

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.Tib.30.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**ГЕМАТОЛОГИЯ ВА ҚОН ҚУЙИШ ИЛМИЙ-ТАДҚИҚОТ
ИНСТИТУТИ**

КАСЫМОВА ГУЛЬМИРА ГАФУРОВНА

**ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗ ВА ГЕМОБЛАСТОЗЛАРНИ ҚИЁСИЙ
ЎРГАНИШ: ПАТОГЕНЕЗ ВА РЕКОМБИНАНТ ИНТЕРЛЕЙКИН-2
БИЛАН ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ДАВОЛАШ**

14.00.16 – Нормал ва патологик физиология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА
ДОКТОРЛИК (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2017

Докторлик (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата докторской (DSc) диссертации

Content of the Doctoral(DSc) Dissertation Abstract

Касимова Гульмира Гафуровна

Гепатоканцерогенез ва гемобластозларни қиёсий

ўрганиш: патогенез ва рекомбинант интерлейкин-2

билан экспериментал даволаш 3

Касимова Гульмира Гафуровна

Сравнительное изучение гепатоканцерогенеза и

гемобластозов: патогенез и экспериментальная

терапия рекомбинантным интерлейкином - 2 25

Kasimova Gulmira Gafurovna

Comparative study of hepatocarcinogenesis and

hemoblastosis: pathogenesis and experimental therapy

recombinant interleukin-2..... 47

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works 52

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ
ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.Tib.30.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

**ГЕМАТОЛОГИЯ ВА ҚОН ҚУЙИШ ИЛМИЙ-ТАДҚИҚОТ
ИНСТИТУТИ**

КАСЫМОВА ГУЛЬМИРА ГАФУРОВНА

**ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗ ВА ГЕМОБЛАСТОЗЛАРНИ ҚИЁСИЙ
ЎРГАНИШ: ПАТОГЕНЕЗ ВА РЕКОМБИНАНТ ИНТЕРЛЕЙКИН-2
БИЛАН ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ДАВОЛАШ**

14.00.16 – Нормал ва патологик физиология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА
ДОКТОРЛИК (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2017

Докторлик (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2017.1.DSc/Tib9 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Гематология ва қон қуйиш илмий-тадқиқот институтида бажарилган.

Диссертация автореферати икки тилда (ўзбек, рус) веб-саҳифада www.tma.uz ва «ZiyoNet» ахборот-таълим портали (www.ziyo.net) манзилларига жойлаштирилган.

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

Расмий оппонентлар: **Сабирова Рихси Абдукадировна**
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Зокиров Ёркин Узуевич
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Пулатов Дониёр Анварович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот: ФДАОТТМ И.М.Сеченов номидаги Биринчи Москва давлат тиббиёт университети (Сеченов Университети) (Россия Федерацияси)

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги DSc.27.06.2017.Tib.30.03 рақамли Илмий кенгашнинг 2017 йил «___»_____ соат _____даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100109, Тошкент, Фаробий кўчаси, 2. Тел./факс: (99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mai.ru). Тошкент тиббиёт академияси, 1-ўқув биносининг мажлислар зали).

Докторлик (DSc) диссертация билан Тошкент тиббиёт академияси Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (_____ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100109, Тошкент ш., Фаробий кўчаси 2-уй. Тошкент тиббиёт академияси 2-ўқув бино «Б» корпуси, 1-қават, 7-хона. Тел./факс: (99871)- 150-78-14.

Диссертация автореферати 2017 йил «___»_____ да тарқатилди.
(2017 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).

Г. И. Шайхова
Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси,
т.ф.д., профессор

Н. Ж. Эрматов
Илмий даражалар берувчи илмий
кенгаш илмий котиби, т.ф.д., доцент

Б.У. Ирискулов
Илмий даражасини берувчи илмий
кенгаш қошидаги илмий семинар
раиси, т.ф.д., профессор

КИРИШ (докторлик диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Ўсма касалликларининг ривожланишига дунё аҳолиси орасида тамаки маҳсулотларини сурункали истеъмол қилиш, тамаки чанги, турли кимёвий овқат қўшимчалари, консервантлар, стресс, рентген нурлари, пестицидлар, ион нурланишлар ҳамда ташқи муҳит салбий омилларининг таъсири бўлиб, унинг улуши 85%ни ташкил қилади. «Жаҳонда йилига 6 млндан ортиқ киши ўсмалардан, 1 млндан ортиғи эса гепатоцеллюляр ўсмалардан вафот этади, лейкозлар эса ҳар 100.000 аҳоли 13,2 ходисани ташкил қилиб, уларнинг 60% ишлаш қобилиятини йўқотган ва ногиронларга тўғри келади»¹.

Ўзбекистон Республикасида мустақиллик йилларида аҳолига кўрсатилаётган тиббий хизмат тизими тубдан ўзгартирилди, шу ўринда аҳолининг орасида ўсма касалликларини тарқалишини камайтириш, касалликни ташхислаш, даволашнинг замонавий тиббий воситалари ва самарали усулларни амалиётга татбиқ этилмоқда. Бунинг оқибатида ўсмаларни кимёвий дори воситалари билан даволашда уларнинг зарарли оқибатларни камайтиришга қаратилган кенг қамровли чора-тадбирларни амалга ошириш, касалликни эрта аниқлаш ва самарали даволаш натижасида «ўсма касалликлари билан хасталанган беморларнинг умр кўриш давомийлиги 3-5 йилга узайтирилди»².

Жаҳонда хавфли ўсма касалликлари билан хасталанган беморларни ташхислаш ва самарали даволаш, унинг олдини олишга қаратилган профилактик тадбирларни юқори самарадорлигига эришиш мақсадида қатор илмий тадқиқотлар амалга оширилмоқда, жумладан, ўсма ҳужайраларининг жавоб механизмлари пролиферация, апоптоз, функционал фаоллигининг ўзгаришига ташқи муҳит омилларининг таъсир механизмини аниқлаш; хавфли ўсмалар молекуляр механизмларининг умумий ва специфик хусусиятларини мукамал ўрганиш асосларини яратиш; ўсмалар ривожланиш даражасини баҳолашда пролефератив ва антиоксидант тизим ферментлари фаоллигини объектив баҳолаш мезонини ишлаб чиқиш; ўсмалар оқибатида ўлим кўрсаткичи белгиловчи омилларни асослаш; ўсмаларни консерватив даволаш усулларини такомиллаштириш; ўсмаларни даволашда кенг қамровли иммункорректорларни комплекс даволаш тизимига киритиш; даволаш тактикасини оптималлаштириш, онкологик касалларни кимёвий дори воситалари билан даволаш тизими асоратларини камайтириш ва самарадорлигини ошириш жараёнини татбиқ қилиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2011 йил 28 ноябрдаги ПҚ-1652-сон «Соғлиқни сақлаш тизимини ислоҳ қилишни янада чуқурлаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли

¹ЖССТ Европа региониди асосий саломатлик кўрсаткичлари. ЖССТ, 2014 йил.

²Соғлиқни сақлаш вазирлигининг хисоботлари

бошқа меъерий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда мазкур диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Диссертация мавзуси бўйича халқаро илмий-тадқиқотлар шарҳи³.

Ўсмаларнинг ривожланишида молекуляр механизмини ўрганиш ва консерватив даволаш, касалликни олдини олишга йўналтирилган илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасаларида, жумладан University of Oklahoma, Boston University, National Cancer Institute (АҚШ); Universitat Autònoma de Barcelona (Испания), Osaka University; Hokkaido University (Япония); Department of Immunology and Chronic Disease Research Center and Institute for Medical Science, Occupational Safety and Health Research Institute (Корея), Korea Occupational Safety and Health agency, Division of Hematology-Oncology, EwhaWomans University (Корея); Россия Онкология илмий маркази, гематология институти, (Россия) ва Гематология ва қон қуйиш институти ва Республика онкология илмий-тадқиқот марказида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

Ўсма касалликларнинг эрта ташхислаш ва олдини олиш бўйича амалга оширилган тадқиқотлар натижасида қатор, жумладан куйидаги илмий натижалар олинган: бензол ва бошқа органик кислоталар таъсирида лейкомия ва миеломалар ривожланиши исботланган (Occupational Safety and Health Research Institute (Корея); гемабластозлар ривожланишида Y хромосомларнинг молекуляр бузилишининг аҳамияти исботланган (University of Oklahoma Health Sciences Center (АҚШ); ўсмаларни даволашда биопрепаратларнинг таъсир механизми асосланган (Osaka University (Япония); миелопролеферацияни даволашда қўлланиладиган дори воситаларининг гепато, сплено ва нефротоксик таъсири аниқланган (Universitat Autònoma de Barcelona (Испания); Division of Hematology-Oncology, Ewha Womans University, (Корея); ўсма касалликлари тарқалиш эпидемиологияси ҳамда ташхислашнинг замонавий алгоритмлари ишлаб чиқилган (University of Oklahoma Health Sciences Center, Boston University, National Cancer Institute (АҚШ); ўсмаларни даволашда трансретиноид кислоталарининг самарадорлиги исботланган (Gifu University; Kinki University (Япония); ўсма касалликларни ривожланишининг молекуляр-генетик механизмлари ҳамда касалликни даволашда дори воситаларини ишлаб чиқариш ва қўллаш механизми яратилган (Онкология илмий маркази, Россия); гепатоканцерогенез ва гемобластозларни интерлейкин-2 билан

³ Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи: <https://www.ou.edu/>, <http://www.bu.edu/>, <https://www.cancer.gov/>, <http://www.uab.cat/web/universitat-autonoma-de-barcelona.html>, <http://www.osaka-u.ac.jp/en>, <https://www.oia.hokudai.ac.jp/>, <http://www.aseic.org/expert>, <https://www.ewha.ac.kr/mbs-/ewhaen/>, <http://www.bloodscience.ru/>, http://qonber.uz/pages/pages_uz/news.html, <http://www.ouhsc.edu/>, <https://www.bumc.bu.edu/busm/cancer-center/>, <http://www.gifu-u.ac.jp/en/>, <http://www.kindai.ac.jp/english/> ва бошқа манбалари асосида амалга оширилди.

экспериментал даволаш механизми модели ишлаб чиқилган (Гематология ва қон қуйиш илмий-тадқиқот институти, Ўзбекистон).

Дунёда ўсма касалликларининг тарқалишини олдини олиши ва уларнинг молекуляр механизмларни асослаш бўйича қатор устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда, жумладан, кимёвий бирикмаларнинг канцерогенлик хавфини асослаш; ўсмалар ўсишининг молекуляр генетикаси, ўсмаларнинг микромуҳитини ўзгариш механизмини ишлаб чиқиш; иммун механизмнинг ўрни; неоплазия жараёнида азот оксиди тизими; резистент ўсма хужайраларининг ўсишида ва кимётерапиянинг захарлиги ҳамда гепатоцеллюляр саратон ва онкогематологик касаллик билан оғриган беморларнинг ташхислаш ҳамда даволаш усулларини янада такомиллаштириш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Кейинги йилларда узоқ (Dougan M., Dranoff G., 2009; Cai L.L. et al., 2012; Pere H. et al., 2012) ва яқин хорижий давлатларда (Харченко Е. П., 2011; Чечина О. Е. ва бошқ., 2011; Савина Н. П., 2013) ўтказилган тадқиқотларда айтилишча, ген мутациясида ўсма хужайрасида апоптозанинг бузилиш механизмларидан бири бу жараённи назорат қилади; ўсма некроз омили ген оиласидаги қисмларининг ўзгариши (ФНО- α); капсаз; цитотоксик Т-лимфоцит ва табиий киллер (ТК). Буни олдини олиш учун ўсма хужайралари жараёнини фаоллаштириш, ундаги апоптозни ўраб олишни тўхтатиш, шунингдек, улардаги ўсиш жараёнини фаоллаштириш зарур (Рязанцева Н. В. и др., 2012; Леенман Е. Е., Мухина М. С., 2013; Fredly H., Ersver E., Gjertsen V. T., Bruserud O., 2011). Бу жараёнларда азот оксиди муҳим ўрин тутди. Х. Маеда (1998) фикрича, кўплаб қаттиқ ўсма тўқималарида индуцибел формаси NO-синтез (iNOS).

Ўзбекистонда ушбу йўналишда бир қатор илмий тадқиқотлар амалга оширилган. Х.Я. Каримов канцерогенез механизми, Д.А. Пўлатов гепатоцеллюляр саратон; Ф.Х. Иноятова NO-эргик тизими ва липид оксидланишини бузилиши, М.Т.Мухаммедова–гепатоканцерогенезда азот оксидининг ўрни бўйича тадқиқотлар олиб боришган.

Онкологияда кимётерапия жараёни беморнинг ҳаёт сифатини яхшилаш имконини беради. Бироқ ҳатто энг сўнгги кимётерапия дори воситалари тананинг тез кўпаядиган тўқималари устидан токсик таъсири бор. Бу омиллар цитотоксик дориларни клиник фойдаланиш имконини чеклайди ва доимий равишда ўсма касалликларини даволашда янги усулларни излашга мажбур этади. Бу борада иммуноксинлар, цитокинлар, моноклонал антителалар мавжуд. 1998 йилда Россия онкология илмий маркази ва «Биотех» компанияси ИЛ-2 дан хамиртуруш дори – ронколейкин, фаол апоптоз, апоптозга қарши факторлар ингибирлашган ангиогенез олган.

Неопластик жараёнларни ривожлантириш, унинг турли орган ва тизимларга шикаст етказишини умумий ва ўзига хос хусусиятларини шакллантириш фундаментал тиббиётнинг энг асосий муаммоларидан бири эканлигини кўрсатади. Бу касалликлар кимётерапия самарадорлигини ошириш учун чуқур ўрганиш зарурлигини тақозо этади.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Гематология ва қон қуйиш илмий-тадқиқот институтининг «Гемобластозларнинг сурункали шаклларни клиник кечишида вирусларга қарши жавоб таъсирида айрим герпес вирусларининг ўрни ва ахамиятини таҳлили» (2012–2016 йй.) мавзусидаги фундаментал лойиҳа режасига мувофиқ бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади гепатоканцерогенез ва лейкомияда неопластик жараён ривожига хос молекуляр механизмларини аниқлаш ва даволашнинг самарали усуллари ишлаб чиқишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

гепатоканцерогенез ва лейкомия даврида азот оксиди (НАДФ, Н диафораз ва нитрат натрий миқдори) ишлаб чиқариш ўзгариши хусусиятларини аниқлаш;

гепатоканцерогенез ва лейкомияда қондаги липидлар оксидланиши ҳамда антиоксидант ҳимоя ферментлари фаоллигининг бузилиши жараёнини аниқлаш;

гепатоканцерогенез ва лейкомия даврида интерлейкин даражасининг ўзгариш хусусиятларини аниқлаш;

гепатоканцерогенез ва лейкомия комплекс фармакотерапиясида ронколейкин қўлланилишининг морфологик самарадорлигини баҳолаш;

гепатоканцерогенез ва лейкомияда биокимёвий ҳамда иммунологик кўрсаткичларнинг бузилишини олдини олиш мақсадида ронколейкин ва цитостатикларни биргаликда қўллаш самарадорлигини баҳолаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида 400 та катта эркак каламушлар олинди: 180 та – диэтилнитрозолин (ДЭНА) индуцирланган гепатоканцерогенезли; 180 та – бензол орқали лейкомия чақирилган; 40 – та интакт ҳайвонлар олинган.

