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

**РЕСПУБЛИКА ИХТИСОСЛАШРИТИЛГАН ГЕМАТОЛОГИЯ
ИЛМИЙ-АМАЛИЙ МАРКАЗИ**

АССЕСОРОВА ЮЛИАНА ЮРЬЕВНА

ГЕМОБЛАСТОЗ БИЛАН ОҒРИГАН БЕМОРЛАРДА СТАНДАРТ ЦИТОГЕНЕТИК ТАДҚИҚОТЛАРИНИ ОПТИМАЛЛАШТИРИШ ВА СИФАТИНИ НАЗОРАТ ҚИЛИШНИНГ НАЗАРИЙ АСОСЛАРИ

14.00.29 – Гематология ва трансфузиология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ
АВТОРЕФЕРАТИ**

ТОШКЕНТ–2024

УЎК: 616-006.4:575:576.353

Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)

Contents of Dissertation Abstract of the Doctor of Science (DSc)

Ассесорова Юлиана Юрьевна
Гемобластоз билан оғриган беморларда стандарт цитогенетик тадқиқотларини оптималлаштириш ва сифатини назорат қилишнинг назарий асослари..... 3

Ассесорова Юлиана Юрьевна
Теоретические основы оптимизации и контроля качества стандартного цитогенетического исследования у больных гемобластозами.....…….....…… 27

Assesorova Yuliana Yurievna
The theoretical base of optimization and quality control of convential cytogenetic analysis in patients with hemoblastosis...…...……..... 51

Эълон қилинган ишлар рўйхати
Список опубликованных работ
List of published works ……. 55

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

**РЕСПУБЛИКА ИХТИСОСЛАШРИТИЛГАН ГЕМАТОЛОГИЯ
ИЛМИЙ-АМАЛИЙ МАРКАЗИ**

АССЕСОРОВА ЮЛИАНА ЮРЬЕВНА

ГЕМОБЛАСТОЗ БИЛАН ОҒРИГАН БЕМОРЛАРДА СТАНДАРТ ЦИТОГЕНЕТИК ТАДҚИҚОТЛАРИНИ ОПТИМАЛЛАШТИРИШ ВА СИФАТИНИ НАЗОРАТ ҚИЛИШНИНГ НАЗАРИЙ АСОСЛАРИ

14.00.29 – Гематология ва трансфузиология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ
АВТОРЕФЕРАТИ**

ТОШКЕНТ–2024

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Олий таълим, фан ва инновациялар вазирлиги ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2021.1.DSc/B136 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Республика ихтисослаштирилган гематолигия илмий-амалий тиббиёт марказида бажарилган.

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

Илмий маслаҳатчи: **Каримов Хамид Якубович**
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар: **Гильдиева Маргарита Сабировна**
биология фанлари доктори

Убайдуллаева Зухра Ибрагимовна
тиббиёт фанлари доктори

Баховадинов Бурхонидин Баховадинович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот: **Андижон 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 2024 йил «____» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100109 Тошкент, Олмазор тумани, Фаробий кўчаси 2-уй. Тошкент тиббиёт академияси 1-ўқув биноси Мажлислар зали. Тел/факс: (+998 78) 150-78-25, e-mail: 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 2024 йил «_____» _____куни тарқатилди.

(2024 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, профессор

Ш.А. Бабаджанова
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш асосидаги бир марталик илмий семинар раиси, тиббиёт фанлари доктори, профессор

КИРИШ (фан доктори (DSc) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурияти. Дунёда кариотипни баҳолашга ва муайян молекуляр локуслар билан чекланмаган стандарт цитогенетик текшириш (СЦТ) усули ёрдамида онкогематологик беморларга ташҳис қўйиш долзарб вазифалардан бири бўлиб қолмоқда. Шу жиҳатдан, СЦТ сурункали миелопролиферативе неоплазия учун 9 ва 22 хромасомалар ўртасидаги классик ва вариантли транслокация шаклларни, ҳамда қўшимча хромасома аномалияларини аниқлаши, касалликни даволашга салбий жавоб ва бластли трансформация билан ассоциацияланиши ташхислаш усулларини аниқлаш имконини бермоқда.

Жаҳонда гемобластоз билан оғриган беморларни ташхислашда самарали янги усулларнинг ишлаб чиқиш ва такомиллаштириш бўйича қатор илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Бу борада, баъзи ҳолатларда гемобластоз билан оғриган беморларда СЦТни ўтказилишида ISCN цитогеномик номенклатура тизимига мувофиқ хромосомаларни аниқлаш, ҳамда метафаз пластинкаларнинг сифат ва миқдорини етарли бўлмаслиги ҳисобига қийин бўлиши мумкинлигини кўрсатди. СЦТнинг самарадорлигига таъсир этувчи омилларни ўрганиш, шунингдек каротип таҳлили сифатини баҳолашнинг объектив мезонларини такомиллаштиришга алоҳида эътибор берилмоқда.

Республикамизда гемобластоз билан оғриган беморларга ташхис қўйишдаги текшириш усуллари кафолатли сифатини назорат қилишга алоҳида эътибор қаратилмоқда, ҳамда илмий хажмдор тадқиқотлар олиб бориш тиббиёт соҳасини ривожлантиришга бўйича кенг кўламли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги ПФ-5590-сонли «Соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида» ги Фармонида «...Мамлакатимизда тиббий ёрдам самарадорлиги, сифати ва қулайлигини ошириш, шунингдек, касалликларни эрта ташхислаш ва даволашнинг юқори технологик усулларини жорий этиш...»[1] каби мухим вазифалар белгилаб берилган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан ҳолда, жумладан, касалликнинг асоратларидан ногиронлик ва ўлимни даражада камайтириши, ишончли ташхислашда генетик тадқиқот усулларидан фойдаланиш самарадорлигини ошириш орқали онкогематологик беморлар ҳаёт сифатини яхшилаш алоҳида аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ-60-сон «2022 - 2026 йилларга мўлжалланган янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисада» ги Фармони, 2021 йил 25 майдаги ПҚ-5124-сон «Соғлиқни сақлаш соҳасини комплекс ривожлантиришга доир қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги, 2020 йил 12 ноябрдаги ПҚ-4891-сонли «Тиббий профилактика ишлари самарадорлигини янада ошириш орқали жамоат саломатлигини таъминлашга оид қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида» ги қарорлари, ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-

[1] Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги 5590-сонли «Соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида» Фармони.

ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологияларини ривожлантириш VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ, «Касалликларни ташхислаш, даволаш ва олдини олишнинг янги усул ва технологияларини ишлаб чиқиш йўли билан аҳоли саломатлигини муҳофаза қилишни такомиллаштириш» ГНТП-10 дастури бўйича бажарилган.

Диссертациянинг мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи[2]. Гемобластозларда цитогенетик тадқиқотларга бағишланган, шунингдек ирсий ўзгаришлар ва лейкемик ҳужайралар орасидаги боғлиқликни ўзига хос клиник ва лаборатор хусусиятлари ва касалликнинг кечиши билан боғлиқлигига йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасаларида, жумладан, GenQA, John Radcliffe Hospital, Oxford University Hospitals NHS Trust, (Oxford, Буюк Британия); Department of Genetics University Medical Center Groningen, University of Groningen, (Groningen, Нидерландия); MLL-Munich Leukemia Laboratory (Munich, Германия); Hematopathology Section, Hospital Clinic, (Barcelona, Испания); Oncogénomique laboratory, Hematology department, Lausanne University Hospital (Vaudois, Швейцария); Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic Hospital (АҚШ); Department of Hematology, Affiliated Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (Хитой) каби етакчи илмий марказларида олиб борилмоқда.

Онкогематологик беморларда кариотип аномалияларини аниқлашга оид жаҳонда олиб борилган тадқиқотлар натижасида қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: цитогенетик таҳлил маълумотларида ЖССТ ва ELNнинг мажбурий сурункали миелоид лейкоз дифференциал диагностика мезонлари ишлаб чиқилган (WHO Classification of tumours of lymphoid and hematopoietic tissues, 2017; European LeukemiaNet recommendations for treating chronic myeloid leukemia, 2020); гемобластозга дастлабки ташҳис қўйилган даврда маркер генетик ўзгаришларни ташхислаш жараёни ва мониторинг давомида терапия самарадорлиги баҳоланган (Федерал Давлат бюджет муассасаси, Россиянинг Гематология ва трансфузиология илмий-тадқиқот институти, 2019, Charite Clinic, Berlin Medical University, 2019); гемабластозларда генетик тадқиқотлар ўтказиш зарурлигини асослаб, цитогеномик тестларни ўтказишда стандартлар доирасида ва сифатни сақлаб қолиш усуллари ишлаб чиқилган (Oxford University Hospitals NHS Trust, Department of Genetics University Medical Center Groningen, 2019).

Дунёда истиқболли ташҳислаш усулларини амалиётга киритиш бўйича қатор, жумладан, қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: цитогенетик препаратларни тайёрлаш ва хромосома таҳлилини

[2] Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий тадқиқотлар шарҳи https://www.sciencedirect.com/, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/, https://scholar.google.com/ ва бошқа манбалар асосида тайёрланган.

муваффақият учун сифатни баҳолаш ташқи тизимини ишлаб чиқиш (Россия тиббиёт фанлари Академиясининг тиббий-генетик тадқиқот маркази, Москва, 2017). Аммо бугунги кунга қадар метафаза хромосома препаратлари сифатини баҳолашнинг объектив мезонларини ишлаб чиқиш, сурункали миелопролиферативе неоплазияси бўлган беморларда диагностик ва прогностик цитогенетик ўзгаришлар тўғрисидаги хулосанинг ишончлилигини таҳлил қилиш ва стандарт цитогенетик таҳлил самарадорлигига таъсир қилувчи омиллар тўғрисида маълумот олиш амалга оширилмади.

Муаммони ўрганилганлик даражаси. Гемобластозда СЦТ фойдалилик хромосомаларни аниқлаш имконияти ва ситогенетик ўзгаришларни аниқлаш самарадорлиги билан белгиланади, бу кўп жиҳатдан хромосома препаратларининг сифатига боғлиқ. Хромосома препаратларини етиштириш, тайёрлаш ва бўяш учун ягона шартларга риоя қилинишига қарамай, метафаза плиталари сони ва шунинг учун гемобластозли individual беморларда СЦТ самарадорлиги бошқача бўлиши мумкин (Dawson A.J., Yanofsky R., 2011; Алексанян М.Ж., Асеева Е.А., 2012). Ушбу муаммонинг мавжудлиги бир қатор тадқиқотчилар томонидан қайд етилган (Howe B., Umrigar A., 2014; Zeng Y., 2017; Антоненко В.Г., Шилова Н.В., 2018; Кузнецова Т.В., Шилова Н.В., 2019), аммо ССИ сифатини яхшилаш бўйича ҳозирда мавжуд бўлган барча тавсиялар фақат лаборатория хизматларини ташкил етиш ва стандартлаштириш, шунингдек хромосома таҳлили методологиясини ўзгартириш билан боғлиқ. Шу билан бирга, лейкемия ҳужайраларининг *in vitro* митотик фаоллигининг маълум даражасини белгиловчи омиллар ҳозиргача ўрганилмаган.

Маълумки, онкогематологик жараённинг фазасини ёки оғирлигини акс еттирувчи беморнинг гемограмма, миелограмма, биокимёвий ва бошқа таҳлиллари кўрсаткичлари лейкемия билан сабабий алоқага ега бўлган ендоген омиллар даражаси билан белгиланади, бу инҳибитив ёки бўлиши мумкин.ҳужайраларнинг пролиферативе фаоллигига огоҳлантирувчи таъсир. Ҳужайраларнинг ҳаётийлиги ва кўпайишига оксигенация шароитлари (Моэн Ингрид, Стур Е.Б. Линда, 2015), тромбоцитлар сони (Yan M., Jurasz P. 2016; Wang Q., Li Z., 2018), эозинофил (Januskevicius A., Vaitkiene S., 2016; Wichert S., Pettersson Å., 2018) ва базофил (Rodriguez Gomez M., Talke Y., 2010) фаолияти; яллиғланишнинг воситачилари ва уяли еффекторлари: С-реактив оқсил (Абдрахманова А.И, Амиров Н.Б, 2019), альбумин (Gupta D., Lis C.G., 2010; Zou Y.X., Qiao J., 2019) ва фибриноген (Wang Y., Chen W., 2017); ҳужайра ичидаги калций (Ca^{2+}) (Ma X.L., Liu H.Q., 2011; Masterton S., Ahearne M., 2019), темирнинг кимёвий фаол шакллари ва жигар ферментлари даражаси (Yassin M.A., Soliman A., 2018; Haschka D., Petzer V., 2018); метион даражаси ва унинг ҳомосистеиндан синтез қилиш фаолияти (Davydov D.Zh., Morozova E.A., 2017) таъсир қилиши кўрсатилди. Бироқ, бу ва бошқа гематологик ва биокимёвий кўрсаткичларнинг кейинги хромосома таҳлили учун *in vitro* ўстирилган лейкемия ҳужайраларининг муваффақиятли ўсиши билан боғлиқлиги ҳозиргача ўрганилмаган.

Ўзбекистон Республикасида сифатни назорат қилишнинг объектив воситалари йўқлиги сабабли лаборатория генетик хизмати ишини ва

конституциявий ва орттирилган хромосома аномалияларини аниқлаш бўйича тадқиқотлар сифатини баҳолаш ҳозирча амалга оширилмаган.

СЦТ самарадорлигига таъсир қилувчи омилларни излаш ҳозиргача ишлаб чиқилмаган хромосома препаратлари сифатини баҳолаш учун объектив мезонлардан фойдаланишни талаб қилади. Бунинг натижада, метафаза хромосомаларини тайёрлаш учун сифат мезонларини ишлаб чиқиш, уларни интерлаборатория ва лаборатория-клиник ўзаро таъсирда объектив ва стандартлаштирилган баҳолашга имкон бериш ва сурункали миелопролиферативнеоплазия билан оғриган беморларда карётиплаш натижаларининг ишончлилиги ва ишончлилигини аниқлаш зарурати туғилади.

Диссертация тадқиқот ишини у бажарилган илмий тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режаси билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти ЎзР ССВ Республика ихтисослаштирилган гематолигия илмий-амалий тиббиёт марказининг илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ № АЛ-51-тур21081303 сонли «Қолдиқ ўсма хужайраларини молекуляр диагностикаси ва мониторинг *BCR::ABL1* p210 ва *BCR::ABL1* p190 химер онкогенларини экспрессия ўзгаришларини аниқлаш нинг тест тизимларини яратиш»» мавзуси доирасида бажарилган (2021-2023 йй).

Тадқиқотнинг мақсади матафаз хромасома препаратлари сифатини мезонли баҳолаш ва намуна тайёрлаш шароитларини такомиллаштириш асосида гемобластозли беморларда кариотиплаш самарадорлигини оширишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

метафаза пластинкаларининг характерли цитологик ва морфологик хусусиятларини такслашни амалга ошириш, параметрик мезонларни аниқлаш ва стандарт цитогенетик тадқиқотда хромосома препаратларининг ҳужайра ўсиши ва сифатини баҳолаш тизимини ишлаб чиқиш;

сурункали миелопролиферативнеоплазия билан оғриган беморларда ва гемобластозсиз субъектларда стандарт цитогенетик текширувлар самарадорлигини баҳолаш учун ҳужайра ўсиши ва хромосома препаратлари сифатини таҳлил қилиш;

хромасомали препаратлар сифатини баҳолашнинг ишлаб чиқилган тизимларини қўллаш самарадорлигини асослаш учун гемобластозсиз ва сурункали миелопролиферативнеоплазияли беморларда хромасома нуқсонларининг спектри ва сонини таҳлилини ўтказиш;

гемобластозсиз субъектларда ва сурункали миелопролиферативнеоплазияли беморларда гематологик ва биокимёвий кўрсаткичлар даражаси билан метафаз хромасома препаратлари сифатини ўзаро боғлиқлигини таҳлил қилиш;

тадқиқот натижаларини ҳисобга олган ҳолда гемобластозли беморларда стандарт цитогенетик текшириш усули билан хромасомали таҳлил сифатини назорат қилиш ва ташкил этиш тамойилларини ҳамда бажариш тартибини ишлаб чиқиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида хромасомали препаратлар сифатини баҳолашни мезонли тизимларини ишлаб чиқиш бўйича тадқиқот гуруҳига

Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт марказида текшириш ва даволантаётган СМПНли 180 нафар беморлар ва 226 та гемобластозсиз шахслар, шунингдек, ишлаб чиқилган тизимнинг самарадорлигини баҳолаш бўйича гурухга СМНПли 179 нафар беморлар ва гемабластозсиз 84 нафар текширилган шахслар олинган.

Тадқиқотнинг предметини СМПН ва гемабластозсиз беморларда қон, суяк кўмиги, *in vitro* бўлинувчи ҳужайралари, метафаз пластинкалари ва метафаз хромасомалар ташкил этган.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертация тадқиқот ишини бажаришда GTG-бэндинг технологияси билан стандарт цитогенетик усул, X200 ва X1000 марта катталаштириш билан ёруғлик микроскопи усули, культивацияланадиган *in vitro* ҳужайраларининг пролиферативфаоллигини баҳолаш, қон, суяк кўмиги ҳужайраларининг морфологик таркибини текшириш учун мўлжалланган умум қабул қилинган клиник-лаборатор усуллар, қон зардобининг биокимёвий, гематофизиологик ҳамда статистик усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

хромосома препаратларининг ҳужайра ўсиши ва сифати мезонларни баҳолашда объектив ва ишончли баҳолаш мезонлари сифатида MFP/S_{287} ва $\int_{ХПС}$ индексларидан фойдаланиш асосланган;

сурункали миелопролиферативкасалликларда хромосома препаратлари сифатининг ошиши t(9;22) транслокациясининг цитогенетик намойиши бўлган маркер Ph-хромосомасини (der22) аниқлаш имкониятини ошириши билан бирга бошқа миқдорий ва таркибий хромосома аномалияларини аниқланган;

культивацияланган ҳужайра ўсиши баҳолаш мезонининг қиймати хромосома препаратининг MFP/S_{287} бирлик майдонига кариотиплаш учун зарур бўлган метафаза плиталари сони камида 287та бўлиши кераклиги асосланган;

сурункали миелопролефератив касалликдаги мураккаб атипик кариотип аномалияларини самарали ташҳислаш ва башорат қилиш учун зарур бўлган хромасома препаратлари сифатининг интеграл кўрсаткичи қиймати 21 балли шкала бўйича минимал даражада 11 баллни ташкил қилиши зарурлиги асосланган;

лейкоз ҳужайраларининг *in vitro* жуда паст пролиферативфаоллиги ва метафаз пластинкаларнинг ёмон сифати қонда метамиелоцитларнинг нисбий миқдорини (7,5%дан кам) пасайиши ва лимфоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (17,5%дан юқори), суяк кўмигида бласт ҳужайраларини нисбий миқдорини (0,6-0,7%дан кам), миелоцитларни (9,5% дан паст), метамиелоцитларни (12,0%дан кам) пасайиши, шунингдек қон зардобидаги умумий оқсилни (65%дан камга) пасайиши билан ишончли равишда ассоциацияланиши аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

ҳужайраларнинг *in vitro* пролиферативфаоллигини аниқ-объектив мезони бўлган – $МФП/S_{287}$ кўрсаткичидан стандарт цитогенетик текширишларни оптималлаштириш методологиясида метафаз пластинкаларнинг миқдори ҳамда ҳужайраларнинг ўсишини баҳолаш учун фойдаланиш мумкинлиги асосланган;

МФП/S_{287} кўрсаткичини лейкозли ўзак ҳужайраларини ўсмага қарши даволашга чидамли ва пролифератив фаол бўлган миқдорини баҳолаш учун фойдаланилганда бу даволаш тамойилларини аниқлаш ва башоратлаш аҳамиятига эгалиги исботланган;

«Ҳужайра ўсиши», «метафазали пластинка», «кариотип», «хромасома морфологияси», «хромасомани бўялиши», «хромосомалар таснифи», «1-хромасома бэндинги» мезонлари асосидаги хромасомали препаратларни баҳолаш шифокор-цитогенетикка стандарт цитогенетик текширишларда намуналарни тайёрлаш шароитларини босқичлари асослангин;

$\int$ХПС кўрсаткичи цитогенетик лабораторияларда натижаларини баҳолаш ва кариотип тадқиқотлар жараёни сифатини назорат қилишдаги ўрни асосланган;

цитогенетик лаборатор текширувлари даражасининг жаҳон стандартлари талабларига мувофиқ эканлиги асосланган.

