

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.04/30.12.2019.Tib30.02 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ АСОСИДАГИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**ТИББИЁТ ХОДИМЛАРИНИНГ КАСБИЙ МАЛАКАСИНИ
РИВОЖЛАНТИРИШ МАРКАЗИ**

МУХАМЕДЖАНОВА ДИЛОРОМ ИСМАИЛДЖАНОВНА

**ГЕПАТИТ В ВИРУСИ ТАЪСИРИДА СУРУНКАЛИ ЖИГАР
КАСАЛЛИКЛАРИ ШАКЛЛАНИШИНИНГ МЕТАБОЛИК
ВА ПРОТЕОМИК ЖИҲАТЛАРИ**

14.00.25 – Клиник-лаборатор ва функционал диагностика

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

Фалсафа докторлик (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии(PhD)

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

Мухамеджанова Дилором Исмаилджановна

Гепатит В вируси таъсирида сурункали жигар касалликлари шаклланишининг метаболик ва протеомик жиҳатлари 3

Мухамеджанова Дилором Исмаилджановна

Метаболические и протеомные аспекты формирования хронических заболеваний печени HB-вирусной этиологии 19

Mukhamedjanova Dilorom Ismaildjanovna

Metabolic and proteomic aspects of the formation of chronic liver diseases of HB-viral etiology..... 35

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works 39

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.04/30.12.2019.Tib30.02 РАҚАМЛИ
ИЛМИЙ КЕНГАШ АСОСИДАГИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**ТИББИЁТ ХОДИМЛАРИНИНГ КАСБИЙ МАЛАКАСИНИ
РИВОЖЛАНТИРИШ МАРКАЗИ**

МУХАМЕДЖАНОВА ДИЛОРОМ ИСМАИЛДЖАНОВНА

**ГЕПАТИТ В ВИРУСИ ТАЪСИРИДА СУРУНКАЛИ ЖИГАР
КАСАЛЛИКЛАРИ ШАКЛЛАНИШИНИНГ МЕТАБОЛИК
ВА ПРОТЕОМИК ЖИҲАТЛАРИ**

14.00.25 – Клиник-лаборатор ва функционал диагностика

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

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2019.2.PhD/Tib979 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тиббиёт ходимларининг касбий малакасини ривожлантириш марказида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, ингилиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида (www.tma.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:	Арипов Орифжон Абдумаликович тиббиёт фанлари доктори
Расмий оппонентлар:	Хайбуллина Зарина Руслановна тиббиёт фанлари доктори Камилов Асомиддин Исхакович тиббиёт фанлари доктори, профессор
Етакчи ташкилот:	Тошкент педиатрия тиббиёт институти

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги DSc.04/30.12.2019.Tib30.02 рақамли Илмий кенгаш асосидаги бир марталик кенгашнинг 2021 йил «___» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100109, Тошкент ш., Фаробий кўчаси, 2 уй. Тел./факс: (99878) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

Диссертация билан Тошкент тиббиёт академиясининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№___ рақам билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100109, Тошкент ш., Фаробий кўчаси, 2 уй. Тел./факс: (99878) 150-78-14).

Диссертация автореферати 2021 йил «___» _____ куни тарқатилди.
(2021 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. Бабаджанова

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

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурияти. Бугунги кунда вирусли гепатитлар (ВГ) дунё миқёсида соғлиқни сақлашнинг муҳим тиббий ва ижтимоий муаммоларидан бири бўлиб, ногиронлик ҳамда ўлимнинг асосий сабабларидан бири бўлиб қолмоқда. Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилоти (ЖССТ) маълумотларига кўра, «...ҳозирги вақтда дунёда икки миллионга яқин одам гепатит В вируси (HBV) билан касалланган...»¹. Жигарнинг сурункали диффуз касалликларни олдини олиш ва даволашда эришилган ютуқларга қарамасдан, беморлар сони ва ўлим кўрсаткичларини мунтазам турғун ортиши кузатилмоқда. Сурункали гепатит В (СГВ) тиббий ва ижтимоий хусусиятдаги муаммо бўлиб, болалар ҳамда катталар орасида жигарнинг жадал зарарланиши оқибатида унинг циррози, гепатоцеллюляр рак каби асоратлар сабабли беморларда эрта ногиронлик ва ўлим ҳолатлари кўпаймоқда. Жигар касалликларини ташхислаш, башоратлаш ва олдини олишга қаратилган тадбирларни ташкиллаштириш долзарб муаммолардан бири ҳисобланади.

Жаҳон миқёсида жигар касалликларини метаболомик ва протеомик кўрсаткичлари ёрдамида эрта аниқлаш ҳамда олдини олиш бўйича кенг камровли илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бу борада, юқумли касалликларни, жумладан, сурункали гепатит В билан хаста беморлар қонида оксил моделини баҳолашга аналитик имкониятлар ва фундаментал илмий талаблар билан боғлиқ клиник ташхислашга қизиқиш тобора кўпаймоқда. Бу ўз навбатида, индивидуал ташхис қўйиш ва сурункали вирусли гепатитларнинг оқибатини башоратлаш учун янги технологияларни яратиш мақсадида патоген-макроорганизмлар тизимидаги интим молекуляр жараёнлар ва метаболомик ўзгаришларни баҳолаш билан боғлиқ ҳолда прогностик параметрларини ишлаб чиқиш алоҳида аҳамият касб этади. Маълумки, сўнгги йилларда замонавий протеомик технологиялардан фойдаланиш уни кенг миқёсида амалий тиббиётнинг турли соҳаларида тадбиқ этилишига олиб келди. Протеомика ҳозирги вақтда тизимли биологиянинг тез ривожланаётган тармоқларидан бири бўлиб, унинг ёрдамида хужайралар, тўқималар ва биологик суюқликлардаги оксил таркиби параметрларини ишлаб чиқиш алоҳида аҳамият касб этади.

Мамлакатимиз тиббиёт соҳасини ривожлантириш тиббий тизимни жаҳон андозалари талабларига мослаштириш, аҳоли орасида турли даражадаги сурункали 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...»² каби вазифалари белгиланган. Юқорида қайд этилган вазифалар

¹ World Health Organization. 2018 Dec 12.

² Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги ПФ-5590-сонли «Ўзбекистон Республикаси соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида»ги Фармони

сурункали вирусли гепатит билан касалланган беморларда клиник-патогенетик ва протеомик жиҳатларини ташхислашда замонавий тиббий хизмат кўрсатиш даражасини янги жаҳон стандартлари талабига жавоб бера оладиган босқичга кўтариш ҳамда сифатли тиббий хизмат кўрсатишда замонавий технологияларни қўллашни такомиллаштириш орқали касалликнинг асоратлари натижасидаги ногиронлик ва ўлим кўрсаткичларини камайтиришга хизмат қилади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги ПФ-5590-сон «Ўзбекистон Республикаси соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар туғрисида» ги, 2017 йил 30 октябрдаги ПФ-5216-сон «Ўзбекистон Республикаси аҳолисига 2017-2021 йилларда ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари туғрисида»ги фармонлари, 2018 йил 6 декабрдаги ПҚ-4063-сон «Юқумли бўлмаган касалликларнинг профилактикасини, соғлом турмуш тарзини қўллаб-қувватлаш ва аҳолининг жисмоний фаоллиги даражасини ошириш чора-тадбирлари туғрисида»ги, 2020 йил 12 ноябрдаги ПҚ-4891-сон «Тиббий профилактика ишлари самарадорлигини янада ошириш орқали жамоат саломатлигини таъминлашга оид қўшимча чора-тадбирлар туғрисида»ги Қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъерий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устивор йўналишларига боғлиқлиги Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI «Тиббиёт ва фармакология» устивор йўналиши доирасида бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Молекуляр тиббиёт ривожланишининг мантиқий натижаси янги мураккаб йўналиш – шахсийлаштирилган (геномик) тиббиётнинг тақсимланиши бўлиб, у геномика, протеомика, биоинформатика ва генетика ютуқларига асосланган индивидуал даволаш ва профилактика технологияларини ишлаб чиқиш, шунингдек инсон танасини турли хил сабаб касалликлар мойиллиги ва уларнинг асоратларига тест ўтказиш хисобланади. Олимларнинг изланишлари молекуляр биомаркерларни аниқлаш, тавсифлашга ва тегишли тест тизимларни баҳолаш усулларини ишлаб чиқишга қаратилган. Бу молекуляр тиббиёт томонидан ҳал қилинган долзарб муаммолардан биридир. Биомаркер комплексини аниқлаш нафақат касалликларнинг пайдо бўлишининг молекуляр механизмларини аниқлашга имкон беради, балки клиник амалиётда қўлланилиш имконини топади.

Юқумли касалликлар соҳасида олиб борилаётган тадқиқотлар ва замонавий аналитик имкониятлар ҳамда фундаментал илмий изланишлар қонинг протеомини ўрганишга катта қизиқиш уйғотди. Улар орасида ушбу йўналишда қатор яқин ва узоқ хориж олимларининг ишлари (Virzì, A., Suarez, A.A.R., Baumert, T.F., 2020, Mischak H., Thongboonkerd V., Schanstra J.P., Vlahou A., 2011; Metzger J. et al., 2017; Ларина И.М., Иванисенко В.А.,

Николаев Е.Н., Григорьев А.И., 2019;) алоҳида эътиборга лойиқ. Жигарнинг вирусли касалликларини ўрганишда республикада О.С. Махмудов, Т.А.Даминов, Ф.И.Иноятоваларнинг илмий мактабларида ҳам қатор илмий тадқиқотлар олиб борилган.

Сўнги йилларда нафақат бизнинг республикамиз, балки бошқа мамлакатларда ҳам HBV-инфекция билан оғриган болалар жигаридаги патологик жараёни жадаллашишида мустақил омил сифатида вирус юкламасининг аҳамиятига бағишланган тадқиқот натижалари эълон қилинмоқда. Уларда тадқиқотлар беморларда вирус даражаси 10⁵ нусха/мл дан кўп бўлганда ЖЦ ва ГЦК нинг ривожланиш хавфи 2-3 баравар ошиши исботланган. Бинобарин, шундай экан болаларда сурункали гепатит билан касалланиш даражаси юқорилиги «хўжайин» ва вируснинг молекуляр механизмлари ўзаро боғлиқлиги нуқтаи назаридан батафсил ва чуқурроқ ўрганишни талаб қиладиган муаммо эканлигини кўрсатади. Ушбу касаллик кўзгатувчисининг генетик ўзгарувчанлиги, нафақат даволаш самарасини камайтиради, балки унинг серодиагностикаси ҳамда эмлаш самарасини ҳам сусайтиради. Гепатит Внинг яна битта ўзига хослиги шундаки, вирус антигенига Т-хужайра жавоби тугалланмаганлигида. Бу эса касалликни сурункали шаклга ўтишига олиб келади.

Шунингдек, кўпгина тадқиқотлар индивидуал механизмларга асосланган бўлсада, жигарнинг сурункали касалликларида биологик маркерлар асосида ётган ташхислаш усуллари долзарблигидан далолат беради. Мамлакатимизда сурункали вирусли гепатитнинг оқибатларини ривожланишини башоратлашни янги инновацион усуллари ишлаб чиқиш ва амалиётга тадбиқ қилиш соғлиқни сақлаш тизимининг муҳим вазифаларидан бири ҳисобланади. Булар ёрдамида касалликнинг асоратлари келиб чиқиш хавфини ташхислаш, компенсация даврини узайтириш, келиб чиқадиган эрта ногиронликнинг олдини олиш ва ўлим кўрсаткичларини камайтириш имкони яратилади.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Тиббиёт ходимларининг касбий малакасини ривожлантириш илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ «Сурункали вирусли гепатит билан касалланган беморларда жигар шикастланиш механизмлари» йўналиши доирасида бажарилган (2017-2019йй.).