Тадқиқотнинг предмети тажриба ҳайвонларнинг қонидаги зардоб, қон, суяк илиги ҳужайралари, жигар тўқимасини комплекс таҳлил материаллари олинган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот вазифаларни бажаришда морфологик, цитокимёвий, цитологик, иммунофермент, биокимёвий ва статистик таҳлил усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор гепатоканцерогенез ва лейкомия моделларида неопластик жараёнлар ривожланишида цитокинлар, ёғларни перекисли оксидланиши жадаллашиши ва азот оксид миқдорининг ошганлиги аниқланган;

неопластик жараёнлар ривожланишида азот оксидининг ўрни баҳоланган: канцерогенез даражасига боғлиқ равишда L-аргинин, азот оксидининг қолдиқ маҳсулотлари ва периоксинитрит миқдорининг ўзгариши метастазланишни кучайишига шарт-шароитлар яратиши исботланган;

канцерогенез босқичига боғлиқ равишда тажриба ҳайвонлари қон зардоб ва жигар гомогенатида антиоксидант ҳимоя ферментининг пасайиши ҳамда яққол гиперлипипероксидация белгиларига боғлиқлигини аниқланган;

турли неопластик жараёнларни жадаллашишига олиб келувчи ИЛ-1, ИЛ-6 ва ФНО- α цитокинлар экспрессияси исботланган;

гепатоканцерогенез ва лейкомияда цитостатикларнинг ўсма хужайраларига қарши таъсирини кучайтиришда даво муолажаларига ронколейкиннинг киритилиши асосланган ва доксорубицин ва гидреанинг умумий токсик таъсирини камайтириш хусусияти исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси қуйидагилардан иборат:

каламүшларда бензол билан лейкомия чақириш модели яратилди, тавсия этилган моделни лейкомияни олдини олишга қаратилган баҳолаш тартиби ўрганиш ва профилактикани олдини олишни такомиллаштиришга ёрдам бериш исботланган;

тадқиқот натижалари асосида гепатоцеллюляр саратонни даволашда ва онкогематологияда ронколейкинни қўллаш зарурлиги исботланган;

гепатоканцерогенез ва лейкомия молекуляр механизмларини информа-цион таъминотининг самарали усулларида фойдаланишнинг услубий тадқиқот даражасини ошириши зарурлиги исботланган;

неопластик жараёнларни молекуляр механизмларини ўрганишда саратон касаллигини даволаш учун йўналтирилган ёндашувни кимё терапевтик дорилар ўсмаларнинг қаршилигини камайтириш самарадорлигини ошириш мумкинлиги аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги ишда қўлланилган назарий ёндашув ва усуллар, олиб борилган тажрибаларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, тажриба ҳайвонлари сонининг етарли эканлиги, биокимёвий, статистик текшириш усуллари ёрдамида ишлов берилганлиги, шунингдек, тадқиқот натижаларининг халқаро ҳамда маҳаллий тажрибалар билан таққослангани, хулоса, олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқлангани билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки, неопластик жараёнларни молекуляр механизмларини аниқлаш, хавфли ўсма касалликларни даволашнинг замонавий схемаси ишлаб чиқилган. Рекомбинант ИЛ-2 самарадорлигини баҳолаш шифохонада беморларни даволашда фойдаланиш учун тавсия этилган. Ронлейкинни ўсма касалликларни даволашга татбиқ қилиш, даволаш самарадорлигини ошириш, кимётерапияга ўсма хужайраларнинг сезгирлигини камайтиришдан иборат.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, гепатоцеллюляр ўсма ва лейкозларни кимётерапия ўтказишда қўлланиладиган кимёвий дори воситаларининг орган ҳамда тизимларга токсик тизимли таъсирини аниқлаш учун қатор биокимёвий ва иммунологик кўрсаткичларни ўрганиш зарурлиги исботланган. Хавфли ўсмаларни кимёвий дори воситалари ёрдамида даволаш самарадорлигини оширишда даво воситалари таркибига ронлейкин киритилганда даволаш

самарадорлигини ошириш билан биргаликда кимёвий воситаларининг асоратларини камайтиради, фармокотерапия самарадорлигини оширади, беморларнинг касалхонада бўлиш вақтини қисқартириб, ремиссия даврини узайтирди.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши: гепатоканцерогенез ва лейкозларни молекуляр асосларини ўрганиш бўйича олинган илмий натижалар асосида амалиётга татбиқ қилиш материаллари ишлаб чиқилган:

«Сурункали лейкозларнинг экспериментал модели» номли услубий қўлланма ишлаб чиқилган ва соғлиқни сақлаш амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2016 йил 10 февралдаги 8Н-3/44-сон маълумотномаси). Мазкур услубий қўлланма сурункали лейкозларнинг келиб чиқиш сабаблари, ривожланиш механизми ва касалликни эрта аниқлаш ва ташхислашни такомиллаштириш имконини беради;

лейкозларни кимёвий дори воситалари билан даволашда уларнинг заҳарлилик хусусиятларни пасайтиришда ронколейкинни қўллаш бўйича олинган илмий натижалар «Сурункали лейкозларда кимёвий дорилар қўлланилганда ронколейкинни қўллашнинг тажрибада асослаш» услубий қўлланмаси ишлаб чиқилган ва соғлиқни сақлаш амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2016 йил 10 февралдаги 8Н-3/44-сон маълумотномаси). Мазкур услубий қўлланма сурункали лейкозларни даволашни корекциялашни кимёвий дори воситалари асосида беморларнинг заҳарланишни олдини олишни чора-тадбирларини такомиллаштириш имконини беради.

Гепатоканцерогенез ва лейкозларни молекуляр асосларини ўрганиш ва ўсма касалликларни эрта ташхислаш ва самарали даволаш тизимини такомиллаштиришга қаратилган илмий тадқиқотларнинг натижалари, онкогемолитик беморлар ва гепатоцеллюляр ўсма касалликларни даволашда ронколейкин ва гидреани қўллаш бўйича олинган илмий натижалар соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан, Гематология ва қон қуйиш илмий маркази лабораториялари ҳамда Тошкент тиббиёт академияси институтлараро илмий-тадқиқот лабораторияси тизимларига, Гематология ва қон қуйиш илмий маркази клиникаси амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2016 йил 10 февралдаги 8Н-3/44-сон маълумотномаси). Олинган фундаментал илмий натижаларнинг амалиётга жорий қилиниши хавфли ўсма касалликларни эрта ташхислаш, касалликларнинг кечиши ва оқибатини яхшилаш, олдини олиш чора-тадбирларни такомиллаштириш, беморлар ҳаёт тарзини узайтириш, аҳолининг турли қатламлари орасида хавфли ўсма касалликларини рекомбинант интерлейкин-2 билан экспериментал даволаш, лейкоз касаллигини даволашда ҳар бир беморнинг шифохонадаги ўрин кунини 15-20%га қисқартириш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари, 6 та илмий анжуманларда, жумладан 4 та халқаро конференцияда ва 2 та республика илмий амалий анжуманларида муҳокомадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси жами 26 та илмий иш, шундан 15 та мақола Ўзбекистон Республикаси Олий

аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда, жумладан, 13 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Диссертация таркиби кириш, олтига боб, хулосалар ва фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 179 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ҳамда амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Канцерогенез механизми ва гепатоканцерогенез ва гемобластозлар концепциясининг замонавий ҳолати**» деб номланган биринчи бобида иш мавзусига оид адабиётларнинг таҳлили берилган. Жумладан, канцерогенезнинг молекуляр механизмлари, гепатоканцерогенез ва гемобластозларнинг тарқалганлиги, келиб чиқишининг хавф омиллари, таснифи, унинг ташхиси ва бошқа касалликлар ривожланишидаги аҳамияти назарий жиҳатдан таҳлил қилинган.

Диссертациянинг «**Гепатоканцерогенез ва гемобластозларни қиёсий ўрганиш: патогенез ва рекомбинант интерлейкин-2 билан экспериментал даволаш методологияси**» деб номланган иккинчи бобида қўлланилган материал ва тадқиқот олиб бориш услублари келтирилган. Экспериментал материалнинг умумий таснифи 400 та 100-120 г бўлган эркак каламушларда Гва ҚҚИТИ экспериментал тажриба лабораториясида амалга оширилади: тажриба 2 та серияда, яъни гепатоканцерогенез ва лейкокемия моделларида олиб борилди. 1-гурухда гепатоканцерогенез индукцияси учун Евграфова модели билан гепатоканцероген ДЭНА (ошқозон ичига зонд орқали ҳафтасига 5 марта 10 мг/кг дозада 2 ой мобайнида) киритилган 180 та каламушдан фойдаланилди.

Тажрибанинг охириги муддатида ўткир захарланишдан 46 та (25,5%) каламуш қурбон бўлди. Тажриба муддати давомида бир хил шароитда назорат гуруҳида 20 та каламуш сақланди. Ҳайвонлар эксперимент бошидан 3, 4, 5, 6, 7 ва 8 ойдан кейин қурбон қилинди. Гепатокарцином ривожланиши бўйича жигар морфологик тадқиқотлари натижалари билан муҳокама қилинди. Жигарида ўсмалари бор танланган ҳайвонлар кейинги тажрибалар учун олиб қўйилди. Тажриба бошланишидан 5 ойдан кейин тирик қолган 134 та каламуш 4 гуруҳга бўлинган эди: 1-гурухда 35 та гепатоканцерогенезли каламуш 0,5 мл/100 г физиологик эритма олган; 2-гурухда 3 кун қорин ичига 0,006 мг/кг доксорубицин (Doxorubicin, фирма «Pharmitalia»), (Д.А. Пулатов,

2004) олган 33 та каламуш; 3-гуруҳда 10 кун давомида 3 маҳал (М. Н. Бережная ва бошқ., 1992) ронколейин (фирма «Биотех», Санкт-Петербург) 0,006 мг/кг бўлган 33 та каламуш; 4-гуруҳда юқоридаги миқдорда 33 та каламуш доксорубицин+ронколейкин олган. Даволаш жараёни 3 ой мобайнида босқичма-босқич 10 кун олиб борилди.

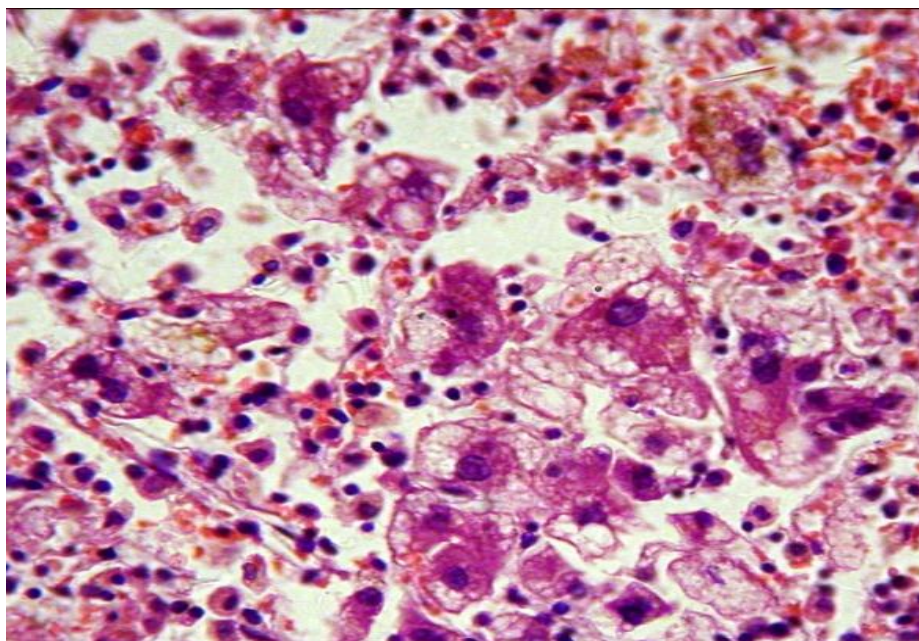
2-серияда 180 та каламушда лейкомияни қайта тиклаш учун бизнинг усул 8 ой давомида тери остига 40% ёғли бензол эритмси (0,01 мл/100 г тана оғирлиги) киритишни таклиф этди (Х.Я.Каримов ва бошқ., 2010). Сўнги муддатда 54 та каламуш (30%) ўткир захарланиш натижасида вафот этди. Назорат гуруҳида 20 та каламуш тажриба муддати давомида бир хил шароитда сақланди. Ҳайвонлар тажриба бошланганидан 3-чи, 4-чи, 5-чи, 6-чи, 7-чи, ва 8 ойдан кейин қурбон қилинди. Лейкемия ривожланиши бўйича сон суягида гемограмма ва миелограмма таҳлил қилинди. Лейкемия белгилари бор ҳайвонлар кейинги тажибалар учун суяк кўмиги ва периферик қон кўрсаткичлари бўйича таҳлил қилинди. 5 ойдан кейин тажриба учун тирик қолган 126 та каламуш 4 гуруҳга бўлинди: 1-гуруҳда 33 та лейкомияга чалинган каламушлар, 0,5 мл/100 г физиологик эритма олган; 2-гуруҳда 31 та каламуш, гидреа олган (гидроксимочевина, гидроксикарбамид, Hydrea) қорин ичига 20 мг/кг (К.М.Абдулкадыров, 2004); 3-гуруҳда 10 кун давомида 3 маҳал (М.Н.Бережная ва бошқ., 1992) ронколейин («Биотех» фирмаси, Санкт-Петербург) 0,006 мг/кг бўлган 31 та каламуш; 4-гуруҳда юқоридаги миқдорда 31 та каламуш гидреа+ронколейкин олган. Даволаш жараёни 3 ой мобайнида босқичма-босқич 10 кун олиб борилди.

Тадқиқот муддатига мувофиқ ҳайвонлар совуқ хонада енгил наркоз билан ўлдирилди, сўнг қорин ичи очилиб, ундан жигари чиқариб олинди ва тортилиб, ўртасидаги йиринг трис-НСІ-буфер, рН 7,2,05М эритма билан ювилди. Жигарнинг 1/3 қисми биокимёвий тажриба учун олинди. Қолган 1/3 қисми цитокимёвий НАДФН-диафоразани (А.И.Гоженко ва бошқ., 2000) аниқлаш учун олинди. Жигар тўқимасининг қолган қисми морфологик тадқиқот олиб бориш мақсадида олинди. Қон зардобидида азот оксиди – L-аргинин ва NO₂ (А.С. Комарин ва бошқ., 2005), АЛТ, АСТ ферментлар фаоллиги ва ишқорли фосфатаза, умумий оқил, альбуминҳамдаинтерлейкин таркиби(ИЛ-1β, ИЛ6 ва ФНО-α) иммунофермент усулида аниқланди. Қон ва гомогенатда антиоксидант ҳимоя ферментлари фаолияти аниқланди: супероксиддисмутаза (СОД) (В.Г.Мхитарян ва бошқ., 1978), каталаза (М.А.Коралюк. ва бошқ., 1988), ПОЛ маҳсулоти – малоновдиальдегид (МДА) (Л.И.Андреева ва бошқ., 1989). Морфологик тадқиқотда периферик қон таркибида гемоглобина, эритроцит, лейкоцит, тромбоцит аниқланди. Каламуш сон суяги қопқоғидан суяк илигидан суртма олинди, ҳамда олинган намуна гематоксилин ва эозин билан бўялди, суяк илиги ҳужайралари ва морфологик тизим ҳисобланди. Олинган клиник ва лаборатор натижаларини статистик қайта ишлаш Pentium IV компьютери ёрдамида амалга оширилди.

Диссертациянинг «ДЭНА-индуцирланган канцерогенезда жигарнинг таркибий ва функционал хусусиятларини ўрганиш» деб номланган учинчи бобида узоқ муддатли ДЭНА гепатокарцин ривожланишига олиб

келиши, тажриба бошланганидан 5-6 ой ўтгандан кейин ўзгаришлар кузатилганлиги аниқланди. Тажрибанинг 3- ва 4- ойидан кейин гепатоцит ядро аппаратининг ўзгариши, 4-ойдан сўнг эса трабекуляр тузилишидаги ўзгаришлар кузатилди.

Тажрибанинг 3-ойидан кейин жигарнинг морфологик текширувида органнинг тузилмавий бирлиги сақланганлиги, гепатоцитларнинг жойлашган ўрни меъёрдалиги, жигар триадаси сақланганлиги, цитоплазмада хира бўялган жойлар аниқланган. Канцерогенез инициация жараёнини тасдиқлашчи, гиперхромия катта ядролар билан кўп ядроли хужайралар гепатоцит характерга эга. Эрта ўтказилган тажриба мақсадга мувофиқ эмас, шунингдек, бу вақтда ДЭНА токсик таъсири намоён бўлган. Аммо тажриба тартибига мувофиқ даволаш ҳафтасига 5 марта 2 ой давомида татбиқ қилинган. Бу даврда тўсиқлараро соҳаларда тартибсиз кенгайишлар, жигар дисконкомплексирланганлиги кузатилган. Формаган доналари миқдори ошган ва азот оксиди тизими фаоллашгани кўринди ҳамда морфофункционал соҳаларида жигар тўқималарининг бир хиллиги аниқланди (1-расм).



1-расм. Формаган доналари миқдорининг ошиши.

Ушбу натижаларга кўра, тажриба ҳайвонлари қони зардобадаги L-аргинин даражаси интакт ҳайвонлар билан солиштирганда 1,44 марта камайганлиги аниқланди (1-жадвал). Ўсма хужайраларининг бузилишида қабул қилинган реактив азот оксиди NO° , NO_2° , N_2O_3 , NOO° амин модификация кўринишида иштирок этади. Пероксинитритфаол молекуласи NO ташкил топишида муҳим ўрин эгаллайди. Тажриба ҳайвонлари жигари гомогенатида ва қонидаги ПОЛ жараёни тадқиқотда аҳамиятлидир. Ушбу кўрсаткичлар таҳлили қон плазмасида МДА даражаси ва айниқса тажриба ҳайвонларининг жигари (52,4%) гомогенатида намоён бўлди, шунингдек қонда СОД ингибири билан боғлиқ бўлган ПОЛ интенсификация бўлса, у

жигарда бир вақтнинг ўзида фаол СОД фониди каталаза даражасини пасайтиради. Бизнинг фикримизча, NO юқори концентрацияда фаол кислород билан ўзаро таъсирланганда пероксинитрит маҳсулотларида кўпроқ токсиклар пайдо бўлишига олиб келади, бу мембранларнинг деструктив жараёнини кучайтиради. Жигар гомогенатида СОД фаол бўлишига қарамай, у эркин радикалларга тўлиқ зарар етказмайди, шунингдек, интакт ҳайвонларга қараганда СОД ва МДА муносабатлари кам бўлади. Промоция босқичида (фикримизча, 4 ва 5 ойдан кейин) биокимёвий динамик параметрлари аввалги ўрганиш давридан жиддий фарқ қилади. Шундай қилиб, 4 ойдан кейин L-аргининнинг даражаси янада пасайди, цитокимёвий усул НАДФН-диафорозада аниқланганда эса формаган доналарининг интенсив равишда тўплангани кўзга ташланди ва жигар тўқималарида дистрофик ўзгариш кузатилди. Бу ўзгариш ушбу даврда жигарда морфологик қайта қуриш бошланганини тасдиқлайди.