Тадқиқот натижаларнинг ишончлилиги тадқиқот предметига мос бўлган усулларни қўлланилиши ва методологик ҳолатни аниқ белгиланганлиги, қиёсий гуруҳлар миқдори, параметрик тақсимот маълумотларига боғлиқ холда ва мос бўлган тип бўйича статистик таҳлил мезонлари ҳамда усулларидан фойдаланиш, танлаб олишнинг етарли ўлчами билан боғлиқ бўлган тадқиқотларнинг статистик кучи, олинган натижаларни баҳолаш ва хулосаларни бир бирини рад этмаслиги, маълумотларнинг репрезентативлиги билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг назарий ва амалий аҳамияти.

Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти дискрет мезонлар ва культивацияланган ҳужайралар (МФП/S_{287}) ҳамда метафаз хромосома ($\int$ХПС) нинг цитологик препаратларини сифати, стандарт цитогенетик тадқиқотларда хромасома препаратларининг сифати ва ҳужайралар ўсишини мезонли баҳолаш тизимини яратилишини ишлаб чиқилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти МФП/S_{287} ва $\int$ХПС кўрсаткичлари ҳужайраларни культивациялашда янги услубий ёндошувларни ишлаб чиқиш ва мавжуд бўлганларини оптималлаштиришда ҳужайрани *in vitro* баҳолаш, шунингдек даволашга чидамли бўлган лейкозли ўзак ҳужайраларни нисбий миқдорини клиник-лаборатор аниқлаш, шунингдек хромасома нуқсонларини ҳамда беморнинг лейкоз ҳужайра кариотиплари ҳолати тўғрисидаги цитогенетик хулосаларни ишончлилигини баҳолашга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларини жорий қилиниши. Гемобластоз билан оғриган беморларда стандарт цитогенетик тадқиқотларини оптималлаштириш ва сифатини назорат қилиш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«Сурункали миелопролеферативе касалликлари бор беморларда стандарт цитогенетик тадқиқотлар самарадорлиги ва сифатини баҳолаш» номли услубий тавсиянома Соғлиқни сақлаш вазирлиги томонидан тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2021 йил 9 декабрдаги 8н-р/1260-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома сурункали

миелопролеферативк касалликлар билан оғриган беморларни кариотиплаш натижаларининг ҳалқаро стандартлар (ISCN) талабларига мувофиқлигини ошириш, эрта ташҳислш ва даволаш жараёнларини самарали назорат қилиш имконини берган;

«Метафаза хромосомаларининг цитологик препаратларининг характерли хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда стандарт цитогенетик тадқиқотни такомиллаштириш» номли услубий тавсиянома Соғлиқни сақлаш вазирлиги томонидан тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2021 йил 9 декабрдаги 8н-р/1261-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома цитогенетик тадқиқот хулосасининг бажарилиши сифати ва ишончлилигини назорат қилиш усулларини жорий этиш ва СЦТ хулосаси ва клиник ташхис ўртасидаги номувофиқлик ҳолатларини минималлаштириш имконини берган;

сурункали миелопролеферативк касалликлари бор беморларда стандарт цитогенетик тестларнинг самарадорлиги ва сифатини баҳолаш натижалари Абу Али Ибн Сино номидаги Бухоро Давлат тиббиёт институти, Андижон вилояти кўп тармоқли тиббиёт маркази, Бухоро вилоят ҲССБ Жондор туман тиббиёт бирлашмаси амалиётига жорий этилган (Абу Али Ибн Сино номидаги Бухоро Давлат тиббиёт институти 2022 йил 25 февралдаги 81/1-сонли буйруғи, Андижон вилояти кўп тармоқли тиббиёт маркази 2023 йил 15 июлдаги 23-сонли буйруғи, Бухоро вилоят ҲССБ Жондор туман тиббиёт бирлашмаси 2022 йил 15 апрелдаги 32/1-сонли буйруғи). Натижада шифокорларга ташҳис хатоларини бартараф этиш ва самарали даволаш учун оптимал тактикани танлаш имконини берган;

сурункали лимфопролеферативк касалликлари ва туғма хромосома синдроми бор беморларда стандарт цитогенетик тестларнинг самарадорлиги ва сифатини баҳолаш натижалари Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг Онкология ва клиник радиология Республика ихтисослаштирилган илмий-амалий тиббиёт маркази, “DOCTOR D” Репродуктив тиббиёт клиникаси амалиётга жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг Онкология ва клиник радиология Республика ихтисослаштирилган илмий-амалий тиббиёт маркази 2022 йили 11 мартдаги 87-сонли буйруғи; “DOCTOR D” Репродуктив тиббиёт клиникаси 2023 йили 12 сентябрдаги 5-сонли буйруғи). Натижада, кариотиплаш натижаларини аниқ ташҳислаш, давони ўз вақтида белгилаш, аҳоли ногиронлиги ва ўлмини камайтириш имконини берган.

Тадқиикот натижаларининг апробацияси. Мазкур илмий тадқиқот натижалари 8 илмий амалий анжуманларда, жумладан 5 таси хорижда баён этилган ва муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларини нашр этилиши. Диссертация мавзуси бўйича 32 илмий ишлар чоп эттирилган бўлиб, шулардан Олий аттестация комиссиясининг диссертациялар асосий илмий натижаларини чоп этиш учун тавсия этилган илмий нашрларда 17 мақола, улардан 11 таси Республика ва 6 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг хажми ва тузилиши. Диссертация кириш, бешта боб, хулоса, хотима, амалий тавсиялар, фойдаланилган адабиётлар рўйҳати, илова, қисқартмалардан ташкил топган. Диссертациянинг ҳажми 197 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида мавзунинг долзарблиги ва зарурияти асосланган, мақсад ва вазифалар, объектлар ҳамда тадқиқот предмети шакллантирилган, тадқиқотни Ўзбекистон республика фан ва технологиялари ривожланишини устивор йўналишларига мослиги кўрсатилган. Илмий ишнинг янгилиги ва амалий натижалари кетма кет баён этилган, унинг назарий ҳамда амалий аҳамияти очиб берилган, олинган натижаларнинг ишончлилиги асосланган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий этиш бўйича материаллар, нашр этилган илмий ишлар ва диссертация тузилмаси тўғрисидаги маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг адабиётлар шарҳи **«Сурункали миелопролиферативнеоплазия билан оғриган беморларда ситогенетик тадқиқотларнинг аҳамияти ва хусусиятлари»** деб номланган биринчи бобида илмий адабиётларнинг таҳлилий натижалари бўйича гемобластозлардаги генетик ўзгаришлар тўғрисидаги замонавий маълумотлар баён этилган. Жумладан, гемапоэтик ҳужайралардаги генетик ўзгаришларнинг турлари ва уларни лейкозларни ташхислаш ва мониторинг қилишдаги аҳамияти кўриб ёритилган, СМПНни даволашни назорат қилишда ва кечишини ташхислашда, мониторинг қилишдаги мухим рол ўйновчи ноёб генетик ўзгаришлар ва реккурентлар тавсифланган. Ph-манфий СМПНда ва сурункали миелоид лейкозда аниқланадиган, генетик ўзгаришлар алоҳида келтирилган. Биринчи бобда флюоресцент in situ гибридизацияси асосидаги молекуляр-цитогенетик тадқиқотлар ва стандарт цитогенетик текширишларни ўз ичига олган СМПНдаги цитогенетик ўзгаришларни детекция усуллари тўғрисидаги тасаввурлар берилган. Бунда СМПНдаги тадқиқотларнинг генетик усул натижаларини ўзаро бир бирини тўлдириши таъкидлаб ўтилган. Культурал шароитда ҳужайранинг *in vivo* ўсишига таъсир этувчи, шунингдек гемопоэтик ва лейкозли ўзак ҳужайраларининг бўлиниш жараёнларини бошқарувчи омилларга алохида эътибор қаратилган. Адабиётларда тақдим этилган маълумотларни таҳлил қилиш асосида СЦТнинг натижавийлиги ва метафаз хромасоманинг цитологик препаратларини сифатини белгилаб берувчи омилларни излашга қаратилган асосий ҳолатлар ажратиб кўрсатилган, шунингдек кўриб чиқилаётган муаммонинг илмий-назарий моҳияти ва амалий аҳамияти асослаб берилган.

Диссертациянинг **«Карётиплашда ва стандарт цитогенетик тадқиқот сифатини баҳолаш ишлатиладиган материаллар ва усуллар»** деб номланган иккинчи бобида текширилувчиларнинг тавсифи берилган, уни сурункали миелопролиферативнеоплазия ташхиси қўйилган 359 нафар

беморлар (асосий гуруҳ), шунингдек 310 нафар шартли соғлом (гемобластозасиз) шахслар (назорат гуруҳи) ташкил этган.

СМПН билан оғриган беморларининг суяк кўмиги ва веноз қонининг лейкоз ҳужайраларидан, шунингдек шартли соғлом шахслар веноз қонидаги – ФГА-стимулланган лимфоцитларидан олинган метафаз пластинкалар тадқиқот объекти бўлиб хизмат қилди. Тадқиқот предмети бўлиб цитогенетик препаратлардаги метафаз хромасомалар ва метафаз пластинкаларнинг цитологик ва морфологик белгилари, ҳужайраларнинг *in vitro* пролиферативф фаоллиги, шунингдек СМПН беморларидаги кариотиплаш натижаларини ишончлилигини асослаш ва уларни баҳолашнинг миқдорий мезонийлиги имкониятларини аниқлаш ҳисобланди.

Бобда ҳужайраларни *in vitro* культуралаш усулидан фойдаланиш, метафаз хромасомаларнинг цитологик препаратларини тайёрлаш, цитогенетик препаратларни бўяш баён этилган. Хромасома препаратларининг майдон бирлигида (S), метафаз пластинкалар миқдорини ҳисоблаш асосида ҳужайраларни *in vitro* пролиферативф фаоллигини баҳолашни янги усулларининг тамойиллари баён этилган. GTG-бэндинг технологияси бўйича бўялган, метафаз хромасомалар ва кариотипларнинг таҳлили ва тадқиқот стандартлари келтирилган. Тадқиқот вазифаларига мос ҳолда қоннинг гематологик, морфологик, биокимёвий ва гемастазиологик кўрсаткичларини ўрганиш усулларидан фойдаланиш тавсифланган. Иккинчи бобнинг хулосасида таҳлилларга киритилган маълумотлар тавсифини ҳисобга олиш билан статистик тестни танлаб олишнинг асоси берилган, фойдаланилган статистик кўрсаткичлар санаб ўтилган ва фарқлар ишончлилигини аҳамиятлилик даражалари кўрсатилган ($p \leq 0,05$).

Диссертациянинг учинчи, тўртинчи ва бешинчи бобларида **шахсий текшириш натижалари ва уларнинг муҳокамаси берилган.**

Диссертациянинг **«Стандарт цитогенетик тадқиқотларда цитологик препаратлар сифатини баҳолашни мезонли тизимларини ишлаб чиқиш»** деб номланган учинчи бобида СЦТда ҳужайраларнинг *in vitro* пролиферативф фаоллигини баҳолашга қўйиладиган асосий талаблар ва 287,5 мм^2 га тенг бўлган хромасомали препаратлар майдонига метафаз пластинкалар миқдори (МФП/S_{287}) кўрсаткичларини ҳисоблаш тамойиллари келтирилган.

МФП/S_{287} кўрсаткичи бизлар томонимиздан СМПН беморлар веноз қони (ВҚ) ва суяк кўмигидаги (СК) лейкоз ҳужайраларини *in vitro* пролиферативф фаоллигини, шунингдек онкогематологик касалликлар бўлмаган, назорат гуруҳи субъектларида веноз қонидаги ФГА-стимулланган лимфоцитларни баҳолаш учун қўлланилди.

Тадқиқотлар кўрсатдики, назорат гуруҳида МФП/S_{287}нинг ўртача белгилари 286,86±32,50 ни ташкил этган бўлса, СМПНли беморлар гуруҳида ушбу кўрсаткич фақат 153,07±43,68 ($t=2,46$; $p=0.0147$) га етди. Бу СМПНли беморларда лейкоз ҳужайраларининг пролиферативф фаоллигини ишончли даражада янада пастлиги тўғрисида хабар беради. Бундан ташқари, аниқландики, культурал шароитларда пролиферативф фаоллик миелоидли лейкоз билан оғриган беморлардаги ҳужайралар учун ҳам, бластоз ФГАнинг *in vitro* мутогени билан сунъий индуцирланган шартли соғлом шахслардаги лимфоцитлар учун ҳам ўзгарувчан бўлиб чиқди (1-жадвал).

1-жадвал

Сурункали миелопролиферативнеоплазия беморлар ва шартли соғлом (назорат) гуруҳи беморларидаги веноз қони *in vitro* ҳужайраларининг пролиферативфаоллик даражаси

Ҳужайраларнинг пролиферативфаоллик кўрсаткичлари (МФП/S_{287})	Шарли соғлом текширилганлар миқдори (назорат, n=84)		ХМПН текширилган беморлар миқдори (n=150)		Статистик таҳлил маълумотлари
	n	%, M±m	n	%, M±m	
МФП мавжуд эмас	2	2,38±1,66	12	8,00±2,22	t=2,03; **p<0,05**
1-200	31	36,90±5,27	103	68,67±3,79	t=4,90; **p<0,05**
201-400	33	39,28±5,33	25	16,67±3,04	t=3,69; **p<0,05**
>400	18	21,43±4,48	10	6,67±2,04	t=3.0; **p<0,05**
M±m	**286,86**±32,50		**153,07**±43,68		t=2,46; **p=0.0147**
ВҚ – веноз қони; ШС – шартли соғлом; МФП – метафазали пластинкалар					

СМПН ли беморларда МФП/S_{287} нинг ўртача белгиларини қиёсий баҳолаш, беморлар қонида айланиб юрувчи ва суяк кўмигида мавжуд бўлган лейкоз ҳужайраларининг *in vitro* пролиферативфаоллигида фарқларнинг мавжуд эмаслигини кўрсатди (2-жадвал).

2-жадвал

Веноз қон ва суяк кўмиги ҳужайраларининг *in vitro* пролиферативфаоллигининг турли даражаларидаги сурункали миелопролиферативнеоплазияли беморларнинг улуши

Ҳужайраларнинг пролиферативфаоллик кўрсаткичлари (МФП/S_{287})	СЦИ **веноз қон** препаратлари билан ўтказилган, СМПН беморларининг миқдори (n=150)		СЦИ **суяк кўмиги** препаратлари билан ўтказилган СМПН беморларининг миқдори (n=150)		Статистик таҳлил маълумотлари
	n	%, M±m	n	%, M±m	
МФП мавжуд эмас	12	8,00±2,22	12	8,00±2,22	t=0,00; **p>0,05**
1-200	103	68,67±3,79	96	64,00±3,92	t=0,86; **p>0,05**
201-400	25	16,67±3,04	18	12,00±2,65	t=1,16; **p>0,05**
>400	10	6,67±2,04	24	16,00±2,99	t=2,58; **p<0,05**
M±m	**153,07**±43,68		**299,53**±112,16		t=1,22; **p>0,2249**
ВҚ – веноз қони; ШС – шартли соғлом; МФП – метафаза пластинкалари					

Бироқ, ВҚ препаратларидаги МФП/S_{287} нинг ўртача белгилари (Б кичик гуруҳи) беморлар улушидан ишончли равишда юқори, уларда суяк кўмиги препаратларидаги МФП/S_{287} ўртача белгиларидан (А кичик гуруҳи) юқори бўлди.

Олинган маълумотлар СЦТ учун материал сифатида СМПН беморлари қонидан фойдаланишнинг мақсадга мувофиқлиги тўғрисидаги баҳсли масалаларга жавоб беради ва шундан гувоҳлик берадики, веноз қони худди суяк кўмигидаги миқдор каби хромасомали препаратларни олиш учун лейкоз ҳужайраларининг манбаси сифатида фойдаланилиши мумкин.

Шундай қилиб, тадқиқот натижалари шундан гувоҳлик берадики, МФП/S_{287} СЦТ учун препаратдаги метафаз пластинкалар миқдорини баҳолашда самарали қурол ва объектив мезон бўлиб ҳисобланади. Бундан ташқари, ҳужайраларнинг пролиферативфаоллигини акс эттирувчи

МФП/S_{287} кўрсаткичи, лейкемик клонларнинг (Kikushige Y, Shima T, 2010; Sadovnik I, Hoelbl-Kovacic A, 2016; Xu B, Wang S,2017) генераллаш қобилиятига ва пролиферативимкониятларга эга бўлган, патологик ҳужайра популяциясини даволашга турғунликни ташкил этувчи, лейкозли ўзак ҳужайраларни миқдорини аниқлаш учун фойдаланилиши мумкин.

Диссертациянинг кейинги учинчи бобида стандарт цитогенетик тадқиқотларда цитологик препаратларни баҳолаш учун **метафаза пластинкаларининг сифат мезонларини ишлаб чиқиш** тамойиллари баён этилган.

СЦТнинг натижавийлиги ISCN билан мос холда хромасомаларни ажратиб олиш ва таснифлаш имкониятини аниқлаб беради ва у цитогенетик препаратларнинг сифати билан боғлиқдир. Цитогенетик препаратларнинг сифат кўрсаткичлари микроскоплашда аниқланадиган, метафаз пластинкаларнинг визуал кўрсатгичлари ва миқдори бўлиб ҳисобланади. Аммо амалиётда метафаз пластинкалар сифатини кўрсатувчи мезонларидан фойдаланиш, базавий атамалар ва цитогенетика асослари тўғрисидаги билимларга эга бўлиш зарурияти билан боғлиқ.

GTG-бэндинг технологиясидан фойдаланиш билан СЦТда хромасомали препаратлар сифатини ҳаммабоп ва объектив таҳлили учун бизлар томонимиздан балли баҳолаш тизими (ББТ) ишлаб чиқилди. Унинг асосида эса ҳужайра ўсишининг асосий тавсиф даражаларини, кейинчалик хромасома препаратларининг сифатини йиғинди интегралл балларини чиқариш билан ($\int_{ХПС}$) метафаз пластинкалардаги хромасомаларни, миқдори, жойлашиши, морфологияси ва бўялишини аниқлаш ётади.

СЦТнинг таҳлилий қисмини бажаришга имкон берувчи хромасома препаратларини мезонлари, хромасомаларни таснифлаш ва кариотип нуқсонларини ажратиш бизлар томонимиздан алоҳида тоифаларга тақсимланди, улар: ҳужайрани ўсиши (Р), метафазали пластинка (МФ), кариотип (КП), хромасомалар морфологияси (Мх ёки $ХИ_{1/21}$), хромасомаларни бўялиши (Ох), хромасомаларнинг таснифи (КЛх), 1 хромасомалар бэндинги (Б-1). Ишлаб чиқилган тизимнинг иш принципи шундан иборатки, еттита тавсифий тоифаларнинг ҳар бири уч балли тизим бўйича ранжирланиб баҳоланади.

Шуни таъкидлаш лозимки, СЦТда хромасома препарати сифатининг битта тоифаси жуда юқори рангга, бошқаси эса жуда паст рангга эга бўлиши мумкин. Шу билан боғлиқ холда хромасомали препаратлар сифатини баҳолашни мажмуавий тарзда амалга ошириш мақсадга мувофиқдир. Бунинг учун алоҳида тоифа баллари хромасомали препаратлар сифатини интеграл кўрсаткичини умумлаштириш мумкин бўлади ($\int_{ХПС}$) :

$$\int_{ХПС} = Р(n)+МФ(n)+КП(n)+Мх(n)+Ох(n)+КЛх(n)+Б\text{-}1(n),$$

бу ерда (n) – сифатнинг ҳар бир тоифаси учун бериладиган балл.

СЦТ хулосасининг таҳлили кўрсатдики, гемабластозсиз (жисмоний ва жинсий ривожланишида бузилишига шубҳа бўлган беморлар) бўлган субъектлар гуруҳида барча хромасомали препаратлар $\int_{ХПС}$11-15 дан паст бўлган сифат даражасига эга бўлди.

Бунда, кариотипнинг мутацион ўзгаришлари 44 нафар шахсларда (19,13%) аниқланди. Олинган натижалар шундан гувоҳлик берадики, хромасомали препаратларнинг сифат даражасини ∫ХПС 11 балл ва ундан юқори бўлиши транслокация, делеция, инверсия, дицентрик ва дериватли хромосомаларни ўз ичига олган миқдорий ва тузилмавий хромасома мутацияларини аниқлаш учун етарли бўлиб ҳисобланади (3-жадвал).