Тадқиқотнинг мақсади сурункали гепатит В билан касалланган беморларнинг метаболомик кўрсаткичлари ва периферик қон зардобидаги протеомик жараёнини ҳар томонлама таҳлил қилиш орқали касалликнинг оқибатини башорат қилиш, ҳамда ташхислаш усуллари муқобиллаштиришдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

сурункали гепатит В билан оғриган беморлар қон зардобидаги протеом таркибини касалликнинг фаоллик даражаси билан боғлиқлигини баҳолаш;

масс-спектрометрия усулида СГВ билан касалланган беморлар қон зардобида протеом таҳлили натижаларини баҳолаш;

протеом ўзгаришининг жигар шикастланиши синдромлари ва эндоген интоксикация синдроми фаоллиги билан боғлиқлигини баҳолаш;

сурункали В гепатит билан оғриган беморлар қон зардобдаги иммунологик ўзгаришларни протеом спектр кўрсаткичлари билан боғлиқлигини аниқлаш;

сурункали В гепатитнинг оғирлик даражаси ва фаоллиги билан боғлиқ бўлган маркер-оқсилларни аниқлаш;

Тадқиқотнинг объекти сифатида сурункали гепатит В билан оғриган ва Республика ихтисослаштирилган педиатрия илмий-амалий тиббиёт марказининг гепатология бўлимида даволанган 4 ёшдан 18 ёшгача бўлган 100 нафар болалар ҳамда 20 нафар соғлом болалар олинган.

Тадқиқотнинг предмети сифатида вена қони, капилляр қон, беморларнинг клиник, лаборатор, молекуляр-генетик ва масс-спектрометрик текширув натижалари олинган.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертация тадқиқотларида қўйилган вазифаларни амалга ошириш ва мақсадга эришиш учун умумклиник, биокимёвий, серологик, иммунологик, протеомик, молекуляр-биологик ва статистик компьютер дастурларидан (IBM SPSS Statistic) фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

сурункали гепатит В билан касалланган беморлар қонида оксидловчи стресс ва яллиғланиш жараёнларининг кучайиши ҳамда антиоксидант хусусиятига эга бўлган аполипопротеин А-IV ишлаб чиқарилишининг пасайиши орасидаги боғлиқлик асосланган;

масс-спектрометрия усули ёрдамида аниқланган зардоб амилоиди А1 ва унинг N-терминал аргинин-қисқартирилган шакли сурункали фаол гепатитнинг ташҳисий маркерлари сифатида исботланган;

сурункали гепатит В билан оғриган беморларда эндоген интоксикация шароитида протеом ўзгариши қон плазмасида оралик метаболизм бирикмаларининг тўпланиши билан асосланган;

жигар касалликлари ривожланиш хавфи бор беморларнинг текширув стандартига протеомик текшириш усуллари киритилиши касаллик асоратларининг ривожланишидаги аҳамияти исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

сурункали гепатит ривожланиши асосида ҳар хил клиник ва биокимёвий намоён бўладиган турли кўринишдаги маҳаллий ҳужайравий иммун жавоб ётиши ҳамда ушбу негизда А-I ва А-IV аполипопротеинлар даражаси ўзгаришининг, лаборатор ва масс-спектрометрик кўрсаткичлари ишлаб чиқилган;

жигар зарарланиши натижасида беморлар қонидаги паст зичликдаги липопротеидлар миқдори назорат гуруҳининг кўрсаткичлари билан таққослаганда унинг юқорилиги эркин радикал маҳсулотларининг таъсири билан изоҳланади;

биологик мембраналарни кўриш учун муҳим бўлган субстрат, умумий фосфолипидларни патологик жараённинг фаоллиги ошган сайин унинг миқдорини динамик пасайган

яллиғланишга қарши цитокин α -ЎНО (α -некроз омили) даражасининг кўтарилиши, цитоллиз, холестааз, иммун яллиғланиш синдромлари билан бевосита боғлиқлиги аниқланди;

сурункали гепатитда эндоген интоксикация синдроми белгиларини аниқлаш, унинг кечишини башорат қилиш ва патогенетик терапия кўрсаткичларини аниқлашда босқичма-босқич ёндошиш схемаси ишлаб чиқилди. Тавсия этилган схема якуний бўлмай, муаммо янада чуқурроқ ўрганилиши билан тўлдириш ва кенгайтириш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Тадқиқот ишида қўлланиладиган назарий ёндашувнинг тўғрилиги, тасдиқланган замонавий, бир-бирининг ўрнини тўлдирувчи клиник-инструментал, лаборатор, молекуляр-генетик усуллар ҳамда етарли даражада беморларнинг сони, ўтказилган таҳлиллар натижаларининг аниқлиги ва статистик ишлов берилганлиги, шунингдек, олинган маълумотларни халқаро ва маҳаллий тадқиқотлар натижалари билан таққосланганлиги, хулосалар ҳамда олинган натижаларнинг асосланганлиги ва уларнинг ишончлилигини ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқланганлиги билан асосланган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти сурункали вирусли гепатитларда асоратларнинг ривожланишига прогностик маркер сифатида зардоб амилоиди А1 ва унинг N-терминал аргинин-қисқартирилган шаклининг муҳимлиги ва асоратлар ривожланиш хавфи бор беморларни текшириш стандартига масс-спектрометриқ усулларни киритилиши уларда асоратлар ривожланиш хавфини камайтиради, бу эса эрта ногиронлик, ўлим кўрсаткичларининг камайиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти қўлга киритилган натижалар асосида шаклланган амалий тавсияларнинг амалиётга татбиқ этилиши касаллик авж олишини секинлаштиришга ва асоратлар хавфини камайтиришга олиб келиши билан ифодаланиб, ушбу натижалар ёрдамида, содир бўлиши мумкин бўлган ўлим ва эрта ногиронликни ривожланишининг олдини олишга, шунингдек жигар фиброзининг кучайиши ва жигар циррозининг шаклланишигача бўлган даврни узайтиришга эришилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларини жорий қилиниши. Сурункали вирусли гепатит В ташхислашда янги усуллардан фойдаланиш ва босқичма босқич биокимёвий таҳлил асосида олинган илмий натижалар асосида:

сурункали гепатит касалликларида замонавий биокимёвий ташхисот усуллари бўйича олинган илмий натижалар асосида ишлаб чиқилган «Болаларда сурункали гепатит касалликларида замонавий биокимёвий ташхисот усуллари» услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2020 йил 23 ноябрдаги 8н-р/465-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома беморлардаги сурункали гепатитда патологик жараённи клиник белгилари пайдо бўлгунга қадар лаборатор таҳлилларда аниқланган текшириш усуллари ҳамда уларни босқичма-босқич биокимёвий

текшириш натижалари касалликни эрта ташхислаш ёрдамида асоратларни камайтириш имконини берган;

сурункали вирусли гепатитлар билан оғриган беморларда клиник-патогенетик ва протеомик жихатларининг прогностик аҳамиятини баҳолашни такомиллаштириш олинган илмий натижалар соғлиқни сақлаш соҳаси амалиётига, жумладан, Республика шошилинич тиббий ёрдам илмий маркази Тошкент вилояти филиали, Андижон вилояти юқумли касалликлар шифохонасида жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2021 йил 26 майдаги 08-04/4668-сонли хулосаси). Олинган натижаларнинг амалий қўлланилиши, эрта ташхис қўйиш, касалликнинг ривожланишини башорат қилиш, ўз вақтида келиб чиқадиган асоратларни зудлик билан олдини олишга, ҳамда беморларнинг ҳаёт сифатини яхшилаб, даволаш чоратадбирларининг самарадорлигини ошириш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 9 та, жумладан, 4 та халқаро ва 5 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 14 та илмий иш, шулардан, Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертациялар асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола, жумладан, 3 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми Диссертация таркиби кириш, 4 боб, хулосалар ва фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертация ҳажми 106 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва аҳамияти, ушбу ишга талаб асосланган, унинг мақсади, вазифалари, объекти ва предмети тавсифланган, мазкур тадқиқотнинг республика фан ва технологияларининг устувор йўналишларига мос келиши кўрсатиб берилган, илмий янгилиги ҳамда унинг амалий натижалари ўз ифодасини топган, олинган натижаларнинг илмий-амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий қилиниши, чоп этилган ишлар ва диссертациянинг таркибий тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Гепатит В вируси таъсирида сурункали жигар касалликлари шаклланишининг метаболик ва протеомик жихатлари**» деб номланувчи биринчи бобида жигарнинг сурункали касалликларини ташхислашда замонавий ёндашиш ва унинг муаммолари акс этирилган илмий адабиётларнинг батафсил таҳлили келтирилган. Ўрганилаётган мавзунинг ҳал этилган муаммоларининг маълум қисмлари баён этилган. Одам организмидаги оксилларнинг вазифалари, масс-спектрометрия асосидаги протеомика имкониятлари, НВ-вирусли инфекциясида цитокин воситачилигидаги хужайралараро алоқалар номуносивблигининг молекуляр механизмлари ҳақидаги маълумотлар ёритилган.

Диссертациянинг «тадқиқот материаллари ва усуллари» деб номланган иккинчи боби илмий ишда қўлланилган текшириш усуллари ва материалларининг баёнига бағишланган. Тадқиқот объектини Республика ихтисослаштирилган педиатрия илмий-амалий тиббиёт маркази гепатология бўлимида даволанган 4 ёшдан 18 ёшгача бўлган сурункали гепатит В билан оғриган 100 бемор (25 юқори фаол ва 75 ўртача оғирликда) ва 20 та соғлом бола ташкил қилди.

Намуналарни протеомик тадқиқот ёрдамида текширишдан ташқари қоннинг умум қабул қилинган биокимёвий таркиби ўрганилди. Сурункали гепатит ташхиси клиник ва лаборатория текширувлари, хусусан ультратовуш маълумотлари, цитоллиз (аспартатамино трансфераза, аланиламино трансфераза, лактат дегидрогеназаларни зардобда миқдорининг ошиши), холестаза (билирубин, гаммаглутамилтранспептидаза, гидроксид фосфатаза кўпайиши) синдромлари асосида қўйилган. Ташхиснинг этиологик верификацияси қон зардобда HBVнинг ДНК си полимераза занжирли реакцияси усули HBV ни серологик маркерлари (HBeAg, HBsAg) иммун фермент таҳлил усули ёрдамида аниқланди. Метаболик тадқиқотлар блокида намуналардаги холестерин, паст зичликдаги липопротеидлар, юқори зичликдаги липопротеидлар, триглицеридлар миқдори аниқланган ва бунда Витал Диагностика (Россия) реактивларидан фойдаланилган. Зардоб протеинограммасидаги 2D-электрофорез, хромато-масс-спектрометрик анализ ёрдамида, α -ЎНО кўрсаткичлари иммунофермент таҳлили Cytelisa Human TNF α Cytimmune (USA) тўпламидан фойдаланиб стандарт усулда аниқланган.