1-жадвал

Гепатоканцерогенезда тажриба ҳайвонлари қони зардобиди L-аргинин, NO₂ ва OONO⁻ таркиби, M±m

Тадқиқот муддати, ой	L-аргинин даражаси, моль/л	NO ₂ таркиби, мкмоль/л	OONO ⁻ таркиби, мкмоль/мл
3 ойдан кейин	0,090±0,001***	11,64±0,076***	0,12±0,01
	0,130±0,001	9,06±0,033	0,15±0,02
4 ойдан кейин	0,071±0,005***	13,97±0,024***	0,37±0,04**
	0,129±0,001	9,15±0,011	0,20±0,02
5 ойдан кейин	0,068±0,001***	12,90±0,030***	0,56±0,01***
	0,131±0,001	9,13±0,009	0,12±0,01
6 ойдан кейин	0,133±0,002**	9,03±0,025***	0,74±0,03***
	0,125±0,002	9,18±0,015	0,16±0,01
7 ойдан кейин	0,108±0,001***	12,26±0,025***	0,17±0,01**
	0,127±0,002	9,24±0,015	0,12±0,01
8 ойдан кейин	0,112±0,001***	12,91 ±0,03 1***	0,05±0,01***
	0,126±0,001	9,25±0,011	0,14±0,01

Изоҳ: 1. Сураат – тажриба ҳайвонлари маълумотлари, маҳраж – интакт гуруҳ;
2. * - фарқлар назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (* - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001).

Бундан келиб чиқадики, қон томирлардаги оксил массаси гепатоцит мойиллигига жавоб беради, ҳужайра полиморфизмларида акс этади, фиброз тўқималари қаватларида юпқа кўринишда мавжуд бўлади ва васкуляризация жараёнини фаоллаштиради. Препаратдаги ўсма ҳужайралар кўздан кечирилганда девор ичида кўп миқдорда кистозлар, куб шаклидаги

эпителий, аденокарцином намоён бўлади. Шу билан бирга қон зардобиди NO_2 янада ўсади, аммо ПОЛ интенсификацияси ҳам янада катталашади, агар қон плазмасида МДА даражаси 105%, жигар гомогенати 77,2%га ўсади. Бундай ПОЛ интенсификацияси айнан қондаги антиоксидант ҳимоя ферментларининг фаоллик жараёни фонда пасайган жараёнига мансуб бўлиб, буларнинг барчаси фаол мембраналарнинг деструктив жараёнларини тасдиқлайди.

Бизнинг тажрибаларимиздан кўриниб турибдики, реакция усул NO метаболитига билвосита таъсир этади. Шунингдек, улар канцероген бирикмаларда ўзида намоён этган нитрозаминлар пайдо бўлишида кучаяди. ДНК асосининг ўзгариши, уни тизимларга бўлиш ва ингибирлаш жараёнида бузилган ДНК гепатоканцерогенезда промоцияланганда кучайиши мумкин, яна кўплаб неопластик бузилган хужайраларнинг фаоллашишига имкон туғдиради. Бошқа томондан қон-томир энтолийга NO таъсир этиши унинг таркибининг ўзгаришига олиб келади бузилган ўсма хужайраларининг бирикишини таъминлайди. Бу кузатув морфологик йиғилган формаган доналари атрофида бузилган хужайралар ва гепатоцитларнинг васкуляризациясини тасдиқлайди.

Шундай қилиб, NO канцерогенезда худди агентдек, ксенобиотик метаболизм модификатор каби антиканцероген генетик баланс бузилишида иштирок этади. Табиий ва синтетик агентлар бу балансни тутиб туради, шунингдек, у онкологик касаллиги билан оғриган аҳоли гуруҳида саратон хавфини камайтиришда фойдали дори воситаси ҳисобланади. НАДФН-диафоразани аниқлашда цитокимёвий усул гепатоцитда NO синтезининг фаоллигини тасдиқловчи кўрсаткичлардан биридир. Бу даврда кўп миқдорда катта-кичик кулранг-кўнғирформаган гранула гуллари борлиги, дистрофик ўзгаришлар бор жигар доирасида ва атрофида вакуоласимон хужайралар ўчоғи мавжудлиги аниқланган. Бир жинсли бўлмаган цитоплазма, полиморфиз белгили ядро, ундаги пертрофияга учраган нуклеосома кузатилди.

Шунингдек, ўсиб боровчи ПОЛ фониди қон плазмасида гиперлипипероксидация оғирлиги босқичма-босқич пасайиб борди. Бу даврда ПОЛга бундай турлича таъсирлар гепатоцитда пероксинитритни кескин ўсишига таъсир этади. Бошқа томондан бундай гиперфаоллик унинг қондаги пасайиш фониди компенсатор фаол СОДнинг кўпайишида намоён бўлади.

Энг қизиқарли натижалар неопластик жараёнининг тарқалишида қайд этилади (6 ойдан кейин). Бу давр мобайнида интакт ҳайвонларда L-аргинин даражасининг ошиши, NO_2 камайиши, баъзан бир неча ингибирланган NO тизими шаклланади. Гистокимёвий тадқиқотларда турли ўлчамдаги диформаган гранулалари тартибсиз бўялганини, жигар паренхимасининг ичида НОС зарралари аниқлиги камроқ, аммо вақти-вақти билан пайдо бўлади. Бу хужайра фермент қатламларини шакллантириш ядролари кенг соҳаларда бир неча гистологик хужайра гуруҳлари мавжудлиги билан тасдиқланади. Жигарнинг оксил синтезловчи вазифаси кучли ингибирланган фонда аввалги муддатлар билан солиштирилганда АЛТ, АСТ фермент-

ларининг фаоллиги пасайганлиги аниқланди. Юқори фаол СОДни сақлаш фониди гиперлипидпер-оксидация ва жигар гомогенатида каталазалар даражаси камайган ҳамда қонда СОД эзлиши кузатилган, бироқ катталашган шиш ва метастазланишнинг бошланиши билан шишда NO ўрнини қайтадан ҳосил қилиш лозим. Ташқи томондан бу қон зардобиди L-аргинин таркибининг фонди камайишига олиб келади. Цитокимёвий босқичда (7-8 ойдан кейин) хужайра периферийларида тўпланган тўқ кул ранг ва тўқ кўнғир гулларини тўккан формаган гранулалари таркиби кўпайиб кетди. 7- ва 8-ойда жигар саратонининг гиперваскуляризация ва гепатоцеллюляр карциномаси ривожланганлиги аниқланган. NO таъсири дезагрегацион кўринишга эга, эзилган хужайралараро боғланган хужайраларни NO синтези кучайтиради. NO синтезининг кучайиши хужайраларнинг инвазия жараёнида тўқималарда экзоген манбалар ҳисобида кўринади. Бу босқичда барча ферментлар тизимида деградация кузатилади, СОД фаоллиги ва каталазининг тезда ингибирланиши, трансляция ва транскрипция жараёнининг бузилиши, генларинг ўзгариши, синтетик жараёнларнинг пасайишига олиб келади, қон зардобиди жигар ферментлари фаоллиги пасаяди.

Шундай қилиб, гепатоканцерогенез ривожланишида азот оксиди муҳим ўрин эгаллашини тадқиқотлар кўрсатиб турибди. Патологик жараён даражасида метаболит аҳамиятга эга. Цитокин ИЛ-1 нинг ушбу даражаси ўсма жараёни ривожини ўлчашда ИЛ-6 и ФНО-α ошиб боради (2-жадвал).

2-жадвал

Гепатоканцерогенезда калмуш қони зардобиди цитокинлар миқдорини ўзгариши (пг/мл), $M \pm m$

Гуруҳ, муддат, ой	ИЛ-1β	ИЛ-6	ФНО-α
Интакт	1,41±0,05	1,54±0,05	2,91±0,06
Тажрибадан 3 ойдан кейин	5,84±0,18***	3,44±0,24***	4,23±0,21***
4 ойдан кейин	6,58±0,31***	4,27±0,19***	5,44±0,31***
5 ойдан кейин	6,97±0,48***	4,98±0,23***	5,22±0,42***
6 ойдан кейин	7,42±0,52***	5,66±0,34***	6,83±0,33***
7 ойдан кейин	6,33±0,71***	7,34±0,37***	8,47±0,28***
8 ойдан кейин	6,24±0,58***	8,11±0,42***	10,01±0,32***

Изоҳ: * - фарқлар назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (***) - $P < 0,001$).

Диссертациянинг «**Бензол билан захарланишда сурункали лейкомиянинг ривожланиш хусусиятлари**» деб номланган тўртинчи бобида лейкомияда биокимёвий механизмлар таърифланади. Тадқиқотларда суяк

илиги хужайралари бузилишини солиштириш ва пролиферация жараёнида бензол таъсири кўрсатилади. Тажриба бошланганидан 4 ойдан кейин каламуш суяк илигида гипоплазия 11,1%, лейкомоид реакция 50% га ўсди. Тажриба муддатининг охирида (8 ойдан сўнг) ҳайвонларнинг 59,1% лимфопротератив жараёни бошланди, миелопротератив жараёни 27,3%га камайди. Суяк илиги хужайрасида лимфопротератив жараёни ривожланди. Шунингдек, каламушларда миелопротератив жараён билан тромбоцитоз намоён бўлган мегакариоцитар пролиферация қатори белгиланди. Суяк илигида гипоҳужайралар билан гранулоцитар хужайра миқдорини камайишини аниқлаш бу лимфоцитозга нисбатан мос ҳисобланади. Маълумотлардан кўриниб турибдики, бензолнинг узок муддатда каммиқдордаги таъсири каламушлар суяк илиги хужайраларида заҳарланишга олиб келди. Лейкемияда азот оксиди ўрнини аниқлашда тажриба ҳайвонлари қонидаги L-аргинин ва пероксинитрит даражаси билан алоқадорлигини ўргандик. Ўтказилган тадқиқотларда қон зардобиди NO₂ даражасининг йирик ўзгариши кўзга ташланиб, унинг миқдори 3-6 ойда кўтарилди, 6-7 кундан сўнг меъёрлашди, бластомогенез босқичида эса пасаяди (3-жадвал).

3-жадвал

Лейкемияда тажриба ҳайвонлари қон зардобиди L-аргинин, NO₂ ва OONO⁻ таркиби, M±m

Тажриба муддати, ой	L-аргинин даражаси, моль/л	NO таркиби, мкмоль/л	OONO ⁻ таркиби мкмоль/мл
3 ойдан кейин	0,090±0,001***	13,75±0,08***	0,11±0,01
	0,130±0,001	9,06±0,03	0,15±0,02
4 ойдан кейин	0,081±0,005***	14,39±0,04***	0,43±0,03***
	0,129±0,001	9,15±0,07	0,20±0,02
5 ойдан кейин	0,065±0,004***	15,29±0,03***	0,65±0,03***
	0,131±0,001	9,13±0,09	0,12±0,01
6 ойдан кейин	0,103±0,003***	10,31±0,05***	0,47±0,03***
	0,125±0,002	9,18±0,05	0,16±0,01
7 ойдан кейин	0,098±0,001***	9,22±0,07	0,21±0,01***
	0,127±0,002	9,24±0,05	0,12±0,01
8 ойдан кейин	0,081±0,002***	8,12±0,03***	0,06±0,01***
	0,126±0,001	9,25±0,08	0,14±0,01

Изоҳ: 1. Сурат – тажриба ҳайвонлари маълумотлари, махражда – интакт гу-руҳ; 2. * - фарқлар назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (*** - P<0,001).

Шу билан бирга, заҳарли таъсири билан фақатгина азот оксиди радикали эмас, балки уни фаол кислород шакли билан боғлиқлигини таъкидлаш лозим.

Тадқиқотларда айтилишича, канцерогенез босқичида NO даражаси биров пасаяди, индукция босқичида кескин ўсади ва метастатик ўсимта даврида ўсиб боради. Тажриба бошланганидан 7-8 ой кейин ПОЛ жараёнида NO ишлаб чиқариш кўпаяди, ўсма ҳужайраларининг интенсив кўпайишини таъминлайди ва уни бошқа орган ва тизимлар билан жойлаштирилади.

Тажриба ҳайвонлари қон зардобидаги аргинин даражаси бензолли лейкомия ривожланиш динамикасида патологик жараён босқичига боғлиқ равишда тўлқинсимон ўзгаради. Лейкозогенез ривожланиш босқичида фаол СОД эритроцитлари ўсиши камаяди, эрта босқичларда ПОЛ интенсификацияси аниқланади ва кўпроқ охириги босқичда биокимёвий жараёнларда сезиларли даражада эзилади.

Каламуш қон зардобидаги ИЛ-1, ИЛ-6 ва ФНО- α цитокинларни ўрганиш билан бензолли интоксикация ИЛ-1 ва ИЛ-6 (4-жадвал) даражаларини ошиши аниқланди.

4-жадвал

Лейкемияда каламушлар қон зардобида цитокинлар миқдори (пг/л), $M \pm m$

Гуруҳ, муддат, ой	ИЛ-1 β	ИЛ-6	ФНО- α
Интакт	1,41 \pm 0,05	1,54 \pm 0,05	2,91 \pm 0,06
Тажрибадан 3 ой кейин	6,12 \pm 0,18***	4,42 \pm 0,24***	5,33 \pm 0,21***
4 ой кейин	6,81 \pm 0,31***	5,15 \pm 0,19***	6,22 \pm 0,31***
5 ой кейин	7,95 \pm 0,48***	5,96 \pm 0,23***	4,12 \pm 0,42*
6 ой кейин	4,74 \pm 0,22***	5,28 \pm 0,31***	4,68 \pm 0,28***
7 ой кейин	4,63 \pm 0,27***	7,73 \pm 0,33***	6,84 \pm 0,32***
8 ой кейин	5,62 \pm 0,31***	6,81 \pm 0,34***	7,10 \pm 0,43***

Изоҳ: * - фарқлар назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (* - $P < 0,05$, *** - $P < 0,001$).

Каламуш қон зардобидаги ФНО- β таркиби билан сурункали бензолли интоксикация 3-4 ойдан сўнг 1,83 ва 2,14 марта ошди. 5 ой охирида ФНО- α даражаси аста-секин пасайишни бошлади, аммо ҳаммаси ҳали 1,42 ($P < 0,01$) марта меъерий қийматга ошди. Бу йўналишдаги ўзгаришлар келажакда муҳофаза қилинади. Ундан кейинги даврларда биз унинг даражаси тажриба бошланганидан 7-8 ой кейин 1,5 ($P < 0,05$) ва 2,82 ($P < 0,001$) марта пасайган.

Шундай қилиб, олинган натижаларни жамлаштириш натижасида, таъкидлашимиз жоизки, узоқ муддатли паст дозадаги бензол каламуш суяк илиги ҳужайраларида ўзгаришларга олиб келади. Агар эрта муддатларда лейкомоид реакцияси рўйхатдан ўтган бўлса, 5-ойнинг охирига келиб, 1/3 каламушда лейкомия ривожланади, 8 ойдан кейин эса 86,4% ҳайвонларда ўсма касаллиги ривожланганлиги исботланди.

Диссертациянинг «Гепатоканцерогенезда жигарнинг функционал таркибий тузилишига турли фармакологик давонинг таъсири» деб номланган бешинчи бобида гепатоканцерогенезни даволаш натижалари тақдим этилган. Доксорубицин – ўсмага қарши антракциклин антибиотик гуруҳи ўсмаларни даволаш учун ишлатиладиган асосий кимёвий дори воситаси ҳисобланади. Доксорубициннинг таъсир механизми ўзаро ДНК билан боғлиқ бўлиб, нуклеин кислота синтезига қаршилик қилади. У митотик фаолиятини пасайтиради ва хромосомаларни абберацияга чақиради, иммунодепрессив таъсир кўрсатади. Бизнинг фармакотерапия даво усулимизда ДЭНА-индуцирли гепатоканцерогенез доксорубициннинг патоморфологик белгиларни сақлашга ёрдам беради. Алоҳида гуруҳда формаган гранулаларини ўз ичига олган атипик гепатоцитларнинг мембрана ҳужайралари атрофида тутунсимон кўринишда йиғилганлиги аниқланди. Чунки морфометрик цитоплазмада формаган зарралари (26,5% гача) сақланиб, сезиларли камайиши билан белгиланади.

Кимётерапияда доксорубицин ИЛ-2 ишлаб чиқарилиши пасайишига ёрдам бериши эътиборга олинган, шунингдек, комплекс даволашга ронколейкин киритилган. Жигар ўсма ДЭНА-индуцирни доксорубицин ва ронколейкинни билан даволаш кўпроқ натижа берган. Бузилган канцероген ҳужайралар атрофида унча катта бўлмаган лимфоцитлардан тузилган моноклеар ҳужайралар, макрофаг ва ёш тўқима ҳужайралари аниқланди. Йиғилган формаган гранулаларида ҳужайралараро кулранг-бинафша ранг чизик кўришдаги модда аниқланди.

Доксорубицин каламуш зардобидаги нитрат даражасига сезиларли таъсир кўрсатмади, ўша пайтда уни ронколейкин билан бирга қабул қилганда узоқ муддатли даволашда нитрат таркиби ошди. Тажриба бошланганидан 6 ой ўтиб, L-аргинин таркиби ошган бўлсада, орадан анча муддат ўтганда сўнг уни пасайгани аниқланди.