3-жадвал

Гемобластозсиз шахсларда хромасомали препаратлар сифатининг турли даражаларида аниқланадиган, цитогенетик аномалиялар спектри

Стандарт цитогенетик текширишлар усули билан аниқланадиган, генетик нуқсонлар типи	Хромасомали препаратлар сифатини интеграл кўрсаткичлари (∫ХПС)					
	1-5 (n=3)	**6-10** (n=0)	**1-5** (n=3)		**16-21** (n=206)	
			Абс.	%	Абс.	%
Генетик жинсни ажратиб олиш	-	-	1	4,17	12	5,82
Миқдорий мутациялар:						
- анеуплоидия (моносомия, трисомия)	-	-	1	4,17	11	5,34
Тузилмавий қайта қурилишлар:						
- дериватли хромосомлар (ажратилмайдиган қайта қурилишлар)	-	-	1	4,17	4	1,94
- транслокация	-	-	-	0	8	3,88
- делеция	-	-	-	0	1	0,48
- инверсия	-	-	1	4,17	3	1,45
- дицентрик хромосомалар	-	-	-	0	1	0,48
ЦГНК:	-	-	20	83,33	181	87,86

СМПН беморлари гуруҳида фақат 65,9% беморлар хромасома препаратларини сифат даражасини ∫ХПС11-21 баллига эга бўлган бўлса, уларнинг 34% интеграл кўрсаткич 10 баллдан паст бўлди. СМПНли 179 нафар беморларда 210 мутациялар аниқланди (бир қатор беморларнинг кариотипида бир вақтда бир нечта патогенетик нуқсонлар мавжуд бўлди). Олиб борилган тадқиқотлар хромасомали препаратларнинг сифат даражасидан СЦТнинг самарадорлигини яққол боғлиқлигини кўрсатди (4-жадвал): ∫ХПС6-10 да беморлар кариотипида патогенетик ўзгаришларнинг ўртача аниқланиши, ҳар бир беморга 1,23 мутацияни, ∫ХПС11-15да – 1,37, ∫ХПС16-21да – 1,62 мутацияларни ташкил этади. Хромасомали препаратлар сифатини ортиб бориш даражасида СМПНли беморларда аниқланадиган, патогенетик нуқсонларнинг ҳам кенгайди. Яъни, хромасомали препаратлар сифат даражасини ортиши нафақат Ph-хромосомалар (der22) маркерларини аниқлаш имкониятини, балки шунингдек 9 хромасомалар деривати ва бошқа хромасома нуқсонларини аниқланишини даражасини ҳам оширди, бу эса 9 ва 22 хромасомалар иштирокидаги вариантли транслокацияларнинг детектирланиши, шунингдек бошқа цитогенетик ўзгаришларни ҳам оширди.

4-жадвал

СМПН беморларида хромасомали препаратлар сифатини турли даражасида аниқланадиган, цитогенетик нуқсонлар спектри

СЦТ усули билан аниқланадиган, генетик нуқсонлар типи	Хромасомали препаратлар сифатини интеграл кўрсаткичлари (∫хпс)							
	1-5 (n=3)		**6-10** (n=58)		**11-15** (n=92)		**16-21** (n=26)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Миқдорий мутациялар:								
- полиплоидия	-	-	-	0	1	1,09	1	3,85
- анеуплоидия (моносомия, трисомия)	-	-	-	0	6	6,52	-	0
Тузилмавий қайта қурилишлар:								
- маркерли Ph-хромосома	3	100	40	68,96	65	70,65	20	76,92
- транслокация t(9;22)(q34;q11.2)	-	-	4	6,89	38	41,30	15	57,69
- 9 ва 22 хромасомалар иштирокидаги транслокация вариантлари	-	-	-	0	4	4,34	4	15,38
- бошқа транслокациялар	-	-	1	1,72	3	3,26	-	0
- делеция	-	-	-	0	2	2,17	-	0
- инверсия	-	-	-	0	2	2,17	1	3,85
- дериватли хромосомалар (ажратилмайдиган қайта қурилишлар)	-	-	2	3,45	5	5,43	1	3,85
ЦГНК:	-	-	18	31,03	16	17,39	4	15,38

Шундай қилиб, ушбу бобда олиб борилган тадқиқотларнинг тақдим этилган натижалари СМПН беморлари лейкоз ҳужайраларидаги аниқланган цитогенетик нуқсонлар ва кариотиплаш натижавийлигини, хромасомали препаратлар сифат даражасига боғлиқлигини асослайди. Кўрсатилдики, хромасомали препаратларнинг сифат даражаси, унинг препаратлари сифатини мезонли баҳолаш (ХПСМБ) тизими асосида объектив аниқланилиши мумкин ва оддийлик ҳамда ҳаммабоплик унинг афзалликлари ҳисобланади. Гемобластозли беморлардаги СЦТда мазкур тизимдан фойдаланиш: кариотипда хромасомали нуқсонлар мавжуд бўлганида «цитогенетик меъёрий кариотип» хулосасини беришга ва генетик қайта қурилишларга рухсат бериш имкониятини энг кам даражага туширишга; ташхислаш ва башоратлаш аҳамиятига эга бўлган хромасома нуқсонларини аниқланиши тўғрисидаги, беморнинг лейкоз ҳужайралари кариотипининг ҳолати тўғрисидаги ишончли хулоса даражаси ҳамда уларнинг келгусидаги генетик тадқиқотларини шахсий алгоритмини режалаштиришга имкон беради.

Диссертациянинг тўртинчи бобида ХПСМБнинг ишлаб чиқилган тизимлари асосида СЦТнинг натижавийлигини таҳлили, шунингдек онкогематологик патологияси бўлмаган субъектлар ва СМПН беморларидаги **хромасома нуқсонларининг спектри ва сонининг таҳлил натижалари келтирилган.** Тадқиқотлар кўрсатдики, лейкозли беморлар гуруҳини онкогематологик патологияси бўлмаган шахслар билан солиштирилганда, ўртача гуруҳ белгиларидаги (M±m) ишончли

фарқлар (p<0,05) хромасома препаратларининг ҳар етти тоифаси бўйича (Р, МФ, КП, ХИ$_{1/21}$, Ох, КЛх, Б-1) кузатилди (5-жадвал).

5-жадвал

Назорат гуруҳи ва сурункали миелопролифератив неоплазияли беморлар ва назорат гуруҳида хромасома препаратлари сифатининг мезон кўрсаткичларини ўртача белгилари

№	Хромасома препаратларининг сифат тоифалари	Асосий гуруҳ: ХМПН беморлар (n=179), M±m	Назорат: гемо-бластозсиз (n=226), M±m	Статистик таҳлил маълумотлари
1	Ҳужайрани *in vitro* ўсиши (**Р**)	2,35±0,041	2,92±0,024	t=12.00; p<0,0001
2	Метафазали пластинка (**МФ**)	2,27±0,041	2,44±0,035	t=3.15; p<0,0017
3	Кариотип (**КП**)	0,36±0,041	2,96±0,035	t=48.23; p<0,0001
4	Хромасомалар морфологияси (**ХИ $_{1/21}$**)	1,98±0,027	2,22±0,024	t=6.64; p<0,0001
5	Хромосомани бўялиши (**Ох**)	2,00±0,027	2,62±0,024	t=17.16; p<0,0001
6	Хромасомалар таснифи (**КЛх**)	2,18±0,041	2,82±0,024	t=13.47; p<0,0001
7	1 Хромасомалар бэндинги (**Б-1**)	0,97±0,041	2,02±0,035	t=19.48; p<0,0001
8	Хромасома препаратлари сифатининг интеграл кўрсаткичлари (∫$_{ХПС}$)	12,11±0,21	18,01±0,11	t=24.89; p<0,0001

Хромасома препаратларининг сифат даражасидаги фарқларни баҳолаш шунингдек ∫$_{ХПС}$ кўрсаткичлари ва хромасомали препаратларни барча еттита тоифасини ҳар бири бўйича у ёки бу сифат даражасига эга бўлган беморлар улушини қиёслаш асосида етказилди (6-жадвал).

6-жадвал

Хромасома препаратлари сифатининг турли даражалари (тоифалар бўйича баҳолаш) гемабластозсиз шахслар ва СМПНли беморлар улуши (2017-2019)

№	Хромасомали препаратлар-нинг сифат тоифалари	Даража-си (бал-ларда)	**I**. Асосий гуруҳ: ХМПН беморлари (n=179), M±m		**II.** Назорат гуруҳи: гемобластозсиз (n=226), M±m		Нисбий кўрсаткичлар учун Стьюдентнинг t-мезони
			Абс.	%, m1 *	Абс.	%, m2 **	
1	Ҳужайрани *in vitro* ўсиши (Р)	3	109	60,89±3,65	212	92,58±1,73	t=7,85; p<0,05
		2	25	13,97±2,59	16	6,99±1,68	t=2,26; p<0,05
		1	43	24,02±3,19	1	0,44±0,44	t=7,32; p<0,05
		0	2	1,12±0,79	0	0,00±0,00	t=1,42; p>0,05
2	Метафазали пластинка (МФ)	3	100	55,87±3,71	124	54,15±3,29	t=0,35; p>0,05
		2	46	25,70±3,27	85	37,12±3,19	t=2,50; p<0,05
		1	15	8,38±2,07	16	6,99±1,68	t=0,52; p>0,05
		0	18	10,06±2,25	4	1,75±0,87	t=3,45; p<0,05
3	Кариотип (КП)	3	10	5,59±1,72	224	97,82±0,97	t=46,83; p<0,05
		2	10	5,59±1,72	2	0,87±0,61	t=2,58; p<0,05
		1	14	7,82±2,01	1	0,44±0,44	t=3,60; p<0,05
		0	145	81,01±2,93	2	0,87±0,61	t=26,75; p<0,05
4	Хромасомалар морфологияси (ХИ$_{1/21}$)	3	42	23,46±3,17	72	31,44±3,07	t=1,81; p>0,05
		2	92	51,40±3,74	136	59,39±3,25	t=1,62; p>0,05
		1	45	25,14±3,24	21	9,17±1,91	t=4,25; p<0,05
5	Хромасомаларни	3	62	34,64±3,56	163	71,18±2,99	t=7,86; p<0,05

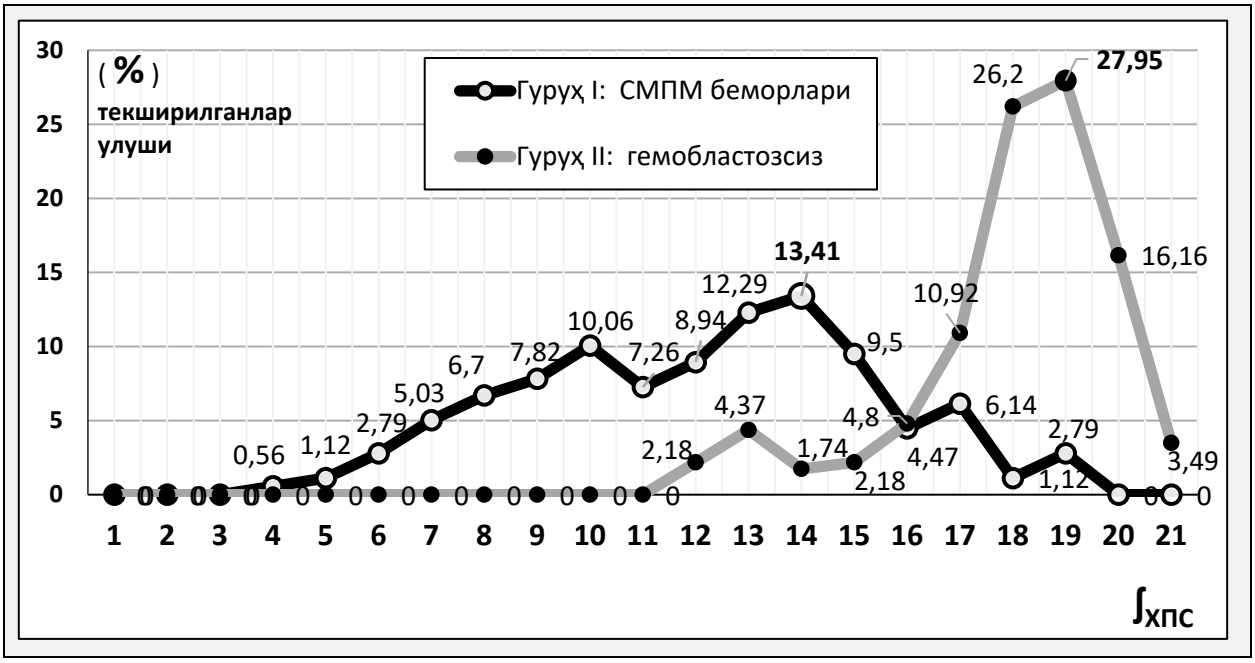
	бўялиши (Ох)	2	55	30,73±3,45	46	20,09±2,65	t=2,45; p<0,05
		1	62	34,64±3,56	20	8,73±1,87	t=6,45; p<0,05
6	Хромасомалар таснифи (КЛх)	3	108	60,34±3,66	208	90,83±1,91	t=7,39; p<0,05
		2	2	1,12±0,79	1	0,44±0,44	t=0,76; p>0,05
		1	62	34,64±3,56	19	8,30±1,82	t=6,59; p<0,05
		0	7	3,91±1,45	0	0,00±0,00	t=2,70; p<0,05
7	1-хромасомалар бэндинги (Б-1)	3	4	2,23±1,10	65	28,38±2,98	t=8,23; p<0,05
		2	42	23,46±3,17	119	51,96±3,30	t=6,23; p<0,05
		1	77	43,02±3,70	29	12,66±2,20	t=7,05; p<0,05
		0	56	31,28±3,47	16	6,99±1,68	t=6,31; p<0,05

* *Нисбий кўрсаткичнинг ўртача хатолиги (m1) ва 1-гуруҳдаги ушбу белгиларга эга бўлган (%) текширилганлар улуши*

** *Нисбий кўрсаткичнинг ўртача хатолиги (m2) ва 2-гуруҳдаги ушбу белгиларга эга бўлган (%) текширилганлар улуши*

Хромасомали препаратлар сифатини белгиловчи алохида тоифалар бўйича ўтказилган таҳлил (Р, МФ, КП, $ХИ_{1/21}$, Ох, КЛх, Б-1), гемобластозсиз шахслар ва СМПН беморларида, шунингдек ХПСМБ тизимлар самарадорлигида ушбу кўрсаткич белгиларининг субъектив фарқлари мавжудлигини тасдиқлади.

$\int_{ХПС}$ белгиларини тақсимлаш таҳлили аниқладики, СМПНли беморлар гуруҳида ушбу кўрсатгичларнинг энг паст даражаси 4 баллни, энг юқори даражаси эса – 19 баллни ташкил этди. Гемобластозсиз беморларда $\int_{ХПС}$ нинг энг паст даражаси 12 баллни ташкил этган бўлса, энг юқори кўрсаткичи – 21 баллга тенг бўлди. СМПНли беморлардаги энг юқори улушда $\int_{ХПС}$ белгиси 14 баллга, гемабластозсиз шахсларда эса – 19 баллга тенг бўлди (1-расм).



1-расм. $\int_{ХПС}$ нинг турли даражасига эга бўлган гемабластозсиз субъектлар ва сурункали миелопролиферативнеоплазияли беморлар улушини тақсимланиши

$\int_{ХПС}$ (1-5 балл – қониқарсиз сифат, 6-10 балл – қониқарли сифат, 11-15 балл – яхши сифатли, 16-21 – сифати аъло даражада) белгилар диапазони бўйича 4 кичик гуруҳдаги квартил (Фалин Г.И., Фалин А.И., 2011)

тизимларига ранжирланган мос холда текширилганлар улушининг қиёсий таҳлили аниқланди ва шу асосида СЦТ хулосалари қилинган гемабластозсиз шахслар гуруҳидаги метафаз хромасома препаратлари фақат яхши ($\int_{ХПС}$11-15 – 10,5%) ва аъло ($\int_{ХПС}$16-21 – 89,5%) сифатли бўлди (7-жадвал).

СМПНли беморлар гуруҳида хромасомали препаратларнинг сифатини барча тўртта диапазон даражаси ҳам ўз ўрнига эга бўлди, аммо беморларнинг энг катта улушида СЦТнинг таҳлилий босқичи қониқарли ($\int_{ХПС}$6-10 – 32,4%) ва яхши ($\int_{ХПС}$10-15 – 51,4%) сифатларига эга бўлган препаратлар асосида бажарилди (7-жадвал).

7-жадвал

Гемобластозсиз шахслар ва сурункали миелопролиферативнеоплазияли беморларда хромасомали препаратлар сифатини қиёсий баҳолаш

Белгилар диапазони $\int_{ХПС}$ (балларда)	Хромасома препаратлари сифатини субъектив баҳолаш мезонлари	**I.** Асосий гуруҳ: СМПН ли беморлар (n=179), M±m		**II**. Назорат гуруҳи: гемобластозсиз (n=226), M±m		Нисбий кўрсаткичлар учун Стьюдентнинг t-мезони
		Абс.	%, m1 *	Абс.	%, m2 **	
1-5	Қониқарсиз	3	1,68±0,96	0	0,00±0,00	t=1,75; p>0,05
6-10	Қониқарли	58	32,40±3,50	0	0,00±0,00	t=9,26; p<0,05
11-15	Яхши	92	51,40±3,74	24	10,48±2,02	t=9,63; p<0,05
16-21	Аъло	26	14,53±2,63	205	89,52±2,02	t=22,58 p<0,05

Шундай қилиб, гемабластозсиз шахсларда ва СМПНли беморларда $\int_{ХПС}$ таҳлил натижалари шундай хулоса қилишга имкон берадики, ушбу дискрет параметр СЦТда хромасомали препаратларнинг сифатидаги фарқларни объектив ва далилий акс эттириш қобилиятига эга.

Хромасомали препаратларнинг сифат меъёри сифатида $\int_{ХПС}$ дан фойдаланиб, бизлар СМПНли беморларда хромасома нуқсонларининг спектри ва цитогенетик ўзгаришларни аниқланиш сонини баҳолашни ўтказдик (8-жадвал).

Умуман олганда СМПНли беморларда кариотипдаги мутацион ўзгаришларнинг бутунлай мавжуд бўлмаслиги жуда кам учрайди. Бизнинг тадқиқотларимизда «цитогенетик меъёрий кариотип» (ЦГМК) биринчи кичик гуруҳда 27,9% ҳолатда аниқланган бўлса ($\int_{ХПС}$1-10), иккинчи кичик гуруҳда - 17,4% ($\int_{ХПС}$11-15) ва учинчи кичик гуруҳда 15,4% ($\int_{ХПС}$16-21) ҳолатда аниқланди ва гуруҳлар ўртасидаги фарқлар ишончли бўлмади.

Мутацион ўзгарган кариотипли (МЎК)ли СМПН беморларнинг улуши I ва II кичик гуруҳларда ишончли фарқларга (мос холда 67,2% ва 82,6%; p<0,05) эга бўлди. I ва III кичик гуруҳлар ўртасидаги (мос холда 67,2% ва 84,6%; p>0,05), шунингдек II ва III кичик гуруҳлари ўртасида ҳам (мос холда 82,6% ва 84,6%; p>0,05) статистик аҳамиятли фарқлар ўз исботини топмади. Мазкур тадқиқот натижалари СМПНли беморлар кариотипидаги мутацион ўзгаришларни самарали аниқланиши учун хромасомали препаратларнинг сифатининг белгиси $\int_{ХПС}$ = 11 баллдан паст бўлмаслиги зарур.

Модомики СМПНли беморларда кариотипнинг маркерли ўзгариши бўлиб транслокация t(9;22)(q34;q11.2) ҳисобланар экан, у ҳолда унинг цитогенетик – Ph-хромосома – намоён бўлиши ушбу назологик гуруҳдаги аниқланадиган СЦТ, асосий хромасома нуқсонидан ташкил топади. I кичик гуруҳда (∫ХПС 1-10) Ph-хромосомали детектирланган беморлар улуши 70,5% ни, II кичик гуруҳда (∫ХПС 11-15) – 75,0% ва III кичик гуруҳда (∫ХПС 16-21) – 80,7% (p>0,05) ни ташкил этди, бу эса Ph(–)-беморлари улушини (чин полицитемия, эссенциал тромбоцитемия, сурункали миелофиброз ва бошқалар) ҳисобга олиш билан СМПННнинг аксарият ҳолатлари учун ушбу нуқсоннинг патогенетик моҳиятини тасдиқлайди.