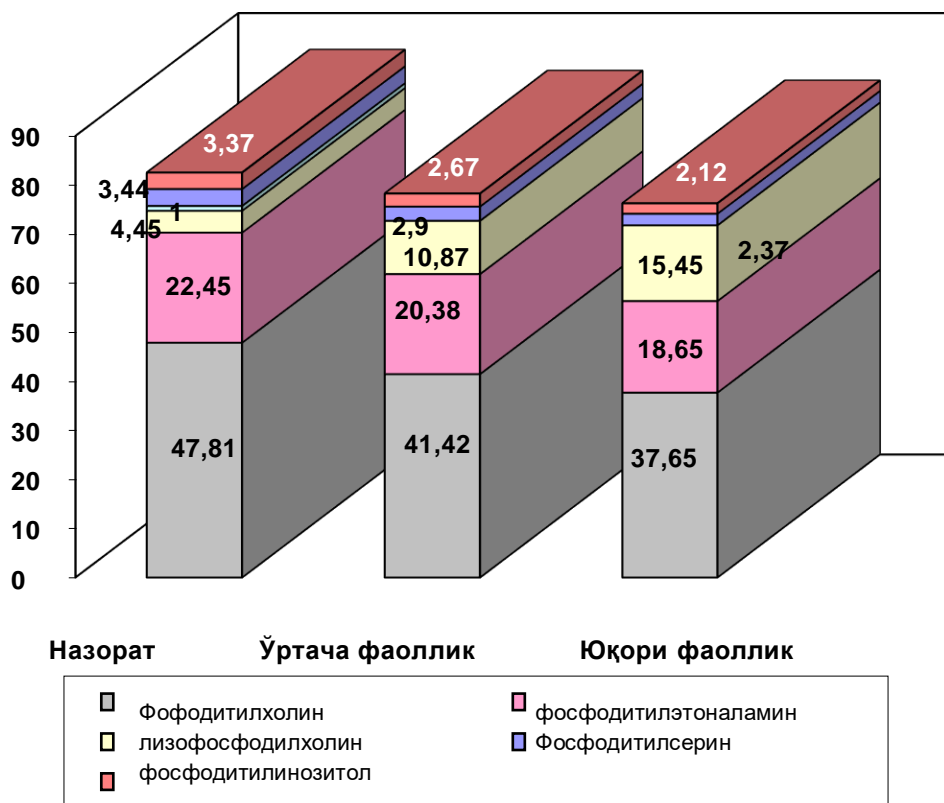
Материалларни статистик қайта ишлашда альтернатив таҳлил - мослик мезонлари қўлланилди ва кўрсаткичларнинг ўртача хатоси ҳисобланди. У «Statistica for Windows 7.0» персонал компьютерининг амалий дастур пакетидан фойдаланилган ҳолда амалга оширилди. Тандем масс-спектрометрияси (LC/MS) билан суюқ хроматографиядан олинган биомаркер оқсиллари уларнинг ҳар бирининг оғирлик/заряд нисбатларига ($\pm 1\%$) мос келадиган потенциал оқсилларни аниқлашда TagIdent (ExPASy®) дастурида иерархик равишда гуруҳланди. Иерархик кластерлаш ва статистик таҳлил EpiInfo™ дастурий таъминотининг 6.0 версияси ёрдамида амалга оширилди.

Диссертациянинг «**Жигар фаолиятни бузилишининг метаболик асослари**» деб номланган учинчи бобида касалликнинг оғирлик даражасидан катъий назар беморлардаги эндотоксимия даражаси қондаги липид, цитокинлар таркиби ҳамда цитолитик ва холестатик синдромлар ҳолатларини ўрганишга бағишланган.

Бунда аввал биз сурункали гепатит В билан касалланган беморларда жигарнинг функционал ҳолатини акс эттирувчи айрим биокимёвий кўрсаткичларни аниқладик. Цитоллиз индекслари шуни кўрсатдики, патологик жараённинг ўртача фаоллиги бўлган беморларда қонда аланил трансфераза ва аспартат трансфераза даражаси назорат кўрсаткичидан атиги 3,6 ва 2,9 марта, касалликнинг юқори фаоллик шаклида уларнинг кўрсаткичлари назорат гуруҳига нисбатан мос равишда 4,1 ва 3,5 марта

ошган. Лактат дегидрогеназа кўрсаткичлари ҳам патологик жараённинг фаоллигига мос равишда юқоридаги каби силжишлар аниқланди. Аммо улар аланил трансфераза ва аспартат трансфераза қийматларидек яққол намоён бўлмади. Ишқорий фосфатаза миқдори касалликнинг юқори фаоллигида назорат кўрсаткичига нисбатан 2,7 баробар ($P < 0,05$), ўртача фаолликда 2,1 баробар ошган. Гамма глутамин транспептидаза фаоллигида эса сезиларли ўзгаришлар аниқланмади ва ўртача фаолликда 27%, юқори фаолликда 34% га тенг бўлди.

Маълумки, липидлар ҳужайра тузилишининг таркибий қисмларидан бири ҳисобланади. Шунинг учун, ҳужайра шикастланиши шароитида, унинг мембрана тузилмаларини йўқ қилиш, яъни цитолитик синдром юзага келганда қоннинг липид таркиби нафақат цитодеструкция даражасининг ўзига хос «индикатори», балки организмнинг ҳужайра тузилмалари зарарланишига таъсир кўрсатадиган кўрсаткичи сифатида ҳам хизмат қилиши мумкин.

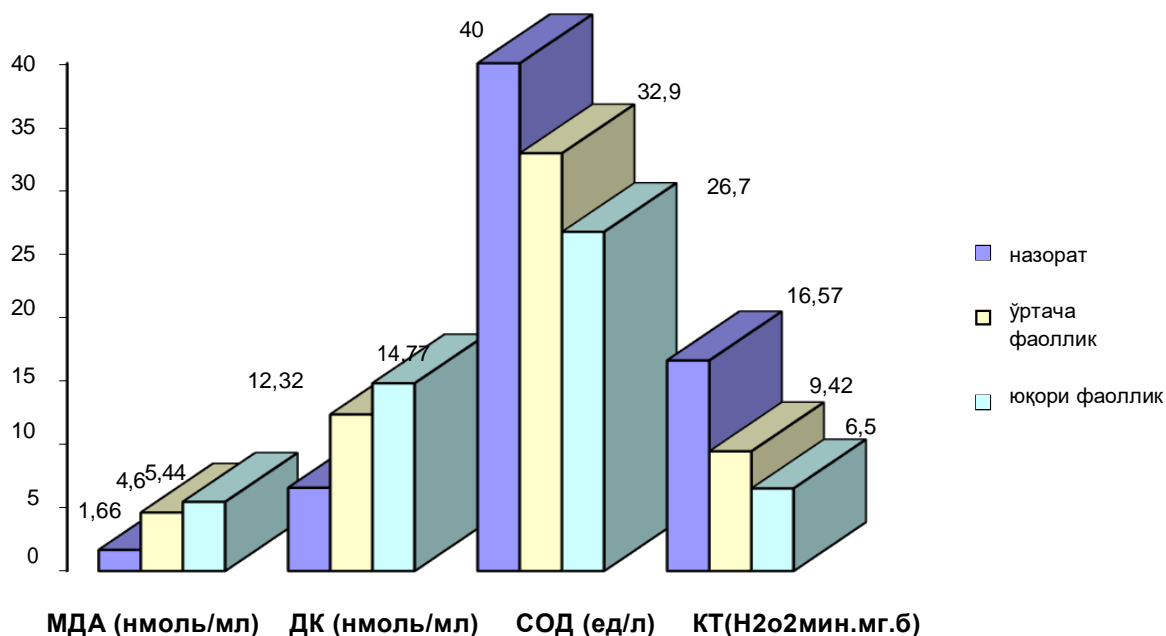


1-расм. Сурункали гепатит В фаоллик даражасига қараб беморлар қонининг фосфолипид спектрини ўзгариши (%)

Ўртача фаолликдаги сурункали В гепатитда қонда умумий липидлар миқдори 80% га, холестерин миқдори 44,6% га ошганлиги қайд этилди. Триглицеридлар миқдорида кўпроқ ўзгаришлар аниқланди ва улар таркиби назорат гуруҳининг кўрсаткичлари билан таққослаганда 2,4баробарга кўпайганлиги аниқланди. Патологик жараённинг фаоллиги ошишига мос равишда кўрсаткичлар ўсиб боради ва умумий липидларнинг миқдори ошади. Бу ҳолат кўпроқ касалликни юқори фаоллиги бўлган беморларда умумий оксиллар, холестерин ва триглицеридлар мос равишда 52,0%, 126% ва 170%

га кўтарилишида акс этди. Сурункали В гепатитнинг ўртача фаоллигига эга бўлган бемор болаларда юқори зичликдаги липопротеидлар даражасининг 27,8% га пасайиши ($p < 0,05$) ва паст зичликдаги липопротеидлар таркибининг 18,2% га, жуда паст зичликдаги липопротеидлар - 22,9% га ўсиши кузатилди. Шу билан бирга, текшириляётган болалар қонидаги умумий фосфолипидлар таркибида тескари силжишлар аниқланди. Бунда патологик жараённинг фаоллиги ошиб борган сайин, биологик мембраналарни қуриш учун муҳим бўлган ушбу субстратнинг камайиши кузатилди. Шундай қилиб, ўртача ва юқори фаолликда умумий фосфолипидлар таркиби мос равишда 30,6% ва 46% га камайди. 1-расмда келтирилганидек, ўрганиляётган патология шароитида ҳам умумий фосфолипидлар таркибидаги ўзгаришлар билан бир қаторда уларнинг спектрида ҳам маълум силжишлар содир бўлган.

Фосфотидилхолиннинг пасайиши негизида сурункали гепатит В нинг ўртача фаоллиги бўлган беморларда назорат гуруҳига нисбатан лизофосфотидилхолиннинг ўзига хос таркиби 2,4 мартага кўпайди, қолган фракциялар таркибида деярли ўзгаришлар аниқланмади. Касалликнинг фаоллиги ошиши билан фосфолипидларнинг алоҳида фракциялари таркибидаги силжишлар янада аниқроқ кузатилди. Сурункали гепатитнинг юқори фаоллик даражаси назорат гуруҳи билан солиштирилганда фосфотидилхолин, фосфотидилсерин (ФС), фосфотидилинозитол миқдорининг мос равишда 26,9%, 45,1% ва 58,9%, камайиши кузатилди. Шу билан бирга, лизофосфотидилхолиннинг улуши 3,5 баробарга ошди.



2-расм. Сурункали В гепатитда фаоллик даражасига мос равишда беморлар қонида липопротеидларни перекис оксидланиши ва антиоксидант тизими кўрсаткичларининг ўзгариши

Сурункали В гепатит билан касалланган беморларда эндотоксемия кўрсаткичлари.

Қондаги умумий фосфолипидлар етишмовчилиги ва цитодеструкция механизмларини тушунтириш учун липид пероксидация маҳсулотларининг таркибини ўрганиб чиқдик. Сурункали гепатитнинг ўртача ва юқори фаоллигида малон диальдегиди қондаги даражаси назорат гуруҳи билан солиштирилганда 2,8 ва 3,3 мартага кўпайган. Деярли худди шундай динамика диенли конъюгатлар миқдорининг ўзгаришларида ҳам кузатилди. Ушбу негизда антиоксидант ферментлар – супероксид дисмутаза ва каталазининг фаоллигини сезиларли даражада пасайганлиги қайд этилди. Каталаза фаоллиги касаллик авж олган даврида сезиларли даражада пасайган бўлса, ремиссия даврида эса бу кўрстакчи назорат гуруҳига нисбатан бир мунча ошганлиги аниқланди.

Қонда метаболизм жараёнлари маҳсулотлари, субстратлар, биологик фаол моддалар – апоптознинг «воситачилари», ҳужайралар парчаланиши маҳсулотлари, оқсилларнинг аномал шакллариининг тўпланиши, шубҳасиз, организмнинг интоксикациясига олиб келади.

Сурункали гепатит В нинг ўртача фаоллик билан ҳасталанган болаларда Нр(гаптоглобин) миқдори назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан 48,1% га, юқори фаолликда эса бу кўрсаткич 43,6% га камайган. Жигарнинг сурункали касалликларида гаптоглобин концентрациясининг ўзгаришини юқори ишончилигини ҳисобга олиб уни жигар функционал ҳолатини баҳолашда сезгир кўрсаткич деб ҳисоблаш мумкин.

1-жадвал.

