

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

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

АЗИМОВА СЕВАРА БАХОДИРОВА

**ЎЗБЕК АҲОЛИСИДА СУРУНКАЛИ НCV-ИНФЕКЦИЯСИ
ПАТОГЕНЕЗИНИНГ МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК ЖИХАТЛАРИ ВА
КЕЧИШИНИ БАШОРАТЛАШДА УЛАРНИ БЎЛГАН ЎРНИ**

**14.00.16 –Нормал ва патологик физиология ва
14.00.05 – Ички касалликлар**

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

ТОШКЕНТ – 2018

Докторлик (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата докторской (DSc) диссертации

Contents of the abstract of doctoral (DSc) dissertation

Азимова Севара Баходировна

Ўзбек аҳолисида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг
молекуляр-генетик жиҳатлари ва кечишини башоратлашда уларни
бўлган ўрни 3

Азимова Севара Баходировна

Молекулярно-генетические аспекты патогенеза и их роль в
прогнозировании течения хронической HCV-инфекции в узбекской
популяции 25

Azimova Sevara Bakhodirovna

Molecular-genetic aspects of pathogenesis and their role in prediction of
chronic HCV-infection in uzbek population 47

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works 51

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

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

АЗИМОВА СЕВАРА БАХОДИРОВА

**ЎЗБЕК АҲОЛИСИДА СУРУНКАЛИ НCV-ИНФЕКЦИЯСИ
ПАТОГЕНЕЗИНИНГ МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК ЖИХАТЛАРИ ВА
КЕЧИШИНИ БАШОРАТЛАШДА УЛАРНИ БЎЛГАН ЎРНИ**

**14.00.16 –Нормал ва патологик физиология ва
14.00.05 – Ички касалликлар**

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

ТОШКЕНТ – 2018

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги аттестация комиссиясида B2017.2.DSc/Tib163 рақами билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тошкент тиббиёт академияда бажарилган.

Диссертацияси автореферати икки тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (www.tma.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим порталида (www.ziyo.net.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчилар:

Каримов Хамид Якубович

тиббиёт фанлари доктори, профессор

Зокирходжаев Шерзод Яъхяевич

тиббиёт фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Рустамова Мамлакат Тулабаевна

тиббиёт фанлари доктори, профессор

Саидов Саидамир Аброрович

тиббиёт фанлари доктори

Халиков Пулат Хужамкулович

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 кенгаш асосидаги бир марталик Илмий кенгашнинг «___» _____ 2018 йил соат___даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100109, Тошкент ш., Фаробий кўчаси 2-уй. Тошкент тиббиёт академияси, 1-ўқув биносининг мажлислар зали. Тел/факс:(+99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

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

Диссертация автореферати 2018 йил «___» _____да тарқатилди.
(2018 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).

Г. И. Шайхова

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

Н. Ж. Эрматов

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

Б. У. Ирискулов

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

КИРИШ (докторлик диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда вирусли гепатит билан касалланиш кун сайин ортиб бормоқда. ЖССТ маълумотларига кўра 170 млн.дан ортиқ сурункали вирусли гепатит С (СВГС) билан касалланган беморлар мавжуд. Жигар сурункали касалликлари структурасида СВГС етакчи ўринлардан бирини эгаллайди. Шарқий Европа, Осиё, Африка, Жанубий Америка давлатларида вирусли С гепатит билан зарарланиш юқори кўрсаткичларга эга. Ўзбекистон эса бу касаллик билан зарарланиш 6,2% ташкил қилди¹. HCV-инфекциянинг кенг тарқалганлиги, касалликнинг сурункали турлари ривожланиш даражаси юқори эканлиги, махсус чоратадбирнинг мавжуд эмаслиги, касаллик патогенезени ҳар томонлама чуқур ўрганилишини тақазо этади. Полиморф ген-маркерларини излаб топиш ва касаллик ривожланишида улар ассоциацияларини аниқлаш, генетик маркерлар қўлланилган ҳолда касалликни ташхислаш ва прогнозлаш стратегияларни ишлаб чиқиш, замонавий молекуляр патофизиологиянинг етакчи йуналишларидан бири ҳисобланади. Ўзбек популяцияси ҳақида маълумотларнинг етарли эмаслиги, сурункали вирусли С гепатитнинг Ўзбекистонда кечишининг ўзига хос хусусиятлари, касалликни истиқболлаш билан ассоциацияланган ва ген-номзодлар аллел вариантларини аниқлаш борасида изланишлар олиб бориш долзарблиги ва зарурлигини яққол номоён этади.