Ph-хромосомадан ташқари маркерли транслокациянинг цитогенетик намоён бўлиши t(9;22)(q34;q11.2) бўлиб, шунингдек 9 хромасомалар деривати ҳисобланади. 9 хромасоманинг ўзгариши агар қандайдир сабаб билан Ph-хромосомани аниқлашни имкони бўлмаса, шунингдек t(V;9;22) шаклини қайта қурилиш вариантини аниқлашда, t(9;22)(q34;q11.2) нинг классик кўринишини тасдиқлашга имкон беради. Олиб борилган тадқиқотлар кўрсатдики, I кичик гуруҳдаги (∫ХПС 1-10) детектирланган der(9) беморлар улуши 4,9%ни, II кичик гуруҳда (∫ХПС 11-15) – 41,3% ва III кичик гуруҳда (∫ХПС 16-21) – 76,9% ни ташкил этди. Бунда статистик таҳлил барча кичик гуруҳлар қиёсланганда ўрганилаётган кўрсаткичнинг ишончли фарқини тасдиқлади: I ва II (t=6,24; p<0,05), I ва III (t=8,12; p<0,05), II ва III (t=3,63; p<0,05). Олинган натижалар, хромасомали препаратларнинг сифати der(9) ни аниқлашда катта аҳамият касб этишидан гувоҳлик беради.

Маълумки СМПНни кучайиб бориши билан лейкоз ҳужайралари кариотипининг генетик нотурғунлиги ўсиб боради, бунинг натижаси бўлиб t(9;22)(q34;q11.2) кариотипидаги тўлдирувчи, мавжуд бўлган патогенетик ўзгаришлар ёки СМЛ ҳолатидаги унинг бошқа шакллари ва СМПН Ph-манфий ҳолатларида *Jak2, MPL, CALR* ва бошқа генларининг молекуляр-генетик мутацияси каби турли хромасома нуқсонларини пайдо бўлиши ҳисобланади. Қўшимча хромасома нуқсонлари (ҚХН) янада ҳавфлироқ бўлган лейкоз клонларини (клонал эволюция) пайдо бўлишига ва касалликни кучайишига олиб келиши мумкин. Шу билан боғлиқ холда беморлар кариотипида ҚХНни аниқланиши ўта мухим башоратлаш аҳамиятига эга. Чунки у касаллик белгиларини пайдо бўлишидан олдин жараённинг кучайиши, шунингдек лейкозни кечиш тавсифи ҳамда башоратини (нохуш, ижобий, оралиқ) олдиндан айтиб беришга имкон беради.

Бизлар ∫КХП нинг турли даражасида бўлган СМПН беморларининг улушини қиёсий баҳолашни ўтказдик. Уларнинг кариотипидаги стандарт цитогенетик усул бўлибҚХНни аниқланиши бўлди (9-жадвал). Тадқиқотлар кўрсатдики, I ва II, шунингдек I ва III кичик гуруҳлардаги статистик белгилар фарқида, I кичик гуруҳда I (∫ХПС1-10) ҚХНли беморлар улуши 4,9%, II кичик гуруҳда (∫ХПС11-15) – 15,2% ва III кичик гуруҳда (∫ХПС16-21) – 23,1% ни ташкил этди (p<0,05). Бизнинг тадқиқотларимиз натижаси шундан дарак берадики, СМПН беморларида ҚХНни самарали аниқланиши хромасома

препаратларининг сифатига боғлиқ бўлади, бунда ∫ХПС белгиси 11 баллдан кичик бўлмаслиги керак.

Умуман олганда хромасомали препаратларнинг ҳар хил сифатида СМПН беморларидаги цитогенетик ўзгаришлар ва хромасома нуқсонларининг спектрини аниқланиш сонини баҳолаш кўрсатдики, кариотип аберрациясининг детекцияси ∫ХПС 1-10 баллга нисбатан ∫ХПС 11-15 бўлганда 15,4%га ва ∫ХПС 16-21 да 17,4%га самаралироқдир. Ph-хромосома маркерларини аниқланиши ∫ХПС 1-10 баллга нисбатан ∫ХПС 11-15да 4,5%га ва ∫ХПС 16-21да 10,3%га самаралироқ. 9 хромасоманинг аниқланган деревант шакллари ∫ХПС 1-10 баллга нисбатан ∫ХПС 11-15 бўлганда 36,4%га ва ∫ХПС 16-21 бўлганда 72,0%га самаралироқ бўлди. Аниқланган қўшимча хромасома нуқсонлари ∫ХПС 1-10 баллга нисбатан солиштирилганда ∫ХПС 11-15 да 10,3%га ва ∫ХПС 16-21да 18,2%га самарали эканлиги аниқланди (8-жадвал).

8-жадвал

Сурункали миелопролиферативнеоплазияли беморларидаги хромасома нуқсонларнинг спектр ва цитогенетик ўзгаришларини аниқланиш сони

Сурункали миелопролиферативнеоплазияли беморлар (n=179)		**∫ХПС** белгиларининг диапазони (балларда)			Статистик таҳлил маълумотлари: Нисбий кўрсаткичлар учун Стьюдент t-мезони		
		I. **∫кхп 1-10** (n=61)	II. **∫кхп 11-15** (n=92)	III. **∫кхп 16-21** (n=26)	**1 vs 2** (f=151)	**1 vs 3** (f=85)	**2 vs 3** (f=116)
ЦГМК	мутлақ.	17	16	4	t=1,50; p>0,05	t=1,35; p>0,05	t=0,24; p>0,05
	%	27,87±5,74	17,39±3,95	15,38±7,22			
МЎК	мутлақ.	41	76	22	t=2,14; p<0,05	t=1,85; p>0,05	t=0,24; p>0,05
	%	67,21±6,01	82,61±3,95	84,62±7,22			
der(22) (Ph)	мутлақ.	43	69	21	t=0,61; p>0,05	t=1,05; p>0,05	t=0,64; p>0,05
	%	70,49±5,84	75,00±4,51	80,77±7,88			
der(9)	мутлақ.	3	38	20	t=6,24; p<0,05	t=8,12; p<0,05	t=3,63; p<0,05
	%	4,92±2,77	41,30±5,13	76,92±8,43			
ДХА	мутлақ.	3	14	6	t=2,21; p<0,05	t=2,05; p<0,05	t=0,85; p<0,05
	%	4,92±2,77	15,22±3,74	23,08±8,43			
* *Битта беморда бир нечта нуқсонли хромасомалар аниқланиши мумкин*							

Диссертациянинг **«Шартли соғлом шахслар ва СМПН беморларида метафаз хромасома препаратлари сифатига гематологик ва биокимёвий кўрсаткичларнинг таъсирини баҳолаш»** деб номланган бешинчи бобида ХПСМБ тизимидаги тадқиқот натижалари келтирилган (2020-2021 йй). У 2017-2019 йилларда ўтказилган бирламчи тадқиқот натижаларини мустақил равишда тасдиқлайди ва метафаз препаратларининг сифат даражаси ∫ХПС ни ҳисоблаш асосида миқдорий баҳоланган бўлиши мумкинлигидан гувоҳлик беради, унинг ўртача белгиси эса СМПНли беморларда 14,18±0,15ни ташкил этди, гемабластозсиз бўлган беморлар гуруҳида эса бу кўрсаткич 18,11±0,16 га етди (t=17,92; p<0,0001). Олиб борилган тадқиқотларда гемабластозсиз шахсларда ва СМПНли беморларда метафаз хромасомаларнинг цитологик препаратлари сифатида яққол намоён бўлган объектив ишончли фарқлар аниқланди.

ХПСМБ асосида олиб борилган баҳолаш гемабластозсиз бўлган 98%дан ортиқ бўлган шахсларда метафаз хромасоманинг цитологик препаратлари хромасомадаги миқдорий ва тузилмавий ўзгаришларнинг катта қисмини аниқлаш ва ISCN га мос бўлган хромасомаларни ажратиб олишга имкон берувчи юқори сифатга ($\int_{ХПС}$16-21) эгалигини кўрсатди. СМПНли беморлар орасида бундай сифат даражасига эга бўлган хромасомали препаратлар фақат 47% ҳолатда олинди. Беморларнинг деярли ярмида препаратларнинг сифат даражаси ($\int_{ХПС}$11-15) кариотипда ўзгаришларни аниқланиш имкониятини чегаралади ва 3,5% беморларда препаратларнинг сифат даражаси ($\int_{ХПС}$6-10) СМПНли беморларда кариотиплашни Ph-хромосома маркерлари детекциясига олиб келиб, СЦТни юзага келиш имкониятини энг паст даражагача туширди.

СМПНли беморлардаги СЦТда метафаза хромасома цитологик препаратлари сифатини пасайтириш билан ассоциацияланадиган, омил ва сабабларни тушуниш зарурияти, хромасома препаратларининг сифатига ва метафаз хромасома препаратларини тайёрлаш учун қўлланиладиган ҳужайраларнинг пролиферативфаоллигига гематологик ва биокимёвий кўрсаткичларнинг таъсирини ўрганиш зарурияти билан боғлиқ.

МФП/S_{287} кўрсаткичлари билан баҳоланадиган, СЦТда хромасома препаратларини тайёрлаш учун қўлланиладиган веноз қони (ВҚ) ва суяк кўмиги (СК) ҳужайраларининг *in vitro* (ўсиши) пролиферативфаоллиги учун олиб борилган тадқиқотлар кўрсатдики, улар қон зардобидаги қатор гемограмма, миелограмма ва биокимёвий таҳлил кўрсаткичларининг даражасини аниқлаш билан ассоциацияланади.

Жумладан, *ВҚ ҳужайраларининг пролиферативфаоллигини пастлиги* хусусан куйидагилар билан ишончли боғлиқ: гемограммада лимфоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (17,5%дан кўпга), шунингдек бласт ҳужайраларининг нисбий миқдорини (0,7%дан камга), метамиелоцитларни (7,5%дан камга), умумий лейкоцитларнинг мутлоқ миқдорини ($92\cdot10^9$/лдан камга) ва ЭЧТ кўрсаткичини (10 мм/с дан камга) пасайиши билан; миелограммада полихроматофил нормацитларнинг нисбий миқдорини ортиши билан (3,7%дан кўпга), шунингдек бласт ҳужайраларининг нисбий миқдорини (0,6%дан камга), промиелоцитларни (0,5%дан камга), миелоцитларни (9,5%дан камга) ва метамиелоцитларни (12,0%дан камга) пасайишини билан; қон зардобида умумий оқсил даражасини (65,0 г/лдан камга), альбумин (25,0 г/лдан камга), фибриноген (4,0 г/лдан камга) ва мочевина (5,0 г/лдан камга) пасайиши билан боғлиқ.

ВҚ ҳужайраларининг юқори пролиферативфаоллиги қуйидагилар билан ишончли боғлиқ: гемограммада нейтрофилларнинг нисбий миқдорини ортиши (82,5%дан юқори), эритроцитларнинг мутлоқ миқдори ($3,6\cdot10^{12}$/л дан юқори) ва гемоглобин даражаси (105 г/л дан юқори), шунингдек моноцитларнинг нисбий миқдорини пасайиши (3,5% дан паст) ва лимфоцитлар (7,5% дан кам) билан боғлиқ; миелограммада миелоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (16,5%дан юқори), шунингдек

моноцитларнинг нисбий миқдорини пасайиши (0,2%дан кам), базофил нормоцитлар (0,15%дан паст) ва оксифил нормоцитлар (2,0%дан паст) хос; қон зардобида темир миқдорини пасайиши билан (11,0 мкмоль/л дан кам), креатинин (65,0 мкмоль/лдан кам), гомоцистеин (5,0 мкмоль/лдан кам) ва С-реактив оқсилнинг мусбат реакциясининг мавжуд бўлмаслиги.

СК ҳужайраларининг паст прролифератив фаоллиги қуйидагилар билан ишончли боғлиқ: гемограммада лимфоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (17,5% дан кўпга), шунингдек бласт ҳужайраларининг нисбий миқдорини камайиши (0,7%дан камга), метамиелоцитларни (7,5%дан камга); миелограммада полихроматофил нормоцитларнинг нисбий миқдорини камайиши (1,5%дан кам); қон зардобида умумий билирубин (4,0 мкмоль/лдан пастга) ва бевосита билирубинни (2,0 мкмоль/лдан камга) пасайиши.

СК ҳужайраларининг юқори пролифератив фаоллиги қуйидагилар билан ишончли боғлиқ: гемограммада нейтрофилларнинг нисбий миқдорини ортиши (76,4%дан кўпга), метамиелоцитларни (13,2%дан кўпга) ва етилмаган гранулоцитларни (28,0%дан кўпга) , шунингдек моноцитларнинг, (0,7%дан камга) ва лимфоцитларни (7,0%дан камга) билан нисбий миқдорини пасайиши; миелограммада лимфоцитларнинг нисбий миқдорини (3,0%дан камга) пасайиши; қон зардобида гомоцистеин даражасини пасайиши (19 мкмоль/лдан камга), С-реактив оқсилга мусбат реакциянинг йўқлиги шунингдек, мочевина даражасини ортиши билан (14,0 ммоль/лдан кўп).

Тадқиқотлар кўрсатдики, ($\int_{ХПС}$) интеграл кўрсаткичи билан баҳоланадиган, СЦТда СМПНли беморлардаги метафаз хромасома препаратларининг сифати қон зардобидаги бир қатор гемограмма, миелограмма ва биокимёвий таҳлил кўрсаткичларининг маълум даражаси билан ассоциацияланади. Жумладан, СМПНли беморларда *хромасомали препаратларнинг паст сифат даражаси* ($\int_{ХПС}$ 10 баллгача) қуйидагилар билан ишончли боғлиқ: гемаграммада эритроцитларнинг мутлақ миқдорини пасайиши билан ($3,0 \cdot 10^{12}$/лдан камга), етилмаган гранулоцитларнинг нисбий миқдори (7,0%дан кам), нейтрофилларни (60,0%дан кам), промиелоцитларни (0,3%дан кам), миелоцитларни (4%дан кам), метамиелоцитларни (6,0%дан кам), таёқчасимон нейтрофилларни (3,5%дан кам), базофилларни (0,3%дан кам), шунингдек моноцитларнинг мутлоқ миқдорини (8,0%дан кўпга) ва лимфоцитарни (19%дан кўпга) ортиши; миелограммада бласт ҳужайраларнинг мутлақ сонини пасайиши (0,7% дан камга), миелоцитларни (4,5%дан камга) ва метамиелоцитларни (5,0%дан камга), шунингдек эозинофилларни мутлоқ сонини ортиши (3,0%дан кўпга); қон зардобида умумий оқсил даражасини пасайиши (62,0 г/лдан пастга) ва С-реактив оқсилга мусбат реакциянинг мавжудлиги.

СМПНли беморларда *хромасома препаратлари сифатини юқори даражаси* ($\int_{ХПС}$16-21) қуйидагилар билан боғлиқ: гемограммада нейтрофилларнинг нисбий миқдорини ортиши (76,4%дан юқори), етилмаган гранулоцитлар (24,8% юқори), базофиллар (3,5%дан юқори), шунингдек тромбоцитларнинг мутлоқ миқдорини пасайиши ($328 \cdot 10^9$/л); миелограммада метамиелоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (14,9% дан юқорига).

Метафаз хромасоманинг цитологик препаратлари сифати билан ҳам, *in vitro* ҳужайраларнинг пролиферативфаоллиги билан ҳам ишончли ассоциацияланадиган ўрганилган клиник-лаборатор кўрсаткичлар таҳлили кўрсатдики, ҳужайраларни ўсишини мавжуд бўлмаслиги ва МФПнинг ёмон сифати қуйидагилар билан ассоциацияланади: УҚТ натижалари бўйича метамиелоцитларнинг нисбий миқдорини пасайиши (7,5%дан кам) ва лимфоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (17,5% кўпга); миелограмма натижалари бўйича бласт ҳужайраларининг нисбий миқдорини пасайиши (0,6-0,7% дан камга), миелоцитларни (9,5%дан камга), метамиелоцитларни (12,0%дан камга); қон зардобида умумий оқсил миқдорини пасайиши (65%дан камга).

УҚТ натижалари бўйича ҳужайраларни *in vitro* яхши ўсиши ва МФПнинг юқори сифати етилмаган гранулоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (26,0%дан кўпга) ва нейтрофиллар (77,0%га ортиши) – билан ассоциацияланади.

Биологик материални культивациялашгача бўлган муддатдан 5 кун олдин олинган, юқорида санаб ўтилган кўрсаткичларнинг даражасига нисбатан олиб, цитологик препаратданги МФП миқдори, шунингдек бир вақтда метафаз хромасома препаратларининг сифат даражаси билан боғлиқ бўлган, *in vitro* шароитида веноз қон ва суяк кўмиги ҳужайраларининг пролиферативфаоллигини башоратлаш мумкин. Мазкур кўрсаткичларни башоратлаш стандарт цитогенетик тадқиқотлар усули билан кариотипни таҳлил қилишни натижавийлигини яхшилаш учун СМПН беморлари биологик материалларидаги ҳужайраларни культивациялаш шароитларини индивидуал коррекциялашга ёрдам беради.

ХУЛОСАЛАР

1. Хромасомали препаратнинг бир бирлик майдонидаги метафаз пластинкалар миқдорини ҳисоблашга асосланган культивацияланувчи ҳужайралардаги пролиферативфаоллигини баҳолаш мезони -МФП/S_{287} кўрсаткичи ишлаб чиқилди. Хромасома препаратларининг сифатини интеграл кўрсаткичи ($\int_{ХПС}$) ни жорий этилиши ва «ҳужайранинг ўсиши», «метафаза пластинкаси», «кариотип», «хромасома морфологияси», «хромасомани бўялиши», «хромасома таснифи», «1 хромасомалар бэндинги» ларни тавсиф даражасини аниқлашга асосланган, стандарт цитогенетик текширишларда хромасомали препаратлар сифатини тизимли баҳолаш ишлаб чиқилди.

2. Яратилган мезонларни қўлланиш самарадорлиги-МФП/S_{287} ни ҳисоблаш асосида ҳуайрани *in vitro* ўсишини таҳлил қилиш билан кўрсатилди: сурункали миелопролиферативнеоплазия беморлари гуруҳида кўрсаткичнинг ўртача белгиси 153,07±43,68, назорат гуруҳида эса – 286,86±32,50 ни ташкил этди $p<0,05$. $\int_{КХП}$ фойдаланиш билан хромасомали препаратлар сифатини баҳолаш назорат гуруҳида турғун натижани, сурункали миелопролиферативнеоплазия уларда ва шартли соғлом шахсларда хромасомали препаратлар сифатида ишончли фарқни (мос холда,

$\Sigma \int_{ХПС}$ – 14,18 ва 18,11 балл, $p<0,05$), шунингдек гемабластозли беморлардаги танлов чегарасидаги сифат вариациясини (47,1% беморларда – $\int_{ХПС}$ 16 баллдан юқори, 49,4% – $\int_{ХПС}$ 11-15 балл, 3,5% – $\int_{ХПС}$ 6-10 балл) намойиш этди.

3. Стандарт цитогенетик текширишларни ўтказишда ҳуайраларнинг *in vitro* пролиферативф фаоллигини оптимал белгиси бўлиб, метафазнинг бирлик майдонидаги 286,86 (~287) га тенг бўлган метафаз пластинкаларнинг МФП/S_{287}–кўрсаткичи ҳисобланади. $\int_{ХПС}$ белгиси, сурункали миелопролиферативф неоплазияда қўшимча хромасома аномалиялари ва вариантларини самарали аниқлаш учун энг кам даражада зарур бўлиб, у 11 дан 21-баллгача бўлган шкаладан паст бўлмаслиги керак.

4. МФП/S_{287} ва $\int_{ХПС}$ мезонларидан фойдаланиш кўрсатдики, стандарт цитогенетик текширишларда хромасомали препаратларнинг сифат даражасини ортиши транслокациянинг цитогенетик намоён бўлиши бўлиб ҳисобланган t(9;22)(q34;q11.2) нафақат Ph-хромосомалар (der22)нинг маркери, шунингдек бошқа сурункали миелопролиферативф неоплазия беморларидаги хромасома аномалиялари (транслокация вариантлари, ҚХН) ва гемабластозсиз шахсларни ҳам аниқлаш имкониятини оширади.

5. Аниқландики, лейкоз ҳужайраларини *in vitro* пролиферативф фаоллиги (ёмон ўсиши) ни пастлиги ва метафаз пластинкаларнинг ёмон сифати қуйидагилар билан ассоциацияланган: умумий қон таҳлили натижалари бўйича метамиелоцитларнинг нисбий миқдорини пасайиши билан (7,5%дан камга) ва лимфоцитларнинг нисбий миқдорини ортиши (17,5%дан юқорига); миелограмма натижалари бўйича бласт ҳужайраларининг нисбий миқдорини пасайиши билан (0,6-0,7% дан камга), миелоцитлар (9,5% камга), метамиелоцитлар (12,0%дан камга); қон зардобининг биокимёвий таҳлил натижалари бўйича қон зардобида умумий оқсил миқдорини (65%дан кам) пасайиши кузатилди. Лейкоз ҳужайраларининг юқори *in vitro* пролиферативф фаоллиги (яхши ўсиши) ва метафаз пластинкаларнинг юқори сифати гемограмма натижалари бўйича етилмаган гранулоцитларнинг нисбий миқдорини (26,0%дан юқори) ва нейтрофилларни (77,0%дан кўпга) ортиши билан ассоциацияланади.