Сурункали В гепатит фаоллигига мос равишда болалар қонида эндотоксемия кўрсаткичлари (М±м)

Кўрсаткичлар	Назорат гуруҳи	Сурункали В гепатит фаоллик даражаси	
		Ўрта	Юқори
Гаптоглобин, г/л	1,26±0,09	$\frac{0,60 \pm 0,05^*}{47,6}$	$\frac{0,55 \pm 0,04^*}{43,6}$
Ўртача молекуляр пептидлар мг/мл	0,65±0,04	$\frac{1,22 \pm 0,11^*}{187}$	$\frac{2,24 \pm 0,26^*}{344,6}$
ВН и СММ (бирлик)	8,1±0,6	$\frac{30,21 \pm 2,4^*}{372,9}$	$\frac{44,33 \pm 4,22}{547,2}$
Олигопептидлар (бирлик)	0,64±0,05	$\frac{1,51 \pm 0,12^*}{235,9}$	$\frac{1,57 \pm 0,14}{245,3}$

Изоҳ: 1. – суратда кўрсаткичларнинг назорат қийматидан бирликдаги сони, маҳражда фоиздаги миқдори; 2. *-назоратга нисбатан фарқлар ишончилиги $p < 0,05$

Дарҳақиқат, сурункали гепатит В нинг ўртача фаоллиги аниқланган бемор болаларда СМП, ВН ва СММ ва олигопептидларнинг миқдори назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан мос равишда 1.87, 3.7, ва 2.3 марта юқорилиги, касалликнинг юқори фаоллигида эса мос равишда 3.4, 5.7 ва 2.4, марта ошганлиги аниқланган. Бу сурункали гепатит В эндотоксемиянинг белгилари патологик жараённинг фаоллигига бевосита боғлиқлигини тасдиқлайди.

Шундай қилиб, олиб борилган тадқиқот натижалари сурункали В гепатит эндотоксемия негизда ферментатемия, гипербилирубинемия, гиперлипидемия ва фосфотидилхолин ҳисобига умумий фосфолипидлар этишмовчилиги, липидларнинг перексли оксидланиш реакциясининг кучайиши ва антиоксидант тизим ферментларининг сусайиши кузатилади деган хулосага келиш мумкин.

Иммунитет ҳолатини аниқлаш.

Сурункали В гепатити билан оғриган барча болалар иммун ҳолатида, айниқса унинг хужайравий кўрсаткичлари сезиларли ўзгарганлиги аниқланди. Текширилган болаларнинг периферик қонида Т-лимфоцитлар миқдори сурункали гепатитнинг ўрта ва юқори фаоллигида назорат гуруҳидагиларга нисбатан мос равишда 20% ва 24,5% га камайган.

2-жадвал.

Сурункали В гепатит билан оғриган беморларда хужайра иммунитетини кўрсаткичлари

Кўрсаткичлар	Назорат гуруҳи	Сурункали В гепатитнинг фаоллик даражаси	
		Ўрта	Юқори
Т-лимфоцитлар CD3 ⁺ (%)	42,24±2,41	33,8±2,43*	31,9±1,12*
Т-хелперлар CD4 ⁺ (%)	30,3±2,92	19,5±1,22*	17,2±1,05*
Т-супрессорлар CD8 ⁺ (%)	20,5±1,65	12,2±1,08*	9,8±0,78*
ИБИ(СД4/ СД8)	1,47±0,12	1,6±0,10*	1,75±0,11*

Изоҳ: *-назорат гуруҳига нисбатан фарқларнинг ишончлилиги $p < 0,05$

Т-лимфоцитлар субпопуляцияси таркибида ҳам, деярли шунга ўхшаш силжишлар кузатилди. Т-хелперлар (CD4⁺) улуши назорат гуруҳига нисбатан касалликнинг ўртача фаоллигида 35,7% га, юқори фаоллигида эса - 43,3% га камайган. Т-супрессорлар (CD8⁺) миқдори эса, ўртача фаолликда 40,5% га, юқори фаолликда 52,2% га камайган. Иммунитетнинг Т-хужайра алоқасидаги қайд этилган ўзгаришлар негизда иммунбошқариш индексининг(ИБИ) ошиши кузатилди. Кузатувлар болаларда сурункали В гепатитда Т-хужайра иммунитет танқислиги юзага келиб, бу жигардаги сурункали зарарланишга нисбатан тизимли иммуно-яллиғланиш жавоби ҳисобланади.

Иммунитетга қарши жавобни шаклланишида яллиғланишга қарши цитокинлар катта аҳамиятга эга эканлиги маълум.

Сурункали вирусли гепатит В да цитокинлар, жумладан, α -ЎНО ва интерлейкин-6 синтези кучаяди. Бизнинг тадқиқотимизда уларнинг кўрсаткичи мос равишда касалликни ўртача ва фаол кечишида 54,55±6,50 пкг/мл ва 119,5±8,42 пкг/мл га тенг бўлди.

Корреляцион таҳлил натижасига кўра қон зардобидидаги TNF- α (улиш некроз омили) билан интерлейкин-10 ва интерлейкин-6 орасида мос равишда 0.42, $p < 0.05$ ва $r = 0,35$ дан 0,51 гача $p < 0,05$ мусбат боғлиқлик аниқланди.

Сурункали В гепатитни турли оғирлик даражасида цитокинлар кўрсаткичи

Цитокинлар	Назорат гуруҳи	Ўртача фаоллик	Юқори фаоллик
ФНО- α (пкг/мл)	32,44 \pm 2,11	54,55 \pm 6,50*	119,5 \pm 8,42*
Интерлейкин-4	4,46 \pm 0,32	7,45 \pm 1,74*	8,82 \pm 2,25* >0,05
Интерлейкин-6	17,78 \pm 1,85	180,95 \pm 17,56*	217,34 \pm 10,54* <0,05
Интерлейкин-8	16,25 \pm 1,77	22,70 \pm 2,05*	25,36 \pm 2,24* >0,05
Интерлейкин-10	81,30 \pm 7,15	25,56 \pm 1,74*	23,87 \pm 8,98* >0,05

Изоҳ: *-назорат гуруҳига нисбатан фарқларнинг ишончилиги $p < 0,05$

Бу α -ўсма некроз омилининг сурункали В гепатитдаги ўрни зиддиятли эканлигидан далолат беради. У бир томондан, вирусга қарши таъсирга эга, зарарланган ва вирус юқган гепатоцитларни йўқ қилади ва интерферонлар билан синергик таъсир кўрсатади. Бошқа томондан, унинг гепатит жараёнида қонда айланиб юрган ортиқча миқдори бевосита жигарни зарарланишига ва гепатоцитлар апоптози воситачилигига олиб келади, фиброгенезни ҳамда эндоген интоксикация синдромининг намоён бўлишини кучайтиради ва узайтиради.

Цитокинларнинг биологик таъсири турли хил патоген омиллар иштирокида турлича намоён бўлади. Уларнинг миқдорий таркиби ва ўзаро алоқалари касалликнинг фаоллиги билан боғлиқ бўлиб, патологик жараённинг кечиши динамикасини акс эттиради, терапия самарадорлигини баҳолаш ва башорат қилиш имконини беради.

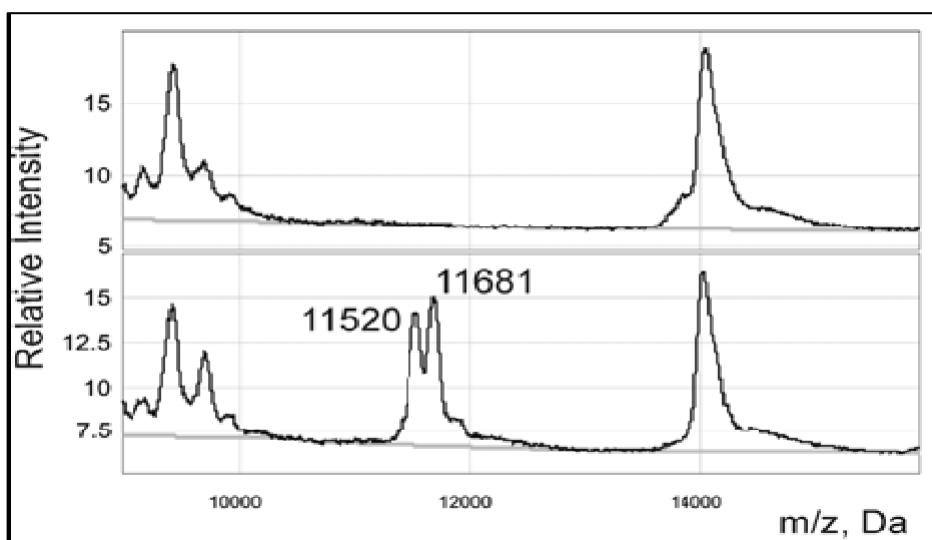
Диссертациянинг «**Сурункали гепатит В билан касалланган беморлар қонининг протеомик спектрини текшириш натижалари**» деб номланадиган тўртинчи бобида сурункали В гепатит билан оғриган бемор болалар қонининг протеом спектрини текшириш натижалари келтирилган.

Авваламбор текширув вазифаси бўлиб соғлом болалар қонини протеомини аниқлаш ҳисобланди. Уларнинг қон зардобидида ички, ҳам индивидуумаро протеом ўзгарувчанлик борлиги аниқланди. Соғлом болаларнинг ўрганилган гуруҳлари орасида қуйидаги оқсиллар таркибида катта фарқлар қайд этилди. Фибриногенни α -ва β -занжирлари, IV тромбоцитар омил, β 2-микроглобулин, цистатин С, апо-Е ва С-I, С3 ва С4 комплемент фрагментлари. Ушбу оқсиллар орасида α -ва β -занжирлари фибриногенни ҳамда цистатин С катта ўзгарувчанлиги билан фарқ қилди. Олинган натижалар ушбу оқсилларни биомаркер сифатида қабул қилиниши мумкин эмаслигини кўрсатади.

Протеом текширув протоколини мувофиқлаштириш учун кузатувдаги 10 болада оқсиллар субпопуляциясини спектрометриқ таҳлили ўтказилди. Масс-спектрометрия натижалари оқсиллар экспрессияси профилида алоҳида

бўлинган аниқ субпопуляцияларни сақлашини кўрсатди. Қон зардобидаги доимий оқсиллар орасида кератин ва эпидермал ўсиш омили DAVID дастури ёрдамида аниқланди. Кератин, II тип цитосклет ёки I цитокератин кератинлар оиласига мансуб ва марказий протеом қисм ҳисобланади.

Булар эпидермис асосий таркибий оқсиллари бўлиб, актин филаментлари ва микронайчалар билан биргаликда эпителиал хужайраларни ташкил қилади. Ҳозирги вақтда цитокератинларнинг 20 тури аниқланган - СК1-СК20. А-I ва А-IV аполипопротеинларнинг даражасининг ўзгариши, жигардаги липид таркибий қисмларининг силжиши билан боғлиқ эканлиги исботланди.



А - соғлом болалар; Б - сурункали В гепатити аниқланган болалар;

3-расм. Масс-спектрограмма фрагменти ва унда ўзига хос 11,520/11,681 кДа оғирликдаги маркер чўққилари кўрсатилган.

- 11,681 маркер чўққиси қон зардобидаги амилоид А1 (NCBI ID gi:225986) га мос келади; 11,520 кДа – чўққи эса аргининнинг N-терминалидаги қисқарган шакли. Иккала чўққи фарқи аргинин вазнига мос келади (1-расм). Бундан ташқари, преальбумин фракцияси меъёрида 1,9 кДа бўлиб, сурункали гепатитнинг фаол шаклида 2,2 баробар камайган.

Шундай қилиб, сурункали В гепатит билан оғриган болалар қонининг протеомик спектрини модификацияси, касаллик ривожланишида муҳим патогенетик омил ҳисобланади. Сурункали В гепатитнинг фаол даврида назорат гуруҳида учрамайдиган иккита чўққининг пайдо бўлиши ва уни зардоб амилоид А 1 ва аргининнинг N-терминалидаги қисқарган шаклига мос келиши, ушбу оқсилларни сурункали гепатит фаол шаклларининг маркерлари деб ҳисоблашга асос бўлади.

Шундай қилиб, сурункали гепатит В билан хасталанган бемор болалар қонининг оқсил таркибини ўрганиш, физиологик жараёнда иштирок этувчи-специфик оқсиллар сурункали гепатитга хослиги аниқланди. Улар асосан жигарда синтезланади.