Жаҳонда аҳолининг турли қатламлари орасида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг жиҳатлари ва кечишини башоратлашдаги ўрнини ташхислаш ва самарали даволаш, унинг олдини олишга қаратилган профилактик тадбирларни юқори самарадорлигига эришиш мақсадида қатор илмий тадқиқотлар амалга оширилмоқда; аҳолида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик жиҳатлари ўрни ва аҳамиятини асослаш; касалликнинг кечишини башоратлашда сурункали HCV-инфекциясига организмнинг жавоб реакцияларни асослаш; пролиферация, апоптоз, функционал фаоллигининг ўзгаришига ташқи муҳит омилларининг таъсир механизмини аниқлаш; TNF- α , CTLA-4, шунингдек, P450 цитохромни CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP3A4 генлари генотипларининг сурункали вирусли гепатит С ва жигар циррози билан касалланган беморларда учрашини асослаш; уларни сурункали гепатит ва жигар циррози билан хасталанган беморларда биокимёвий маркерлар билан боғлиқлигини асослаш; сурункали гепатитларда генетик полиморфизми билан ассоциацияланган усулларни ишлаб чиқиш; сурункали С гепатит патогенетик аспектларни, P450 цитохром генлар полиморфизмининг аҳамиятини урганиш ва истиқболлаш механизмини ишлаб чиқиш; сурункали гепатит С ва жигар циррозли беморларда яллиғланиш жараёни жадаллиги ва генлараро ўзаро узвий боғлиқликни аниқлаш. Сурункали гепатитни молекуляр механизмларининг умумий ва специфик хусусиятларини мукамал ўрганиш асосларини яратиш сурункали гепатитни ривожланиш даражасини баҳолашда пролифератив ва антиоксидант тизим ферментлари фаоллигини объектив баҳолаш мезонини

¹ ЖССТ маълумотлари 2014 йил

ишлаб чиқишда имкон беради; сурункали гепатитни консерватив даволаш усулларини такомиллаштириш; сурункали гепатит даволашда кенг қамровли иммункорректорларни комплекс даволаш тизимига киритиш; сурункали гепатит касалликни даволаш тактикасини оптималлаштириб, асоратларини камайтириш ва самарадорлигини ошириш жараёнини тадбиқ қилиш муҳим аҳамият касб этади.

Бугунги кунда тиббиёт амалиётида сурункали юқумли гепатит касаллигини бартараф этиш учун қатор муҳим вазифалар бажарилди. А ва В гепатит касаллигини камайтириш ва олдини олиш мақсадида вакциналар ишлаб чиқилди ва жорий қилинди, бунинг оқибатида аҳолининг турли қатламлари орасида сурункали гепатит билан касалланиш ва жигар циррозини ташхислаш ва даволаш самарадорлиги ошишига олиб келинди. Клиник амалиётда кенг қамровли дастурий тадбирларни тадбиқ қилиш сурункали гепатитлар ва жигар циррозини эрта аниқлаш, ташхислашда замонавий усулларни қўллаш натижасида касаллик асоратлари 25% дан 12% гача камайганлиги аниқланди. Бу борада 2017–2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегиясига «...мувофиқ аҳолига тиббий хизмат кўрсатиш даражасини янги босқичга кўтаришда муҳим вазифалар, жумладан, турли даражадаги юқумли гепатит касалликларини ташхислаш ва даволашда замонавий технологияларни қўллашни кенгайтириш орқали юқори малакали, сифатли тиббий хизмат кўрсатиш»² аҳолининг турли қатламлари орасида ҳаёт сифатини оширишда муайян аҳамият касб этади.

Ушбу диссертация тадқиқоти 2017–2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегиясида, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2011 йил 28 ноябрдаги ПҚ–1652-сон «Соғлиқни сақлаш тизимини ислоҳ қилишни янада чуқурлаштириш чоралари тўғрисида»ги, 2017 йил 20-июндаги ПҚ-3071-сон «Ўзбекистон Республикаси аҳолисига ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот Республика фан ва технологиялар ривожланишининг V «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишларига мувофиқ бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича халқаро илмий-тадқиқотлар шарҳи³.

Жигар касалликлари патогенетик аспекти ва касалликларни ташхислаш,

²2017–2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси

³ www.universityofcalifornia.edu, keck.usc.edu, www.ou.edu, www.niddk.nih.gov, www.cu.edu.eg, www.unige.it, www.utu.fi, www.vub.ac.be, www.unime.it, www.ucdenver.edu, www.sgpqi.ac.in, www.ucl.ac.uk, www.otago.ac.nz, www.usask.ca, www.ibis-sevilla.es, isim.ku.dk, www.it-chiba.ac.jp, en.uniroma1.it, www.gla.ac.uk, www.ntuh.gov.tw, www.tzuchi.com.tw, www.gsia.sums.ac.ir, www.unibe.ch, http://www.pitt.edu, www.tma.uz ва бошқа манбалари асосида амалга оширилган.

олидини олишдаги чора-тадбирларни такомиллаштиришдаги илмий изланишлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлар ва олий таълим муассасаларида, жумладан, Research Center for Liver Diseases; Infectious Diseases Society of America; American Association for the Study of Liver Diseases; National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases; University of California; University of Oklahoma; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; University of Colorado Denver (АҚШ), Institute for Liver and Digestive Health, University College London (Буюк Британия), European Association for the Study of the Liver (Германия); International Liver Cancer Association (Бельгия); Instituto de Biomedicina de Sevilla (Испания), University of Genoa (Италия), University of Messina (Италия), Institute of Gastroenterology, Nutrition and Liver Diseases (Исроил); University of Saskatchewan (Канада), Turku University (Туркия), University of Otago (Янги Зеландия), Vrije Universiteit Brussel (Белгия), Cairo University (Миср), Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences (Ҳиндистон), University of Medical Sciences (Эрон), Department of Internal Medicine (Тайван), Тошкент тиббиёт академияси (Ўзбекистон) да олиб борилмоқда.