6. Хромасомали препаратларнинг сифатини мезонли баҳолаш учун ишлаб чиқилган тизими метафаз хромасома препаратларини якуний хусусиятининг таксировкаси ва объектив мониторингининг самарали асбоби бўлиб ҳисобланади. МФП/S_{287}, кўрсаткичи услубий ёндошувларни оптималлаштиришни баҳолаш учун илмий-амалий мақсадларда, шунингдек лейкозли ўзак ҳужайраларни даволашга чидамлилигини нисбий миқдорини аниқлаш учун фойдаланилиши мумкин. $\int_{КХП}$ даражаси аниқланган хромасома нуқсонлари ва беморнинг лейкоз ҳужайралари кариотипи ҳолати тўғрисидаги цитогенетик хулосанинг ишончлилик кўрсаткичи бўлиб хизмат қилиши мумкин ҳамда у стандарт цитогенетик текширишларнинг расмий жавобига киритилиши лозим.

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

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ

АССЕСОРОВА ЮЛИАНА ЮРЬЕВНА

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОПТИМИЗАЦИИ И КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА СТАНДАРТНОГО ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ

14.00.29 – Гематология и трансфузиология

АВТОРЕФЕРАТ
ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК (DSc)

ТАШКЕНТ – 2024

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за № B2021.1.DSc/B136.

Диссертация выполнена в Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре гематологии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.tma.uz) и Информационно-образовательного портала «ZiyoNet» (www.ziyonet.uz).

Научный консультант:	**Каримов Хамид Якубович** доктор медицинских наук, профессор
Официальные оппоненты:	**Гильдиева Маргарита Сабировна** доктор биологических наук
	Убайдуллаева Зухра Ибрагимовна доктор медицинских наук
	Баховадинов Бурхонидин Баховадинович доктор медицинских наук, профессор
Ведущая организация:	**Андижанский государственный медицинский институт**

Защита диссертации состоится «____» _____ 2024 г. в _____часов на заседании разового научного совета на основе Научного совета DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 при Ташкентской медицинской академии. (Адрес: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Фароби, дом 2. Зал заседания 1-го учебного корпуса Ташкентской медицинской академии. Тел./факс: (+99878) 150-78-25; e-mail: 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 «_____»_____ 2024 года.

(реестр протокола рассылки №_____ от «_____»_____ 2024 года)

А.Г. Гадаев
Председатель разового научного совета на основе научного совета по присуждению ученых степеней, доктор медицинских наук, профессор

Д.А. Набиева
Ученый секретарь разового научного совета на основе научного совета по присуждению ученых степеней, доктор медицинских наук, профессор

Ш.А. Бабаджанова
Председатель научного семинара при разовом научном совете на основе научного совета по присуждению ученых степеней, доктор медицинских наук, профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора наук (DSc))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Проблема гемобластозов продолжает оставаться актуальной во всем мире. Одним из методов диагностики онкогематологических больных является стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ), возможности которого не ограничены конкретными молекулярными локусами и позволяют оценить состояние всего кариотипа. В случае хронической миелопролиферативной неоплазии СЦИ позволяет выявить не только классические и вариантные формы транслокации с участием хромосом 9 и 22, но также дополнительные хромосомные аномалии, ассоциирующиеся с отрицательным ответом на лечение заболевания и бластной трансформацией.

В мире проводится немало научных исследований, направленных на разработку новых, а также на совершенствование уже существующих методов эффективной диагностики гемобластозов. Было показано, что в ряде случаев проведение СЦИ у пациентов с гемобластозом может быть затруднено из-за недостаточного количества и качества метафазных пластинок, что не позволяет идентифицировать хромосомы в соответствии с системой цитогеномной номенклатуры ISCN и выявлять их изменения. Однако объективные критерии оценки качества анализа кариотипа, а также факторы, влияющие на эффективность СЦИ, остаются недостаточно изученными.

В нашей республике особое внимание уделяется научным исследованиям и осуществлению мероприятий по развитию медицинской сферы, в том числе – обеспечению качества обследования при диагностике больных гемобластозом. В указе Президента Республики Узбекистан от 7 декабря 2018 года ПФ-5590 «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения» «...повышение эффективности, качества и комфортности медицинской помощи в нашей стране, а также внедрение высокотехнологичных методов диагностики и лечения заболеваний...»[1] определены как приорететные задачи. Исходя из этих задач, особое значение приобретает улучшение качества жизни и снижение уровня смертности онкогематологических больных, в том числе за счет повышения достоверности результатов генетических методов исследований для надежной диагностики и эффективного лечения.

Диссертационное исследование в определённой степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан №ПФ-60 от 28 января 2022 года «Об основах новой стратегии развития Узбекистана на 2022-2026 годы», PQ-5124 от 25 мая 2021 года «О дополнительных мерах по комплексному развитию сектора здравоохранения», Решения PQ-4891 от 12 ноября 2020 года «О дополнительных мерах по обеспечению общественного здоровья путем дальнейшего повышения эффективности лечебно-профилактической работы» и иных нормативно-правовых актах, касающихся данной деятельности.

[1] Указ Президента Республики Узбекистан №УП-5590 «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан» от 7 декабря 2018 года.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики. Данное исследование выполнено в соответствии с основными задачами приоритетного направления развития науки и технологий Республики Узбекистан: VI «Медицина и фармакология» по программе ГНТП-10 «Совершенствование охраны здоровья населения путем разработки новых технологий и методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний».

Обзор зарубежных исследований по теме диссертации[2]. Научные исследования, посвященные цитогенетической диагностике гемобластозов, а также изучению связи генетических перестроек в лейкозных клетках с характерными клинико-лабораторными особенностями и течением заболевания, проводились в ведущих мировых исследовательских центрах и высших учебных заведениях, включая GenQA, John Radcliffe Hospital, Oxford University Hospitals NHS Trust, (Оксфорд, Великобритания); Department of Genetics University Medical Center Groningen, University of Groningen, (Гронинген, Нидерланды); MLL-Munich Leukemia Laboratory (Мюнхен, Германия); Hematopathology Section, Hospital Clinic, (Барселона, Испания); Oncogénomique laboratory, Hematology department, Lausanne University Hospital (Швейцария); Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic Hospital (США); Department of Hematology, Affiliated Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (Китай) и другие.

По результатам международных исследований, проводившихся в области цитогенетики и аномалий кариотипа у онкогематологических больных, были выдвинуты следующие научно обоснованные положения: на основе данных цитогенетического анализа разработаны дифференциально-диагностические критерии, признанные ВОЗ и ELN обязательными при хроническом миелоидном лейкозе (WHO Classification of tumours of lymphoid and hematopoietic tissues, 2017; European LeukemiaNet recommendations for treating chronic myeloid leukemia, 2020); выявление маркерных генетических изменений при первичном обследовании больного с подозрением на гемобластоз позволяет верифицировать диагноз, а при мониторинге позволяет оценивать эффективность терапии (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии», 2019; Charite Clinic, Berlin Medical University, 2019); в виду необходимости проведения цитогенетических исследований при гемобластозах предложены рекомендации, позволяющие поддерживать качество при проведении цитогеномного тестирования в рамках международных стандартов (Oxford University Hospitals NHS Trust, Department of Genetics University Medical Center Groningen, 2019).

Кроме того, в мире проводятся исследования по такому приоритетному направлению, как разработка практически перспективных методов, позволяющих определить результативность стандартного цитогенетического

[2] Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации выполнен на базе https://www.sciencedirect.com/, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/, https://scholar.google.com/ и других источников.

исследования, в том числе – разработка системы внешней оценки качества приготовления цитогенетических препаратов и хромосомного анализа (ФГБНУ Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, 2017). Однако до настоящего времени разработка объективных критериев оценки качества препаратов метафазных хромосом, анализ достоверности заключения о диагностических и прогностических цитогенетических изменениях у пациентов с хронической миелопролиферативной неоплазией, получение информации о факторах, влияющих на результативность стандартного цитогенетического анализа, не проводились.

Степень изученности проблемы. Результативность СЦИ при гемобластозе обуславливается возможностью идентификации хромосом по ISCN и эффективностью выявления цитогенетических изменений, что во многом зависит от качества хромосомных препаратов. Несмотря на соблюдение единых условий культивирования, приготовления и окрашивания хромосомных препаратов, количество метафазных пластинок, а следовательно и результативность СЦИ у отдельных пациентов с гемобластозом могут быть различными (Dawson A.J., Yanofsky R., 2011; Алексанян М.Ж., Асеева Е.А., 2012). Наличие данной проблемы отмечается рядом исследователей (Howe B., Umrigar A., 2014; Zeng Y., 2017; Антоненко В.Г., Шилова Н.В., 2018; Кузнецова Т.В., Шилова Н.В., 2019), однако все существующие в настоящее время рекомендации по улучшению качества СЦИ относятся лишь к области организации и стандартизации лабораторной службы, а также – к модификациям методики проведения хромосомного анализа. При этом факторы, определяющие уровень митотической активности лейкозных клеток *in vitro,* до настоящего времени не изучены.

Известно, что показатели гемограммы, миелограммы, биохимических и других анализов пациента, отражающие фазу или тяжесть онкогематологического процесса, определяются уровнем эндогенных факторов, имеющих причинно-следственную связь с лейкозом, которые могут оказывать ингибирующее или стимулирующее влияние на пролиферативную активность клеток. Так, показано, что на жизнеспособность и пролиферацию клеток влияют условия оксигенации (Моэн Ингрид, Стур Е.Б. Линда, 2015), количество тромбоцитов (Yan M., Jurasz P. 2016; Wang Q., Li Z., 2018), активность эозинофилов (Januskevicius A., Vaitkiene S., 2016; Wichert S., Pettersson Å., 2018) и базофилов (Rodriguez Gomez M., Talke Y., 2010); медиаторы и клеточные эффекторы воспаления: С-реактивный белок (Абдрахманова А.И, Амиров Н.Б, 2019), уровни альбумина (Gupta D., Lis C.G., 2010; Zou Y.X., Qiao J., 2019) и фибриногена (Wang Y., Chen W., 2017); уровень внутриклеточного кальция (Ca^{2+}) (Ma X.L., Liu H.Q., 2011; Masterton S., Ahearne M., 2019), химически активных форм железа и печеночных ферментов (Yassin M.A., Soliman A., 2018; Haschka D., Petzer V., 2018), а также уровень метионина и активность его синтеза из гомоцистеина (Davydov D.Zh., Morozova E.A., 2017). Однако связь этих и других гематологических и биохимических показателей с успешным ростом лейкозных клеток, культивируемых в

условиях *in vitro* для дальнейшего проведения хромосомного анализа, до настоящего времени не изучалась.

В Республике Узбекистан оценка работы лабораторно-генетической службы в целом, и качества исследований по выявлению конститутивных и приобретенных хромосомных аномалий, в частности, до настоящего времени не проводилась по причине отсутствия объективных инструментов контроля качества.

Поиск факторов, влияющих на результативность СЦИ, требует применения объективных критериев оценки качества хромосомных препаратов, которые до настоящего времени не были разработаны. Вследствие этого назрела необходимость разработки критериев качества препаратов метафазных хромосом, позволяющих проводить их объективную и стандартизированную оценку при межлабораторном и лабораторно-клиническом взаимодействии и определять достоверность и надежность результатов кариотипирования у больных хронической миелопролиферативной неоплазией.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена научная работа. Данная диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра гематологии РУз по теме «Разработка молекулярных тест-систем для выявления изменений экспрессии химерных онкогенов *BCR::ABL1* p210 и *BCR::ABL1* p190 при диагностике и мониторинге остаточных опухолевых клеток» (2021-2023 гг). Номер госрегистрации: АЛ-51-тур21081303.

Цель исследования: разработка критериальной оценки качества препаратов метафазных хромосом и обоснование оптимизации условий пробоподготовки для повышения эффективности хромосомного анализа у больных гемобластозами.

Задачи исследования:

провести таксировку характерных цитологических и морфологических признаков метафазных пластин, выявить параметрические критерии и разработать систему оценки клеточного роста и качества хромосомных препаратов при стандартном цитогенетическом исследовании;

провести анализ клеточного роста и качества хромосомных препаратов для оценки результативности СЦИ у больных хроническими миелопролиферативными неоплазиями и у субъектов без гемобластоза;

провести анализ частоты и спектра хромосомных аномалий у больных хроническими миелопролиферативными неоплазиями и у субъектов без гемобластоза для обоснования эффективности применения разработанной системы оценки качества хромосомных препаратов;

проанализировать связь качества препаратов метафазных хромосом с уровнем гематологических и биохимических показателей у больных хроническими миелопролиферативными неоплазиями и у субъектов без гемобластоза;

с учетом результатов исследования разработать принципы организации, порядка выполнения и контроля качества хромосомного анализа методом стандартного цитогенетического исследования у больных гемобластозами.

Объект исследования. В исследование по разработке критериальной системы оценки качества хромосомных препаратов были включены 180 больных ХМПН, проходивших обследование и лечение в РСНПМЦГ МЗ РУз, и 226 субъектов без гемобластоза, обследуемых на наличие конститутивных хромосомных нарушений; 179 больных ХМПН и 84 обследуемых субъектов без гемобластоза были включены в исследование по оценке эффективности разработанной системы, а также влияния гематологических и биохимических показателей на клеточный рост и качество препаратов метафазных хромосом.

Предметом исследования стали костный мозг и кровь пациентов с ХМПН и без гемобластоза, а также делящиеся *in vitro* клетки, метафазные пластинки и метафазные хромосомы.

Методы исследования. При выполнении диссертационной работы были использованы: стандартный цитогенетический метод с технологией GTG-бэндинга, метод световой микроскопии с увеличением X200 и X1000, оценка пролиферативной активности культивируемых *in vitro* клеток, общепринятые клинико-лабораторные методы исследования морфологического состава клеток крови, костного мозга, биохимического состава сыворотки крови, общепринятые гемостазиологические методы исследования, статистические методы обработки полученных данных.

Научная новизна исследования заключается в следующем.

Впервые в мире получены данные, позволившие разработать индексы МФП/S_{287} и $\int_{КХП}$, которые являются объективными критериями оценки пролиферативной активности клеток *in vitro* и качества хромосомных препаратов при стандартном цитогенетическом исследовании.

Установлено, что значение разработанного нами оценочного критерия клеточного роста *in vitro* – количества необходимых для стандартного цитогенетического исследования метафазных пластинок на единицу площади хромосомного препарата (МФП/S_{287}), должно составлять не менее 287.

Показано, что значение разработанного нами оценочного критерия – интегрального показателя качества хромосомных препаратов ($\int_{КХП}$), необходимое для эффективного выявления диагностических и прогностических аномалий кариотипа при хронических миелопролиферативных заболеваниях, должно составлять не менее 11 баллов по 21-бальной шкале.

Впервые доказано, что высокое качество хромосомных препаратов при хронических миелопролиферативных заболеваниях увеличивает вероятность обнаружения не только маркерной транслокации t(9;22)(q34;q11.2), цитогенетическим проявлением которой является Ph-хромосома (der22), но и других количественных и структурных аномалий хромосом.

Впервые в практике цитогенетических исследований в онкогематологии установлено, что низкая пролиферативная активность лейкозных клеток *in vitro* и плохое качество метафазных пластинок у больных хронической

миелопролиферативной неоплазией достоверно ассоциируются со снижением относительного количества метамиелоцитов (менее 7,5%) и увеличением относительного количества лимфоцитов (более 17,5%) в крови, со снижением относительного количества бластных клеток (менее 0,7%), миелоцитов (менее 9,5%) и метамиелоцитов (менее 12,0%) в костном мозге, а также со снижением в сыворотке крови общего белка (менее 65 г/л).

Практические результаты исследования:

обосновано использование объективного и точного критерия пролиферативной активности клеток *in vitro* – показателя МФП/S_{287} для оценки клеточного роста и количества метафазных пластинок, пригодных для анализа кариотипа, как в практическом аспекте, так и в научно-исследовательских целях при оптимизации методологии СЦИ;

подтверждена целесообразность использования показателя МФП/S_{287} для оценки количества пролиферативно активных и лейкозных стволовых клеток (ЛСК), что по причине резистентости ЛСК к противоопухолевой терапии имеет прогностическую значимость и определяет тактику лечения;

оценка хромосомных препаратов на основании критериев «клеточный рост», «метафазная пластинка», «кариотип», «морфология хромосом», «окраска хромосом», «классификация хромосом», «бэндинг хромосомы 1» позволит врачу-цитогенетику персонализированно и поэтапно оптимизировать условия пробоподготовки при СЦИ;

обснована значимость показателя $\int_{КХП}$ при оценке результатов кариотипирования при контроле качества исследования в цитогенетических лабораториях;

доказано, что контроль качества хромосомных препаратов в лаборатории обеспечивает соответствие уровня цитогенетических исследований требованиям мировых стандартов.

Достоверность полученных результатов обеспечивается применением методов, адекватных предмету исследования, и четкой определенностью методологических позиций; использованием методов и критериев статистического анализа, соответствующих типу и зависимости данных, параметрическому распределению, количеству групп сравнения; статистической мощностью исследования, обусловленной достаточным размером выборки; непротиворечивостью выводов и оценок полученных результатов; репрезентативностью полученных данных и воспроизводимостью результатов.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования определяется разработкой дискретных критериев и методов оценки пролиферативной активности культивируемых клеток (МФП/S_{287}) и качества цитологических препаратов метафазных хромосом ($\int_{КХП}$) при стандартном цитогенетическом исследовании.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что показатель МФП/S_{287} может быть использован для оценки клеточного

роста *in viro* при оптимизации имеющихся и при разработке новых методических подходов культивирования клеток, а также для клинико-лабораторного определения относительного количества устойчивых к терапии лейкозных стволовых клеток; показатель $\int_{КХП}$ позволит проводить объективную оценку качества препаратов метафазных хромосом, а также оценку достоверности цитогенетического заключения о состоянии кариотипа лейкозных клеток пациента и выявленных хромосомных аномалиях.

Внедрение результатов исследования.

На основании научных результатов, полученных при изучении клеточного роста *in vitro* и качества хромосомных препаратов для оценки результативности СЦИ у больных хронической миелопролиферативной неоплазией и у субъектов без гемобластоза, а также связи качества препаратов метафазных хромосом с уровнем гематологических и биохимических показателей пациентов:

Министерством здравоохранения внедрены методические рекомендации «Оценка эффективности и качества выполнения стандартного цитогенетического исследования у больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями» (заключение МЗ РУз №8 н-р/1260 от 09.12.2021 г.), повышающие соответствие результатов кариотипирования больных ХМПН требованиям мировых стандартов (ISCN), способствующие обеспечению своевременной точной диагностики ХМПН, принятию оптимального клинического решения по выбору терапии, эффективному мониторингу лечебного процесса, снижению количества больных с прогрессирующими стадиями заболевания;

Министерством здравоохранения внедрены методические рекомендации «Совершенствование стандартного цитогенетического исследования на основе учета характеристических признаков цитологических препаратов метафазных хромосом» (заключение МЗ РУз №8 н-р/1261 от 09.12.2021 г.), позволяющие внедрить методы контроля качества выполнения и достоверности заключения выполненного цитогенетического исследования и минимизировать случаи расхождения заключения СЦИ и клинического диагноза.

Практическая оценка эффективности и качества выполнения стандартного цитогенетического исследования у больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями внедрена в клиническую практику Бухарского государственного медицинского института им. Абу Али Ибн Сино, Отделения гематологии Многопрофильного медицинского центра Андижанской области, Бухарского областного медицинского объединения Джандорского района (Бухарский государственный медицинский институт им. Абу Али Ибн Сино 2022 приказ № 81/1 от 25 февраля, Андижан от 15 июля 2023 г. № 23, Бухарское областное медицинское объединение ХССБ Джандорского района от 15 апреля 2022 г. № 32/1), что позволило врачам проводить оценку достоверности заключения СЦИ, исключать ошибки диагностики и выбирать оптимальную тактику лечения хронической миелопролиферативной неоплазии.