Даволаш схемасига ронколейкинни киритиш азот оксиди синтезидан фойдаланишнинг кучайишига олиб келади. Бундан ташқари, L-аргинин таркиби фақат кимётерапия олган ҳайвонларда нисбатан анча паст бўлиб, бу тадқиқотларда ҳар томонлама намоён бўлди ва морфологик тадқиқот натижалари ўсма жараёнини секин ўстиришини тасдиқлади. Тажриба ҳайвонлари қонидаги МДА таркиби тажриба бошланганидан 6 ой кейин меъёрий аҳамияти 19,3% га ($P < 0,05$) (5-жадвал) ошиши қайд этилди. 7 ойдан сўнг ПОЛ даражаси интакт ҳайвонларга яқинлашди, тажриба охирида эса ҳатто 42% ($P < 0,05$) дан пасайди.

Каламуш зардобида МДА даражаси аниқ ошди. Янада кўпроқ ошгани ронколейкин билан комплекс даволашда кузатилди. Бу азот оксиди даражасининг ошиши билан L-аргинин таркиби пасайишига олиб келди.

Ронколейкиннинг ижобий таъсирини ташхислашда ўсмаларнинг ўсишига таъсир этади ва Т- ҳамда В-лимфоцит, моноцит, макрофаг ва бошқа ҳужайраларни фаоллаштиради. Албатта, ўсма нисбий оғирлигининг камайишига қарши кимётерапия доксорубицин иммун тизимида ҳам катта мувозанатга олиб келди.

Лимфоцит ва Т-лимфоцитнинг умумий таркиби даволашнинг биринчи босқичида ошди, охирида эса пасайди. Тажриба давомида олинган ҳайвонларда CD4+ даражаси жиддий фарқ қилмади, аммо CD8+ сезиларли равишда пасайди. Янада аниқ ўзгаришларига учрамаган ҳайвонларда CD16+ ва CD19+ таркиби янада пасайди.

Доксорубицин ва ронколейкин бирга қўлланилганда махсус ва махсус бўлмаган иммун ҳимоясини кучайтирди. Бу ўсманинг нисбий оғирлигининг пасайиши билан бир вақтга тўғри келди. Кимётерапия босқичида доксорубицин ФНО- α $3,66 \pm 0,16$ пг/млгача ($P_1 < 0,001$ ва $P_2 < 0,05$) нинг юқори даражасини пасайишига ёрдам берди ва яна паст таркибли ИЛ-1 β $3,05 \pm 0,13$ пг/мл ($P_1 < 0,001$ ва $P_2 < 0,05$) гачани кўпроқ кучайтирди. Доксорубицин ва ронколейкин бирга қўлланилганда уларнинг даражаси ФНО- α ва ИЛ-1 β тегишли таркиб $7,29 \pm 0,43$ ($P_1 < 0,001$ ва $P_2 < 0,05$) ва $13,25 \pm 0,79$ пг/мл ($P_1 < 0,001$ ва $P_2 < 0,001$). Бизнинг тажрибамиздаги дори воситаси индуцир ўсмага қарши таъсирли бўлиб, ҳайвонларнинг ушбу гуруҳида ўлим кўрсаткичини пасайтиради ва гепатоканцерогенез жараёнини секинлаштиради.

5-жадвал

Гепатоканцерогенезда каламуш қонида МДА миқдори ва антиоксидант ферментлар фаоллиги, $M \pm m$

Гуруҳ, муддат	МДА, нмоль/мл	СОД, оқсил мг шартли бирлиги /дақ.	каталаза, оқсил мкмольН ₂ О ₂ /дақ. мг
6 ой: интакт	$3,77 \pm 0,16$	$0,212 \pm 0,011$	$0,218 \pm 0,015$
1	$4,50 \pm 0,27^*$	$0,103 \pm 0,002^{***}$	$0,311 \pm 0,021^{**}$
2	$7,64 \pm 0,37^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,089 \pm 0,002^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,162 \pm 0,011^{**\wedge\wedge\wedge}$
3	$6,88 \pm 0,34^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,134 \pm 0,012^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,241 \pm 0,017^\wedge$
4	$5,01 \pm 0,26^{**}$	$0,111 \pm 0,008$	$0,296 \pm 0,014^{**}$
7 ой: интакт	$4,12 \pm 0,32$	$0,227 \pm 0,014$	$0,224 \pm 0,015$
1	$4,22 \pm 0,19$	$0,078 \pm 0,001^{***}$	$0,170 \pm 0,015^*$
2	$7,13 \pm 0,28^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,061 \pm 0,004^{***\wedge\wedge}$	$0,098 \pm 0,005^{***\wedge\wedge\wedge}$
3	$6,58 \pm 0,24^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,128 \pm 0,012^{***\wedge\wedge}$	$0,153 \pm 0,011^{**}$
4	$5,77 \pm 0,16^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,141 \pm 0,011^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,187 \pm 0,009^*$
8 ой: интакт	$4,34 \pm 0,14$	$0,226 \pm 0,011$	$0,239 \pm 0,011$
1	$2,52 \pm 0,18^{***}$	$0,060 \pm 0,001^{***}$	$0,185 \pm 0,013^{**}$
2	$5,78 \pm 0,22^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,047 \pm 0,002^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,091 \pm 0,004^{***\wedge\wedge\wedge}$
3	$5,12 \pm 0,11^{**\wedge\wedge\wedge}$	$0,078 \pm 0,003^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,138 \pm 0,007^{***\wedge\wedge}$
4	$3,21 \pm 0,14^{***\wedge}$	$0,095 \pm 0,004^{***\wedge\wedge\wedge}$	$0,165 \pm 0,009^{***}$

Изоҳ: * - фарқлар назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (* - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$); ^ - фарқлар 1 гуруҳи (даволанмаган) кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (^ - $P < 0,05$, ^^ - $P < 0,01$, ^^ - $P < 0,001$).

Диссертациянинг «Сурункали лейкомия ва унинг биокимёвий кўрсаткичларига турли дори воситаларнинг таъсири» деб номланган олтинчи бобида экспериментал лейкомиyani даволаш натижалари тақдим этилди. Фармокотерапия лейкомия гидреа периферик қондаги ҳужайраларни суяк илиги ҳужайраларига алмаштириш имконини камайишига олиб келди. Бироқ ушбу дори умумтоксик таъсирга эга камқонлик ва геморрагик синдромни оширди. Шу билан бирга, тажриба бошланганидан 6-7 ва 8 ойдан кейин L-аргинин таркиби даволанмаган ҳайвонлар гуруҳи билан солиштирилганда 49,5; 34,7 ва 71,6% га ошди. Бундай ўзгариш фонда даволашнинг биринчи босқичидаёқ азот оксиди даражасининг 1,31 марта пасайишига олиб келди. Кейинчалик азот оксиди таркиби аста-секин ўсиб борди ва тадқиқот муддати тугагач, 1-гуруҳдаги каламушларда 1,22 ($P < 0,05$) марта ошди. Бироқ пероксинитрит таркиби лейкомия гидреани даволашда 1,23; 1,62 ($P < 0,001$) ва 3,83 ($P < 0,001$) марта ўсди. Бу тажриба ҳайвонлари зардобиди ПОЛ жараёнининг фаоллашишига ёрдам берди, қон зардобиди МДА даражаси даволашнинг 1-2-3 босқичларида даволанмаган каламушларда 1,24 ($P < 0,05$); 1,52 ($P < 0,05$) ва 2,1 ($P < 0,01$) марта ўсди (6-жадвал).

Паст фаолиятли СОД ва каталазада янада кўпроқ ўзгаришлар пайдо бўлди. Лейкомия гидреа билан даволаганда ИЛ-1β ва ИЛ-6 1,42 ($P < 0,05$) ва 1,14 нинг юқори даражаси пасайди, даволашнинг 1-босқичида ФНО-α таркиби сезиларли даражада ўзгармаганлиги аниқланди.

Жигарда ДЭНА-канцерогенез ўсиши аста-секин NO-синтази таркибини кучайтирди, охириги муддатларда эса мусбат ферментларнинг боғланиши кўпчиликини ташкил этди. Бир вақтнинг ўзида бир тўлқинли ўзгариш азот оксиди маҳсулотларидан бирининг таркибида қайд этилди. Фаол радикал кислород туфайли юқори токсинли пероксинитритнинг пайдо бўлишига ингибирланган СОД сабаб бўлди. Канцерогенез босқичида унинг даражаси бир неча марта пасайган, сўнгра индукция пайтида эса тез ўсган ва метастазланиш ўсма жараёнида камайган. Ўсма ўсиш жараёнида ИЛ-1β, ИЛ-6 ва ФНО-α цитокин даражаси ривожланди.

Узоқ муддатда паст қийматли бензол қабули каламушнинг суяк илиги ҳужайраларида қон аралашмаларининг бузилишига олиб келди. Эрта муддатларда сурункали лейкоз ривожланган каламушнинг 1/3 қисми бешинчи ойининг охирига бориб лейкомоид реакцияга чидамади, саккизинчи ойдан кейин эса ўсма ривожланган ҳайвонлар миқдори 86,4% гача кўпайди. Биокимёвий тадқиқотларда кўрсатилишича, 5-6-ойларда (индукция босқичи) пероксинитрит даражасининг тез ошгани ва метастатик ўсма жараёнида тез пасайганлиги аниқланди.

Тажриба ҳайвонлари қонининг зардобидаги L-аргинин таркиби - азот оксидининг охириги маҳсулотлари даражаси шунга мувофиқ ўзгарганлигини исботлади. Бу ўзгаришлар каламуш зардобиди МДА даражасининг силжиш

динамикасига тўғри келди. СОД фаолияти ва қондаги каталаза барча муддатларда айниқса кўпроқ охирги босқичда пасайганлиги кўрсатади.

6-жадвал

Лейкемияда каламуш қонида МДАмикдори ва антиоксидант ферментлар фаоллиги, $M \pm m$

Гуруҳ, муддат	МДА, нмоль/мл	СОД, Оқсил шартли бир./мин.мг	каталаза, мкмоль оқсил H_2O_2 /мин. Мг
6 ой: интакт	3,77±0,16	0,212±0,011	0,218±0,015
1	5,45±0,21***	0,113±0,008***	0,131±0,012***
2	6,76±0,53***^	0,082±0,004***^^	0,116±0,013***
3	4,68±0,33*	0,144±0,017**	0,172±0,017*
4	5,62±0,62*	0,121±0,018**	0,166±0,016*
7 ой: интакт	4,12±0,32	0,227±0,014	0,224±0,015
1	4,42±0,19	0,087±0,004***	0,117±0,009***
2	6,71±0,72***^^	0,061±0,004***^^^	0,098±0,005***
3	5,65±0,44*^	0,136±0,017**^	0,153±0,011**^
4	5,79±0,66*	0,141±0,015***^^	0,138±0,013**
8 ой: интакт	4,34±0,14	0,226±0,011	0,239±0,011
1	2,75±0,18***	0,056±0,003***	0,085±0,006***
2	5,78±0,22***^^^	0,044±0,003***^	0,079 ±0,004***
3	4,60±0,31^^^	0,077±0,005***^^	0,113±0,006***^^
4	5,32±0,34*^^^	0,059±0,004***	0,106±0,007***^

Изоҳ: * - фарқлар назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (* - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$); ^ - фарқлар 1 гуруҳи (даволанмаган) кўрсаткичларига нисбатан аҳамиятли (^ - $P < 0,05$, ^^ - $P < 0,01$, ^^ - $P < 0,001$).

Сурункали бензол интоксикация даражаси мавжуд каламушларда ялиғланишга қарши цитокинлар ўсма ривожланиш жараёнида ошди. Таъкидлашимиз жоизки, гепатоканцерогенез ва лейкемияни даволашда турли дори воситаларидан кўра, цитостатик билан ронколейкин бирикмасини қабул

қилиш натижасида кўплаб ижобий натижалар олинганини қайд этишимиз жоиз.

ХУЛОСА

«Гепатоканцерогенез ва гемобластозларни қиёсий ўрганиш: патогенез ва рекомбинант интерлейкин-2 билан экспериментал даволаш» мавзусидаги докторлик диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Гепатоканцерогенезнинг эрта босқичларида асосан оқариб бўялган цитоплазма билан гипертрофил кўп ядроли хужайралар, атипизм хужайраларининг белгилари аниқланди. Тажриба бошланганидан 5 ой ўтиб, кейин гепатоцеллюляр саратоннинг хавфли ўчоғи пайдо бўлди ва тажриба охирида гепатоцеллюляр карцинома ўчоғи ҳамда паренхиманинг гипervasкулярзациясининг аниқ белгилари кўринди.

2. Узоқ муддатда паст дозада бензол киритишнинг эрта босқичида асосан лейкомоид реакция белгилари пайдо бўлди, бешинчи ой ўтиб, 1/3 каламушларда сурункали миело ва лимфопрлифератив жараён белгилари кўпайди, саккизинчи ойдан кейин эса ўсма касаллиги билан касалланган ҳайвонлар миқдори 86,4% гача ўсди.

3. Тажрибанинг 3-4-ойидан кейин ДЭНА киритилиши бошлангандан ёки бензолда NO таркибини ошириш фонида L-агрениннинг даражаси пасайгани кузатилди. 5-7-ойдан сўнг биринчи ва иккинчи йўналишда неоплатсик жараён ривожланиши камайди, тажриба охирида яна ангиогенез ҳамда метастазланишни ривожлантириш учун азот оксиди – L-аргинин тизими фаолияти қайд этилди.

4. 3-4-ойдан кейин ДЭНА-индуцир канцерогенезда МДА даражаси ўсиш суръати кузатилди, 3-5-ойдан кейин жигар гомогенатида иницир неопластик жараён билан боғлиқлиги аниқланди. Узоқ муддатда хусусан тажриба охирида ўсманинг катта ўчоғи туфайли унинг даражаси аста-секин пасайди. Шундай кўринишдаги ўзгаришлар сурункали миело- ва лимфопрлифератив жараёни аниқланди, бироқ уларда бироз характерли белгилар мавжуд.

5. Гепатоканцерогенезнинг ўсиши жараёнида жигар гомогенатида СОД фаолияти 3-ойдан кейин ўсди, 4-ойдан кейин пасайди, 5-6-ойдан кейин кескин фаоллашди, охириги пайтда эса жиддий ингибирлашди. Сурункали бензол интоксикация фаолиятида миело- ва лимфопрлифератив жараёнининг кучайиши билан бирга қондаги ҳимоя антиоксидант ферментлари тезда пасайди.

6. Гепатоканцерогенез динамикасида ва сурункали лейкозда цитокин ИЛ-1β ва ИЛ-6 даражаси ўсма ривожланиш жараёнида ўсди. Бунинг натижасида ИЛ-1β синтези белгилари кўпроқ таъсирланди. ФНО-α таркиби 6 ойгача ошиб борди, кейин эса кескин пасайди. Миело- ва лимфопрлифератив жараёнда тажриба ҳайвонлари зардобида цитокин таркиби кўп ўзгарди.

7. Жигар индицир ўсмасини даволашда доксорубицин билан ронколейкин бирикмаси таъсирида жигар тўқималарида турли самарали морфологик ўзгаришлар рўйберди.

8. Айнан цитостатик ронколейкин боғланганда азот оксиди – L-аргинин тизимини стабиллаштиришда ёрдам берди. ПОЛ-АОЗ тизимида гепатоканцерогенез ва сурункали лейкомияда оксидлаш ва антиоксидлаш жараёнини кучайтиради, мутант хужайраларда цитотоксик ўлим чақиради, ўсиш жараёни тезлигини камайтиради.

9. Ўсмаларни дори воситалари билан даволашда доксорубицин гепатоканцерогенез ва гидреа лейкомияда цитокин таркибини янада кўпроқ оширди, ушбу дори воситасининг ронколейкин билан бирикмасини эса бироз секинлаштиради, иммун тизими ўсмага қарши фаолиятни таъминлади. Кўпроқ ўзгаришлар ДЭНА-канцерогенезда қайд этилди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.Tib.30.03 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЁНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ
АКАДЕМИИ**

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА ГЕМАТОЛОГИИ
И ПЕРЕЛИВАНИЯ КРОВИ**

КАСЫМОВА ГУЛЬМИРА ГАФУРОВНА

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗА И
ГЕМОБЛАСТОЗОВ: ПАТОГЕНЕЗ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ
ТЕРАПИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ ИНТЕРЛЕЙКИНОМ-2**

14.00.16 – Нормальная и патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ (DSc) ДИССЕРТАЦИИ
ПО МЕДИЦИНСКИМ НАУКАМ**

Ташкент – 2017

Тема докторской диссертации (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за B2017.1.DSc/Tib9

Докторская диссертация выполнена в научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови.

Автореферат диссертации на двух языках (узбекском, русском) размещен на веб-странице по адресу www.tma.uz и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» по адресу www.ziyo.net.

Научный консультант: **Каримов Хамид Якубович**
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Сабирова Рихси Абдукадировна**
доктор медицинских наук, профессор

Зокиров Ёркин Узуевич
доктор медицинских наук, профессор

Пулатов Дониёр Анварович
доктор медицинских наук, профессор

Ведущая организация: ФГАОУВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова (Сеченовский университет) (Российская Федерация)

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2017 года, в ____ часов на заседании Научного совета DSc.26.07.2017.Tib.30.03 при Ташкентской медицинской академии (адрес: 100109, Ташкент, ул. Фароби, 2, Зал заседания 1-го учебного корпуса Ташкентской медицинской академии. Тел./Факс: (+99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mai.ru).

С докторской диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрирован № ____). Адрес: 100109, г. Ташкент, ул. Фаробий, 2. Ташкентская медицинская академия, 2 учебный корпус «Б» крыло, 1 этаж, 7 кабинет. Тел./Факс: (+99871) 150-78-14).