Жигар касалликларини олдини олиш, касалликларни ташхислаш ва даволашнинг самарали усулларни амалиётга тадбиқ қилиш натижасида қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: аҳолининг турли қатламлари орасида вирусли гепатитнинг механизмлари ва тарқалиш сабаблари, олдини олишнинг замонавий усуллари аниқланган (Division of Gastroenterology and Hepatology, University of Colorado Health Sciences Center; Department of Medicine, University of Florida, Department of Clinical Medicine University of California, (АҚШ)); сурункали С гепатитнинг генлар полиморфизми асосида клиник кечиш жараёнининг янги генетик маркерлари ишлаб чиқилди (Department of Internal Medicine (Тайван); University of Medical Sciences (Эрон); Instituto de Biomedicina de Sevilla (Испания)); буйрак трансплантациясидан кейин сурункали вирусли С гепатитнинг зарарланиш ва унинг асоратлари даволашда вирусларга қарши полимераза реакциясининг ўрни исботланган (University of Genoa (Италия)); ошқозон ости беши фаолиятининг бузилиши натижасида С гепатит билан зарарланиш, цитокинлар экспрессиясининг ўзгариш, инсулин миқдорининг камайишига олиб келиши асосланган (University of Otago (Янги Зеландия)); сурункали вирусли С гепатит эпидемияси билан зарарланишни олдини олишга қаратилган антивирусли даволаш тизими ишлаб чиқилган (University of Saskatchewan (Канада)); протеин-конвертаза субтилизин кексин 9 ингибиторининг липидлар алмашинувининг бошқариш натижасида вирусли С гепатитининг олдини олиш механизми очиб берилган (University of Colorado Denver (АҚШ)); аста секинлик билан спиртли ичимликларни чеклаш натижасида С гепатитнинг тарқалишини олдини олиши асосланган (University of Oklahoma (АҚШ)); вирусли гепатит С тури билан хасталанган беморларда кўриш тизимининг пасайиши ва кўз склерасидаги ўзгаришларнинг келиб чиқиши исботланган (Turku University, (Туркия)); пестицидларнинг қишлоқ хўжалигида кенг қўлланилиши натижасида атроф-муҳит объектларнинг ифлосланиши турли даражадаги

гепатитларнинг, шунингдек, С гепатитнинг ривожланишига шароит яратилиши исботланган (Биринчи Москва тиббиёт Университети (Россия Федерацияси)); ўзбек аҳолисида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик усуллар асосида сурункали С гепатитнинг патогенетик механизмлари исботланган (Тошкент тиббиёт академияси (Ўзбекистон)).

Дунёда турли этник гуруҳлар аҳолисида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик жиҳатларини асосида ташхислаш ва даволашнинг юқори самарадорлигига эришиш мақсадида қатор устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда, жумладан, сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик механизмларини ишлаб чиқиш; сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик жиҳатларини асосида асоратларни камайтиришга қаратилган оптимал ташхислаш моделини ишлаб чиқиш; касаллик ривожланишида экологик омилларнинг этиопатогенетик туган ўрни асослаш; сурункали гепатитларда иммуноцитокин статус ҳолатини баҳолаш усулларни ишлаб чиқиш; жигар касалликларини янги генетик маркерларини аниқлаш; касалликни ташхислашнинг замонавий компьютер технологиялари усулларини ишлаб чиқиш; вирусга қарши терапиянинг патогенетик асосланган ёндошишларини ишлаб чиқиш ва такомиллаштириш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Бугунги кунда жаҳонда сурункали вирусли С гепатит аста-секин ривожланадиган жигар циррози ва гепатоцеллюляр карциномага олиб келувчи латент жигар яллиғланишидир (Bosch F.X. et al., 2005). HCV-инфекция билан ўткир зарарланиш натижасида 85%, жараённинг сурункали тус олиши ва фақатгина 15% да беморларнинг тўлиқ тузалиб кетиши мумкинлиги кузатилган (Berkes J. et al., 2005; Онищенко Г.Г ва бошқ. 2003; Игнатова Т.М., 2005; Abbas Z. et al., 2005). Қатор изланишлар, сурункали вирусли С гепатитда генетик асослар ва уларни касаллик патогенезида асосий ўрнини ёритишга йўналтирилган. Жигар вирусли касалликлар генезида яллиғланишга қарши цитокинлар (TNF- α) ва цитотоксик Т-лимфоцитларнинг (CTLA-4) муҳим аҳамиятини кўрсатиб берувчи далиллар оз эмас (Alizadeh M. A et al., 2006; М.Н.Алленов ва бошқ., 2006; Лазарева А. С ва бошқ., 2006; Yu M. L. et al., 2003; Goyal A. et al., 2004). Сурункали вирусли С гепатит ривожланишида TNF- α цитокинлар 308G>A ген полиморфизми ассоциациясининг ўта кучли фиброз ёки жигар циррози билан ўзаро узвий боғлиқлигини аниқлашга бағишланган тадқиқотлар бири-бирига зид бўлган далилларни кўрсатади. Баъзи тадқиқотлар бу цитокин полиморфизмининг жигар сурункали касалликлари ривожланишида таъсирини асосий ҳисобласа, бошқалар буни инкор этадилар (Tokushige K., 2003; Yu M. L., 2003). CTLA-4 генининг турли патологияларга бўлган таъсири чуқур ўрганилмоқда. CTLA-4 гени Т-лимфоцитлар фаолигини мувозанатлашда иштирок этади, бу хўжайралар таъсирида аутоиммун жараёнларни шакллантиради (Cough S. C. et al., 2005; Hodi F. S., 2007; Nomann D., 2006). Касалликни ривожланишида вирусологик омиллар эмас, балки, макроорганизмнинг умумий ҳолатига кўпроқ боғлиқлиги аниқланган (Алиева В. Ш. и соавт., 2010; Chistiakov D. A. et al., 2006; Jones G. et al., 2006;

