проявлений. //Бюллетень Ассоциации Врачей Узбекистана. –№4. –2014. – С. 57-60. (14.00.00; №17)

4. Махмудова А.Д., Ачилова О.У., Бергер И.В., Курязов А.М., Мустафина Л.К. Состояние иммунного статуса больных апластической анемией до и после терапии, прогностические критерии эффекта консервативного лечения и спленэктомии. //Бюллетень Ассоциации Врачей Узбекистана. – №4. – 2014г. – С. 30-34. (14.00.00; №17)

5. Бергер И.В., Махмудова А.Д., Сахарова О.И., Мустафина Л.К. Некоторые аспекты иммунопатогенеза апластической анемии. //Журнал Инфекция, Иммунитет, Фармокология. –№2. –2016. – С. 37-40. (14.00.00; №15)

6. Berger I.V., Makhmudova A.D., Mustafina L.K., Makhmudova M.R. Development of the new method of the aplastic anemia diagnostics based on studying cytocin status and hemopoetic factors. //European Science Review. – Австрия, 2018. –№5-6.–Р. 135-137. (14.00.00; №19)

7. Бергер И.В., Махмудова А.Д., Махмудова М.Р. Случай молниеносного развития апластической анемии неустановленного генеза. //Журнал теоретической и клинической медицины. –2019. –№ 2.–С. 43-45 (14.00.00; №15)

8. Berger I.V., Makhmudova A.D. Frequency of Meeting and Causes of Development of Aplastic Anemia in the Republic of Uzbekistan. //American Journal of Medicine and Medical Sciences 2019, 9(6): – P.181-183 DOI: 10.5923/j.ajmms.20190906.01 (14.00.00; №2)

9. Бергер И.В., Махмудова А.Д. Патогенетическая роль некоторых кластеров дифференцировки (CD4+, CD8+, CD20+) в периферической крови и костном мозге при апластической анемии. //Журнал теоретической и клинической медицины. – 2020. – № 2 .– С. 47-53 (14.00.00; №15)

**II бўлим (II часть; II part)**

10. Халматова Н.М., Бергер И.В., Мухитдинов М.М. Изучение особенностей эритропоэза у больных с апластической анемией в динамике заболевания. Сборник Научных Трудов научной конференции. 2012 г.– С. 107



11. Бергер И.В., Мухитдинов М.М. The peculiarities of erythropoiesis in patients with aplastic anemia during the course of disease. Дни Молодых Учёных материалы научно-практической конференции магистров 2012. – С. 157
12. Махмудова А.Д., Бергер И.В., Сахарова О.И., Ачилова О.У., Мухитдинов М.М., Набиева М. Состояние гемостаза у больных апластической анемией. Сборник Научных Трудов Ташкент 2013. – С. 48
13. Махмудова А.Д., Бергер И.В., Ачилова О.У., Мустафина Л.К. Изучение гемопоэтических факторов у больных с апластической анемией. Сборник Научных Трудов. Ташкент 2013. - С. 78
14. Махмудова А.Д., Бергер И.В., Мустафина Л.К. Изучение гемопоэтических факторов у больных с апластической анемией.// Терапевтический вестник Узбекистана 2014. – №4. –С. 214
15. Махмудова А.Д, Бергер И.В. Апластические анемии. Этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение // методическое пособие. Ташкент, 2014. – 56 с.
16. Makhmudova A.D., Berger I.V., Sakharova O.I. The study of hemostatic indicators of blood in patients with aplastic anemia. Сборник научных трудов «Совершенствование гематологии и трансфузиологии в современных условиях» Ташкент 2015.– С. 148
17. Махмудова А.Д., Бергер И.В., Мустафина Л.К. Анализ уровня сывороточных иммуноглобулинов у больных апластической анемией в зависимости от тяжести заболевания. //Терапевтический вестник Узбекистана 2015. – №3. –С. 151
18. Berger I.V., Makhmudova A.D., Sakharova O.I. Changing of hemostatic properties of blood in patients with aplastic anemia. Orlando. WFH 2016 World congress. Haemophilia (2016), 22 (Suppl 4) – P. 151-152,
19. Berger I.V., Makhmudova A.D. The role of cytokines in the development of acquired aplastic anemia. Журнал тромбоз и гемостаз. Постер в Дублине. 2017 ISTH SSC
20. Бергер И.В., Махмудова А.Д., Сахарова О.И. Анализ встречающихся осложнений при применении стандартного протокола лечения апластической анемии. Сборник научных трудов. IV международный конгресс гематологов и трансфузиологов. Ташкент 2018.– С.38-40
21. Бергер И.В., Махмудова А.Д., Сахарова О.И. Изучение генеза апластической анемией среди жителей Узбекистана. Сборник научных трудов. IV международный конгресс гематологов и трансфузиологов. Ташкент 2018. – С.40-42
22. Махмудова А.Д, Бергер И.В. Апластические анемии. Внедрение новых методов диагностики апластической анемии // методические рекомендации. Ташкент, 2019. – 100 с.
23. Махмудова А.Д, Бергер И.В. Оценка эффективности иммуносупрессивной терапии у больных с апластической анемией на основе гемопоэза и цитокинов. Медицина и Фармацевтика № 5 (16) 2020. – С. 4-9 Россия. DOI журнала:10.32743/2658-4093.2020.5.16

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси» журнали  
таҳририятида таҳрирдан ўтказилди.



MUHARRIRIYAT VA NASHRIYOT BO'LIMI

---

Разрешено к печати: 30 октября 2020 года  
Объем – 2,24 уч. изд. л. Тираж – 30. Формат 60x84. 1/16. Гарнитура «Times New Roman»  
Заказ № 0737 -2020. Отпечатано РИО ТМА  
100109. Ул. Фароби 2, тел: (998 71)214-90-64, e-mail: rio-tma@mail.ru