Автореферат диссертации разослан: « ____ » _____ 2017 года
(реестр протокола рассылки № ____ от « ____ » _____ 2017 года).

Г. И. Шайхова
Председатель научного совета по
присуждению учёной степени
доктора наук, д.м.н., профессор
Н.Ж. Эрматов
Учёный секретарь научного совета по
присуждению учёной степени
доктора наук, д.м.н., доцент
Б.У. Ирискулов
Председатель научного семинара
при научном совете по присуждению
учёной степени доктора наук,
д.м.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация докторской диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. Развитие злокачественных опухолей среди населения земного шара во многом связано с такими факторами, как хроническое курение табачных изделий, использование различных пищевых добавок и консервантов, стрессы, рентгеновское облучение, а также с неблагоприятным воздействием других внешних факторов, доля которых составляет 85% всех отрицательных воздействий. «В мире приблизительно 6 миллионов человек болеют злокачественными новообразованиями (ЗНО); от гепатоцеллюлярного рака (ГЦР) ежегодно погибает свыше 1 миллиона человек, частота лейкоза составляет 13,2 случая на 100.000 населения, в 60% случаев ЗНО являются причиной потери трудоспособности и инвалидизаций»¹.

С первых лет независимости республики Узбекистан полностью перестроена система оказания медицинской помощи населению, в частности, в медицинскую практику внедряются современные эффективные методы диагностики и лечения злокачественных новообразований, что привело к уменьшению распространения среди различных слоев населения онкологических заболеваний. Внедрение в клиническую практику широкомасштабных мероприятий по раннему выявлению неопластических процессов, внедрению эффективных методов лечения и снижению токсического воздействия полихимиотерапии при лечении злокачественных заболеваний способствовало «удлинению продолжительности жизни больных на 3-5 лет»².

В мире проводятся научные исследования, направленные на создание фундаментальных основ изучения общих и специфических молекулярных механизмов злокачественного перерождения; на разработку мероприятий по профилактике злокачественных новообразований; ранних методов диагностики и эффективных способов лечения больных с опухолями. Выясняются механизмы ответной реакции злокачественных клеток на внешние воздействия в виде пролиферации, апоптоза, изменения функциональной активности. Проводится разработка критериев объективной оценки пролиферативной активности злокачественных клеток и активности ферментов антиоксидантной защиты; обоснование факторов, определяющих показатели летальности от злокачественных новообразований; приобретает особую значимость совершенствование консервативных методов лечения опухолей; внедрение иммунокорректоров широкого спектра действия в комплекс лечебных мероприятий в отношении злокачественных опухолей; оптимизация тактики лечения, снижение побочных действий химических лекарственных средств и повышение эффективности лечения.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит решению задач, предусмотренных Постановлением Президента Республики

¹ЖССТ Европа региониди асосий саломатлик кўрсаткичлари. ЖССТ, 2014 йил.

²Соғлиқни сақлаш вазирлигининг хисоботлари

Узбекистан №ПП-1652 от 28 ноября 2011 года «О мерах по дальнейшему углублению реформирования системы здравоохранения», а также других нормативно-правовых документов, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования с приоритетным направлением развития науки и технологий республики. Диссертационная работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий республики VI. «Медицина и фармакология».

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации³.

Изучению молекулярных механизмов опухолевого роста и совершенствованию консервативных методов лечения посвящены научные исследования ведущих научных центров и высших учебных заведений, в частности: University of Oklahoma, Boston University, National Cancer Institute (США); Universitat Autònoma de Barcelona (Испания), Osaka University; Hokkaido University (Япония); Department of Immunology and Chronic Disease Research Center and Institute for Medical Science, Occupational Safety and Health Research Institute (Корея), Korea Occupational Safety and Health agency, Division of Hematology-Oncology, Ewha Womans University (Корея); Российский онкологический научный центр, Институт гематологии и переливания (Узбекистан).

Получен ряд важных научных и практических результатов по ранней диагностике и профилактике онкологических заболеваний, в частности: доказан риск развития лейкемии и миеломы при воздействии бензола и других органических соединений (Occupational Safety and Health Research Institute (Корея); доказана роль молекулярных нарушений Y-хромосомы в развитии гемобластозов (University of Oklahoma Health Sciences Center (АҚШ); выяснен механизм действия биопрепаратов в лечении онкологических заболеваний (Osaka University (Япония); установлена гепато-сплено- и нефротоксичность препарата иматиниб, используемого в лечении миелопролиферативных заболеваний (Universitat Autònoma de Barcelona (Испания), Division of Hematology-Oncology, Ewha Womans University, (Корея); изучена эпидемиология распространения злокачественных заболеваний и разработан их современный диагностический алгоритм (University of Oklahoma Health Sciences Center, Boston University, National Cancer Institute (АҚШ); доказана эффективность применения транс-ретиноидной кислоты в лечении онкологических заболеваний (Gifu University; Kinki University (Япония); установлены молекулярно-генетические механизмы развития некоторых злокачественных заболеваний, разработаны и внедрены в лечение онкологических заболеваний генномодифицированные препараты (Российский онкологический научный центр, Россия), разработаны модели экспериментального лечения

³ Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации: <https://www.ou.edu/>, <http://www.bu.edu/>, <https://www.cancer.gov/>, <http://www.uab.cat/web/universitat-autonoma-de-barcelona.html>, <http://www.osaka-u.ac.jp/en>, <https://www.oia.hokudai.ac.jp/>, <http://www.aseic.org/expert>, <https://www.ewha.ac.kr/mbs-ewhaen/>, <http://www.bloodscience.ru/>, http://qonber.uz/pages/pages_uz/news.html, <http://www.ouhsc.edu/>, <https://www.bumc.bu.edu/busm/cancer-center/>, <http://www.gifu-u.ac.jp/en/>, <http://www.kindai.ac.jp/english/> и других источников.

гепатоканцерогенеза и гемобластозов интерлейкином-2 (научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови, Узбекистан).

В мире продолжают проводиться научные исследования по приоритетным направлениям в области онкологии: профилактике распространения злокачественных новообразований, изучению молекулярных механизмов, в частности канцерогенного риска химических соединений; молекулярной генетике опухолевого роста; исследованию микроокружения опухоли, роли иммунных механизмов и системы оксида азота в процессах неоплазии; токсичности химиопрепаратов и развития резистентности опухолевых клеток; разработке и совершенствованию диагностических критериев ранней диагностики и лечения гепатоцеллюлярного рака и онко-гематологических заболеваний.

Степень изученности проблемы. Исследованиями ученых дальнего (Dougan M., Dranoff G., 2009; Cai L. L. et al., 2012; Pere H., Tanchot C., Bayry J. et al., 2012) и ближнего (Харченко Е. П., 2011; Чечина О. Е. и др., 2011; Савина Н.П., 2013) зарубежья было показано, что основными механизмами нарушения апоптоза в опухолевых клетках являются: мутации в генах, контролирующих этот процесс, изменение компонентов суперсемейства гена фактора некроза опухоли (ФНО- α), капсаз, цитотоксических Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (ЕК), убивающих опухолевые клетки, и др. Пытаясь этому воспрепятствовать, опухолевые клетки активируют процессы, позволяющие им заблокировать апоптоз, и, таким образом, повысить свои шансы на выживание (Рязанцева Н.В., Китайгородова Е.В., Марошкина А.Н. и др., 2012; Ленман Е. Е., Мухина М. С., 2013; Fredly H., Ersver E., Gjertsen V. T., Bruserud O., 2011). В этих процессах важную роль выполняет оксид азота. По мнению Х. Маеды (1998), в тканях многих солидных опухолей содержатся повышенные уровни индуцибельной формы NO-синтазы (iNOS). Образующий этим ферментом оксид азота способствует повышению проницаемости сосудов, что увеличивает приток питательных веществ к ткани опухоли и обеспечивает быстрый её рост. Однако действие его весьма противоречиво, а механизм двойственности определяется стадией развития опухоли и количеством синтезированного оксида азота.

В Республике Узбекистан также имеется ряд научных исследований по рассматриваемой проблеме: профессора Х. Я. Каримова, посвященных исследованию механизмов канцерогенеза, профессора Д. А. Пулатова по исследованию гепатоцеллюлярного рака, профессора Ф. Х. Иноятовой по исследованию NO-эргической системы и перекисного окисления липидов, М. Т. Мухаммедовой по изучению роли оксида азота при гепатоканцерогенезе.

Прогресс химиотерапии в онкологии позволил значительно повысить выживаемость больных и улучшить качество их жизни. Однако даже новейшие химиотерапевтические препараты оказывают токсическое воздействие на все ткани организма. Эти факторы ограничивают возможности клинического применения цитостатиков и заставляют постоянно искать новые средства и способы лечения опухолевых заболеваний. Перспективным и в этом плане являются иммунотоксины, цитокины, моноклональные антитела. В 1998 году Российским онкологическим научным центром и кампанией «Био-

тех» из дрожжей был получен препарат интерлейкина (ИЛ-2) - ронколейкин, активизирующий процессы апоптоза, коррегирующий дисбаланс про- и противапоптотических факторов, ингибирующий ангиогенез.

Проблема формирования неопластических процессов, общие и специфические их особенности при поражении различных органов и систем, а также изыскание путей химиотерапии с применением биорегуляторов является одним из малоизученных аспектов экспериментальной медицины. Все это требует продолжения углубленных исследований данной проблемы с целью повышения эффективности химиотерапии онкологических заболеваний.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательскими работами научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в Научно-исследовательском институте гематологии и переливания крови в рамках плана прикладного гранта «Анализ роли некоторых герпес-вирусных инфекций и гено-фенотипических сетей противовирусного иммунного ответа в клиническом течении хронических форм гемобластозов» (2012-2016 гг.).

Цель исследования: выявление специфических особенностей молекулярных механизмов неопластического перерождения (на примере гепатоканцерогенеза и лейкемии) и изыскание новых, более совершенных способов их лечения.

Задачи исследования:

определить особенности изменений выработки оксида азота (активность НАДФ.Н-диафоразы и содержание нитрита натрия) при гепатоканцерогенезе и лейкемии;

выяснить особенности изменений процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) в крови при гепатоканцерогенезе и лейкемии;

определить особенности изменений уровня интерлейкинов при гепатоканцерогенезе и лейкемии;

осуществить морфологическую оценку эффективности включения ронколейкина в комплекс фармакотерапии гепатоканцерогенеза и лейкемии.

провести оценку эффективности ронколейкина при совместном введении с цитостатиками в коррекции нарушений биохимических и иммунологических показателей при гепатоканцерогенезе и лейкемии.

Объектом исследования являлись 400 половозрелых крыс-самцов: 180 - с диэтилнитрозамин-индуцированным гепатоканцерогенезом (ДЭНА); 180 - с лейкемией при введении бензола; 40 – интактные животные.

Предмет исследования: комплексный анализ сыворотки крови, цельной крови, клеток костного мозга, ткани печени экспериментальных животных.

Методы исследования. Для решения поставленных задач и достижения цели исследования в работе были использованы морфологические, цитохимические, цитологические, иммуноферментные, биохимические и статистические методы исследования.

Научная новизна исследования:

установлены значимость уровня оксида азота, интенсификации ПОЛ, гиперпродукции цитокинов при неопластических перерождениях на моделях гепатоканцерогенеза и лейкемии;

доказана роль оксида азота в развитии неопластических процессов: содержание L-аргинина, конечных продуктов оксида азота и пероксинитрита изменяется в зависимости от стадии канцерогенеза, определяя условия для прогрессирования и метастазирования;

установлена зависимость выраженности гиперлипเปอร์оксидации и снижения активности ферментов антиоксидантной защиты в гомогенате печени и сыворотке крови экспериментальных животных от стадии канцерогенеза;

доказана экспрессия цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α при канцерогенезе по мере прогрессирования неопластического процесса, особенно при лейкемии;

обосновано включение ронколейкина в повышении противоопухолевого действия цитостатиков при гепатоканцерогенезе и лейкемии, уменьшении общетоксического действия доксорубина и гидреа.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

создана модель лейкемии введением крысам бензола, созданная модель лейкемии позволила раскрыть механизм их развития, доказана возможность ее использования в оценке эффективности и совершенствовании лечебно-профилактических мероприятий;

на основе полученных результатов обоснована целесообразность включения ронколейкина в комплекс лечения гепатоцеллюлярного рака и гемобластозов;

доказана эффективность применения высокоинформативных современных методов в расшифровке молекулярных механизмов гепатоканцерогенеза и лейкемии;

установлена значимость выяснения молекулярных механизмов развития неопластических процессов в совершенствовании целенаправленной терапии злокачественных опухолей, повышении эффективности фармакотерапии, снижении резистентности опухолевых клеток к химиопрепаратам.

Достоверность результатов исследования подтверждается методологическим подходом; методически правильным планированием экспериментальных исследований; достаточным количеством использованных животных; стандартизацией забоя животных и получения биологического материала; использованием современных биохимических, иммунологических, цитологических и морфологических исследований; обоснованным набором методов статистического анализа, а также их корректным применением; полученные результаты основываются на сопоставлении с зарубежными и отечественными исследованиями; заключения, полученные результаты были подтверждены полномочными структурами.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Теоретическая значимость результатов исследования заключается в разработке современных схем лечения злокачественных опухолей на основе выяснение молекулярных механизмов развития неопластических процессов. Выявление высокой эффективности ронколейкина в замедлении неопластических процессов позволило рекомендовать его применение в клинике при лечении злокачественных новообразований. Применение ронколейкина в клинической практике при лечении злокачественных новообразований приведет к повышению чувствительности опухолевых клеток к химиотерапии и к улучшению результатов лечения,

Практическая значимость результатов исследования состоит в том, что при проведении полихимиотерапии лейкозов и гепатоцеллюлярного рака доказана необходимость определения ряда биохимических и иммунологических показателей, отражающих токсическое системное действие химиопрепаратов на органы и системы. Внедрение ронколейкина в комплекс терапии злокачественных новообразований позволит повысить эффективность фармакотерапии, снизить резистентность опухолевых клеток к химиопрепаратам, и частоту осложнений химиотерапии, сокращению пребывания больных в стационаре, удлинению ремиссии.

Внедрение результатов исследования. На основе научных результатов по изучению молекулярных основ развития гепатоканцерогенеза и лейкозов разработаны материалы внедрения в практику:

создана методические рекомендации «Экспериментальные модели хронических лейкозов», которые внедрены в практическое здравоохранение (заключение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан 8Н-3/44 от 10.02.2016 г.). Данные методические рекомендации позволяет выявить основные факторы, приводящие к развитию лейкозов, механизм их развития, обеспечить раннее выявление заболевания.

На основе результатов, полученных при оценке эффективности применения ронколейкина в снижении токсических свойств химиотерапевтических препаратов, применяемых для лечения гепатоцеллюлярного рака и лейкемии, созданы методические рекомендации «Экспериментальное обоснование применения ронколейкина в химиотерапии лейкозов» (заключение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан 8Н-3/44 от 10.02.2016 г.). Данные методические рекомендации позволяют существенно снизить побочное действие химиотерапевтических препаратов, повысить эффективность лечения.

Результаты исследований молекулярных основ гепатоканцерогенеза и лейкемии, ранней диагностики злокачественных новообразований, совершенствование способов их лечения с применением ронколейкина в комплексе с химиопрепаратами, внедрены в практическое здравоохранение, в частности, в деятельность научной лаборатории научно-исследовательского института гематологии и переливания крови, межвузовской научно-исследовательской лаборатории Ташкентской медицинской академии, клиники отделения лейкозов научно-исследовательского института гематологии (заключение Министерства

здравоохранения Республики Узбекистан 8Н-3/44 от 10.02.2016 г.). Внедрение основных результатов проведенного фундаментального исследования способствует ранней диагностике острого лейкоза и других злокачественных новообразований, улучшает течение и прогноз заболевания, качество жизни больных, снижает количество осложнений и позволяет сократить пребывание больных в стационаре на 15-20% (заключение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан 8Н-3/44 от 10.02.2016 г.).

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены 6 научно-практических конференциях, в том числе, на 4 международных и 2 республиканских научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 26 научных работ, из них 15 статей, в том числе 13 в республиканских и 2 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторской диссертации.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, списка использованной литературы, приложений. Объём диссертации составляет 179 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеристика объектов и предмета исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, раскрыты научная новизна и практическая значимость результатов исследования, приведены сведения по внедрению результатов исследования в практику, опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Современные представления о механизме канцерогенеза, концепции гепатоканцерогенеза и гемобластозов»** содержится анализ научной информации по рассматриваемой проблеме. В частности, проанализированы молекулярные механизмы канцерогенеза, рассмотрена распространенность гепатоцеллюлярного рака и гемобластозов, классификация, факторы риска, диагностика, а также определены нерешенные или требующие уточнения аспекты этой проблемы.

Во второй главе диссертации **«Сравнительная оценка гепатоканцерогенеза и гемобластозов: методология изучения патогенеза и экспериментальной терапии рекомбинантным интерлейкином-2»** приводится описание материалов и методов исследования. Работа проведена в экспериментальной лаборатории НИИГиПК на 400 крысах-самцах с исходной массой тела 100-120 г. Эксперименты проведены в 2 сериях: на моделях гепатоканцерогенеза и лейкемии.