Yee L. J. et al., 2003). Ўзбекистонда ўтказилган тадқиқотларда вирусга қарши терапияни асоратларни башоратлашда генетик маркерлар сифатида IFNL3 IFNL4 генларни полиморфизми таъсири келиши (Секлер Д.Э ва бошқ., 2014).

Адабиётлардан олинган маълумотлар P450 цитохром гени мутант вариантлари патологиялар вужудга келиши кўрсаткичларига таъсир этишидан далолат беради (Булгакова И. В. ва бошқ., 2013; Середина Т.А. ва бошқ., 2008; Pilotto A. et al., 2007; Ахмадишина Л. З., 2007). Метаболик жараёнларни фаоллаштирувчи, цитохром P450 иштирокида борувчи оксидланиш жараёнининг ферментлар синтезига маъсул бўлган генлар полиморфизми таъсирида кечиши амалиётда муҳим ўрин эгаллайди (Лисица А. В., 2007; Пустыльник В. О. ва бошқ., 2008). Ксенобиотик метаболизмини кодловчи ферментлари P450 цитохром изофермент генларининг вирусли юқумли С гепатит чақириши ва сурункали жигар касалликларининг кечиши, даволашга таъсири адабиётларда ёритиб берилган (Коротчаева Ю. В., 2008; Ahmad F. et al., 2011; Петров В. И. ва бошқ., 2010; Gochee P.A. et al., 2003). P450 цитохром изоферментлар, CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9 ва CYP3A4 генлари жигарда дори-дармонларнинг метаболизмида етакчи ўрин эгаллайди. Жигар патологиялари аниқлаш усулларни амалиётга тадбиқ этишда генетик омилларни тутган ўрни, хусусан CTLA-4, TNF- α ва P450 цитохромни изоферментларнинг мавқеини ўрганиш муҳим аҳамият касб этади.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Тошкент тиббиёт академиясининг «Ташхислаш, даволаш ва касалликни олдини олиш замонавий усулларини ишлаб чиқиш ва тадбиқ этиш» (01.1100158) мавзуси доирасида ва ФЁСС-1 «Сурункали гепатитларда цитохром P-450 генлари полиморфизмининг солиштирма тахлили» грант асосида бажарилган (2009-2011 йй.).

Тадқиқот мақсади сурункали вирусли С гепатитни цитокинлар ва ксенобиотиклар биотрансформацияси учун маъсул генлар полиморфизмининг прогностик аҳамиятини ўрганган ҳолда, ўзбек популяцияси номоёндаларида клиник кечишининг молекуляр механизмларни такомиллаштиришдан иборат.

Тадқиқот вазифалари:

TNF- α , CTLA-4, шунингдек, P450 цитохромининг CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP3A4 аллеллар ва генотипларининг сурункали вирусли гепатит С ва жигар циррози билан касалланган беморларда учраши кўрсаткичларини ўрганиш;

сурункали гепатит С ва цирроз билан касалланган беморларда жигар функционал фаолиятини белгиловчи кўрсаткичларининг TNF- α , CTLA-4 ва P450 цитохроми CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9 и CYP3A4 генетик полиморфизми билан ассоциацияланган параллелларини ва уларни касалликни патогенезидаги ўрнини аниқлаш;

сурункали гепатит С ва жигар циррози патогенетик аспектларининг цитокинлар ва ксенобиотиклар биотрансформацияси учун маъсул генлар полиморфизмининг прогностик аҳамиятини ўрганиб чиқиш;

сурункали гепатит С ва жигар циррози билан касалланган беморларда яллиғланиш жараёни жадаллиги ва генлараро ўзаро узвий боғлиқликни аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида сурункали вирусли С гепатитли ва жигар циррози бор беморлар ҳамда ДНК намуналари олинган соғлом донорлар олинган. ЎзРСС Вирусология илмий текшириш институти диспансер назоратида бўлган 22 ёшдан 81 ёшгача бўлган 107 нафар бемор асосий гуруҳда ва назорат гуруҳини 81 нафар жигарида сурункали жараёнлар қайт этилмаганган беморлар олинган.