ХУЛОСА

«Гепатит В вируси таъсирида сурункали жигар касалликлари шаклланишининг метаболик ва протеомик жиҳатлари» мавзусидаги фалсафа доктори (PhD) диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар олинди:

1. Масс спектрометрия ердамида СГВ булган болаларда протеомик таркиб соғлом болалардан фаркли уларок, зардоб амилоиди А1 ва унинг N-терминал аргинин кискарган шаклдаги тугри келадиган икката қушимча чуқкилар мавжудлиги ва цистатин С, альфа ва занжирлари катта узгарувчанликка эга.

2. СГВ булган болаларда зардоб амилоиди А1 даражаси, унинг N-терминал аргинин кискарган шакли, гаптоглобин, аполипопротеин А1, СРБ, кластерин, α – γ ГЛО концентрацияси ва СГВ фаоллиги даражаси ва вирус юкламаси билан узаро боғлиқ.

3. СГВ булган болаларда ҳаптоглобин, аполипопротеин А IV, зардоб амилоиди А таркибидаги ўзгаришлар ОБ, ХС, ТГ таркибидаги ўзгаришлар билан, ФХ камайиши ва ЛФХ нинг кўпайиши, АЛТ, ЩФ ошиши, ПТИ нинг пасайиши, СМП нинг кўпайиши, бу жигарнинг метаболик касалликлари ва эндоген интоксикация шароитида протеом ўзгариши ва СГВ даги метаболом ўртасидаги боғлиқлик мавжудлигини кўрсатади.

4. Зардоб амилоиди А даражасининг ИЛ-6, ИЛ-8, α – γ ГЛО даражаси билан ўзгариши ўртасидаги ўзаро боғлиқликнинг тўғридан-тўғри ўртача кучини топди.

5. Болалардаги СГВ фаоллиги ва оғирлигининг энг маълумот берувчи кўрсаткичлари бу зардоб амилоиди А1, унинг қисқартирилган шакли; кластерин; гаптоглобин бўлиб, улар СГВ кечишининг кўрсаткичлари бўлиши мумкин.

**РАЗОВЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.04/30.2019.Tib.30.02 ПО
ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ
ПРИ ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ**

**ЦЕНТР РАЗВИТИЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ КВАЛИФИКАЦИИ
МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ**

МУХАМЕДЖАНОВА ДИЛОРОМ ИСМАИЛДЖАНОВНА

**МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И ПРОТЕОМНЫЕ АСПЕКТЫ
ФОРМИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ
НВ-ВИРУСНОЙ ЭТИЛОГИИ**

14.00.25 – Клинико-лабораторная и функциональная диагностика

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

ТАШКЕНТ – 2021

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей Аттестационной комиссии при Кабинете Министра Республики Узбекистан за В2019.2.PhD/Tib979.

Диссертация выполнена в Центре развития профессиональной квалификации медицинских работников МЗ РУз.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного Совета (www.tma.uz) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель: **Арипов Орифжон Абдумаликович**
доктор медицинских наук

Официальные оппоненты: **Хайбуллина Зарина Руслановна**
доктор медицинских наук

Камилов Асомиддин Исхакович Камилов
доктор медицинских наук, профессор

Ведущая организация: **Ташкентский педиатрический медицинский институт**

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2019 г. в _____ часов на заседании Разового Научного совета DSc.04/30.12.2019.Tib30.02 при Ташкентской медицинской академии. Адрес: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Фароби, 2. Тел/факс: (+99878) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрировано за № _____). (Адрес: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Фароби, 2. Тел/факс: (+99878) 150-78-25).

Автореферат диссертации разослан «_____» _____ 2021 г.
(протокол рассылки № _____ от «_____» _____ 2021 г.).

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 Разового Научного семинара при научном совете по присуждению ученых степеней, доктор медицинских наук, профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день вирусный гепатит (ВГ) является одной из важнейших медицинских и социальных проблем здравоохранения во всем мире и остается одной из основных причин инвалидности и смерти. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), «... около двух миллионов человек во всем мире в настоящее время инфицированы вирусом гепатита В (HBV) ...»¹. Несмотря на успехи в профилактике и лечении хронических диффузных заболеваний печени, наблюдается неуклонный рост числа пациентов и показателей смертности. Хронический гепатит В (HBV) -это медицинская и социальная проблема, с ранней потерей трудоспособности и смертностью пациентов таких осложнений, как цирроз, гепатоцеллюлярный рак из-за острого поражения печени у детей и взрослых. Одним из наиболее актуальных вопросов является организация мероприятий, направленных на диагностику, прогноз и профилактику заболеваний печени.

Во всем мире проводятся обширные исследования по раннему выявлению и профилактике заболеваний печени с использованием метаболических и протеомных индикаторов. В связи с этим растет интерес к клинической диагностике инфекционных заболеваний, включая аналитические возможности и фундаментальные научные требования к оценке белковой модели в крови пациентов с хроническим гепатитом В. Это, в свою очередь, имеет особое значение при разработке прогностических параметров, связанных с оценкой интимных молекулярных процессов и метаболических изменений в системе патоген-макроорганизмов с целью создания новых технологий индивидуальной диагностики и прогнозирования последствий хронической вирусной инфекции. Известно, что в последние годы использование современных протеомных технологий привело к их широкому применению в различных областях прикладной медицины. Протеомика в настоящее время является одним из самых быстрорастущих разделов системной биологии, с помощью которого особое значение приобретает разработка параметров содержания белка в клетках, тканях и биологических жидкостях.

В нашей стране развитие медицинской отрасли ставит ряд задач, направленных на адаптацию медицинской системы к требованиям мировых стандартов, снижение и предотвращение распространения хронических заболеваний на различных уровнях среди населения. Среди них такие задачи как: «... повышение эффективности, качества и доступности медицинской помощи в нашей стране, а также внедрение высокотехнологичных методов для ранней диагностики и лечения заболеваний, создание патронажных служб, поддержка здорового образа жизни и профилактика заболеваний...»². Вышеупомянутые задачи служат снижению уровня инвалидности и смертности

¹ World Health Organization. 2018 Dec 12.

² Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги ПФ-5590-сонли «Ўзбекистон Республикаси соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида»ги Фармон

от осложнений заболевания за счет повышения уровня современных медицинских услуг и ранней диагностики хронического вирусного гепатита, повышению качества жизни больных и улучшению прогноза заболеваний.

Данное диссертационное исследование в определенной степени способствует реализации задач, поставленных в нормативных актах, связанных с этой деятельностью, утвержденных Указом Президента Республики Узбекистан: «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан» за №УП-5590 от 7 декабря 2018 года, «Об оказании специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан в 2017-2021 годах» за №УП-5216 от 30 октября 2017 года, «О мерах по дальнейшему развитию, профилактике неинфекционных заболеваний, поддержке здорового образа жизни и повышению уровня физической активности населения» Постановление № ПП-4063 от 6 декабря 2018 года, «О дополнительных мерах по обеспечению здоровья населения путем дальнейшего повышения эффективности медицинской профилактики» Постановлении № ПП-4891 от 12 ноября 2020 года, а также других нормативно-правовых документов, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Работа выполнена в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий в Республике Узбекистан по разделу VI «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Логическим результатом развития молекулярной медицины является новое комплексное направление – распространение персонализированной (геномной) медицины, которая представляет собой разработку технологий индивидуального лечения и профилактики на основе достижений геномики, протеомики, биоинформатики и генетики, а также тестирование организма человека на различные причинные заболевания. Исследования ученых сосредоточены на идентификации, характеристике молекулярных биомаркеров и разработке методов оценки соответствующих тест-систем. Это одна из актуальных проблем, решаемых молекулярной медициной. Определение комплекса биомаркеров позволяет не только определить молекулярные механизмы возникновения заболевания, но и применить его в клинической практике.

Исследования в области инфекционных заболеваний и современные аналитические возможности, а также фундаментальные научные исследования вызвали большой интерес к изучению протеома крови. Исследованию протеома организма, биологических жидкостей биопсийных материалов различных органов посвящены работы отечественных и зарубежных исследователей. Работы ряда ученых в этой области (Virzi, A., Suarez, AAR, Baumert, TF, 2020, Mischak H., Thongboonkerd V., Schanstra JP, Vlahou A., 2011; Metzger J. et al., 2017; Ларина И.М., Иванисенко В.А., Николаев Е.Н., Григорьев А.И., 2019) заслуживают особого внимания. При изучении вирусных заболеваний печени в нашей республике проводились ряд исследований в научных школах О.С.Махмудовой, Т.А.Даминова и Ф.И.Иноятовой.

В последние годы не только в других странах, но и в нашей стране публикуются результаты исследований роли вирусной нагрузки как самостоятельного фактора в ускорении патологического процесса в печени детей с HBV-инфекцией. Исследования в них показали, что риск развития ЦП и ГЦК увеличивается в 2-3 раза при уровне виремии у пациентов более 105 копий / мл. Таким образом, высокая заболеваемость хроническим гепатитом у детей является проблемой, требующей более глубокого и детального изучения. Генетическая изменчивость этого патогена не только снижает эффективность лечения, но и снижает его серодиагностику, а также эффективность вакцинации. Еще одна особенность гепатита В - неполный ответ Т-клеток на вирусный антиген. Это приводит к тому, что заболевание становится хроническим.

Кроме того, хотя многие исследования основаны на индивидуальных механизмах, они демонстрируют актуальность основных диагностических методов, основанных на биологических маркерах, при хроническом заболевании печени. Одна из важных задач системы здравоохранения - разработка и внедрение новых инновационных методов прогнозирования развития последствий хронического вирусного гепатита в нашей стране. Они позволяют диагностировать риск осложнений заболевания, продлить период компенсации, предотвратить раннюю инвалидность и снизить смертность.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертация выполнена в Центре развития профессиональной квалификации медицинских работников МЗРУз, проводилось в соответствии с планом научно-исследовательской работы «Механизмы поражения печени у детей с HB - вирусным хроническим гепатитом» (2017-2019 гг).

Цель исследования. Цель изучить протеомный и метаболический состав крови детей с ХГВ и установить их связь с активностью процесса в печени, путем комплексного определения белков в периферической крови, протеомных маркеров у больных хроническим гепатитом В для прогнозирования исходов заболевания, разработка и усовершенствование методов диагностики.

Задачи исследования:

оценка и корреляция содержания протеома в сыворотке крови больных хроническим гепатитом В с уровнем активности заболевания;

оценка результатов протеомного анализа в сыворотке крови пациентов с ВГВ методом масс-спектрометрии;

оценка взаимосвязи изменения протеома с активностью синдромов поражения печени и синдрома эндогенной интоксикации;

определить, связь иммунологических изменений в сыворотке крови пациентов с хроническим гепатитом В с параметрами протеомного спектра;

идентификация белков -маркеров связанных с тяжестью и активностью хронического гепатита В;

Объектом исследования были 100 детей в возрасте от 4 до 18 лет и 20 здоровых детей с хроническим гепатитом В, находившихся на лечении в гепатологическом отделении Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра педиатрии.

Предметом исследования явились результаты клинического, лабораторного, молекулярно-генетического и масс-спектрометрического обследования пациентов с венозной кровью, капиллярной кровью.

Методы исследования. Для выполнения задач, поставленных в диссертационном исследовании, и для достижения цели использовались общеклинические, биохимические, серологические, иммунологические, протеомные, молекулярно-биологические методы и статистические компьютерные программы (IBM SPSS Statistic).