Методология совершенствования стандартного цитогенетического исследования на основе учета характеристических признаков цитологических препаратов метафазных хромосом при стандартном цитогенетическом исследовании у пациентов с хроническими лимфопролиферативными заболеваниями и врожденным хромосомными аномалиями внедрены в практику Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и клинической радиологии МЗ РУз и Клинику репродуктивной медицины “DOCTOR D” (Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и клинической радиологии МЗ РУз – приказ №87 от 11.03.2022г.; клиника репродуктивной медицины “DOCTOR D” – приказ №5 от 12.09.2023г.). Результатом внедрения является верификация врачами с учетом точности данных кариотипирования клинического диагноза и своевременное назначение адекватного лечения, что обусловливает снижение уровня инвалидности и смертности населения.

Апробация результатов исследования. Результаты данного научного исследования были доложены и обсуждены на 8 научно-практических конференциях, одном конгрессе, одном научном форуме, включая 5 зарубежных.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 32 научные работы, включая 17 статей в рецензируемых научных журналах (в том числе 6 статей в зарубежных изданиях и 11 – в изданиях Республики Узбекистан).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических предложений, списка использованной литературы, приложений, перечня используемых сокращений. Объем диссертации составляет 197 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность темы диссертационной работы и проведенного исследования, отмечено соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, показана степень изученности проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, обозначены объект и предмет исследования, характеризуются основные методы, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются теоретическая и практическая значимость полученных результатов и условия их достоверности, приводятся сведения о внедрении результатов исследования в практику, по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Значение и особенности цитогенетических исследований у больных хронической миелопролиферативной неоплазией»** по результатам аналитического обзора научной литературы изложены современные данные о генетических изменениях при гемобластозах. В частности, рассмотрены виды генетических

изменений в гемопоэтических клетках и их значимость для диагностики и мониторинга лейкозов, охарактеризованы специфические, рекуррентные и уникальные генетические изменения, играющие важную роль в диагностике, мониторинге течения и контроле терапии ХМПН. Отдельно описаны генетические изменения, выявляемые при хроническом миелоидном лейкозе и при Ph-отрицательных ХМПН. Даны представления о способах детекции цитогенетических изменений при ХМПН, включая стандартное цитогенетическое исследование и молекулярно-цитогенетические исследования на основе флюоресцентной in situ гибридизации. При этом подчеркивается взаимодополняемость результатов генетических методов исследования при ХМПН. Особое внимание уделено факторам, влияющим на клеточный рост *in vivo* в культуральных условиях, а также регуляции процессов деления гемопоэтических и лейкозных стволовых клеток. На основании анализа информации, представленной в литературе, выделены основные тенденции и направления в поиске факторов, определяющих качество хромосомных препаратов и результативность СЦИ, а также дано обоснование научно-теоретического интереса и практической значимости рассматриваемой проблемы, обусловивших необходимость проведения настоящего исследования.

Во второй главе диссертации «Материалы и методы, использованные при кариотипировании и оценке качества стандартного цитогенетического исследования» дается характеристика исследуемой выборки, которую составили 359 больных (основная группа) с диагнозом хроническая миелопролиферативная неоплазия (ХМПН), а также 310 условно здоровых (без гемобластоза) лиц (группа контроля).

Объектом исследования стали метафазные пластинки, полученные из лейкозных клеток костного мозга и венозной крови больных ХМПН, а также – из ФГА-стимулированных лимфоцитов венозной крови условно здоровых лиц. Предметом исследования явились пролиферативная активность клеток *in vitro*, цитологические и морфологические признаки метафазных пластин и метафазных хромосом на цитогенетических препаратах, а также определение возможности их объективной оценки и обоснование достоверности результата кариотипирования у больных ХМПН.

В главе описывается использованная методология культивирования клеток *in vitro*, приготовления цитологических препаратов метафазных хромосом, окрашивания цитогенетических препаратов. Излагаются принципы нового способа оценки пролиферативной активности клеток *in vitro* на основе подсчета количества метафазных пластинок (МФП) на единице площади хромосомного препарата (S). Приводятся стандарты (ISCN) анализа метафазных хромосом, окрашенных по технологии GTG-бэндинга. В соответствии с задачами исследования характеризуется использованная методология изучения гематологических, морфологических, биохимических и гемостазиологических показателей крови. В заключении второй главы дается обоснование выбора статистических тестов и

показателей с учетом характера данных, включённых в анализ, и указывается уровень значимости показателя достоверности различий ($p \leq 0,05$).

В третьей, четвертой и пятой главах, приведены **результаты собственных исследований и их обсуждение**.

В третьей главе «Разработка критериальной системы оценки качества цитологических препаратов при стандартном цитогенетическом исследовании» приведены основные требования к оценке пролиферативной активности клеток *in vitro* при СЦИ и принципы расчета показателя количества метафазных пластинок (МФП/S_{287}).

Показатель МФП/S_{287} был использовн нами для оценки пролиферативной активности *in vitro* лейкозных клеток костного мозга (КМ) и венозной крови (ВК) у больных ХМПН, а также ФГА-стимулированных лимфоцитов венозной крови у субъектов контроля, не имевших онкогематологического заболевания.

Исследование показало, что среднее значение МФП/S_{287} в группе контроля составило 286,86±32,50, тогда как в группе больных ХМПН данный показатель достигал лишь 153,07±43,68 ($t=2,46$; $p=0.0147$), что говорит о достоверно более низкой пролиферативной активности *in vitro* лейкозных клеток больных ХМПН. Кроме того, было установлено, что в культуральных условиях пролиферативная активность оказалась вариабельна как для клеток больных миелоидным лейкозом, так и для лимфоцитов условно здоровых лиц, у которых бластоз был искусственно индуцирован *in vitro* мтогеном ФГА (Табл.1). Сравнительная оценка среднего значения МФП/S_{287} у больных ХМПН показала отсутствие различий в пролиферативной активности *in vitro* лейкозных клеток, находящихся в костном мозге и циркулирующих в крови пациентов (Табл.2).

Полученные результаты дают ответ на дискуссионный вопрос о целесообразности использования крови больных ХМПН в качестве материала для СЦИ и свидетельствуют о том, что венозная кровь может использоваться в качестве источника лейкозных клеток для получения хромосомных препаратов в той же мере, что и костный мозг.

Таблица 1

Уровень пролиферативной активности *in vitro* клеток ВК условно здоровых (контроль) и больных ХМПН

Показатель пролиферативной активности клеток (МФП/S_{287})	Кол-во **УЗ** обследованных (контроль, n=84)		Кол-во обследованных больных **ХМПН** (n=150)		Данные статистического анализа
	n	%, M±m	n	%, M±m	
Нет МФП	2	2,38±1,66	12	8,00±2,22	t=2,03; **p<0,05**
1-200	31	36,90±5,27	103	68,67±3,79	t=4,90; **p<0,05**
201-400	33	39,28±5,33	25	16,67±3,04	t=3,69; **p<0,05**
>400	18	21,43±4,48	10	6,67±2,04	t=3.0; **p<0,05**
M±m	**286,86**±32,50		**153,07**±43,68		t=2,46; **p=0.0147**
ВК – венозная кровь; УЗ – условно здоровые; МФП – метафазные пластинки					

Таблица 2

Доля больных ХМПН с различным уровнем пролиферативной активности *in vitro* клеток ВК и КМ

Показатель пролиферативной активности клеток (МФП/S_{287})	Кол-во больных ХМПН, которым СЦИ проводилось по препаратам из **ВК** (n=150)		Кол-во больных ХМПН, которым СЦИ проводилось по препаратам из **КМ** (n=150)		Данные статистического анализа
	n	%, M±m	n	%, M±m	
Нет МФП	12	8,00±2,22	12	8,00±2,22	t=0,00; **p>0,05**
1-200	103	68,67±3,79	96	64,00±3,92	t=0,86; **p>0,05**
201-400	25	16,67±3,04	18	12,00±2,65	t=1,16; **p>0,05**
>400	10	6,67±2,04	24	16,00±2,99	t=2,58; **p<0,05**
M±m	**153,07**±43,68		**299,53**±112,16		t=1,22; **p>0,2249**
ВК – венозная кровь; УЗ – условно здоровые; МФП – метафазные пластинки					

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что МФП/S_{287} является объективным критерием и эффективным инструментом оценки количества метафазных пластинок на препарате и пролиферативной активности клеток, культивируемых для СЦИ. Кроме того, показатель МФП/S_{287} может быть использован для определения количества лейкозных стволовых клеток (ЛСК), представляющих собой устойчивую к терапии патологическую клеточную популяцию, обладающую пролиферативным потенциалом и способную генерировать лейкемические клоны (Kikushige Y, Shima T, 2010; Sadovnik I, Hoelbl-Kovacic A, 2016; Xu B, Wang S, 2017).

Далее в третьей главе диссертации изложены принципы р**азработки критериев качества метафазных пластинок** для оценки цитологических препаратов при стандартном цитогенетическом исследовании.

Результативность СЦИ определяется возможностью идентифицировать и классифицировать хромосомы в соответствии с ISCN и связана с качеством цитогенетических препаратов.

Показателем качества цитогенетического препарата являются количество и визуальные параметры метафазных пластинок и хромосом, определяемые при микроскопировании. Однако использование описательных критериев качества метафазных пластинок в практике связано с необходимостью знаний основ цитогенетики и базовой терминологии.

Для доступного и объективного анализа качества хромосомных препаратов при СЦИ с использованием технологии GTG-бэндинга нами была разработана система балльной оценки (СБО), в основе которой лежит определение уровня таких характеристик (категорий), как клеточный рост (Р), метафазная пластинка (МФ), кариотип (КП), морфология хромосом (Мх или $ХИ_{1/21}$), окраска хромосом (Ох), классификация хромосом (КЛх), бэндинг хромосомы 1 (Б-1). Принцип разработанной системы заключается в том, что каждая из семи характеристических категорий оценивается ранжированно по трехбалльной системе – с последующим выведением суммарного интегрального балла качества хромосомных препаратов ($\int_{КХП}$):

$$\int_{КХП} = Р(n)+МФ(n)+КП(n)+Мх(n)+Ох(n)+КЛх(n)+Б\text{-}1(n),$$

где (n) – балл, присуждаемый каждой категории качества.

Исследование показало, что в группе субъектов без гемобластоза (пациенты с подозрением на врожденные аномалии кариотипа) все хромосомные препараты имели уровень качества не ниже $\int_{КХП}$11-15. При этом, мутационные изменения были выявлены у 44 человек (19,13%). Полученные результаты свидетельствуют о том, что уровнень качества хромосомных препаратов с $\int_{КХП}$ 11 баллов и выше является достаточными для выявления количественных и структурных хромосомных мутаций, включая транслокации, делеции, инверсии, дицентрические и дериватные хромосомы (Табл. 3).

Таблица 3

Спектр цитогенетических аномалий, выявляемых при различных уровнях качества хромосомных препаратов у лиц без гемобластоза

Тип генетических аномалий, выявляемых методом СЦИ	Интегральный показатель качества хромосомных препаратов ($\int_{КХП}$)					
	1-5 (n=3)	**6-10** (n=0)	**1-5** (n=3)		**16-21** (n=206)	
			Абс.	%	Абс.	%
Идентификация генетического пола	-	-	1	4,17	12	5,82
Количественные мутации:						
- анеуплоидии (моносомия, трисомия)	-	-	1	4,17	11	5,34
Структурные перестройки:						
- дериватные хромосомы (неидентифицированные перестройки)	-	-	1	4,17	4	1,94
- транслокации	-	-	-	0	8	3,88
- делеции	-	-	-	0	1	0,48
- инверсии	-	-	1	4,17	3	1,45
- дицентрические хромосомы	-	-	-	0	1	0,48
ЦГНК:	-	-	20	83,33	181	87,86

В группе больных ХМПН только 65,9% пациентов имели уровень качества хромосомных препаратов $\int_{КХП}$11-21, тогда как у 34% интегральный показатель был ниже 10 баллов. У 179 больных ХМПН было выявлено 210 мутаций (у ряда пациентов в кариотипе присутствовало одновременно несколько цитогенетических аномалий). При этом исследования показали отчетливую зависимость результативности СЦИ от уровня качества хромосомных препаратов (Табл. 4): при $\int_{КХП}$6-10 в кариотипе больных средняя выявляемость цитогенетических изменений составляла 1,23 мутации на больного, при $\int_{КХП}$11-15 – 1,37, а при $\int_{КХП}$16-21 – 1,62 мутации. По мере увеличения качества хромосомных препаратов расширялся и спектр цитогенетических аномалий, выявляемых у больных ХМПН. Т.о, повышение уровня качества хромосомных препаратов увеличивало возможность выявления не только маркерной Ph-хромосомы (der22), но также деривата хромосомы 9 и других хромосомных аномалий, что позволило повысить детектируемость вариантных транслокаций с участием хромосом 9 и 22, а также других цитогенетических изменений.

Таблица 4

Спектр цитогенетических аномалий, выявляемых при различных уровнях качества хромосомных препаратов у больных ХМПН

Тип генетических аномалий, выявляемых методом СЦИ	Интегральный показатель качества хромосомных препаратов (∫кхп)							
	1-5 (n=3)		**6-10** (n=58)		**11-15** (n=92)		**16-21** (n=26)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Количественные мутации:								
- полиплоидия	-	-	-	0	1	1,09	1	3,85
- анеуплоидия (моносомия, трисомия)	-	-	-	0	6	6,52	-	0
Структурные перестройки:								
- маркерная Ph-хромосома	3	100	40	68,96	65	70,65	20	76,92
- транслокация t(9;22)(q34;q11.2)	-	-	4	6,89	38	41,30	15	57,69
- вариантные транслокации с участием хромосом 9 и 22	-	-	-	0	4	4,34	4	15,38
- другие транслокации	-	-	1	1,72	3	3,26	-	0
- делеции	-	-	-	0	2	2,17	-	0
- инверсии	-	-	-	0	2	2,17	1	3,85
- дериватные хромосомы (неидентифицированные перестройки)	-	-	2	3,45	5	5,43	1	3,85
ЦГНК:	-	-	18	31,03	16	17,39	4	15,38

Данные, представленные в третьей главе, обосновывают зависимость результативности кариотипирования и выявления цитогенетических аномалий в лейкозных клетках больных ХМПН от уровня качества хромосомных препаратов. Нами было показано, что уровень качества хромосомных препаратов может быть объективно определен на основании системы критериальной оценки качества хромосомных препаратов (КОКХП). Использование данной системы при СЦИ больных с гемобластозами позволит: минимизировать возможность пропуска генетических перестроек и выдачи заключения «цитогенетически нормальный кариотип» при наличии в кариотипе хромосомных аномалий; получать объективную информацию о выявленных хромосомных аномалиях, имеющих диагностическое и прогностическое значение, и уровне достоверности заключения о состоянии кариотипа лейкозных клеток пациента для принятия клинических решений и планирования индивидуального алгоритма дальнейших генетических исследований больного.

В четвертой главе приведены результаты анализа результативности СЦИ на основе разработанной системы КОКХП, а также анализа частоты и спектра хромосомных аномалий у больных ХМПН и субъектов без онкогематологической патологии.

Исследование показало, что при сравнении групп больных лейкозом и лиц без онкогематологической патологии достоверные различия ($p<0,05$) среднегруппового значения (M±m) наблюдались по каждой из семи категорий хромосомных препаратов (Р, МФ, КП, $ХИ_{1/21}$, Ох, КЛх, Б-1) (Табл. 5).

Таблица 5

Среднее значение показателей критериев качества хромосомных препаратов у больных ХМПН и в контрольной группе

№	Категории качества хромосомных препаратов	Основная группа: больные ХМПЗ (n=179), M±m	Контроль: без гемо-бластоза (n=226), M±m	Данные статистического анализа
1	Клеточный рост *in vitro* (**Р**)	2,35±0,041	2,92±0,024	t=12.00; p<0,0001
2	Метафазная пластинка (**МФ**)	2,27±0,041	2,44±0,035	t=3.15; p<0,0017
3	Кариотип (**КП**)	0,36±0,041	2,96±0,035	t=48.23; p<0,0001
4	Морфология хромосом (**ХИ $_{1/21}$**)	1,98±0,027	2,22±0,024	t=6.64; p<0,0001
5	Окраска хромосом (**Ох**)	2,00±0,027	2,62±0,024	t=17.16; p<0,0001
6	Классификация хромосом (**КЛх**)	2,18±0,041	2,82±0,024	t=13.47; p<0,0001
7	Бэндинг хромосомы 1 (**Б-1**)	0,97±0,041	2,02±0,035	t=19.48; p<0,0001
8	Интегральный показатель качества хромосомных препаратов (**$\int_{КХП}$**)	12,11±0,21	18,01±0,11	t=24.89; p<0,0001

Оценка вариаций уровня качества хромосомных препаратов также проводилась на основе сравнения доли больных с различным уровнем качества по каждой из семи категорий хромосомных препаратов и показателя $\int_{КХП}$ (Табл. 6).

Сравнительный анализ отдельных категорий, определяющих качество хромосомных препаратов (Р, МФ, КП, ХИ$_{1/21}$, Ох, КЛх, Б-1), подтвердил наличие объективной разницы значений данных показателей у больных ХМПН и лиц без гемобластоза, а также эффективность системы КОКХП.

Таблица 6

Доля больных ХМПН и лиц без гемобластоза (2017-2019) с различным уровнем качества хромосомных препаратов (оценка по категориям)

№	Категории качества хромосомных препаратов	Уровень (в баллах)	**I**. Основная группа: больные ХМПЗ (n=179), M±m		**II.** Группа контроля: без гемобластоза (n=226), M±m		t-критерий Стьюдента для относительных показателей
			Абс.	%, m1 *	Абс.	%, m2 **	
1	Клеточный рост *in vitro* (Р)	3	109	60,89±3,65	212	92,58±1,73	t=7,85; p<0,05
		2	25	13,97±2,59	16	6,99±1,68	t=2,26; p<0,05
		1	43	24,02±3,19	1	0,44±0,44	t=7,32; p<0,05
		0	2	1,12±0,79	0	0,00±0,00	t=1,42; p>0,05
2	Метафазная пластинка (МФ)	3	100	55,87±3,71	124	54,15±3,29	t=0,35; p>0,05
		2	46	25,70±3,27	85	37,12±3,19	t=2,50; p<0,05
		1	15	8,38±2,07	16	6,99±1,68	t=0,52; p>0,05
		0	18	10,06±2,25	4	1,75±0,87	t=3,45; p<0,05
3	Кариотип (КП)	3	10	5,59±1,72	224	97,82±0,97	t=46,83; p<0,05
		2	10	5,59±1,72	2	0,87±0,61	t=2,58; p<0,05
		1	14	7,82±2,01	1	0,44±0,44	t=3,60; p<0,05
		0	145	81,01±2,93	2	0,87±0,61	t=26,75; p<0,05

4	Морфология хромосом ($ХИ_{1/21}$)	3	42	23,46±3,17	72	31,44±3,07	t=1,81; p>0,05
		2	92	51,40±3,74	136	59,39±3,25	t=1,62; p>0,05
		1	45	25,14±3,24	21	9,17±1,91	t=4,25; p<0,05
5	Окраска хромосом (Ох)	3	62	34,64±3,56	163	71,18±2,99	t=7,86; p<0,05
		2	55	30,73±3,45	46	20,09±2,65	t=2,45; p<0,05
		1	62	34,64±3,56	20	8,73±1,87	t=6,45; p<0,05
6	Классификация хромосом (КЛх)	3	108	60,34±3,66	208	90,83±1,91	t=7,39; p<0,05
		2	2	1,12±0,79	1	0,44±0,44	t=0,76; p>0,05
		1	62	34,64±3,56	19	8,30±1,82	t=6,59; p<0,05
		0	7	3,91±1,45	0	0,00±0,00	t=2,70; p<0,05
7	Бэндинг хромосомы 1 (Б-1)	3	4	2,23±1,10	65	28,38±2,98	t=8,23; p<0,05
		2	42	23,46±3,17	119	51,96±3,30	t=6,23; p<0,05
		1	77	43,02±3,70	29	12,66±2,20	t=7,05; p<0,05
		0	56	31,28±3,47	16	6,99±1,68	t=6,31; p<0,05

*(*) Доля обследуемых, имеющих данный признак в 1-й группе (%) и средняя ошибка относительного показателя (m1); (**) Доля обследуемых, имеющих данный признак во 2-й группе (%), и средняя ошибка относительного показателя (m2)*

Анализ разброса значений $\int_{КХП}$ выявил, что минимальный уровень данного параметра в группе больных ХМПН составил 4 балла, а максимальный – 19 баллов. У пациентов без гемобластоза минимальное значение $\int_{КХП}$ составило 12 баллов, тогда как максимальное – 21 балл. Наибольшая доля больных ХМПН имела значение $\int_{КХП}$ равное 14 баллам, а лиц без гемобластоза – 19 баллам (Рис. 1).