Тадқиқотнинг предмети клиник-биокимиёвий таҳлилнинг асосий миқдорий кўрсаткичлари, цитокин ва генетик статусни аниқлаш учун вена қон томиридан олинган веноз қон.

Тадқиқотнинг усуллари: тадқиқот вазифаларни амалага оширишда клиник, биокимиёвий, генетик, иммунологик, инструментал ва статистик усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

сурункали С гепатит ва жигар циррози бўлган беморларда 308G>A TNF- α , 49A>G CTLA-4 ҳамда 164A>C CYP1A2, 9896C>G CYP2E1, 430C>T CYP2C9*2, 1075A>C CYP2C9*3 ва 392A>G CYP3A4 генетик полиморфизми кенг камровли тадқиқотда асосланган ва касаллик патогенезида уларни ўрни аниқланган;

ўзбек миллатига мансуб кишилар орасида P450 цитохромнинг изоферментлари ва цитокин генотиплари ва аллеллари тарқалиши, ҳамда соғлом кишиларга нисбатан тарқалганлигидаги фарқ хусусиятлари исботланган;

сурункали С гепатитнинг кечишини ифодалаб берувчи цитолиз, холестаза ва мезенхимал яллиғланиш синдромлар кўрсаткичларнинг ўрганилаётган генлар полиморфизми билан ўзаро узвий боғлиқлиги исботланган;

сурункали вирусли С гепатитнинг жигар циррозига айланишида цитокинлар ва ксенобиотиклар биотрансформацияси учун маъсул генлар полиморф вариантлари ассоциациясининг эгаллаган ўрни кўрсатиб берилган, буни эса ўз навбатида, СВГС касалланган кишиларда оғир ривожланиб кечишига бўлган хавф гуруҳлар ажратиш истиқболлаш критерийларини ишлаб чиқишда қўллаш мумкин. СВГС кечиши ва жигар циррози ривожланиши хавфини баҳолаб берувчи генетик профилни аниқлаб бериш, беморларни даволаш тактикасини белгилашда муҳим аҳамиятга эга. Аниқланган ассоциациялар СВГС ривожланиши патогенетик механизмлари тушунча доирасини кенгайтирган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

TNF- α , CTLA-4, CYP1A2, CYP2E1 генлар полиморфизми СВГС клиник кечишини асоратларини ривожланишида прогностик аҳамияти аниқланди.

Мутант аллел «А» ни ва TNF- α A/A генотипи ташувчилик, ўрта фаолликдаги СВГС ривожланишида, бу геннинг патогенетик ўрни ва уни фиброгенезни аниқлашда қўшимча критерий сифатида қўллашга, касаллик кечишини индивидуал баҳолаш ва даволаш режасини персонал равишда танлаб олишга имкон яратади.

CTLA-4 гени полиморфизмининг юқори сезувчанлиги ва уларнинг генлараро бирикканлиги СВГСни аниқлашда яхши маркер ҳисобланиб, жигар паренхимаси шикастланишини камайтиришга олиб келади, даволаш жарёнларини мувофиқлаштириш мақсадида хавф гуруҳларини белгилаб олишга ёрдам беради, СВГС жигар фибрози даражасини баҳолаб берувчи билвосита информатив критерий ҳисобланади, шуниндек бемор турмуш сифатини яхшилайти ва ҳаётини давомийлигини узайтиради.

Мутант «G» аллели ва CYP2E1 гени C/G генотипини ташувчиликни патологик фиброгенез юқори хавфи ва жигар фибрози ривожланиши фактори сифатида қараш мумкин, шундай қилиб касаллик истиқболини белгилаб беради ва СВГСларни даволашда антифиброз стратегияни ишлаб чиқишга асос бўла олади.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги олиб борилган тадқиқотларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, етарли даражада беморлар танланганлиги, қўлланилган усулларнинг замонавийлиги, уларга бири иккинчисини тўлдирадиган клиник, биокимёвий, молекуляр-генетик ва статистик текшириш усуллари ёрдамида олиб борилганлиги; ўзбек аҳолисида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик жиҳатлари ва кечишини самарали башоратлаш, касалликнинг ўзига хос кечишини баҳолашда турли усулларни қўлланилганлиги, ҳулоса ва олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқлангани билан асосланган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки ўзбек миллатига мансуб кишиларда сурункали вирусли С гепатитнинг кечиши патогенетик механизмларини ўрганиш билан боғлиқ. Сурункали вирусли С гепатитнинг клиник кечиши ва жигар циррози ривожланиш хавфи билан ассоциацияланган аниқланган молекуляр-генетик маркерлар чуқурлаштирилган тиббий кўрикларни олиб бориш ва сурункали гепатит оғир кечадиган вариантларини ривожланишига мойил бўлган кишиларни, цирроз каби касалликнинг аниқлашга ёрдам беради. Бу эса ўз навбатида, касалликнинг оғир турларини олдини олиш, яллиғланиш жараёнини фаоллигини сусайтириш, гепатоцит хужайраларни шикастланиши ва емирилиши, уларни фиброз компонентлар билан алмашинишини олдини олишга қаратилган превентив даволаш усулларини ишлаб чиқиш, мослашган терапияни СВГС беморларни даволашда қўллашни тақозо этади. Генлар полиморфизми кўрсаткичларини сурункали вирусли С гепатитнинг кечиш мезони сифатида фойдаланиш патогенетик асослаб берилганлиги билан изоҳланади. Сурункали HCV-инфекция патогенезининг аниқланган хусусиятлари янги диагностика усулларини яратиш ва такомиллаштириш, шуниндек, шахсийлаштирилган даволаш усулларини патогенетик асосда ривожлантириш учун асос булиши мумкин.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти TNF- α , CTLA-4, ҳамда, P450 цитохромнинг CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4 полиморф маркерларининг аллел вариантлари аниқлаш сурункали гепатит кечишини истиқболли ташхислаш усулларини ишлаб чиқаришга кўмаклашади, бу эса,