Научная новизна исследования заключается в следующем:

основанный на взаимосвязи между повышенным окислительным стрессом и воспалительными процессами в крови больных хроническим гепатитом В и снижением выработки аполипопротеина А-IV, обладающего антиоксидантными свойствами;

при активной форме ХГВ методом масс-спектрометрии выявлено появление двух пиков, соответствующие сывороточному амилоиду А1 и его укороченной по N-концевому аргинину форме, что позволяет считать эти белки маркерами активной формы хронического гепатита;

протеомные изменения в условиях эндогенной интоксикации у больных хроническим гепатитом В основаны на накоплении токсических соединений промежуточного метаболизма в плазме крови;

доказано, что внедрение протеомных методов скрининга в стандарт обследования пациентов с риском развития заболеваний печени играет важную роль в развитии осложнений заболевания.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

На основе развития хронического гепатита разработан местный клеточный иммунный ответ различных клинических и биохимических проявлений, и на этой основе разработаны лабораторные и масс-спектрометрические показатели изменения уровня аполипопротеинов А-I и А-IV;

увеличение количества ЛПНП в крови больных по сравнению с показателями контрольной группы, объясняется действием свободнорадикальных продуктов, появляющихся вследствие поражения печени;

по мере повышения активности патологического процесса наблюдается динамичное снижение содержания общих фосфолипидов (ОФЛ), важного для построения биологических мембран субстрата;

было обнаружено, что концентрация провоспалительного цитокина ФНО- α (фактор некроза опухоли) достоверно повышена у больных ХГВ. Установлена прямая связь уровня ФНО- α с активностью заболевания, выраженностью синдромов цитолиза, холестаза, иммунного воспаления;

разработана схема поэтапного подхода к выявлению симптомов синдрома эндогенной интоксикации при хроническом гепатите, прогнозированию его течения и определению показаний к патогенетической терапии. Предлагаемая схема не является окончательной, но позволяет дополнить и расширить более глубоким изучением проблемы.

Достоверность результатов исследования подтверждена точностью теоретического подхода, дополняющими в исследовании использованными, проверенными современными, клинико-инструментальными, лабораторными, молекулярно-генетическими методами. Достаточное количество пациентов, позволило произвести точность анализа и статистическую обработку, а также результаты международных и локальных исследований и их сравнение позволило сделать выводы. Полученные результаты обоснованы, а их достоверность подтверждена компетентными органами.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

значение определения сывороточного амилоида A1 и его укороченная N-концевому аргинину форма является прогностическим маркером развития осложнений при хроническом вирусном гепатите, важность внедрение масс-спектрометрических методов в стандарт обследования пациентов с риском развития хронизаций снижает риск развития у них осложнений, что объясняется снижением ранней инвалидности и смертности.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что выполнение практических рекомендаций, основанных на полученных результатах, позволяет замедлить прогрессирование заболевания и снизить риск развития осложнений. С помощью этих тестов можно предупредить раннюю инвалидность и смертность, а также предотвратить ранний фиброз печени с продлением периода, приводящего к формированию цирроза печени.

Внедрение результатов исследования. На основе использования новых методов диагностики хронического вирусного гепатита В и научных результатов, полученных на основе пошагового биохимического анализа:

утверждена методическая рекомендация «Современные биохимические методы диагностики хронического гепатита у детей», разработанная на основе научных результатов по современным биохимическим методам диагностики хронического гепатита (Заключение Минздрава № 8н-р / 465 от 23 ноября 2020 г). Данные методических рекомендации позволяют выявить патологический процесс до проявления клинических признаков методами обследования, выявленными в лабораторных исследованиях и результатов их пошагового биохимического анализа у больных с хроническим гепатитом;

Полученные научные результаты улучшение оценки прогностической ценности клинических, патогенетических и протеомных аспектов у больных хроническим вирусным гепатитом внедрены в практику деятельности здравоохранения, в том числе Ташкентского регионального отделения Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи, Андижанской областной инфекционной больнице (Заключение № 08-04 /

4668 от 26 мая 2021г). Практическое применение результатов позволило поставить раннюю диагностику, спрогнозировать течение заболевания, своевременно чередовать профилактику осложнений, а также улучшить качество жизни пациентов и повысить эффективность лечебных мероприятий.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования доложены и обсуждены на 9 научно-практических конференциях, в том числе на 4 международной и 5 республиканских.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 журнальных статей в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертаций, из них 2 статьи в зарубежном и 3 в республиканских научных журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 106 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснованы актуальность и востребованность темы, сформулированы цели, задачи, объекты, выполнение исследования в соответствии с приоритетами науки и технологий республики, научная новизна теоретическая и практическая значимость содержания, результаты исследования используются в практике, опубликованным научным работам и структуре диссертации

В первой главе диссертации представлен **обзор последних литературных источников**, который раскрывает современные подходы к диагностике хронических заболеваний печени. Приведены данные литературы о функции белков в организме человека методами и возможности протеомики на основе масс-спектрометрии, молекулярных механизмах дисбаланса цитокинопосредованной межклеточной коммуникации при НВ-вирусной инфекции

Во второй главе диссертации **«Материалы и методы исследования детей больных хроническим гепатитом»** описаны объект, предмет и методы исследования, а также примененные статистические методы. В исследование были включены 100 детей в возрасте от 4 до 18 лет больных ХГВ которые находились на стационарном лечении и амбулаторном наблюдении в Республиканском специализированном научно-практическом центре педиатрии МЗ РУз (из них 25 с выраженной активностью, 75 с умеренной активностью) также контрольная группа из 20 здоровых детей.

В дополнение протеомных исследований был изучен общепринятый биохимический состав крови. Диагноз хронического гепатита ставился на основании клинических и лабораторных исследований, в частности данных УЗИ, синдромов цитолиза (увеличение количества аспартатаминотрансферазы, аланиламинотрансферазы, лактатдегидрогеназы

в сыворотке крови), холестаза (повышение билирубина, гаммаглутамилтранспептидазы, гидроксидфосфатазы). Этиологическая верификация диагноза ДНК HBV методом полимеразной цепной реакции в сыворотке крови, серологические маркеры HBV (HBeAg, HBsAg) определяли с использованием методом иммуноферментного анализа. В блоке метаболических исследований в образцах определяли количество холестерина, липопротеидов низкой плотности, липопротеидов высокой плотности, триглицеридов с использованием реактивов Витал Диагностика (Россия). 2D-электрофорез протеинограммы сыворотки, с использованием хромато-масс-спектрометрического анализа, иммуноферментный анализ ФНО- α определяли стандартным методом с использованием коллекции Cytelisa Human TNFa Cytimmune (США).

Статистическую обработку результатов клинических наблюдений и лабораторных исследований проводили на персональном компьютере с использованием электронных таблиц MS Excel и пакетов прикладных программ Statistica for Windows 7.0 (Боровиков В. П., Боровиков И.П., 1997), InStat, Биостат (Гланц С., 1999). Белки-биомаркеры по результатам жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (LC/MS) были иерархически сгруппированы в программе TagIdent (ExPASy®) для идентификации потенциальных белков, соответствующих отношениям вес/заряд, по молекулярным массам ($\pm 1\%$) каждого белка. Иерархическая кластеризация и статистический анализ выполнялись с использованием программного обеспечения EpiInfo™ версии 6.0.

Третья глава диссертации, озаглавленная **«Метаболические основы дисфункции печени»**, посвящена изучению уровня эндотоксемии у пациентов с липидным, цитокиновым, цитолитическим и холестатическим синдромами независимо от тяжести заболевания.

По общепринятым методикам ранее мы определяли показатели гемограммы, некоторые биохимические параметры, которые отражают функциональное состояние печени у больных с хроническим гепатитом В. Показатели цитолиза показали, что у больных с умеренной активностью патологического процесса уровень аланилтрансаферазы и аспартаттрансаферазы в крови был всего в 3,6 и 2,9 раза выше контрольного показателя, при высокой активности заболевания их значения составили 4,1 и в 3,5 раза выше, чем в контрольной группе. Показатели лактатдегидрогеназы также показали аналогичные сдвиги, как указано выше, в соответствии с активностью патологического процесса. Однако они были не такими выраженными, как значения аланилтрансаферазы и аспартаттрансаферазы. Количество щелочной фосфатазы увеличивалось в 2,7 раза ($P < 0,05$) по сравнению с контрольным показателем при высокой активности заболевания и в 2,1 раза при умеренной активности. Не было обнаружено значительных изменений в активности гамма-глутаминтранспептидазы, которая составляла 27% при умеренной активности и 34% при высокой активности.

Известно, что липиды, одна из составляющих клеточной структуры. Следовательно, в контексте повреждения клетки, разрушения ее мембранных структур, т.е. возникновения цитолитического синдрома, содержание липидов в крови зависит не только от степени цитодеструкции но также может служить «индикатором» воздействия повреждения клеточных структур организма.

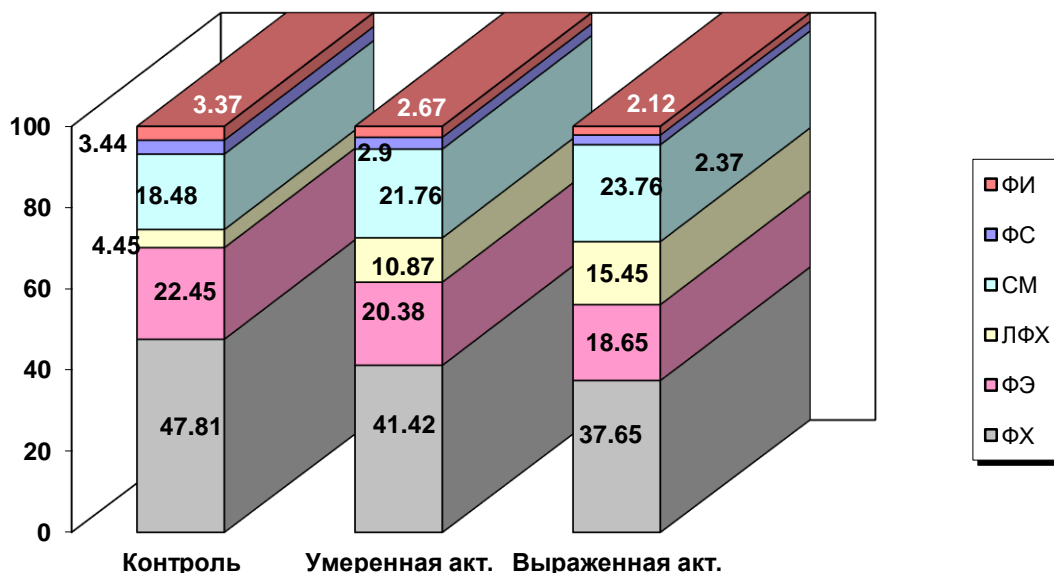


Рисунок 1. Изменение фосфолипидного спектра крови больных в зависимости от степени активности ХГВ (в %).

При умеренно активном хроническом гепатите В общие липиды крови увеличиваются на 80%, а холестерин - на 44,6%. Было обнаружено больше изменений в уровнях триглицеридов, и их содержание оказалось в 2,4 раза выше по сравнению с контрольной группой. В соответствии с усилением активности патологического процесса показатели увеличиваются и количество общих липидов увеличивается. Это состояние также отразилось на увеличении общего количества белков, холестерина и триглицеридов на 52,0%, 126% и 170%, соответственно, у детей с высокой активностью заболевания. У пациентов с умеренной активностью хронического гепатита В наблюдалось снижение уровня липопротеинов высокой плотности на 27,8% ($p < 0,05$) и увеличение содержания липопротеинов низкой плотности на 18,2% и липопротеинов очень низкой плотности на 22,9%. Однако у обследованных больных обнаружены обратные сдвиги в общих фосфолипидах в крови. При этом по мере увеличения активности патологического процесса наблюдалось уменьшение этого субстрата, важного для построения биологических мембран. Таким образом, при средней и высокой активности общее содержание фосфолипидов снизилось на 30,6% и 46% соответственно. Как показано на рисунке 1, то же самое верно и для изменений общего содержания фосфолипидов в изученных в данной патологическом состоянии, а также определенные сдвиги в их спектре.

У больных с умеренной активностью хронического гепатита В на основании снижения фосфотидилхолина удельное содержание лизофосфотидилхолина увеличилось в 2,4 раза по сравнению с контрольной группой, изменений в составе остальных фракций практически не выявлено. По мере увеличения активности заболевания более точно наблюдались сдвиги в составе отдельных фракций фосфолипидов. Высокий уровень активности хронического гепатита по сравнению с контрольной группой показал снижение количества фосфотидилхолина, фосфотидилсерина (ФС), фосфотидилинозитола на 26,9%, 45,1% и 58,9% соответственно. При этом доля лизофосфотидилхолина увеличилась в 3,5 раза.