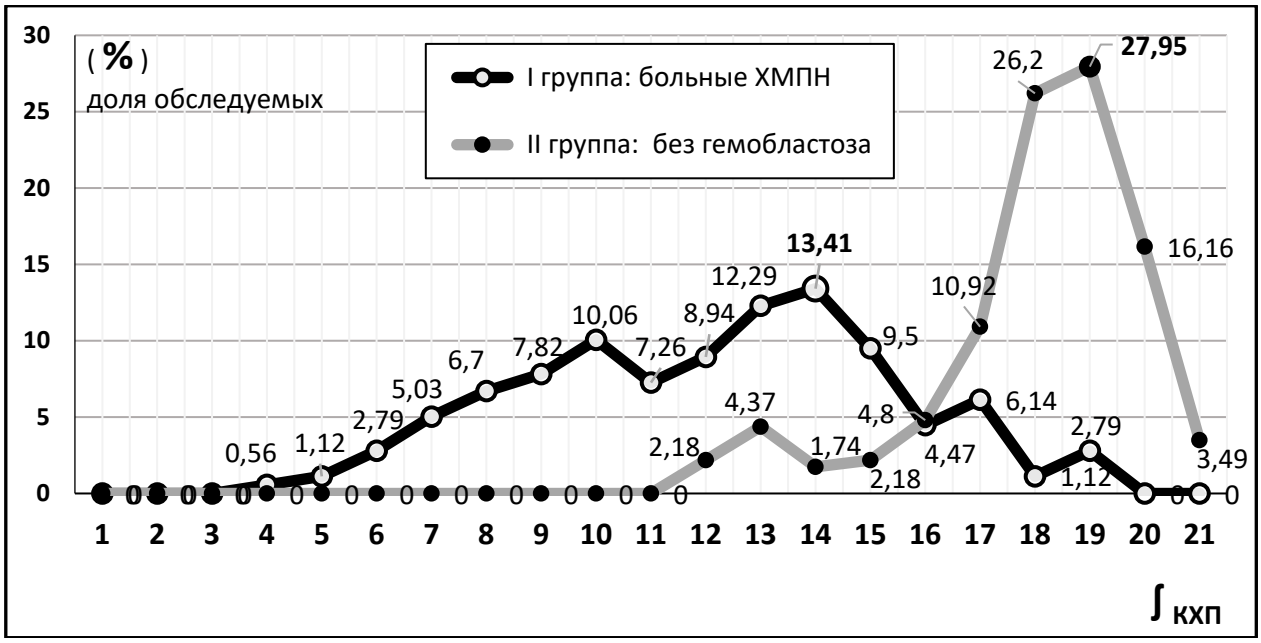


Рис.1. Распределение доли больных ХМПН и субъектов без гемобластоза с различным уровнем $\int_{КХП}$.

Сравнительный анализ доли обследуемых, ранжированных согласно системе квартиля (Фалин Г.И., Фалин А.И., 2011) на 4 подгруппы по диапазону значений $\int_{КХП}$ (1-5 баллов – неудовлетворительное качество, 6-10

баллов – удовлетворительное качество, 11-15 баллов – хорошее качество, 16-21 – отличное качество) выявил, что в группе лиц без гемобластоза хромосомные препараты были только хорошего ($\int_{КХП}$11-15 – 10,5%) и отличного ($\int_{КХП}$16-21 – 89,5%) качества (Табл. 7).

В группе больных ХМПН имели место все четыре диапазона уровня качества хромосомных препаратов, но наибольшей доле пациентов аналитический этап СЦИ выполнялся на основе препаратов удовлетворительного ($\int_{КХП}$6-10 – 32,4%) и хорошего ($\int_{КХП}$10-15 – 51,4%) качества (Табл. 7).

Таблица 7

Сравнительная оценка качества хромосомных препаратов у больных ХМПН и лиц без гемобластоза

Диапазон значений $\int_{КХП}$ (в баллах)	Критерии субъективной оценки качества хромосомных препаратов	**I.** Основная группа: больные ХМПН (n=179), M±m		**II**. Группа контроля: без гемобластоза (n=226), M±m		t-критерий Стьюдента для относительных показателей
		Абс.	%, m1 *	Абс.	%, m2 **	
1-5	Неудовлетворительные	3	1,68±0,96	0	0,00±0,00	t=1,75; p>0,05
6-10	Удовлетворительные	58	32,40±3,50	0	0,00±0,00	t=9,26; p<0,05
11-15	Хорошие	92	51,40±3,74	24	10,48±2,02	t=9,63; p<0,05
16-21	Отличные	26	14,53±2,63	205	89,52±2,02	t=22,58 p<0,05

Таким образом, результаты анализа $\int_{КХП}$ у больных ХМПН и у лиц без гемобластоза позволили заключить, что данный дискретный параметр способен объективно отражать разницу качества хромосомных препаратов при СЦИ.

Используя $\int_{КХП}$ как меру качества хромосомных препаратов, мы провели оценку частоты выявления цитогенетических изменений и спектр хромосомных аномалий у больных ХМПН (Табл. 8).

Полное отсутствие мутационных изменений кариотипа у больных ХМПН в целом встречается не часто. В нашем исследовании «цитогенетически нормальный кариотип» (ЦГНК) был выявлен в 27,9% случаев в подгруппе I ($\int_{КХП}$1-10), в 17,4% – в подгруппе II ($\int_{КХП}$11-15) и в 15,4% – в подгруппе III ($\int_{КХП}$16-21), при этом межгрупповые различия были недостоверными.

Доля больных ХМПН с мутационно измененным кариотипом (МИК) имела достоверные различия в подгруппах I и II (соответственно 67,2% и 82,6%; p<0,05). Между подгруппами I и III (соответственно 67,2% и 84,6%; p>0,05), также как и между подгруппами II и III (соответственно 82,6% и 84,6%; p>0,05), статистическая значимость различий не была доказана. Результат данного исследования может говорить о том, что для эффективного выявления мутационных изменений кариотипа больных ХМПН необходимо качество хромосомных препаратов не ниже значения $\int_{КХП}$ в 11 баллов.

Таблица 8

Частота выявления цитогенетических изменений и спектр хромосомных аномалий* у больных ХМПН

Больные ХМПН (n=179)		Диапазон значений ∫КХП (в баллах)			Данные статистического анализа: t-критерий Стьюдента для относительных показателей		
		I. **∫КХП 1-10** (n=61)	II. **∫КХП 11-15** (n=92)	III. **∫КХП 16-21** (n=26)	**1 vs 2** (f=151)	**1 vs 3** (f=85)	**2 vs 3** (f=116)
ЦГНК	Абс.	17	16	4	t=1,50; p>0,05	t=1,35; p>0,05	t=0,24; p>0,05
	%	27,87±5,74	17,39±3,95	15,38±7,22			
МИК	Абс.	41	76	22	t=2,14; p<0,05	t=1,85; p>0,05	t=0,24; p>0,05
	%	67,21±6,01	82,61±3,95	84,62±7,22			
der(22) (Ph)	Абс.	43	69	21	t=0,61; p>0,05	t=1,05; p>0,05	t=0,64; p>0,05
	%	70,49±5,84	75,00±4,51	80,77±7,88			
der(9)	Абс.	3	38	20	t=6,24; p<0,05	t=8,12; p<0,05	t=3,63; p<0,05
	%	4,92±2,77	41,30±5,13	76,92±8,43			
ДХА	Абс.	3	14	6	t=2,21; p<0,05	t=2,05; p<0,05	t=0,85; p<0,05
	%	4,92±2,77	15,22±3,74	23,08±8,43			

* *У одного больного могут быть обнаружены несколько хромосомных аномалий*

Поскольку маркерным изменением кариотипа у больных ХМПН является транслокация t(9;22)(q34;q11.2), то ее цитогенетическое проявление – Ph-хромосома – представляет собой основную хромосомную аномалию, выявляемую СЦИ в данной нозологической группе. В подгруппе I (∫КХП 1-10) доля больных с детектированной Ph-хромосомой составила 70,5%, во II подгруппе (∫КХП 11-15) – 75,0% и в III подгруппе (∫КХП 16-21) – 80,7% (p>0,05), что подтверждает патогенетическую сущность данной аномалии для большинства случаев ХМПН – с учетом доли Ph(–)-больных (больные истинной полицитемией, эссенциальной тромбоцитемией, хроническим миелофиброзом и др.).

Кроме Ph-хромосомы цитогенетическим проявлением маркерной транслокации t(9;22)(q34;q11.2) также является дериват хромосомы 9. Изменение хромосомы 9 позволяет подтвердить t(9;22)(q34;q11.2) в ее классическом варианте, если по какой-либо причине Ph-хромосома не может быть обнаружена, а также – уточнить характер вариантной перестройки t(V;9;22). Проведенное исследование показало, что в подгруппе I (∫КХП 1-10) доля больных с детектированным der(9) составила 4,9%, в подгруппе II (∫КХП 11-15) – 41,3% и в подгруппе III (∫КХП 16-21) – 76,9%. При этом статистический анализ подтвердил достоверную разницу изучаемого показателя при сравнении всех подгрупп: I и II (t=6,24; p<0,05), I и III (t=8,12; p<0,05), II и III (t=3,63; p<0,05). Полученный результат свидетельствует о том, что качество хромосомных препаратов имеет большое значение для выявления der(9).

Известно, что по мере прогрессии ХМПН нарастает генетическая нестабильность кариотипа лейкозных клеток, следствием чего является появление различных хромосомных аномалий, дополняющих уже имеющиеся патогенетические изменения кариотипа – t(9;22)(q34;q11.2) или ее вариантные формы в случае ХМЛ и молекулярно-генетические мутации генов *Jak2, MPL, CALR* и др. в случае Ph-отрицательных ХМПН. Дополнительные хромосомные аномалии (ДХА) могут приводить к появлению более злокачественных лейкозных клонов (клональной эволюции) и прогрессии заболевания. В этой связи выявление ДХА в кариотипе больных имеет крайне важное прогностическое значение, поскольку позволяет предсказывать прогрессию болезни до начала клинических проявлений, а также характер течения лейкоза и прогноз.

Мы провели сравнительную оценку доли больных ХМПН с различным уровнем $\int_{КХП}$, у которых стандартным цитогенетическим методом в кариотипе были выявлены ДХА (Табл. 9). Исследование показало, что в подгруппе I ($\int_{КХП}$1-10) доля больных с ДХА составила 4,9%, в подгруппе II ($\int_{КХП}$11-15) – 15,2% и в подгруппе III ($\int_{КХП}$16-21) – 23,1% при статистической значимости различий в подгруппах I и II, а также I и III ($p<0,05$). Результат нашего исследования говорит о том, что эффективное выявление ДХА у больных ХМПН зависит от качества хромосомных препаратов, при этом значение $\int_{КХП}$ должно быть не менее 11 баллов.

В целом оценка частоты выявления цитогенетических изменений и спектра хромосомных аномалий у больных ХМПН при различном качестве хромосомных препаратов показали, что детекция аберраций кариотипа на 15,4% эффективнее при $\int_{КХП}$ 11-15 и на 17,4% – при $\int_{КХП}$ 16-21, чем при $\int_{КХП}$ 1-10 баллов. Выявление маркерной Ph-хромосомы на 4,5% эффективнее при $\int_{КХП}$ 11-15 и на 10,3% – при $\int_{КХП}$ 16-21, чем при $\int_{КХП}$ 1-10 баллов. Выявление вариантов дериватной хромосомы 9 на 36,4% эффективнее при $\int_{КХП}$ 11-15 и на 72,0% – при $\int_{КХП}$ 16-21, чем при $\int_{КХП}$ 1-10 баллов. Выявление дополнительных хромосомных аномалий на 10,3% эффективнее при $\int_{КХП}$ 11-15 и на 18,2% – при $\int_{КХП}$ 16-21, чем при $\int_{КХП}$ 1-10 баллов (Табл. 8).

В пятой главе «Оценка влияния гематологических и биохимических показателей на качество препаратов метафазных хромосом у больных ХМПЗ и условно здоровых лиц» приведены результаты исследований (2020-2021 гг) эффективности системы КОКХП, которые подтверждают предварительные данные 2017-2019 гг, свидетельствующие о том, что уровень качества препаратов метафазных хромосом может быть объективно оценен на основании расчета $\int_{КХП}$. Исследование показало, что среднее значение $\int_{КХП}$ у больных ХМПН составляет 14,18±0,15, тогда как в группе больных без гемобластоза данный показатель достигал 18,11±0,16 ($t=17,92$; $p<0,0001$).

С помощью системы КОКХП было установлено, что у более чем 98% лиц без гемобластоза цитологические препараты метафазных хромосом имеют высокий уровень качества ($\int_{КХП}$16-21), позволяющий идентифицировать хромосомы в соответствии с ISCN и выявлять бóльшую

часть количественных и структурных изменений хромосом. Среди больных ХМПН хромосомные препараты такого уровня качества были получены только в 47% случаев. Почти у половины онкогематологических пациентов уровень качества препаратов ($\int_{КХП}$11-15) ограничивал возможность выявления изменений кариотипа и у 3,5% пациентов уровень качества препаратов ($\int_{КХП}$6-10) предельно минимизировал возможности СЦИ, сводя кариотипирование у больных ХМПН к детекции маркерной Ph-хромосомы.

Необходимость понимания причин и факторов, ассоциированных со снижением качества хромосомных препаратов у больных ХМПН, обусловила необходимость исследования связи уровня гематологических и биохимических показателей крови пациентов с пролиферативной активностью клеток, используемых для СЦИ, и с возможностью идентификации хромосомных аномалий.

Исследование показало, что пролиферативная активность *in vitro* (рост) клеток костного мозга (КМ) и венозной крови (ВК), используемых для приготовления хромосомных препаратов при СЦИ, оцениваемая показателем МФП/S_{287}, ассоциируется с определенным уровнем ряда показателей гемограммы, миелограммы и биохимического анализа сыворотки крови. В частности, *низкая пролиферативная активность клеток ВК* достоверно связана: с повышением относительного количества лимфоцитов (более 17,5%), а также со снижением относительного количества бластных клеток (менее 0,7%), метамиелоцитов (менее 7,5%), абсолютного количества общих лейкоцитов (менее $92 \cdot 10^9$/л) и показателя СОЭ (менее 10 мм/ч) в гемограмме; с повышением относительного количества полихроматофильных нормоцитов (более 3,7%), а также со снижением относительного количества бластных клеток (менее 0,6%), промиелоцитов (менее 0,5%), миелоцитов (менее 9,5%) и метамиелоцитов (менее 12,0%) в миелограмме; со снижением в сыворотке крови уровня общего белка (менее 65,0 г/л), альбумина (менее 25,0 г/л), фибриногена (менее 4,0 г/л) и мочевины (менее 5,0 г/л).

Высокая пролиферативная активность клеток ВК достоверно связана: с повышением относительного количества нейтрофилов (более 82,5%), абсолютного количества эритроцитов (более $3{,}6 \cdot 10^{12}$/л) и уровня гемоглобина (более 105 г/л), а также со снижением относительного количества моноцитов (менее 3,5%) и лимфоцитов (менее 7,5%) в гемограмме; с повышением относительного количества миелоцитов (более 16,5%), а также со снижением относительного количества моноцитов (менее 0,2%), базофильных нормоцитов (менее 0,15%) и оксифильных нормоцитов (менее 2,0%) в миелограмме; со снижением в сыворотке крови уровня железа (менее 11,0 мкмоль/л), креатинина (менее 65,0 мкмоль/л), гомоцистеина (менее 5,0 мкмоль/л) и отсутствием положительной реакции на С-реактивный белок.

Низкая пролиферативная активность клеток КМ достоверно связана: с повышением относительного количества лимфоцитов (более 17,5%), а также со снижением относительного количества бластных клеток (менее 0,7%), метамиелоцитов (менее 7,5%) в гемограмме; со снижением относительного

количества полихроматофильных нормоцитов (менее 1,5%) в миелограмме; со снижением в сыворотке крови уровня общего билирубина (менее 4,0 мкмоль/л) и прямого билирубина (менее 2,0 мкмоль/л).

Высокая пролиферативная активность клеток КМ достоверно связана: с повышением относительного количества нейтрофилов (более 76,4%), метамиелоцитов (более 13,2%) и незрелых гранулоцитов (более 28,0%), а также со снижением относительного количества моноцитов (менее 0,7%) и лимфоцитов (менее 7,0%) в гемограмме; со снижением относительного количества лимфоцитов (менее 3,0%) в миелограмме; со снижением в сыворотке крови уровня гомоцистеина (менее 19 мкмоль/л), отсутствием положительной реакции на С-реактивный белок, а также – с повышением уровня мочевины (более 14,0 ммоль/л).

Исследование показало, что качество препаратов метафазных хромосом больных ХМПН при СЦИ, оцениваемое интегральным показателем ($\int_{КХП}$), ассоциируется с определенным уровнем ряда показателей гемограммы, миелограммы и биохимического анализа сыворотки крови. В частности, *низкий уровень качества хромосомных препаратов* ($\int_{КХП}$ до 10 баллов) у больных ХМПН достоверно связан: со снижением абсолютного количества эритроцитов (менее $3{,}0 \cdot 10^{12}$/л), относительного количества незрелых гранулоцитов (менее 7,0%), нейтрофилов (менее 60,0%), промиелоцитов (менее 0,3%), миелоцитов (менее 4%), метамиелоцитов (менее 6,0%), палочкоядерных нейтрофилов (менее 3,5%), базофилов (менее 0,3%), а также с повышением относительного количества моноцитов (более 8,0%) и лимфоцитов (более 19%) в гемограмме; со снижением относительного количества бластных клеток (менее 0,7%), миелоцитов (менее 4,5%) и метамиелоцитов (менее 5,0%), а также с повышением относительного количества эозинофилов (более 3,0%) в миелограмме; со снижением в сыворотке крови уровня общего белка (менее 62,0 г/л) и наличием положительной реакции на С-реактивный белок.

Высокий уровень качества хромосомных препаратов ($\int_{КХП}$16-21) у больных ХМПН связан: с повышением относительного количества нейтрофилов (более 76,4%), незрелых гранулоцитов (более 24,8%), базофилов (более 3,5%), а также со снижением абсолютного количества тромбоцитов (менее $328 \cdot 10^{9}$/л) в гемограмме; с повышением относительного количества метамиелоцитов (более 14,9%) в миелограмме.

Анализ изучаемых клинико-лабораторных показателей, которые достоверно ассоциировались как с пролиферативной активностью клеток *in vitro,* так и с качеством цитологических препаратов метафазных хромосом показал, что отсутствие роста клеток и плохое качество МФП ассоциированы: со снижением относительного количества метамиелоцитов (менее 7,5%) и увеличением относительного количества лимфоцитов (более 17,5%) – по результатам ОАК; со снижением относительного количества бластных клеток (менее 0,6-0,7%), миелоцитов (менее 9,5%), метамиелоцитов (менее 12,0%) – по результатам миелограммы; со снижением содержания в сыворотке крови общего белка (менее 65%).

Хороший рост клеток *in vitro* и высокое качество МФП (Рис. 9) ассоциированы с увеличением относительного количества незрелых гранулоцитов (более 26,0%) и нейтрофилов (более 77,0%) – по результатам ОАК.

Ориентируясь на уровень вышеперечисленных показателей, полученных не более, чем за 5 дней до культивирования биологического материала, можно спрогнозировать пролиферативную активность клеток костного мозга и венозной крови в условиях *in vitro,* связанную с количеством МФП на цитологическом препарате, а также одновременно – уровень качества препаратов метафазных хромосом. Прогнозирование данных показателей поможет индивидуально скорректировать условия культивирования клеток биологического материала больных ХМПН для улучшения результативности анализа кариотипа методом стандартного цитогенетического исследования.

ВЫВОДЫ

1. Разработан критерий оценки пролиферативной активности (роста) культивируемых клеток – показатель МФП/S_{287}, основанный на подсчете количества метафазных пластинок на единицу площади хромосомного препарата. Разработана система оценки качества хромосомных препаратов при СЦИ, основанная на определении уровня характеристик «клеточный рост», «метафазная пластинка», «кариотип», «морфология хромосом», «окраска хромосом», «классификация хромосом», «бэндинг хромосомы 1» и выведении интегрального показателя качества хромосомных препаратов ($\int_{КХП}$).