беморларни тўғри даволаш ва иқтисодий жихатдан кам харажат тактикасини қўллашга ва беморлар турмуш сифатини яхшилашга қаратилади.

Турли омиллар таъсирида сурункали вирусли гепатит С молекуляр-патогенетик кечиши механизмларини истиқболи алгоритми модели таклиф этилган. Ўтказилган тадқиқотлар нафақат патогенез механизмини тушиниш, балки, касалликни оғир турларини ривожланишига мойил бўлган хавф гуруҳини танлаб олишга ёрдам бериши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Ўзбек аҳолисида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик жиҳатлари ўрганиш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«Ўзбек популяциясида вирусли С гепатит патогенетик ривожланишида генетик омилларнинг ўрни» номли услубий тавсиянома ишлаб чиқилган ва соғлиқни сақлаш амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2017 йил 15 ноябрдаги 8н-д/55-сон маълумотномаси). Натижада ўзбек миллатига мансуб шахсларда вирусли С гепатит хар хил кечишини ташхислаш патогенетик механизмларини аниқлашда TNF- α , CTLA-4 ҳамда P450 цитохромнинг CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4 генлар биокимёвий маркерлар билан боғлиқлиги орқали имкон беради;

Ўзбек аҳолисида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик жиҳатлари ва кечишини башоратлашдаги ўрнини бўйича ишлаб чиқилган таклиф ва тавсиялар соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан, Тошкент тиббиёт академияси илмий тадқиқот лабораториясига, Тошкент тиббиёт академияси 2-клиникаси ҳамда Гематология ва қон қуйиш институти клиникаси амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2017 йил 15 декабрдаги 8н-з/55-сон маълумотномаси). Олинган тадқиқотларнинг клиник амалиётга жорий қилиниши ўзбек аҳолисида сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг молекуляр-генетик жиҳатлари асосида даволашга индивидуал ёндошишдаги амалий тавсияларнинг жорий этилиши беморнинг турмуш сифатини оширади, дори-дармонларга бўлган эҳтиёжини камайтиради, асоратларни олдини олиш хисобидан давлат бюджети сарф харажатларини 47,2% камайишига олиб келади.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари, жумладан 2 та халқаро ва 4 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича 30 та илмий иш нашр этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш учун тавсия этилган илмий нашрларда 18 та мақола, шундан, 10 таси республика ва 4 таси хорижий журналларда, ҳамда 10 та тезис нашр этилган. Шунингдек, тадқиқотнинг натижалари шифокорлар учун методик тавсияларга киритилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, олти боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 200 бетни ташкил этган.

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 «**Сурункали HCV-инфекцияси патогенезининг замонавий талқини**» деб номланган биринчи бобида мушоҳада қилинган адабиётларнинг манбалари келтирилган, бунда СВГС эпидемиологияси ва клиник кечиши ҳақида маълумотлар кенг ёритилган. Сурункали вирусли гепатит Снинг долзарб муаммолари ўз аксини топган, касалликнинг аҳамиятга эга бўлган тиббий-ижтимоий қирралари, СВГС патогенетик аспекти кўрсатилиб берилган. Ҳамда, жигар патологияларини ривожланишида ўрганилаётган генларнинг генетик полиморфизми эгаллаган ўрни тахлили келтирилган.

Диссертациянинг «**Сурункали HCV-инфекцияси ташхислаш материал ва усуллари**» деб номланган иккинчи бобида олдинга қўйилган вазифаларни ҳал этишда қўлланилган тадқиқот объектлари, усул ва методологик ёндошувларга таъриф берилган.

Сурункали вирусли гепатит С ташхиси, комплекс олиб борилган клиник-лаборатор ва инструментал текширувлар натижалари билан асосланади. Тадқиқотлар ўтказиш учун муҳим бўлган критерийлар қуйидагилардан иборат:

1) ташхиснинг касалликни фаоллиги даражасини белгиловчи клиник-биокимёвий верификацияси (анамнез, шикоятлар, АЛТ, АСТ аниқлаш, де Ритис коэффициенти, умумий билирубин, тимол синамалар, альбумин, гаммаглутаматтрансфераза миқдори, ультратовуш текшируви олиб бориш);

2) ташхиснинг этиологик верификацияси беморлар қонида РНК HCV (Hepatitis C virus) миқдорий кўрсаткичларини аниқлаш, С вирусини генотипини аниқлаш полимераз занжир реакция усули (ПЗР) RotorGene 6000 (фирма тўплами «Интерлабсервис», Россия) ускунасида олиб борилди.