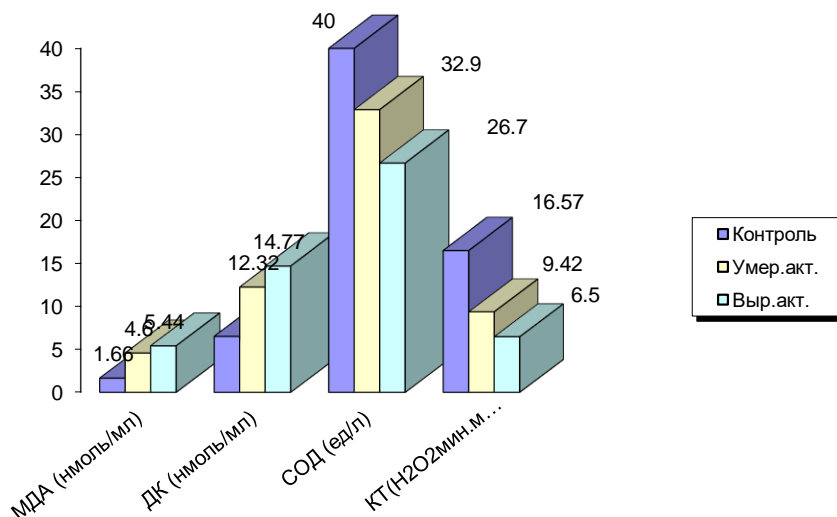


Рисунок 2. Изменение показателей ПОЛ-АОС в крови больных в зависимости от степени активности ХГВ

Показатели эндотоксемии у больных ХГВ.

Мы изучили состав продуктов перекисного окисления липидов, чтобы объяснить общий дефицит фосфолипидов и механизмы цитодеструкции в крови. При средней и высокой активности хронического гепатита уровень малонового диальдегида в крови увеличивался в 2,8 и 3,3 раза соответственно по сравнению с контрольной группой. Практически такая же динамика наблюдалась в изменении количества диеновых конъюгатов. На основании этого было отмечено, что активность антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы и каталазы значительно снижена. Активность каталазы значительно снижалась в период обострения и несколько повышалась, оставаясь ниже контрольного значения к периоду ремиссии.

Продукты метаболических процессов в крови, субстраты, биологически активные вещества - «медиаторы» апоптоза, продукты распада клеток, накопления аномальных форм белков, несомненно, приводят к интоксикации организма.

У больных с умеренной активностью хронического гепатита В содержание Нр(гаптоглобин) снизилось на 48,1% по сравнению с контрольной группой, а при высокой активности на 43,6%. Учитывая высокую достоверность изменения концентрации гаптоглобина при

хроническом заболевании печени, его можно считать чувствительным индикатором при оценке функционального состояния печени.

Таблица 1.

Показатели эндотоксемии в крови больных в зависимости от активности ХГВ (M±m)

Показатель	Контроль	ХГВ	
		Умеренная активность	Выраженная активность
Гаптоглобин, г/л	1,26±0,09	$\frac{0,60 \pm 0,05^*}{47,6}$	$\frac{0,55 \pm 0,04^*}{43,6}$
СМП мг/мл	0,65±0,04	$\frac{1,22 \pm 0,11^*}{187}$	$\frac{2,24 \pm 0,26^*}{344,6}$
ВН и СММ (ед)	8,1±0,6	$\frac{30,21 \pm 2,4^*}{372,9}$	$\frac{44,33 \pm 4,22}{547,2}$
Олигопептиды (ед)	0,64±0,05	$\frac{1,51 \pm 0,12^*}{235,9}$	$\frac{1,57 \pm 0,14}{245,3}$

Примечание: 1. В числителе – показатели в единицах, в знаменателе - в процентах от контрольного значения; 2. * - достоверность различий ($P < 0,05$) с соответствующим показателем к контролю

Действительно, средняя активность СМП, ВН, СММ и олигопептидов была в 1,87, 3,7 и 2,3 раза выше у пациентов с умеренной активностью гепатита В, соответственно, и в 3,4, 5,7 и 2,4 раза, соответственно, в контрольной группе. Это подтверждает, что симптомы эндотоксемии хронического гепатита В напрямую связаны с активностью патологического процесса.

Таким образом, полученные результаты проведенных исследований дают возможность сделать заключение о том, что в условиях ХГВ наблюдается выраженная ферментемия, гипербилирубинемия, гиперлипидемия и дефицит ОФЛ, преимущественно за счет ФХ, интенсификация реакции ПОЛ и подавление ферментов АОС, на фоне выраженной эндотоксемии.

Определение иммунного статуса.

Было обнаружено, что у всех больных с хроническим гепатитом В значительно изменены показатели клеточного звена иммунитета. Содержание Т-лимфоцитов в периферической крови обследуемых детей снижается на 20% и на 24,5% по сравнению с контролем, соответственно. У всех больных ХГВ отмечены изменения в иммунологической картине крови. Достоверно изменяются показатели клеточного иммунитета

Почти аналогичный сдвиг претерпевает содержание субпопуляции Т-лимфоцитов. Процентное содержание Т-хелперов (CD4⁺) снижается по сравнению с контролем при умеренной активности ХГВ на 35,7% и при выраженной активности ХГВ – на 43,3%. Содержание Т-супрессоров (CD8⁺) при умеренной активности снижается на 40,5% и при выраженной активности – на 52,2%. На фоне отмеченных изменений со стороны Т-

клеточного звена иммунитета происходит повышение иммунорегуляторного индекса. Следовательно, в условиях ХГВ у больных возникает дефицит Т-клеточного звена иммунитета, что создает условия для нарушения адекватной реализации системного иммуновоспалительного ответа на хроническое повреждение печени.

Как видно из представленных данных в крови больных ХГВ (табл.2) наблюдаются заметные сдвиги.

Таблица 2.

Показатели клеточного иммунитета у больных с ХГВ

Показатели	Контрольное значение	Хронический гепатит В	
		Умеренная активность	Выраженная активность
Т-лимфоциты CD3 ⁺ (%)	42,24±2,41	33,8±2,43*	31,9±1,12*
Т-хелперы CD4 ⁺ (%)	30,3±2,92	19,5±1,22*	17,2±1,05*
Т-супрессоры CD8 ⁺ (%)	20,5±1,65	12,2±1,08*	9,8±0,78*
ИРИ (CD4/ CD8)	1,47±0,12	1,63±0,10*	1,75±0,11*

Примечания: * - достоверность различий ($P < 0,05$) с соответствующим показателем к контролю.

Известно, что в формировании иммуновоспалительного ответа большое значение отводится провоспалительным цитокинам.

Таблица 3.

Показатели цитокинового статуса в зависимости от тяжести ХГВ

Цитокин	Контроль	Больные ХВГВ	
		Умеренная актив-иость	Выраженная активность
ФНО-α (пкг/мл)	32,44 ±2,11	54,55±6,50*	119,5±8,42*
IL-4,***	4,46±0,32	7,45±1,74*	8,82±2,25* >0,05
IL-6,	17,78±1,85	180,95±17,56*	217,34±10,54* <0,05
IL-8	16,25±1,77	22,70±2,05*	25,36±2,24* 44>0,05
IL-10	81,30±7,15	25,56±1,74*	23,87±8,98* >0,05

Примечание: *- достоверность ($P < 0,05$), по отношению к контрольному значению; ($p < 0,05$) достоверность выраженной активности по отношению к умеренной активности.

Известно, что в условиях ХГВ усиливается выработка цитокинов, таких как ФНО-α и ИЛ-6. В нашем исследовании уровень ФНО-α составил 54,55±6,50 пкг/мл и 119,5±8,42 пкг/мл при умеренной и выраженной активности ХГВ соответственно

При проведении корреляционного анализа выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между уровнем TNF- α в сыворотке крови (коэффициент корреляции 0,42, $p < 0,05$), с содержанием IL-10, IL-6 (коэффициенты корреляции от 0,35 до 0,51, $p < 0,05$)

Следовательно, роль TNF- α в ХГВ противоречива. С одной стороны, он обладает противовирусным действием, приводит к разрушению поврежденных и инфицированных гепатоцитов и имеет синергетический эффект с интерферонами. С другой стороны, чрезмерное количество TNF- α , циркулирующего в крови во время ХГВ, напрямую приводит к повреждению печени, опосредует апоптоз гепатоцитов, стимулирует фиброгенез и увеличивает частоту синдрома эндогенной интоксикации..

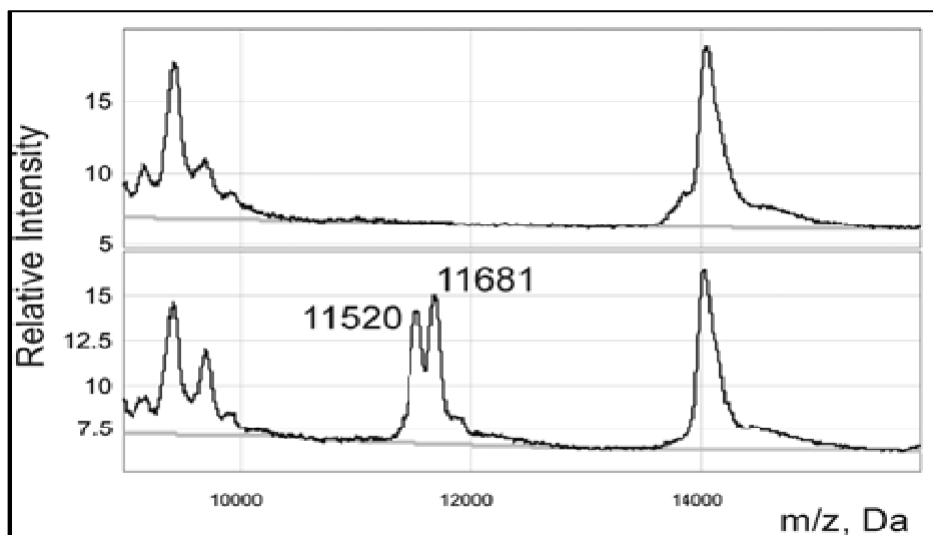
Цитокины биологически универсальны под действием различных патогенных факторов. Патологический процесс отражает количественное содержание цитокинов и их соотношения между собой и показывает динамику, коррелируют с активностью заболевания, что позволяет судить об эффективности проводимой терапии и строить прогнозы.

В четвертой главе представлены **«Результаты исследования протеомного спектра крови больных ХГВ»**.

Первоочередной задачей исследования явилось определение протеома крови здоровых детей. Протеом сыворотки крови здоровых лиц характеризуется значительной как внутри-, так и межиндивидуальной вариабельностью. Большой разброс среди изученной группы здоровых детей имели следующие белки – фибриноген α - и β -цепи, тромбоцитарный фактор IV, β 2-микроглобулин, цистатин С, апо-Е и С-I, фрагменты фактора С3 и С4 комплемента. Среди этих белков – фибриноген α - и β -цепи и цистатин С отличались однако, наибольшей индивидуальной изменчивостью. Данные результаты позволяют предположить, что эти белки не могут рассматриваться в качестве очевидных биомаркеров.

В крови детей, больных хроническими гепатитами отмечается уменьшение продукции аполипопротеина А-IV, обладающего антиоксидантными свойствами. Изменение уровня аполипопротеинов А-I и А-IV, связано со сдвигами липидных компонентов печени.

Для оптимизации протокола протеомного исследования было решено провести масс-спектрометрический анализ субпопуляций белков у 10 обследуемых детей. Профили экспрессии белков по данным масс-спектрометрии включают четко разделенные субпопуляции. Среди постоянных белков сыворотки крови кератин и эпидермальный фактор роста выявленные программой DAVID. Это основные структурные белки эпидермиса, вместе с актиновыми филаментами и микротрубочками, образуют цитоскелет эпителиальных клеток [Schweizer J. et al., 2006]. На сегодняшний день идентифицировано 20 типов цитокератинов - СК1-СК20.