В первой серии опытов для индукции гепатоканцерогенеза у 180 крыс использована модель Евграфова (1966) с применением специфического гепатоканцерогена ДЭНА (введение внутривентрикулярно зондом 5 раз в неделю в

дозе 10 мг/кг массы тела в течение 2 месяцев). К заключительному сроку введения погибли от острой токсичности 46 крыс (25,5%). Контрольную группу составили 20 интактных крыс, содержащихся в тех же условиях в течение всего эксперимента. Животных забивали через 3, 4, 5, 6, 7 и 8 месяцев от начала эксперимента. О развитии гепатокарциномы судили по данным морфологических исследований печени. 134 крысы гепатокарциномой разделили на 4 группы: 1-я - 35 крыс с гепатоканцерогенезом, получавших физиологический раствор по 0,5 мл/100 г; 2-я - 33 крысы, получавших доксорубин по 0,006 мг/кг внутрибрюшинно 3 дня (Doxorubicin, фирмы «Pharmitalia») (Пулатов Д.А., 2004); 3-я - 33 крысы, получавших ронколейкин в 0,006 мг/кг в/б, 3 раза в течение 10 дней (фирма «Биотех», Санкт-Петербург) (Бережная М.Н. и др., 1992); 4-я - 33 крысы, получавших доксорубин+ронколейкин в тех же дозах: этапно по 10 дней в течение 3 месяцев.

Во второй серии для воспроизведения лейкемии 180 крысам-самцам подкожно вводили 40% масляный раствор бензола (0,01 мл/100 г массы тела) в течение 8 месяцев по предложенному нами методу (Каримов Х.Я. и др., 2010). Особенностью предложенного метода является использование малых доз токсиканта в течение длительного времени, что позволило повысить вероятность развития лейкемии у экспериментальных животных при снижении общей токсичности бензола. К концу 5-го месяца введения бензола погибли от острой токсичности 54 крысы (30%). Контрольную группу составили 20 интактных крыс, содержащихся в тех же условиях в течение всего эксперимента. Животных забивали через 3, 4, 5, 6, 7 и 8 месяцев от начала эксперимента. О развитии лейкемии судили по данным гемограммы и миелограммы бедренной кости животных. Для исследований брали животных с признаками лейкемии по картине костного мозга и периферической крови, (126 животных), которых разделили на 4 группы: 1-я - 33 крысы с лейкемией, получавших физиологический раствор по 0,5 мл/100 г; 2-я - 31 крысы, получавших гидреа (гидроксимочевина, гидроксикарбамид, Hydrea) по 20 мг/кг внутрибрюшинно (Абдулкадыров К.М., 2004); 3-я - 31 крысы, получавших ронколейкин в 0,006 мг/кг в/б, 3 раза в течение 10 дней (фирма «Биотех», Санкт-Петербург) (Бережная М.Н. и др., 1992); 4-я - 31 крысы, получавших гидреа+ронколейкин в тех же дозах. Лечение проводили этапно по 10 дней в течение 3 месяцев.

В соответствующие сроки исследования животных забивали под легким эфирным наркозом декапитацией в холодной комнате, вскрывали брюшную полость, быстро извлекали из нее печень, взвешивали, промывали в среде выделения, состоящей из 0,05 мл раствора трис-НСl-буфера, рН 7,2; 1/3 часть печени брали для биохимических исследований, остальную - для цитохимического определения НАДФН-диафоразы (Гоженко А.И. и др., 2000) и морфологического исследования. В сыворотке крови животных 1 и 2 серии определяли содержание начального L-аргинина и конечного продукта оксида азота - (NO₂) (Комарин А.С. и др., 2005), активность ферментов АлАТ, АсАТ и щелочной фосфатазы; содержание общего белка и альбуминов. Содержание интерлейкинов (ИЛ-1β, ИЛ6 и ФНО α) определяли иммуноферментным ме-

тодом. В крови и гомогенате печени определяли активность ферментов антиоксидантной защиты: супероксиддисмутазы СОД (Мхитарян В.Г. и др., 1978), каталазы (Коралюк М.А. и др., 1988), продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) (Андреева Л.И., и др., 1989). Исследовали также гематологические показатели крови и костного мозга, аспирированного из головки бедренной кости. Полученные данные статистически обработаны с применением пакета прикладных программ статистического анализа Microsoft Office Excel-2010 согласно указаниям по статистической обработке данных клинических и лабораторных исследований.

В третьей главе диссертации «**Структурно-функциональные особенности печени при ДЭНА-индуцированном канцерогенезе**» представлены результаты исследования структурно-функциональных особенностей печени при ДЭНА-индуцированном канцерогенезе. Длительное введение ДЭНА приводит к гепатокарциноме; выраженное её развитие наблюдалось через 5 и 6 месяцев от начала эксперимента.

Через 3-4 месяца выявлены изменения ядерного аппарата гепатоцитов, нарушение трабекулярной структуры, наличие многоядерных клеток, гиперхромия, что соответствовало стадиям инициации и промоции. На некоторых участках сохранена архитектоника печени, в цитоплазме выявлены участки, окрашенные в бледные тона, выявлено неравномерное расширение межбалочного пространства, дисконкомплексированность и деформация печеночных балок, количество гранул формазана в этих участках значительно увеличилось и они выявлялись во всех морфофункциональных зонах ткани печени (рис.1).

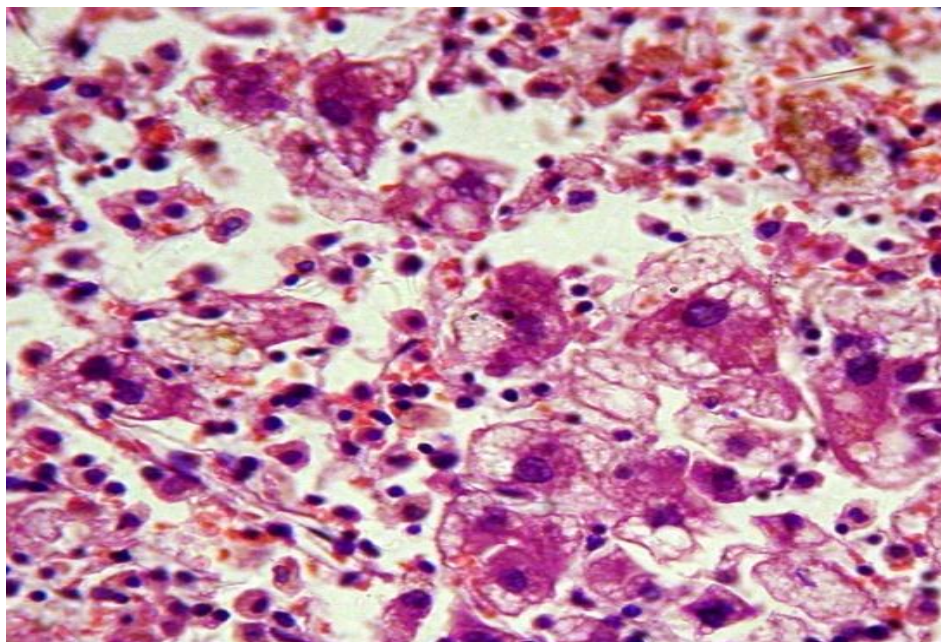


Рис. 1. Увеличение содержания гранул формазана в цитоплазме дисплазированных гепатоцитов при канцерогенезе ДЭНА. Окраска: НАДФ-диафораза. Ув: ок.10, об.90

Уровень L-аргинина в сыворотке крови во все сроки исследований был снижен в 1,2-1,44 раза по отношению к значениям интактных животных (табл. 1), что свидетельствовало об усиленном использовании его в качестве субстрата, тогда как уровень конечных продукт оксида азота – NO₂ и OONO⁻ в сыворотке крови возрос. Это привело к повышению уровня МДА как в плазме крови, так и, особенно, в гомогенате печени (на 52,4%) экспериментальных животных. При этом, если в крови интенсификация ПОЛ была связана с ингибированием СОД и КАТ, то в печени ПОЛ протекало с одновременным возрастанием активности СОД на фоне снижения КАТ. Несмотря на активацию СОД в печени, она не способна обезвреживать свободные радикалы, так как соотношение СОД к МДА сохранялось низким.

Таблица 1

Динамика изменения содержания L-аргинина, NO₂ и OONO⁻ в сыворотке крови экспериментальных животных, M±m

Срок исследования, мес.	Уровень L-аргинина, моль/л	Содержание NO ₂ , мкмоль/л	Содержание OONO ⁻ , мкмоль/мл
Через 3	0,090±0,001***	11,64±0,076***	0,12±0,01
	0,130±0,001	9,06±0,033	0,15±0,02
Через 4	0,071±0,005***	13,97±0,024***	0,37±0,04**
	0,129±0,001	9,15±0,011	0,20±0,02
Через 5	0,068±0,001***	12,90±0,030***	0,56±0,01***
	0,131±0,001	9,13±0,009	0,12±0,01
Через 6	0,133±0,002**	9,03±0,025***	0,74±0,03***
	0,125±0,002	9,18±0,015	0,16±0,01
Через 7	0,108±0,001***	12,26±0,025***	0,17±0,01**
	0,127±0,002	9,24±0,015	0,12±0,01
Через 8	0,112±0,001***	12,91 ±0,03 1***	0,05±0,01***
	0,126±0,001	9,25±0,011	0,14±0,01

Примечание: 1. В числителе представлены значения опытной группы, в знаменателе – интактной. 2. * - различия относительно данных интактной группы значимы (** - P<0,01, *** - P<0,001).

Через 4 месяца в сосудах печени выявлялись белковые массы, отмечалась стертость трабекулярного расположения гепатоцитов, выраженный полиморфизм клеток, наличие слабой стромы в виде тонкого слоя фиброзной ткани и активация процессов васкуляризации. В препаратах просматривались опухолеподобные клетки, многочисленные кистозные полости со стенкой, выстланной кубическим эпителием, сформировывались структуроподобные кистоаденомакарциномы. Уровень L-аргинина еще больше снижался, а опре-

деление НАДФН-диафоразы показало интенсивное скопление гранул формазана в зонах ткани печени с выраженными дистрофическими изменениями.

В сыворотке крови еще больше возросло содержание NO_2 , отмечена также более выраженная интенсификация ПОЛ, причем, если в плазме крови уровень МДА возрастал на 105%, то в гомогенате печени - на 77,2%. Такая интенсификация ПОЛ проявлялась на фоне прогрессивного снижения активности ферментов антиоксидантной защиты, особенно в крови. На наш взгляд, в этих процессах важное значение имело не прямое действие реакционно-способных метаболитов NO . Они усиливали образование нитрозаминов, являющихся сами по себе канцерогенными соединениями. Развивающиеся изменения основания ДНК, разрывы в цепях ДНК и ингибирование процессов репарации поврежденного ДНК усиливали промоцию гепатоканцерогенеза, способствуя ещё большей активизации неопластического перерождения клеток. Усиленное образование метаболитов NO приводило к изменению эндотелия сосудов, ускорению неоангиогенеза, адгезии опухолеперерожденных клеток к эндотелию, что подтверждалось скоплением гранул формазана вокруг поврежденных клеток и васкуляризацией гепатоцитов.

К 5-му месяцу эксперимента в печени животных выявлено большое количество мелких и крупных серо-коричневого цвета гранул формазана, скопление которых наблюдалось в зонах печени с выраженными дистрофическими изменениями и вокруг очагов вакуолизированных клеток. Характерным для данного периода являлось также наличие признаков гепатоцеллюлярной карциномы, соответствующих картине умеренно дифференцированной опухолевой ткани. Цитоплазма клеток неоднородна, ядра с признаками полиморфизма и гипертрофированными нуклеосомами. Местами отмечались разрывы ядерной оболочки, признаки исчезновения ядер и кариорексис. В этот период наблюдалось постепенное снижение степени гиперлипเปอร์оксидации плазмы крови на фоне нарастания ПОЛ в гепатоцитах. Такое разнонаправленное действие ПОЛ в этот период, видимо, связано с резким увеличением продукции пероксинитрита в гепатоцитах. С другой стороны, такая гиперактивация проявлялась компенсаторным повышением активности СОД на фоне снижения её активности в крови. Несмотря на такую активацию фермента, повреждающее действие продуктов ПОЛ в печени сохранялось, вследствие дисбаланса в системе ПОЛ-АОЗ.

Наиболее интересные результаты отмечены в период наибольшего прогрессирования неопластического процесса (через 6 месяцев). Для данного периода было характерным повышение уровня L-аргинина до значения интактных животных, снижение образования NO_2 , некоторое ингибирование NO -системы. Гистохимическими исследованиями отмечено неравномерное окрашивание различной величины гранул диформазана. Гранулы диформазана в паренхиме печени менее выражены и выявлялись лишь местами. Это подтверждалось выявлением в гистологических срезах множественных злокачественных клеток с обширными участками скопления голых ядер, формирующими пласты с наличием внутри- и внеклеточного фермента. Этому способствовало также снижение активности ферментов АлАТ, АсАТ по сравне-

нию с показателями предыдущего срока на фоне резкого ингибирования белоксинтезирующей функции печени. Уменьшилась степень гиперлипเปอร์оксидации на фоне сохранения высокой активности СОД и КАТ в гомогенате печени, продолжающегося угнетения СОД в крови. Одним из механизмов повышения активности ферментов антиоксидантной защиты в гомогенате печени является, на наш взгляд, компенсаторная активация их в нормально сохраненных гепатоцитах.

По мере увеличения опухолевой массы и начала метастазирования, вновь возрастала роль NO в опухолевом процессе. Видимо, с этим было связано постепенное увеличение в сыворотке крови NO₂ на фоне уменьшения содержания L-аргинина. Цитохимически в эти периоды (через 7 и 8 месяцев) выявились стромальные элементы с интенсивным окрашиванием за счет нарастания содержания гранул формазана, причем, в основном они были сконцентрированы по периферии клеток, сливаясь в участки темно-серого и темно-коричневого цвета. Морфологически через 7 и 8 месяцев выявлялась отчетливая картина гепатоцеллюлярной карциномы и гиперваскуляризация паренхимы печени. Имея в виду дезагрегационное действие NO, можно сказать, что, усиленный синтез NO подавлял межклеточное сцепление клеток, способствуя выходу клеток в сосуды и облегчая распространение опухолевых клеток по организму с током крови. О выраженных изменениях в структуре печени свидетельствовало и прогрессирующее снижение содержания альбумина и общего белка, причем, это проявлялось на фоне снижения процессов липопероксидации как в ткани печени, так и в плазме крови, видимо, вследствие резкого снижения субстратов ПОЛ. В эти периоды наблюдалась деградация ферментных систем антиоксидантной защиты.

При развитии неопластических процессов уровень цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α резко возрастал по мере прогрессирования опухолевого процесса (табл. 2).

Таблица 2

Содержание цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови крыс с ДЭНА-индуцированным канцерогенезом, M \pm m

Группа и срок исследования	ИЛ-1 β	ИЛ-6	ФНО- α
Интактная	1,41 \pm 0,05	1,54 \pm 0,05	2,91 \pm 0,06
Опытные: через 3 мес	5,84 \pm 0,18***	3,44 \pm 0,24***	4,23 \pm 0,21***
через 4 мес	6,58 \pm 0,31***	4,27 \pm 0,19***	5,44 \pm 0,31***
через 5 мес	6,97 \pm 0,48***	4,98 \pm 0,23***	5,22 \pm 0,42***
через 6 мес	7,42 \pm 0,52***	5,66 \pm 0,34***	6,83 \pm 0,33***
через 7 мес	6,33 \pm 0,71***	7,34 \pm 0,37***	8,47 \pm 0,28***
через 8 мес	6,24 \pm 0,58***	8,11 \pm 0,42***	10,01 \pm 0,32***

Примечание: ***- различия относительно данных интактной группы значимы (P<0,001).

Таким образом, проведенные исследования показали важную роль оксида азота в развитии гепатоканцерогенеза. Значение данного метаболита зависело от стадии патологического процесса, проявляясь выраженной активацией в периоды инициации и промоции, снижением в период прогрессирования опухолевого процесса и вновь активацией в стадии метастазирования опухолевых клеток. Соответственно этому повышался уровень цитокинов.

В четвертой главе диссертации «**Особенности развития хронической лейкемии при бензольной интоксикации**» представлены биохимические механизмы развития лейкемии. Проведенные исследования показали, что под воздействием бензола в клетках костного мозга нарушаются процессы дифференцировки и пролиферации. Так, через 4 месяца от начала введения токсиканта у 11,1% крыс было отмечено развитие гипоплазии костного мозга, у 50% -лейкемоидная реакция. К заключительному сроку эксперимента (через 8 месяцев) у животных начинали преобладать лимфо- и миелопролиферативные процессы, выявляясь у 59,1 и 27,3% животных. Это проявлялось прогрессирующим ухудшением состояния животных, наблюдалась адинамия, потеря массы тела, геморрагии, а при вскрытии отмечалась гепатоспленомегалия. Сдвиги в гематологических показателях соответствовали типам нарушений костномозгового кроветворения и проявлялись при гипоплазии развитием 3-ростковой панцитопенией – эритро-, лейко- и тромбоцитопенией. В пунктате костного мозга отмечена гипоклеточность с уменьшением количества гранулоцитарных клеток; при этом выявлялся относительный лимфоцитоз. На основании полученных данных можно сделать следующее заключение: длительное введение малых доз бензола приводит к нарушению кроветворения в клетках костного мозга крыс, выраженность которого зависит от длительности введения токсиканта.