Биокимёвий кўрсаткичларни аниқлаш (АСТ, АЛТ, умумий билирубин, ишқорий фосфатаза, альбумин, ГГТ) ярим автомат биокимёвий анализаторида ВА 88 (Mindray, Китай) «Human» синама-тизимини қўллаган ҳолда ўтказилди. Тимолли синамалар ООО «Агат-Мед» спектрофотометрида реактивлар тўплами ёрдамида, ишлаб чиқарувчининг кўрсатмалари асосида ўтказилди. Де Ритис коэффициенти АСТ/АЛТ нисбати билан аниқланди.

Биоматериаллар (ДНК) молекуляр-генетик текширувлари Гематология ва қон қуйиш илмий текшириш институти базасининг «Молекуляр тиббиёт ва хужайра технологиялари» бўлимида бажарилган (Ўзбекистон Республикасида хизмат кўрсатган фан арбоби, профессор Каримов Х. Я.).

Изданишнинг молекуляр-генетик қисми қуйидаги босқичлардан иборат бўлди: қон олиш; периферик қоннинг лимфоцитларидан ДНК ни ажратиб олиш; ПЗР ўтказиш; электрофорез ўтказиш ва натижаларни визуал текшириш.

Генетик полиморфизм тахлили полимераз занжир реакция ДНК синтези усулида локус специфик олигонуклеотид праймеровэндонуклеаз ва Tag-полимеразаларни қўллаб олиб борилади. Олигопраймерлар тизимини такомиллаштириш «Applied Biosystems» (США) ва «Corbett Research», (Quagen, Германия) фирмаларининг дастурлаштирилган термоциклерларида ўтка-зилди. Реактив буфер таркиби тажриба йўли билан аниқланди ва ПЗР ўтказиш шароитлари такомиллаштирилди. Қолган компонентларни тўплаш, хусусан, нуклеин кислоталарни ажратиб олиш учун ишлатиладиган реагентлар дунё миқёсидаги молекуляр биология соҳасида фаолият юритаётган етакчи ишлаб чиқарувчилардан («Serva», «Sigma» ва бошқалар), Россия (ООО Синтол, ООО Интерлабсервис, НПФ «Литех», ДНК-технология, Сибэнзим ва бошқалар) харид қилинди. Амплификация ва рестрикция моддалар детекцияси 2% агарозонли гелда электрофорез усули билан олиб борилди.

Олинган натижаларни баҳолаш «OpenEpi 2009, Version 2.3» статистик дастур тўпламини қўллаган ҳолда олиб борилди. Ўрганилган ДНК полиморфизми генотипларининг каноник тақсимланишдан Харди-Вайнберга чекланиши «GenePop» («Genetics of Population») (<http://wbiomed.curtin.edu.au/generpop>) компьютер дастури генетик кўрсаткичлари тахлили ёрдамида аниқланди. Корреляцион тахлилини Спирмен корелляция коэффициенти (r) орқали ҳисобланди (<http://medstatistic.ru/calculators/calcspirmen.html>) ($p < 0,05$).

Алел вариантлар ва генотиплар частотаси (f) тенглама бўйича ҳисобланди:

$$f = \frac{n}{2N} \text{ ва } f = \frac{n}{N}$$

бу ерда, n – вариантлар кузатилиши (аллел ёки генотипларнинг), N – ажратиб олиниш ҳажми.

Алеллар частотасини баҳолаш қуйидаги тенглама ёрдамида ҳисобланди:

$$p = \frac{2N_1 + N_2}{2N}, \quad q = \frac{2N_3 + N_2}{2N}$$

бу ерда p – А аллел частотаси, q – аллел частотаси, N – ажратилиб олинган умумий ҳажми $N = N_1 + N_2 + N_3$, где N_1, N_2, N_3 – генотиплар сони.

«Имкониятлар нисбати» (OR – odds ratio) коэффициенти билан 95 %ли ишончлилик интервали (CI – confidence interval), χ^2 ва p кўрсаткичларни ҳисоблаш учун «OpenEpi 2009, Version 2.3» статистик программалар тўпаламидан фойдаланилди.

Қасаллик натижаси аллеллар ёки генотиплар билан ассоциацияси ҳақида имкониятлар нисбати катталиги билан ўлчанади (OR).

OR қуйидаги тенглама ёрдамида ҳисобланади:

$$OR = ad/bc;$$

Бу ерда a – беморларда текширилаётган аллел частотаси; b – назорат ажратиб олинганлар аллеллари частотаси; c ва d – бемор ва назоратда қолган

аллеллар суммар частотаси мос равишда. $OR = 1$ кўрсаткичи ассоциация йўқлигидан далолат беради, $OR > 1$ - мусбат ассоциацияни кўрсатади («юқори хавф кўрсаткичи») ва $OR < 1$ - манфий ассоциация («паст хавф кўрсаткичи»). Ишончли интервал (CI) 5% босқич статистик кўрсаткич.