А- здоровый ребенок

Б- ребенок с ХГВ

Рисунок. 3. Фрагмент масс-спектрограммы с характерными маркерными пиками массой 11,520/11,681 кДа

Маркерный пик 11,681 соответствует сывороточному амилоиду A1 (NCBI ID gi:225986); пик 11,520 кДа – его укороченная по N-концевому аргинину форма. Разница масс двух пиков соответствует массе аргинина. Кроме того, преальбуминовая фракция, составляющая в норме 1,9 кДа, при активной форме хронического гепатита снижается в 2,2 раза.

Таким образом, при активной форме ХГВ выявлено появление двух пиков, отсутствующих в контрольном материале и соответствующие сывороточному амилоиду A1 и его укороченной по N-концевому аргинину форме, что позволяет считать эти белки маркерами активной формы хронического гепатита.

ВЫВОДЫ

В результате исследования по диссертационной работе доктора философии (PhD) на тему: «Метаболические и протеомные аспекты формирования хронических заболеваний печени НВ-вирусной этиологии» сделаны следующие выводы.

1. С помощью масс-спектрометрии установлено, что протеомный составу детей с ХГВ отличается от такового у здоровых наличием двух дополнительных пиков, соответствующему сывороточному амилоиду А1 и его укороченной по N-концевому аргинину форме, а количество цистатина С, альфа и бета цепей фибриногена имеет большую вариабельность.

2. У детей с ХГВ уровень сывороточного амилоида А1, его укороченной по N-концевому аргинину форме, гаптоглобина альфа-16 и аполипопротеина А1, СРБ, кластерина коррелировал с уровнем вирусной нагрузки, концентрацией ФНО и степенью активности ХГВ.

3. У детей с ХГВ изменения гаптоглобина, аполипопротеина А IY, сывороточного амилоида А сочетались с изменениями содержания ОЛ, ХС, ТГ, снижением ФХ и увеличением ЛФХ, повышением АЛТ, ЩФ, увеличением СМП, что указывает на наличие взаимосвязи изменений протеома и метаболома при ХГВ в условиях нарушений метаболических функций печени и эндогенной интоксикации.

4. Обнаружена прямая средней силы корреляционная связь изменений уровня сывороточного амилоида А с уровнем ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-льфа.

5. Наиболее информативными показателями активности и тяжести ХГВ у детей являются сывороточный амилоид А1, его укороченная форма, кластерин, гаптоглобин, которые могут быть индикаторами течения ХГВ.

**ONE - TIME SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING
OF SCIENTIFIC DEGREES DSc04/30.12.2019.Tib.30.02
AT THE TASHKENT MEDICAL ACADEMY**

**CENTER FOR THE DEVELOPMENT OF PROFESSIONAL
QUALIFICATION OF MEDICAL WORKERS**

MUKHAMEDJANOVA DILOROM ISMAILDJANOVNA

**METABOLIC AND PROTEOMIC ASPECTS
OF THE FORMATION OF CHRONIC LIVER DISEASES
OF HB-VIRAL ETIOLOGY**

14.00.25 – Clinical-laboratory and functional diagnostics

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

TASHKENT – 2021

The theme of the doctoral (PhD) dissertation was registered by the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under № B2019.2.PhD/Tib979.

The dissertation has been prepared at Center for the development of professional qualification of medical workers

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council and on the website of «Ziyonet» information and educational portal.

Scientific advisor: **Aripov Orifjon Abdumalikovich**
doctor of medical sciences

Official opponents: **Khaybullina Zarina Ruslanovna**
doctor of medical sciences, professor

Kamilov Asomiddin Iskhakovich
doctor of medical sciences, professor

Leading organization: **Tashkent Pediatric Medical Institute**

The defence of the dissertation will be held on «_____» _____2021, at _____ the meeting of One-time Scientific Council DSc.04/30.12.2019.Tib30.02 at the Tashkent Medical Academy (Address: 100109, Tashkent city, Farobi str., 2. Phone/fax: +99878-150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

The dissertation can be looked through in the information Resource Center of the Tashkent Medical Academy (is registered under No _____) (Address:100109, Tashkent city, Farobi str., 2. Phone/fax: +99871-150-78-25).

The abstract of dissertation was distributed on «___»_____ 2021.

(Registry record No. _____ dated «___» _____ 2021.)

A.G. Gadaev

Chairman of the One-time Scientific council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, professor

D.A. Nabieva

Secretary of the One-time Scientific council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, docent

Sh.A. Babadjanova

Chairman of the academic seminar under the One-time Scientific council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, professor

INTRODUCTION (abstract of doctoral thesis)

The aim of research works: the process activity in children with chronic hepatitis B is based on the complex determination of serum protein levels, the development of diagnostic criteria and the consequences of the disease, the interaction of diagnostic methods.

The object of the research work: suffering from chronic hepatitis B and 85 children from 4 to 18 years old and 20 healthy people were treated in the hepatology department of the Republican Pediatric Research and Practice Medical Center.

The scientific novelty of the research work is as follows:

based on the relationship between increased oxidative stress and inflammatory processes in the blood of patients with chronic hepatitis B and a decrease in the production of apolipoprotein A-IV, which has antioxidant properties;

with active CHB, mass spectrometry revealed the appearance of two peaks corresponding to serum amyloid A1 and its N-terminal arginine-shortened form, which allows us to consider these proteins as markers of the active form of chronic hepatitis;

proteomic changes under conditions of endogenous intoxication in patients with chronic hepatitis B are based on the accumulation of toxic compounds of intermediate metabolism in blood plasma;

it has been proven that the introduction of proteomic screening methods into the standard of examination of patients at risk of developing liver diseases plays an important role in the development of complications of the disease.

Implementation of the research results.

Based on the use of new methods for the diagnosis of chronic viral hepatitis B and scientific results obtained on the basis of step-by-step biochemical analysis:

approved the methodological recommendation "Modern biochemical methods for diagnosing chronic hepatitis in children", developed on the basis of scientific results on modern biochemical methods for diagnosing chronic hepatitis (Conclusion of the Ministry of Health No. 8n-r / 465 dated November 23, 2020). These guidelines make it possible to identify the pathological process before the manifestation of clinical signs by examination methods identified in laboratory studies and the results of their step-by-step biochemical analysis in patients with chronic hepatitis;

The obtained scientific results, improving the assessment of the predictive value of clinical, pathogenetic and proteomic aspects in patients with chronic viral hepatitis, have been introduced into the practice of public health services, including the Tashkent regional branch of the Republican Scientific Center for Emergency Medical Aid, the Clinic of Andijan Regional Infectious Diseases (Conclusion No. 08-04 / 4668 dated May 26, 2021). The practical application of the results made it possible to provide early diagnosis, predict the course of the disease, promptly alternate the prevention of complications, as well as improve the quality of life of patients and increase the effectiveness of therapeutic measures.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of introduction, four chapters, conclusion and a list of used literature. The volume of the thesis is 106 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И, Фесенко Л.М., Ахунджанова Л.Л. The importance of laboratory tests in diagnosis and monitoring of chronic viral hepatitis «B» // Journal of research in health science. – Yashresh, Israel, 2020. – № 4. – P. 71-77
2. Арипов А.Н., Иноятова Ф.И., Мухамеджанова Д.И., Фесенко Л.М., Ахунджанова Л.Л. Особенности течения хронического HBe Ag- негативного гепатита у детей // Педиатрия. – Ташкент, 2016. № 4 – С. 37-40. (14.00.00; №16)
3. Фесенко Л.М., Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И. Протеомное исследование сыворотки крови детей больных хроническими гепатитами с использованием двумерного электрофореза // Педиатрия. – Ташкент, 2016. №4 – С. 127-129. (14.00.00; №16)
4. Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И., Фесенко Л.М. Набиев А.У. Роль апоптоза в развитии фиброза печени у детей при HВ-вирусном хроническом гепатите // Педиатрия. – Ташкент, 2019. № 3. – С. 21-25. (14.00.00; №16)
5. Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И, Рахимова В.Ш. Biochemically and molecular genotypic features of HBeAg positive and HBeAg negative chronic hepatitis B in children // European Journal of Molecular & Clinical Medicine. – London, United Kingdom, 2020. – С. 5059-5062.

II бўлим (II часть; II part)

6. Арипов А.Н., Ахунджанова Л.Л., Фесенко Л.М., Мухамеджанова Д.И., Набиев А.У. Участие некоторых цитокинов в фиброзировании печени при хроническом токсическом гепатите // Материалы республиканской научно-практической конференции «Специализированная медицинская помощь, оказываемая детям в регионах республики Узбекистан: результаты и перспективы». Ташкент, 2018.-С.10.
7. Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И., Фесенко Л.М., Ахунджанова Л.Л. Идентификация протеинов в крови детей при хронических гепатитах методом масс-спектрометрии // Республиканская конференция «Достижения, проблемы и перспективы в области охраны здоровья матери и ребенка в Узбекистане: опыт регионов. Ташкент, 2017. – С.12 .
8. Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И. Фесенко Л.М., Ахунджанова Л.Л. Исследование протеомного спектра детей больных хроническими гепатитами // Республиканская конференция «Достижения, проблемы и перспективы в области охраны здоровья матери и ребенка в Узбекистане: опыт регионов. Ташкент, 2017. – С.13-14 .
9. Фесенко Л.М., Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И. Выраженность структурных изменений печени при хроническом гепатите у детей //

Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – Санкт -Петербург, 2018. – № 2 – С.102 (№153).

10. Фесенко Л.М., Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И. Протеомно-метаболическая характеристика мембран лимфоцитов детей при хроническом гепатите С // Республиканская конференция «Достижения, проблемы и перспективы в области охраны здоровья матери и ребенка в Узбекистане: опыт регионов. Ташкент, 2017. – С. 76 .

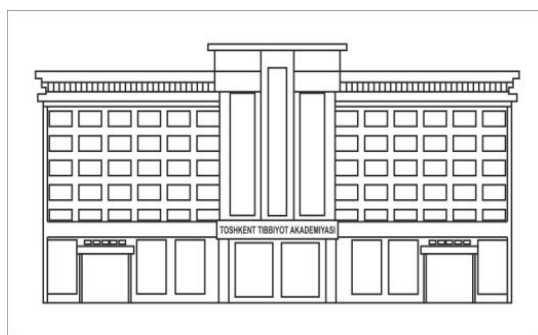
11. Фесенко Л.М., Арипов А.Н., Ахунджанова Л.Л., Набиев А.У., Мухамеджанова Д.И. Исследование протеома сыворотки крови здорового ребенка методом масс-спектрометрии // Республиканская конференция «Достижения, проблемы и перспективы в области охраны здоровья матери и ребенка в Узбекистане: опыт регионов. Ташкент, 2017. – С. 76 .

12. Арипов А.Н., Мухамеджанова Д.И., Арипов О.А. Современные биохимические методы диагностики хронических заболеваний печени у детей // Методические рекомендации предназначено для врачей лаборантов, а также ВОПов в первичном звене здравоохранения. – Ташкент, 2020. – С. 24

13. Фесенко Л.М., Мухамеджанова Д.И. Процессы фиброзирования в динамике развития хронического экспериментального гепатита // Материалы VII съезда педиатров Узбекистана «Оказание медицинской помощи детям на этапе реформирования системы здравоохранения Республики Узбекистан». Ташкент, 2019.

14. Мухамеджанова Д.И., Арипов О.А., Ахунджанова Л.Л. Механизмы повреждения печени у детей при НВ- вирусном гепатите // Вестник науки. – Россия, Уфа, 2020. – С. 39-44.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси» журнали
тахририятида таҳрирдан ўтказилди



MUHARRIRIYAT VA NASHRIYOT BO'LIMI

Разрешено к печати: _____ 2021 года
Объем – 2,0 уч. изд. л. Тираж – 0. Формат 60x84. 1/16. Гарнитура «Times New Roman»
Заказ № СИГ - 2021. Отпечатано РИО ТМА
100109. Ул. Фароби 2, тел: (998 71)214-90-64, e-mail: rio-tma@mail.ru