Для выяснения роли оксида азота в динамике лейкемии нами было изучено содержание конечного продукта оксида азота – NO_2 и его связь с уровнем пероксинитрита и L-аргинина в сыворотке крови экспериментальных животных. Установлены значительные изменения в уровне NO_2 в сыворотке крови, выраженность и направленность которых зависела от срока эксперимента: повышение на 3-6 месяцы, нормализация через 6-7 месяцев и снижение в стадии выраженного бластомогенеза (табл. 3). Уровень OONO^- был снижен в период промоции канцерогенеза, резко возрастал в период индукции и прогрессивно уменьшался в период прогрессирования и метастазирования опухолевого процесса. Лишь преобладание выработки NO над процессами ПОЛ через 7 и 8 месяцев от начала эксперимента характерного, видимо, для стадии прогрессии и метастазирования (через 8 месяцев), обуславливало интенсивное размножение опухолевых клеток и расселение их в другие органы и системы. Соответственно этому изменялся и уровень аргинина: в ранние сроки выявлено его резкое снижение, через 6 месяцев – тенденция к нормализации и вновь снижение в последующие сроки. В процессе развития лейкозогенеза активность СОД эритроцитов прогрессивно снижалась, что способствовало интенсификации ПОЛ в ранние сроки и резкому угнетению

всех биохимических процессов в более поздние. Активность каталазы крови прогрессивно снижалась по мере прогрессирования опухолевого процесса.

Исследование содержания цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α в сыворотке крови крыс с бензольной интоксикацией показало прогрессивное увеличение ИЛ-1 β и ИЛ-6 (табл. 4) в течение всего эксперимента. Содержание ФНО- α в сыворотке крови крыс с хронической бензольной интоксикацией через 3-4 месяца статистически значимо возрастало (в 1,83 и 2,14 раза, соответственно). К концу 5-ого месяца уровень ФНО- α начал постепенно снижаться, все еще превышая нормативные значения в 1,42 раза ($P < 0,05$). Такая направленность изменений сохранялась и в дальнейшем. В последующие сроки мы наблюдали прогрессивное снижение уровня ФНО- α в: 1,5 ($P < 0,05$) и 2,82 ($P < 0,001$) раза, соответственно, через 7 и 8 месяцев от начала эксперимента.

Таблица 3

Динамика изменения содержания L-аргинина, NO₂ и OONO⁻ в сыворотке крови экспериментальных животных, M \pm m

Срок исследования, мес.	Уровень L-аргинина, моль/л	Содержание NO ₂ , мкмоль/л	Содержание OONO ⁻ мкмоль/мл
через 3	0,090 \pm 0,001***	13,75 \pm 0,08***	0,11 \pm 0,01
	0,130 \pm 0,001	9,06 \pm 0,03	0,15 \pm 0,02
через 4	0,081 \pm 0,005***	14,39 \pm 0,04***	0,43 \pm 0,03***
	0,129 \pm 0,001	9,15 \pm 0,07	0,20 \pm 0,02
через 5	0,065 \pm 0,004***	15,29 \pm 0,03***	0,65 \pm 0,03***
	0,131 \pm 0,001	9,13 \pm 0,09	0,12 \pm 0,01
через 6	0,103 \pm 0,003***	10,31 \pm 0,05***	0,47 \pm 0,03***
	0,125 \pm 0,002	9,18 \pm 0,05	0,16 \pm 0,01
через 7	0,098 \pm 0,001***	9,22 \pm 0,07	0,21 \pm 0,01***
	0,127 \pm 0,002	9,24 \pm 0,05	0,12 \pm 0,01
через 8	0,081 \pm 0,002***	8,12 \pm 0,03***	0,06 \pm 0,01***
	0,126 \pm 0,001	9,25 \pm 0,08	0,14 \pm 0,01

Примечание: 1. В числителе представлены значения опытной группы, в знаменателе — интактной. 2.*** - различия относительно данных контрольной группы значимы ($P < 0,001$).

Таким образом, длительное введение малых доз бензола приводило к нарушению кроветворения в клетках костного мозга крыс, выраженность которого зависела от длительности введения токсиканта. Если в ранние сроки в основном выявлена лейкомоидная реакция, то к концу 5 месяца у 1/3 крыс

развивалась лейкемия, а через 8 месяцев число животных с лейкемией возросло до 86,4%.

Таблица 4

Содержание цитокинов (пг/л) в сыворотке крови крыс с хронической интоксикацией бензолом, $M \pm m$

Группа, срок исследования	ИЛ-1 β	ИЛ-6	ФНО- α
Интактная	1,41 \pm 0,05	1,54 \pm 0,05	2,91 \pm 0,06
Опытные: через 3 мес.	6,12 \pm 0,18***	4,42 \pm 0,24***	5,33 \pm 0,21***
через 4 мес.	6,81 \pm 0,31***	5,15 \pm 0,19***	6,22 \pm 0,31***
через 5 мес.	7,95 \pm 0,48***	5,96 \pm 0,23***	4,12 \pm 0,42*
через 6 мес.	4,74 \pm 0,22***	5,28 \pm 0,31***	4,68 \pm 0,28***
через 7 мес.	4,63 \pm 0,27***	7,73 \pm 0,33***	6,84 \pm 0,32***
через 8 мес.	5,62 \pm 0,31***	6,81 \pm 0,34***	7,10 \pm 0,43***

Примечание: * - различия относительно данных интактной группы значимы (* - $P < 0,05$, *** - $P < 0,001$).

В пятой главе диссертации «**Влияние различных видов фармакотерапии на структурно-функциональные параметры печени при гепатоканцерогенезе**» представлены результаты лечения гепатоканцерогенеза. Основным химическим препаратом, используемым для лечения опухолей является доксорубин – противоопухолевой антибиотик группы антрациклинов. При фармакотерапии ДЭНА-индуцированного гепатоканцерогенеза доксорубицином нами выявлено сохранение некоторых патоморфологических признаков опухолевого перерождения гепатоцитов: ткань печени имела полиморфный вид, с атипично расположенными структурными элементами, как паренхимы, так и стромы. Ярда их были сдвинуты к периферии клетки, имели полиморфное строение с гиперхромазией хроматина. В отдельных группах атипических гепатоцитов содержались гранулы формазана в виде пылевидного скопления вокруг клеточных мембран. Из-за дистрофических и деструктивных изменений гепатоцитов морфометрически определялось значительное уменьшение содержания гранул формазана (до 26,5%) в цитоплазме, а выраженность их зависела от степени деструкции. Между скоплениями атипических гепатоцитов выявлялись массивные скопления лимфо-гистиоцитарных клеток, в них гранулы формазана определялись лишь в цитоплазме макрофагов.

Учитывая, что химиотерапия доксорубицином способствовала снижению выработки ИЛ-2, мы решили включить в комплекс лечения ронколейкин. Лечение ДЭНА-индуцированной опухоли печени комбинацией доксорубина с ронколейкином показало более значительный эффект в виде норма-

лизации строения, формы и расположения гепатоцитов. Вокруг канцерогенно перерожденных клеток определялись небольшие скопления моноклеарных клеток из лимфоцитов, макрофагов и юных соединительнотканых клеток. Ядерные структуры гепатоцитов имели относительно равномерные формы и величины, но с выраженной концентрацией хроматина, признаками митоза и амитоза. При гистохимическом определении маркера НАДФ-диафоразы в паренхиме печени или в цитоплазме гепатоцитов отмечалось неравномерное расположение значительного количества мелких, иногда средних гранул формазана. Скопление гранул формазана определялось и в межклеточном веществе в виде серо-фиолетовых полос.

Применение доксорубина не оказывало заметного влияния на уровень нитритов в сыворотке крови крыс, тогда как применение его совместно с ронколейкином повышало содержание нитритов по мере удлинения продолжительности лечения. Наряду с этим отмечена тенденция к увеличению содержания L-аргинина через 6 месяцев от начала эксперимента, а в дальнейшем мы наблюдали постепенное снижение содержания L-аргинина. В то же время при фармакотерапии доксорубином отмечено некоторое увеличение уровня L-аргинина относительно значений нелеченной группы крыс во все сроки исследования. Включение в него ронколейкина приводило к усиленному использованию субстрата синтазой оксида азота. Причем, содержание L-аргинина было статистически достоверно ниже показателей группы животных, получавших только химиопрепарат. Это проявлялось во все сроки исследования и, видимо было направлено на обезвреживание образующихся опухолевых клеток, что подтверждалось морфологическими исследованиями, подтверждающими замедление прогрессирования опухолевого процесса.

Определение содержания МДА в крови экспериментальных животных показало, что через 6 месяцев от начала опыта отмечается некоторое превышение нормативных значений - на 19,3% ($P < 0,05$). По истечении 7-го месяца уровень ПОЛ приближался к значениям интактных животных, а концу опыта был снижен 42% ($P < 0,05$). Фармакотерапия доксорубином достоверно повышала уровень МДА в сыворотке крови крыс по сравнению с показателями нелеченной группы животных. Еще большее увеличение мы наблюдали при включении в комплекс лечения ронколейкина. Причем, это увеличение совпадало с повышением уровня оксида азота и снижением содержания L-аргинина. Видимо, у данной группы животных отмечалось повышенное образование пероксинитрита, оказывающего повреждающее действие на опухолевые клетки.

Этапная химиотерапия доксорубином на фоне снижения относительной массы опухоли приводила к дисбалансу в иммунной системе. Содержание общих лимфоцитов и Т-лимфоцитов на первом этапе лечения имело тенденцию к увеличению, а в последующем значительно снижалось. Уровень CD4+ существенно не отличался от значений нелеченной группы животных, а содержание CD8+ достоверно снижалось. Доксорубин и ронколейкин при их совместном применении стимулировали специфическую и неспецифическую иммунную защиту, что совпадало со снижением относительной массы

опухоли. Этапная химиотерапия доксорубицином способствовала снижению по сравнению с нелеченными животными уровня ФНО- α до $3,66 \pm 0,16$ пг/мл ($P_1 < 0,001$) и еще большему снижению уровня ИЛ-1 β - до $3,05 \pm 0,13$ пг/мл ($P_1 < 0,001$). При совместном применении доксорубицина и ронколейкина уровень ФНО- α и ИЛ-1 β составил соответственно $7,29 \pm 0,43$ и $13,25 \pm 0,79$ пг/мл т.е. показатели были в 2-4 раза выше, чем у животных предыдущей группы ($P_1 < 0,001$ и $P_2 < 0,001$). Таким образом, препарат стимулировал противоопухолевое действие доксорубицина, что в конечном итоге проявлялось снижением летальности животных этой группы и замедлением прогрессирования гепатоканцерогенеза.

В шестой главе диссертации «**Влияние различных видов фармакотерапии хронической лейкемии на биохимические показатели**» представлены результаты лечения экспериментальной лейкемии. Фармакотерапия лейкемии гидреа приводила к заметному уменьшению трансформированных клеток как в костном мозге, так и в периферической крови. Однако препарат обладал выраженным общетоксическим действием, способствуя усугублению анемического и геморрагического синдромов. Наряду с этим, отмечено повышение содержания L-аргинина относительно показателей нелеченной группы животных на 49,5; 34,7 и 71,6%, соответственно срокам 6, 7 и 8 месяцев от начала опыта. Такие изменения протекали на фоне снижения в 1,31 раза уровня конечных продуктов оксида азота относительно значений нелеченной группы на первом этапе лечения. Уровень оксида азота в дальнейшем постепенно возрастал и к заключительному сроку статистически значимо превышал показатели 1-й группы крыс в 1,22 раза ($P < 0,05$). Содержание пероксинитрита при лечении лейкемии гидреа возрастало в 1,23-3,83 ($P < 0,001$) раза, что было связано с усиленным распадом опухолевых клеток под действием препарата. Это способствовало резкой активизации процессов ПОЛ в сыворотке крови экспериментальных животных, так как уровень МДА в сыворотке крови статистически значимо возрастал в 1,24 ($P < 0,05$); 1,52 ($P < 0,05$) и 2,1 ($P < 0,01$) раза на первом, втором и третьем этапах лечения относительно значений нелеченной группы крыс и превышал значения интактных крыс. Выявленные изменения протекали на фоне еще большего ингибирования активности СОД и каталазы. Фармакотерапия лейкемии гидреа статистически значимо снижала высокий уровень ИЛ-1 β и ИЛ-6 в 1,14-1,42 раза, не оказывая заметного влияния на содержание ФНО- α на первом этапе лечения. На втором и третьем этапах фармакотерапии уровень цитокинов продолжал снижаться по сравнению с показателями нелеченной группы, но все еще превышал показатели интактных крыс.

Комбинированная фармакотерапия лейкемии гидреа с ронколейкином заметно снижала токсическое влияние гидреа на гематологические показатели. В крови в 1,5-2 раза снижалось содержание лейкоцитов, миелобласты не выявлялись, число миелоцитов снижалось в среднем в 3 раза, а метамиелоцитов – в 1,5-2,6 раза, уменьшалась эозинофильно-базофильная ассоциация. В клетках костного мозга было отмечено снижение выраженности трехростковой панцитопении. Вместе с тем, комплексная фармакотерапия гидреа с рон-

колейкином повышала содержание L-аргинина в сыворотке крови крыс на всех этапах. Это проявлялось на фоне повышения содержания нитритов и нитратов в сыворотке крови крыс данной группы в 1,23; 1,22 и 1,31 ($P < 0,05$) раза на первом, втором и третьем этапах лечения относительно значений 1, 2 и 3 групп крыс. Отмечено снижение показателей пероксинитрита относительно показателей крыс, леченных только гидреа, во все сроки исследования. Выявленные сдвиги в системе оксида азота способствовали активизации процессов ПОЛ в сыворотке крови экспериментальных животных, так как уровень МДА в сыворотке крови статистически значимо возрастал относительно значений нелеченной группы крыс и был ниже показателей группы животных, получавших только гидреа. Активность СОД и каталазы возрастала, т.е. включение в комплекс лечебных мероприятий лейкемии ронколейкина способствовало некоторому восстановлению баланса в этой системе, вследствие активизации ферментов АОЗ.

Механизм положительного действия ронколейкина связан с активизацией цитолитической способности натуральных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов, образованием лимфокинактивированных киллеров и опухолинфильтрирующих клеток, обеспечивающих иммунную защиту, направленную против опухолевых клеток, что подтверждалось снижением высокого уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α во все сроки исследования. Несмотря на такие положительные сдвиги, содержания цитокинов сохранялось статистически значимо более высоким относительно значений интактных крыс. Выявленные нами положительные сдвиги были, видимо, связаны с индукцией рекомбинантным ИЛ-2 апоптоза, вследствие повышения уровня проапоптотического белка Bad и снижения содержания антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-x1. В наших экспериментах препарат стимулировал противоопухолевое действие гидреа, что проявлялось снижением летальности животных этой группы и замедлением прогрессирования лейкозогенеза.

Резюмируя результаты исследований данной серии, следует сказать, что лечение индуцированного гепатоканцерогенеза и лейкемии различными препаратами показало, что наиболее позитивные результаты были получены при применении комбинации цитостатиков с ронколейкином.

ВЫВОДЫ

На основе проведенных исследований по докторской диссертации на тему «Сравнительное изучение гепатоканцерогенеза и гемобластозов: патогенез и экспериментальная терапия рекомбинантным интерлейкином 2» могут быть сделаны следующие выводы:

1. В ранние сроки гепатоканцерогенеза выявляются гипертрофированные многоядерные клетки с бледно-окрашенной цитоплазмой и признаками клеточного атипизма. Очаги гепатоцеллюлярного рака развивались через 5 месяцев; к концу эксперимента выявлены явные признаки озлокачествления с разрастанием очагов гепатоцеллюлярной карциномы и гиперваскуляризации паренхимы.

2. В ранние сроки введения в организм экспериментальных животных малых доз бензола в основном выявляются признаки лейкомоидной реакции; к концу 5 месяца у 1/3 крыс развиваются признаки хронического миело- (повышение миелобластов в клетках костного мозга и периферической крови) и лимфопролиферативного (увеличение количества лимфобластов) процессов, а через 8 месяцев число животных с лейкемией возросло до 86,4%.

3. Через 3 и 4 месяца от начала введения ДЭНА или бензола в организм животных наблюдалось снижение L-аргинина и повышение NO₂ как фон для обеспечения процессов инициации, через 5-7 месяцев наблюдается уменьшение первого и увеличение второго показателя, что направлено на прогрессирующее неопластических процессов (особенно при ДЭНА-канцерогенезе); к концу эксперимента как фон для усиления ангиогенеза и метастазирования в обеих моделях эксперимента вновь отмечается активация системы L-аргинин-окись азота.

4. При ДЭНА-индуцированном канцерогенезе через 3-4 мес. установлено прогрессирующее повышение уровня МДА в плазме, через 3-5 мес. - в гомогенате печени, что связано с иницированием неопластического процесса. В дальнейшем уровень МДА постепенно снижался, особенно, к концу эксперимента, вследствие формирования крупных очагов опухолей. Такая же направленность изменений отмечена и в сыворотке крови крыс с индуцированной лейкемией, однако она носила несколько менее выраженный характер.

5. В процессе развития гепатоканцерогенеза активность СОД в гомогенате печени возрастала через 3, несколько снижалась через 4, резко активизировалась через 5 и 6 месяцев и существенно ингибировалась в дальнейшем. В эритроцитах крови она была угнетена во все сроки и степень её выраженности совпадала с прогрессированием опухолевого процесса. При хронической бензольной интоксикации активность ферментов антиоксидантной защиты в крови постепенно снижалась по мере прогрессирования миело- и лимфопролиферативных процессов.