2. Эффективность применения разработанных критериев показана анализом клеточного роста *in vitro* на основе подсчета МФП/S_{287}: среднее значение показателя в группе больных ХМПН составило 153,07±43,68, в группе контроля – 286,86±32,50; $p<0,05$. Оценка качества хромосомных препаратов с использованием $\int_{КХП}$ объективно продемонстрировала стабильный результат в группе контроля, достоверную разницу качества хромосомных препаратов у больных ХМПН и условно здоровых лиц (соответственно, $\Sigma \int_{КХП}$ – 14,18 и 18,11 баллов, $p<0,05$), а также вариации качества в пределах выборки больных гемобластозом (47,1% больных – $\int_{КХП}$ выше 16 баллов, 49,4% – $\int_{КХП}$ 11-15 баллов, 3,5% – $\int_{КХП}$ 6-10 баллов).

3. Оптимальным значением пролиферативной активности клеток *in vitro* при проведении СЦИ является показатель МФП/S_{287}, равный 286,86 (~287) метафазных пластинок на единицу площади препарата. Значение $\int_{КХП}$, минимально необходимое для эффективного выявления вариантных и дополнительных хромосомных аномалий при ХМПН, должно быть не менее 11 баллов по 21-бальной шкале.

4. Применение критериев МФП/S_{287} и $\int_{КХП}$ показало, что повышение уровня качества хромосомных препаратов при стандартном цитогенетическом исследовании увеличивает возможность выявления не только маркерной Ph-хромосомы (der22), являющейся цитогенетическим

проявлением транслокации t(9;22)(q34;q11.2), а также других хромосомных аномалий у больных ХМПН (вариантные транслокации, ДХА) и у лиц без гемобластоза.

5. Установлено, что низкая пролиферативная активность (плохой рост) лейкозных клеток *in vitro* и плохое качество метафазных пластинок ассоциированы: со снижением относительного количества метамиелоцитов (менее 7,5%) и увеличением относительного количества лимфоцитов (более 17,5%) – по результатам ОАК; со снижением относительного количества бластных клеток (менее 0,6-0,7%), миелоцитов (менее 9,5%), метамиелоцитов (менее 12,0%) – по результатам миелограммы; со снижением содержания в сыворотке крови общего белка (менее 65%) – по результатам биохимического анализа сыворотки крови. Высокая пролиферативная активность (хороший рост) лейкозных клеток *in vitro* и высокое качество метафазных пластинок ассоциированы с увеличением относительного количества незрелых гранулоцитов (более 26,0%) и нейтрофилов (более 77,0%) – по результатам гемограммы.

6. Разработанная система критериальной оценки качества хромосомных препаратов (КОКХП) является эффективным инструментом объективного мониторинга и таксировки разрешающей способности препаратов метафазных хромосом. Показатель МФП/S_{287}, может быть использован в научно-практических целях для оценки оптимизации методических подходов, а также для определения относительного количества устойчивых к терапии лейкозных стволовых клеток (ЛСК). Уровень $\int_{КХП}$ может служить показателем достоверности цитогенетического заключения о состоянии кариотипа лейкозных клеток пациента и выявленных хромосомных аномалиях и должен быть включен в официальный ответ СЦИ.

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 AND PRACTICAL MEDICAL CENTER OF HEMATOLOGY

ASSESOROVA YULIANA YURIEVNA

THE THEORETICAL BASE OF OPTIMIZATION AND QUALITY CONTROL OF CONVENTIAL CYTOGENETIC ANALYSIS IN PATIENTS WITH HEMOBLASTOSIS

14.00.29 – Hematology and transfusiology

DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF BIOLOGICAL SCIENCES (DSc)

TASHKENT – 2024

The theme of the dissertation of the Doctor of Sciences (DSc) was registered by the Higher Attestation Commission at Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan under № B2021.1.DSc/B136.

Doctoral dissertation was carried out at the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology.

The dissertation abstract was posted in three (uzbek, russian, english (resume)) languages on the website of the Scientific Council at (www.tma.uz) and on the website of «ZiyoNet» information-educational portal at (www.ziyonet.uz).

Scientific consultant:	**Karimov Hamid Yakubovich** Doctor of Medical Sciences, Professor
Official opponents:	**Gildeeva Margarita Sabirovna** Doctor of Biological Sciences
	Ubaydullayeva Zukhra Ibragimovna Doctor of Medical Sciences
	Bahovadinov Burkhonidin Bahovadinovich Doctor of Medical Sciences, Professor
Leading organization:	**Andijan State Medical Institute**

The defence of the dissertation will be held on «____»_____ 2024, 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).

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 «____» _____ 2024 y.

(Registry record No. ____ dated «____» _____ 2024 y.)

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, Professor

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 the DSc dissertation)

The aim of the study is to develop of the criterial evaluation of the quality of metaphase chromosome preparations and to substantiate of the optimization of sample preparation conditions to increase the effectiveness of chromosomal analysis in patients with hemoblastosis.

The object of the study was 180 patients with CMPN who examinated and treated at the RSSPMCH of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, and 226 subjects without hemoblastosis examined for the searching of presence of constitutive chromosomal disorders were included in the study on the development of a criteria-based system for assessing the quality of chromosomal preparations; 179 patients with CMPN and 84 subjects without hemoblastosis were included in the study to assess the effectiveness of the developed system, as well as the impact of hematological and biochemical parameters for cell growth and the quality of preparations of metaphase chromosomes.

The scientific novelty of the study.

For the first time in the world, data were obtained that made it possible to develop the MFP/S_{287} and $\int_{QCP}$ indices, which are objective and reliable criteria for evaluating the proliferative activity of cells in vitro and the quality of chromosomal preparations in a standard cytogenetic study.

It was established that the value of the evaluation criterion of cell growth *in vitro* developed by us – the number of metaphase plates required for a standard cytogenetic study per unit area of a chromosomal preparation (MFP/S287) should be at least 287.

It is shown that for the effective detection of karyotype abnormalities with diagnostic and prognostic significance in chronic myeloproliferative diseases the value of the integral indicator of the quality of chromosomal preparations, developed for the first time, should be at least 11 points on a 21-point scale.

It was proved for the first time that the high quality of chromosomal preparations in chronic myeloproliferative diseases increases the possibility of detecting not only the marker translocation t(9;22)(q34;q11.2), the cytogenetic manifestation of which is the Ph chromosome (der22), but also other quantitative and structural abnormalities of chromosomes.

For the first time in the practice of cytogenetic studies in oncohematology, it was found that low proliferative activity of leukemic cells in vitro and poor quality of metaphase plates in patients with chronic myeloproliferative neoplasia are significantly associated with a decrease in the relative number of metamyelocytes (less than 7.5%) and an increase in the relative number of lymphocytes (more than 17.5%) in the blood, with a decrease in the relative number of blast cells (less than 0.7%), myelocytes (less than 9.5%), metamyelocytes (less than 12.0%) in the bone marrow, as well as with a decrease in serum total protein (less than 65 g/l).

Implementation of the research results. Based on the scientific results obtained in the study of cell growth *in vitro* and the quality of chromosomal preparations to assess the effectiveness of convential cytogenetic analysis in patients with chronic myeloproliferative neoplasia and in subjects without

hemoblastosis, as well as the relationship between the quality of metaphase chromosome preparations and the level of hematological and biochemical parameters of patients:

methodological recommendations "Assessment of the effectiveness and quality of convential cytogenetic analysis in patients with chronic myeloproliferative diseases" (conclusion of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan No.8 n-r/1260 dated 12/9/2021) have been implemented, increasing the compliance of the results of karyotyping of patients with CMPN with the requirements of world standards (ISCN), contributing to timely accurate diagnosis of CMPN, making the optimal clinical decision to the choice of therapy, making effective monitoring of the treatment process and reducing the number of patients with progressive stages of the disease;

methodological recommendations "Improvement of convential cytogenetic analysis based on consideration of the characteristic features of cytological preparations of metaphase chromosomes" (conclusion of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan No.8 n-r/1261 dated 12/9/2021) have been implemented, allowing to introduce methods for quality control of the performance and reliability of the conclusion of the cytogenetic study and to minimize cases of discrepancy between the conclusion of the CCA and the clinical diagnosis.

The scientific results obtained in the study of cell growth *in vitro* and the quality of chromosomal preparations for evaluating the effectiveness of CCA in patients with chronic myeloproliferative neoplasia have been implemented in the practical activities of oncohematological and reproductive clinics: Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali Ibn Sino (Order No.81/1 of 02/25/2022); Bukhara Regional Medical Association of the Dzhandor district (Order No. 32/1 of 04/15/2022); Department of Hematology of the Multidisciplinary Medical Center of the Andijan region (Order No. 23 of 06/15/2023); Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Clinical Radiology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan (Order No. 87 of 03/11/2022); clinic of reproductive medicine “DOCTOR D" (Order No. 5 of 09/12/2023).

The implemented results will allow clinicians to independently carry out objective quality control of the convential cytogenetic analysis and assess the reliability of the results of the analysis of the karyotype of patients, verify the clinical diagnosis and timely prescribe adequate treatment, as well as monitor the effectiveness of the prescribed treatment with a decision on further therapeutic tactics, which will help reduce the risk of progression of CMPN, improve the quality of life of patients, and reducing the economic costs of hospitalization of patients with the disease in the stage of acceleration and blast crisis.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, five chapters, conclusions, inferences, practical suggestions, a list of references, appendices, a list of abbreviations used. The volume of the dissertation is 197 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Ассесорова Ю.Ю., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т., Казакбаева Х.М. Научно-практические задачи онкогематологической цитогенетики в Республике Узбекистан // Ж-л теоретической и клинической медицины». – 2022. –№5. – С.27-32. (14.00.00; №3)
2. Assesorova Yu.Yu. Karyotype abnormalities in chronic myeloproliferative neoplasms // The Bulletin of Hematology. – 2022. – T.XVIII, №3. – C. 32-39. (14.00.00; №12)
3. Assesorova Yu.Yu. Proliferative Activity in vitro and Sample Preparation Evaluation in Conventional Cytogenetic Study in Patients with Hemoblastosis // American Journal of Medicine and Medical Sciences. – 2022. – №12(6). – P.686-693. (14.00.00; №2)
4. Ассесорова Ю.Ю., Мустафина Л.К., Юсупова С.А., Самарина К.С. Случай хронического миелоидного лейкоза с вариантной транслокацией и дополнительной перестройкой t(1;8)(q23;q24.3) // Гематология и трансфузиология. – 2021. – Т.66, №3. –с.424-432. (14.00.00; №37)
5. Каримов Х.Я., Бобоев К.Т., Ассесорова Ю.Ю., Алимов Т.Р. Биологическая роль генетического полиморфизма Р-гликопротеина в системе детоксикации канцерогенных ксенобиотиков и онкогенезе // Ж-л «Клиническая и экспериментальная онкология». – 2020. – №3. – С.86-92. (14.00.00; №21)
6. Ассесорова Ю.Ю., Мустафина Л.К., Юсупова С.А. Турсунова Н.А. Случай хронического миелоидного лейкоза с вариантной транслокацией t(9;14;22)(q34;q23-24;q11.2) // Ж-л «Теоретическая и клиническая медицина». – 2020. – №2. – С.25-28. (14.00.00; №3)
7. Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю. Полиморфные гены GSTM1 и GSTT1 как потенциальные маркеры риска гемобластоза в популяции коренных этнических групп Узбекистана // Ж-л «Теоретическая и клиническая медицина». – 2020. – №2. – С.86-89. (14.00.00; №3)
8. Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю. Роль полиморфных генов GSTM и GSTT в онкогенезе и возникновении гематологических новообразований // Вопросы онкологии. – 2020. – Т.66, №5. – С.472-478. (14.00.00; №158)
9. Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю., Мустафина Л.К., Алланазарова Б.Р., Сайдаманова С.С., Каюмов А.А., Бобоев К.Т. Случай гемобластоза с редкой транслокацией t(9;12)(p13;q13) // Медицинский журнал Узбекистана. – 2019. – №1. – С.76-79. (14.00.00; №8)
10. Каримов Х.Я., Бобоев К.Т., Ассесорова Ю.Ю., Алланазарова Б.Р., Мустафина Л.К., Юсупова С.А. Оценка влияния клинико-биологических факторов на результативность стандартного цитогенетического исследования

у больных ХМПН // Медицинский журнал Узбекистана. – 2019. – №4. – С.14-17. (14.00.00; №8)

11. Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю. Клинические и биологические аспекты стандартного цитогенетического исследования в онкогематологии // Медицинский журнал Узбекистана. – 2019. – №5. – С.33-36. (14.00.00; №8)

12. Бобоев К.Т., Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю., Алланазарова Б.Р., Мустафина Л.К. Цитогенетические исследования в онкогематологии Узбекистана: опыт работы, научно-практические задачи и перспективы // Медицинский журнал Узбекистана. – 2018. – №5 (декабрь). – С.75-79. (14.00.00; №8)

13. Бобоев К.Т., Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю., Алланазарова Б.Р., Мустафина Л.К. Цитогенетический профиль у пациентов с репродуктивными нарушениями // Медицинский журнал Узбекистана. – 2018. – №2. – С.2-6. (14.00.00; №8)

14. Каримов Х.Я., Бобоев К.Т., Ассесорова Ю.Ю., Алланазарова Б.Р., Мустафина Л.К. Случай Ph-положительного хронического миелоидного лейкоза с вариантной транслокацией t(7;9;22) // Вестник гематологии, СПБ. – 2017. – Т.XIII, №4. – С.43-47. (14.00.00; №12)

15. Каримов Х.Я., Ассесорова Ю.Ю., Казакбаева М.М. Случай хронического миелоидного лейкоза с редкой вторичной транслокацией t(3;7)(q26;q21) // Гематология и трансфузиология. – 2017. – Т.62, №2. – С.101-104. (14.00.00; №37)

16. Каримов Х.Я., Бобоев К.Т., Ассесорова Ю.Ю. Молекулярно-генетические исследования – основа понимания патогенетического механизма и контроля заболеваний // Медицинский журнал Узбекистана. – 2016. – №1. – С.100-103. (14.00.00; №8)

17. Каримов Х.Я., Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю., Болтаева Ю.Ю., Пулатова Н.С., Абдурахманова Н.Р., Бобоев К.Т. Возможности стандартного цитогенетического исследовании в верификации острого миелоидного лейкоза // Медицинский журнал Узбекистана. – 2013. – №6. – С.9-12. (14.00.00; №8)

II бўлим (II часть; II part)

18. Ассесорова Ю.Ю., Каримов Х.Я., Юнусова З.Д., Мардонов А.К., Мирзоева Л.А., Бобоев К.Т. Генетические исследования при миелодиспластическом синдроме (клинический случай) // Материалы VI научно-практической конференции «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии», Санкт-Петербург 19-20 мая 2023. – «Вестник гематологии». – 2023. – Т.XIX, №2. – С.69-70.

19. Алимов Т.Р., Ассесорова Ю.Ю., Мустафина Л.К., Кодирова И.Т., Нуриддинова Н.Х., Бобоев К.Т. Интегрированный подход в цитогенетической диагностике гемобластоза (случай из практики) // Материалы VI научно-практической конференции «Генетика опухолей

кроветворной системы – от диагностики к терапии», Санкт-Петербург 19-20 мая 2023. –«Вестник гематологии». – 2023. – Т.XIX, №2. –С.68-69.

20. Алимов Т.Р., Ассесорова Ю.Ю., Мустафина Л.К., Ражабова З.А., Абдуллаева Н.Ш., Кодирова И.Т., Садикова Ш.Э, Мирзоева Л.А.,Косимова С.А., Нуриддинова Н.Х., Авезов Н.Ш., Бобоев К.Т. Цитогенетическое исследование у пациента с онкогематологическим заболеванием с использованием флюоресцентной гибридизации in situ (FISH) (случай из практики) // Замонавий клиник лаборатор ташхиси долзарб муаммолари, 2022, №1. Б. 90-92.

21. Assesorova Yu.Yu. Development of a cell proliferative activity criterion for evaluating the quality of cytological preparations in conventional cytogenetic research // Canada, Toronto. Materials of International University Science Forum. 2020. –April 22, Part 2. –P.156-165. DOI: 10.34660/INF.2020.1.61644

22. Каримов Х.Я., Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю., Латипова Н.Р., Бобоев К.Т. Значение классического цитогенетического анализа в случае острого лимфобластного лейкоза с первично-резистентным течением заболевания // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики у терапии». Ж-л «Вестник гематологии». – 2019. – Т.XV. №2. – С.36-37.

23. Ассесорова Ю.Ю., Алланазарова Б.Р., Мустафина Л.К., Пулатова Н.С. Случай хронического миелоидного лейкоза с редкой реаранжировкой хромосомы 11, ассоциируемой с острыми лейкозами и миелодиспластическим синдромом // Материалы V Всероссийской научно-практической конференция с международным участием «Генетика опухолей кроветворной системы – от диагностики к терапии». – Санкт-Петербург 26-27 апреля 2019 г. – «Вестник гематологии», Санкт-Петербург. – 2019. – Т. XV, №2. – С.18.

24. Бобоев К.Т., Каримов Х.Я., Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю. Возможности модификации стандартного цитогенетического анализа у больных лейкозом // «The using of High tech methods of diagnosis and treatment for the blood system diseases» IV International Uzbek-Turkish Congress of hematologists and transfusiologists of Uzbekistan. – 20-21 april Tashkent-2018. – С.42-45.

25. Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю., Турсунова Н.А. Цитогенетические изменения при прогрессивном течении хронического миелолейкоза // Сб. научных трудов по матер. Научно-практической конференции гематологов и трансфузиологов Узбекистана «Нововведения в лечении и профилактике заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии». Ташкент, 16-17 мая. – 2013. – С.20-21.

26. Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю., Абдурахманова Н.Р., Бобоев К.Т. Цитогенетические изменения при остром миелолейкозе // Сб. научных трудов по матер. Научно-практической конференции гематологов и трансфузиологов Узбекистана «Нововведения в лечении и профилактике

заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии». Ташкент, 16-17 мая. – 2013. – С.17-18.

27. Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю. Значение оптимизации метода стандартного цитогенетического исследования // Матер. Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярно-генетические и иммунологические методы диагностики в практике врача-гематолога», СПб. Вестник гематологии. – 2013. – Т.IX, №2. – С.8-9.

28. Каримов Х.Я., Алланазарова Б.Р., Ассесорова Ю.Ю., Бобоев К.Т. Роль стандартного цитогенетического исследования в выявлении нарушений кариотипа при хроническом миелолейкозе // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Молекулярно-генетические и иммуногенетические методы диагностики в практике врача гематолога», СПб. Вестник гематологии. – 2013. – Т.IX, №2. – С.22-23.

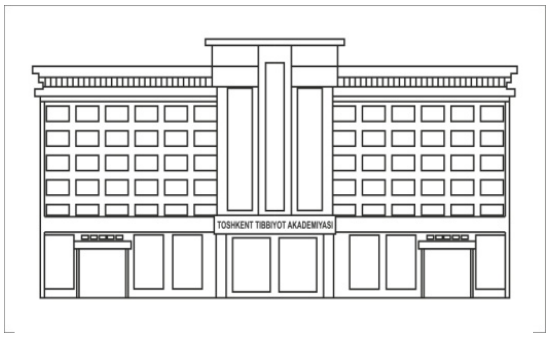
29. Ассесорова Ю.Ю., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Оценка эффективности и качества выполнения стандартного цитогенетического исследования у больных хроническими миелопролиферативными заболеваниями (Методические рекомендации). – Утверждено МЗ РУз № 8 н-р/1260 от 09.12.2021. –Ташкент, 2021. – 24 с.

30. Ассесорова Ю.Ю., Каримов Х.Я., Бобоев К.Т. Совершенствование стандартного цитогенетического исследования на основе учета характеристических признаков цитологических препаратов метафазных хромосом (Методические рекомендации) – Утверждено МЗ РУз № 8 н-р/1261 от 09.12.2021. –Ташкент, 2021. – 25 с.

31. Каримов Х.Я., Бобоев К.Т., Ассесорова Ю.Ю., Алланазарова Б.Р. Цитогенетические исследования в медицине: фундаментальные и прикладные аспекты. Научно-методическое издание. – Ташкент: «Янги аср авлоди», 2014. – 284 с.

32. Каримов Х.Я., Бобоев К.Т., Ассесорова Ю.Ю. Молекулярная генетика острых лейкозов. – Ташкент: Turonzaminziyo. 2017. – 372 с.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси» журнали тахририятида тахрирдан ўтказилди.



M U H A R R I R I Y A T V A N A S H R I Y O T B O ’ L I M I

Разрешено к печати: 29 февраля 2024 года
Объем – 3,46 уч. изд. л. Тираж – 50. Формат 60x84. 1/16. Гарнитура «Times New Roman»
Заказ № 3773 - 2024. Отпечатано РИО ТМА
100109. Ул. Фароби 2, тел: (998 71)214-90-64, e-mail: rio-tma@mail.ru