6. В динамике гепатоканцерогенеза и хронической лейкемии уровень цитокинов ИЛ-1β и ИЛ-6 возрастал по мере прогрессирования опухолевого процесса. Более выражено экспрессировался синтез ИЛ-1β. Содержание ФНО-α повышалось до 6 месяцев, а затем прогрессивно снижалось. Наибольшие изменения в содержании цитокинов в сыворотке крови экспериментальных животных отмечены при миело- и лимфопролиферативных процессах.

7. Результаты лечения индуцированной опухоли печени показали, что наиболее позитивные морфологические изменения в ткани печени экспериментальных животных выявлялись под действием комбинации доксорубицина с ронколейкином. В атипичных гепатоцитах гранулы формазама выявлялись лишь в виде пылевидного скопления, свидетельствуя о замедлении прогрессирования гепатоканцерогенеза.

8. Цитостатики, особенно в сочетании с ронколейкином, приводили к стабилизации системы L-аргинин-окись азота, усилению окислительных и

антиокислительных процессов в системе ПОЛ-АОЗ при гепатоканцерогенезе и хронической лейкемии, способствуя цитотоксической гибели мутантных клеток и замедлению прогрессирования опухолевого процесса.

9. Фармакотерапия опухолей доксорубицином при гепатоканцерогенезе и гидреа при лейкемиях увеличивала содержание цитокинов относительно нелеченной группы, комбинация их с ронколейкином – несколько снижала содержание цитокинов, обуславливая активизацию противоопухолевой иммунной защиты. Наибольшие изменения отмечены при ДЭНА-канцерогенезе.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.27.06.2017.Tib.30.03 ON AWARD
OF SCIENTIFIC DEGREE OF DOCTOR OF SCIENCES
AT TASHKENT MEDICAL ACADEMY**

**SCIENTIFIC-RESEARCH INSTITUTE OF HEMATOLOGY
AND BLOOD TRANSFUSION**

KASIMOVA GULMIRA GAFUROVNA

**COMPARATIVE STUDY OF HEPATOCARCINOGENESIS
AND HEMOBLASTOSIS: PATHOGENESIS AND EXPERIMENTAL
THERAPY RECOMBINANT INTERLEUKIN-2**

14.00.16 – Normal and pathologic physiology

**DISSERTATION ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION (DSc)
ON MEDICAL SCIENCES**

Tashkent – 2017

The theme of doctoral dissertation (DSc) was registered at the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number B2917.1.DSc/Tib9

The doctoral dissertation has been prepared at scientific-research Institute of Hematology and Blood Transfusion.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English) languages on the website of Scientific Council www.tma.uz and on the website of «ZiyoNet» Information and educational portal www.ziyo.net.

Scientific consultant: **Karimov Khamid Yakubovich**
Doctor of medical sciences, professor

Official opponents: **Sabirova Rikhsi Abdukadirovna**
Doctor of medical sciences, professor

Zokirov Erkin Uzuevich
Doctor of medical sciences, professor

Pulatov Doniyor Anvarovich
Doctor of medical sciences, professor

Leading organization: FSAEIHE, The first Moscow State Medical University named after I.M.Sechenov (Sechenov's University), Russian Federation)

The defense will take place « ____ » _____ 2017 ____ at ____ at the meeting of Scientific Council at the Scientific Council DSc 27.06.2017.Tib.30.03. at the Tashkent Medical Academy (Address: 100109, Uzbekistan, Tashkent, Farobi street, 2. Phone/fax: (99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mai.ru Conference hall of the 1st academic building of the Tashkent Medical Academy).

The doctoral dissertation can be reviewed at the Information Resource Centre of the Tashkent Medical Academy (is registered under № __) (Farobi street, 2, Tashkent Medical Academy, Olmazar district, Tashkent, Uzbekistan 100109, Phone/fax : (+99871)150-78-14).

Abstract of dissertation sent out on « ____ » _____ 2017 year.
(mailing report № ____ on « ____ » _____ 2017 year)

G.I. Shaykhova
Chairman of the Doctoral Degree
Awarding Scientific Council,
Doctor of Medical Sciences, professor

N.J. Ermatov
Secretary of the Doctoral Degree
Awarding Scientific Council,
Doctor of Medical Sciences

B.U. Iriskulov
Chairperson of the Scientific
Seminar at the Doctoral Degree
Awarding Scientific Council,
Doctor of Medical Sciences, professor

INTRODUCTION (abstract of doctoral dissertation)

The urgency and relevance of the thesis topic. The World Health Organization (WHO) states that in the world, about 6 million people suffer from malignant tumors (MT). Every year, 2 million people die from malignant diseases, the primary annual incidence of malignant tumors more than 2.5 million cases. According to the International Agency for Research on Cancer (IARC), 85% of tumors can be associated with adverse external factors. Annually in the world, 1.25 million people die from hepatocellular carcinoma (HCC). Leukemia incidence is 13.2 cases per 100,000 populations. In 60% of cases has been determined disability and invalidization due to cancer.

The aim of the research: identifying the specific molecular features of molecular mechanisms of neoplastic degeneration (for example, hepatocarcinogenesis and leukemia) and finding new and better ways to their treatment.

The object of the research were 400 adult male rats: 180 - with diethyl nitrazolin induced hepatocarcinogenesis DEN; 180 - with the leukemia in introduction of benzol; 40 - intact animals.

The scientific novelty of the research:

the significance of the level of nitric oxide, the intensification of LPO, the hyperproduction of cytokines in neoplastic degenerations in the models of hepatocarcinogenesis and leukemia;

the role of nitric oxide in the development of neoplastic processes has been proved: the content of L-arginine, the final products of nitric oxide and peroxynitrite varies depending on the stage of carcinogenesis, determining the conditions for progression and metastasis;

the dependence of the expression of hyperlipoperoxidation and the decrease in the activity of antioxidant protection enzymes in the homogenate of liver and serum of experimental animals from the stage of carcinogenesis was established;

proved the expression of cytokines IL-1, IL-6 and TNF- α in carcinogenesis as the neoplastic process progresses, especially in leukemia;

proved substantiated the inclusion of Roncoleukin in increasing the antitumor effect of cytostatics in hepatocarcinogenesis and leukemia, reducing the general toxic effect of doxorubicin and hydrea.

Practical results of the research are as follows:

The use of modern highly informative methods of studying molecular mechanisms of hepatocarcinogenesis, and leukemia can increase the level of methodological research on designated problems;

Elucidation of molecular mechanisms of neoplastic processes allows targeted approach to cancer therapy; increase the efficiency of pharmacotherapy to reduce the resistance of tumor cells to chemical preparations.

the use of our proposed model of leukemia in outbred rats by introducing benzol can increase the reproducibility of leukemia and standardize the assessment of anti-leukemic action of new drugs;

Results of research have created the preconditions for the practical implementation of roncoleykin in Onco-Hematology and for the treatment of hepatocellular

carcinoma.

Implementation of the research results. On the basis of scientific research study of hepato cancerogenesis and leucosis have been developed the materials for implementation into the practice:

Have been written methodic recommendation «Experimental models of chronic leukosis» which introduced into the practice (conclusion of the Ministry of the Health of the Republic of Uzbekistan 8H-3/44 from 10.02.2016 y.). These methodic recommendations allow to determine basic factors leading to the development of the leucosis, mechanism of their development, ensuring early detection of the disease.

on the basis of the results obtained during evaluation of efficacy of the roncoleykin usage in the decreasing of toxic properties of chemotherapeutic preparations, used for the treatment of hepatocellular cancer and leukemia, made methodic recommendations «Experimental basis of using roncoleukin in the chemotherapy of leukosis» (Conclusion of the Ministry of the Health of the Republic of Uzbekistan 8H-3/44 from 10.02.2016 y.)

These methodic recommendations allow definitely decreasing side effects of chemo therapeutic preparations, increasing of the treatment efficacy. The results of the study molecular basis hepatocancerogenesis and leukemia, early diagnostics of malignant new formations, developing of their treatment with the usage of roncolikin in the complex of chemo preparations, implemented into practical health, in particular, into the activity of scientific laboratory of scientific research institute of hematology and blood transfusion, inter institutional scientific laboratory of Tashkent Medical Academy, clinics of the departments of leucosis of scientific research institute of hematology and blood transfusion. (Conclusion of the Ministry of the Health of the Republic of Uzbekistan 8H-3/44 from 10.02.2016 y.)

Implementation of basic results carried out fundamental study contributes early diagnostics of the acute leucosis and other malignant new formations, improves course and prognosis of the disease, life quality of the patients, decreases quantity of complications and allows to reduce staying of the patients in in-patient department to 15-20%. (Conclusion of the Ministry of the Health of the Republic of Uzbekistan 8H-3/44 from 10.02.2016 y.)

The outline of the thesis.

The important role of nitric oxide in the development of hepatocarcinogenesis is shown: manifested by its pronounced activation during initiation and promotion periods, a decrease in the progression of the tumor process, and again activation of tumor cells in the stage of metastasis. Accordingly, the level of cytokines increased. The same direction of changes is established and with leukemia, caused by benzol. Prolonged administration of small doses of benzol led to disruption of hematopoiesis in bone marrow cells of rats, the severity of which depended on the duration of administration of the toxicant. If in the early period the leukemoid reaction was mainly detected, by the end of the 5 months, 1/3 of the rats developed leukemia, and after 8 months the number of animals with tumors increased to 86.4%.

In the dynamics of hepatocarcinogenesis and chronic leukemia, the level of cytokines IL-1 β and IL-6 progressively increased as the tumor process progressed.

The synthesis of IL-1 β was more pronounced. The content of TNF- α increased to 6 months, and then progressively decreased. The greatest changes in the content of cytokines in the serum of experimental animals were observed in myelo- and lymphoproliferative processes.

Cytostatics, especially in combination with roncoleukin, helped stabilize the L-arginine-nitrogen oxide system, enhance oxidative and antioxidative processes in the POL-AOZ system in hepatocarcinogenesis and chronic leukemia, promoting cytotoxic death of mutant cells and slowing the progression of the tumor process. Pharmacotherapy of hepatocarcinogenesis and benzol leukemia with cytostatics in combination with Roncoleukin induced an antitumor effect of cytostatics, which was manifested by a decrease in the mortality of animals of this group and slowing the progression of pathology.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Каримов Х. Я., Касымова Г. Г., Исроилов Р.И. Влияние лактофлора на активность НАДФН-диафоразы печени при ДЭНА-индуцированном канцерогенезе //Патология. – Ташкент, 2006. - №3. - С. 11-13. (14.00.00.24.12.2009.№7).

2. Каримов Х. Я., Касымова Г. Г., Зариббаев У. З., Курбонова Н. Н., Иноятова Ф. Х. Каламушларда лейкознинг бензол моделини яратиш. // Патология. –Ташкент, 2009. - №3. - 26-31 бет.(14.00.00.24.12.2009. №7).

3. Каримов Х. Я., Зариббаев У. З., Касымова Г. Г. Экспериментал лейкоз динамикасида жигар ва буйрак монооксигеназ тизими //Вестник Ташкентской медицинской академии. - Ташкент, 2012. - №2. - С. 21-24. 14.00.13. (14.00.00. №13).

4. Касымова Г. Г. Экспериментал лейкоз ривожланишида ёғларнинг перекисли оксидланиш жараёнлари // Вестник Ташкентской медицинской академии. - Ташкент, 2012. - №2. - С. 27-30. (14.00.00. №13).

5. Касымова Г. Г. Особенности процессов ПОЛ и активность ферментов антиоксидантной защиты при гепатоканцерогенезе и лейкозах // Журнал теоретической и клинической медицины.- Ташкент, 2012.- №7.- С.12-14. 14.00.03. (14.00.00. №3).

6. Каримов Х. Я., Касымова Г. Г. Перекисное окисление липидов и активность ферментов антиоксидантной защиты в митохондриальной и микросомальной фракциях печени лейкозных крыс //Медицинский журнал Узбекистана. –Ташкент, 2012. - №5. - С. 73-75. 14.00.08. (14.00.00. №8).

7. Karimov H. Ya., Zaribbaev U. Z., Kasymova G. G. Monooxygenase system of the liver of rats with experimental leucosis // Вестник Ташкентской медицинской академии. – Ташкент, 2013. - №2. - С. 12-16. 14.00.13. (14.00.00. №13).

8. Касымова Г. Г. Влияние фармакотерапии ДЭНА-индуцированного гепатоканцерогенеза на уровень цитокинов //Вестник Ташкентской медицинской академии – Ташкент, 2013. - №2. - С. 18-20. 14.00.13. (14.00.00. №13).

9. Касымова Г. Г. Иммуномодуляторы в коррекции нарушений иммунной и цитокиновой системы при гепатоканцерогенезе // Журнал проблемы биологии и медицины. - 2013. - №2(73). - С. 82-84. (14.00.00. №16).

10. Касымова Г. Г. Влияние ронколейкина на показатели оксида азота и перекисное окисление липидов при гепатоканцерогенезе //Журнал теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2013. - №3. - С. 24-27. 14.00.03(14.00.00. №3).

11. Каримов Х. Я., Касымова Г. Г. Влияние ронколейкина на содержание цитокинов сыворотки крови крыс с экспериментальном лейкозией //

Медицинский журнал Узбекистана. – Ташкент, 2014. - №1. - С.102-105. 14.00.08. (14.00.00. №8).

12. Касимова Г.Г., Очилова Д.Т., Камилова Ш.Х. Сравнительная характеристика уровня цитокинов при гепатоканцерогенезе и лейкомиях // Вестник Ташкентской медицинской академии. – Ташкент, 2015. №4.-С. 26-29. (14.00.00. №13).

13. Kasymova G.G. Peroxidation of lipids and activity of enzymes of antioxidant protection in microsomal fraction of the liver and kidneys of rats with leucosis // European Science Review. - Austria, Vena, 2016. - № 3-4.P.120-122. (14.00.00; №19).

14. Kasymova G.G. Effect of combined pharmacotherapy lipid peroxidation and activity of enzymes antioxidant protection in rat livergepatocancerogeneze // European Science Review. - Austria, Vena, № 3-4. 2016. - P.110-112. (14.00.00; №19).

II бўлим (II часть; II part)

15. Каримов Х.Я., Касимова Г. Г., Зариббаев У. З., Курбонова Н. Н. Экспериментальные модели хронических лейкозов: Методические рекомендации. Ташкент, 2010. – 20 с.

16. Каримов Х.Я., Касимова Г. Г., Иноятова Ф. Х. Экспериментальное обоснование применения ронколейкина в химиотерапии лейкозов: Методические рекомендации. Ташкент, 2010. – 16 с.

17. Касимова Г.Г. Влияние лактофлора на активность НАДФН-диафоразы печени при ДЭНА-индуцированном канцерогенезе // Вестник Южно-Казахстанской медицинской академии.-2007. – Том 37, №4. - С. 17-19.

18. Kasymova Gulmira, Zaribbaev Ulugbek. Liver mitochondrial enzyme system in the dynamics of experimental leukemia // European medical, health and pharmaceutical journal. - 2012. - Vol.5. – P. 1-4.

19. Kasymova G. G., Isroilov R. I. Effects of doxorubicin and roncoleukine on liver morphology in diethylnitrosamine (DNA)-induced hepatocarcinogenesis // European journal of natural history. - 2012. - Vol.6. - P. 4-6.

20. Касимова Г.Г., Янгибаев У. Экспериментальные модели хронических лейкозов // Современная диагностика, лечение заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии: Сб. науч. трудов. - Ташкент, 2008. - С.72-73.

21. Касимова Г.Г. Гепатоканцерогенез кезинде. Денсаулык. - 2008.- №3.-С 3-6.

22. Каримов Х. Я., Зариббаев У. З., Касимова Г. Г., Курбанова Н. Н. Особенности течения хронических лейкозов у крыс, индуцированных бензолом // 1- Научно-практическая конференция. - Душанбе, 2009. - С. 135-137.

23. Karimov N. Ya., Kasymova G. G. Effect of roncoleukine on contents of serum cytokines in rats with experimental leukemia // Journal of Eurasia October 2013. – Vol. 3, №1. - P. 82. IV. International Eurasia Hematology Congress. 2013.

24. Inoyatova F. Kh. Kasymova G. G., Zaribaev U. Z. Energy-production and detoxication functions of liver in experimental leukemia // Journal of Eurasia October 2013. Vol.3, №1.P.133. IV International Eurasia Hematology Congress. 09-13 october 2013.

25. Karimov H. Ya., Kasymova G. G. Effect of roncoleukine on serum cytokines in leukemic rats. X th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds November 2013. Volume 142.

26. Inoyatova F. Kh., Kasymova G. G., Zaribaev U. Z.. Study of liver energy – producing and detoxication functions in experimental leukemia. X th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds November 2013. Volume 145.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси» журнали
тахририятида тахирдан ўтказилди
(20.06.2017 йил).

Босишга рухсат этилди: 03.07.2017 йил
Бичими 60x45^{1/8}, «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табағи 3,5. Адади: 100. Буюртма: № 140.

Ўзбекистон Республикаси ИИВ Академияси,
100197, Тошкент, Интизор кўчаси, 68

«АКАДЕМИЯ НОШИРЛИК МАРКАЗИ»
Давлат унитар корхонасида чоп этилди.