Нисбий чекланиш кутилаётган гетерозиготлик (D) М. Nei (1987) тенгламаси билан ҳисобланди:

$$D = \frac{h_{abs} - h_{exp}}{h_{exp}}$$

Бу ерда h_{abs} и h_{exp} – кузатилаётган ва кутилаётган гетерозиготлик, мос равишда.

Ўрганилган генетик маркерлар истиқболлаш самарадорлиги (AUC-классификатор) стандарт тенглама ёрдамида ҳисобланади:

$$AUC = \frac{Se + Sp}{2}$$

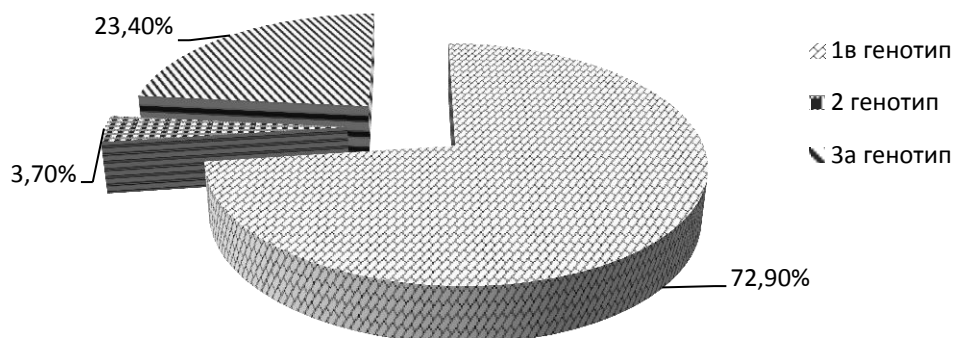
Бу ерда, Se ва Sp – генетик маркерлар сезувчалиги ва спецификлиги, мос равишда. Агар кўрсаткичлар $AUC < 0.5$ бўлса, маркер – тасодиқий классификатор; $AUC = 0,5-0,6$ – ёмон; $AUC = 0,6-0,7$ – ўрта; $AUC = 0,7-0,8$ – яхши; $AUC > 0,8$ – аъло классификатор.

Диссертациянинг «**Сурункали вирусли гепатит С беморларнинг клиник таърифи**» деб номланган учинчи бобида беморларни клиник-лаборатор текширувлари бемор шикоятлари, анамнестик далиллар, физикал кўрик, жигар функционал ҳолатини баҳоловчи қоннинг биокимёвий тахлили кўрсаткичларини ўз ичига олади.

Текширувлар олиб борилганлар ичида 58 нафарини аёллар (54,2%) ва 49 нафарини эракаклар (45,8%) ташкил этади.

Жигар шикастланиши клиник белгилари кўп ҳолларда тез-тез чарчаб қолиш, холсизлик, сержаҳллик каби астеник симптомлар (86,9%) билан намоён бўлди. Диспепсия (73,8%) ва оғриқ (60,7%) симптомлари, гепатомегалия (88,8%), спленомегалия (41,1%), асцит (34,6%), тери қичимаси ҳам кузатилди (26,2%).

Текширувдан ўтказилган беморлар орасида HCV генотиби аниқланди. Тарқалаганлик кўрсаткичи тахлили 1в генотиби кўп учрашини кўрсатди ва бу кўрсаткич 72,9% ташкил этди. Генотип 3а 23,4% беморларда аниқланди. Генотип 2 бошқа генотипларга нисбатан камроқ учради ва 3,7% тенг бўлди (1-расм).



1-расм. HCV генотипларни тақсимланиши

Молекуляр эпидемиологик тадқиқотлар вирус генотиби тақсимланиши орасидаги фарқнинг аҳамиятга эгаллигини кўрсатиб берди. Ўрганилаётган биохимик кўрсаткичлар С вируси генотиби орасидаги ўзаро боғлиқлик гуруҳларда таҳлил қилинди. Биохимий кўрсаткичлар динамикаси гепатит С вируси генотиби ҳар хиллигига боғлиқ бўлди. СВГС турли даража оғирликда клиник кечиши ва вирусли гепатит С генотиби ассоциацияси биохимик кўрсаткичлар билан ўзаро боғлиқлиги аниқланди. Касалликни асосий клиник белгилари холестатик, цитологик ва бошқа характерли синдромларда номоён бўлади.

Кичик гуруҳларда жигар функционал фаолиятини кўрсаткичлар билан С вируси генотиплари орасидаги боғлиқлик таҳлил қилинди. Биринчи кичик гуруҳда гепатит С вирусининг 1в генотиби ташувчи беморларида биохимий таҳлил кўрсаткичларидаги ўзгаришлар кўпроқ номоён бўлди, хусусан, АСТ, АЛТ, билирубин. Касалликни циррозга ўтиб борган гуруҳида клиник-биохимик кўрсаткичлар 3а генотип ташувчи беморларда ажралиб турди. 2 генотип аниқланган жигар циррози билан касалланган беморларда биохимик кўрсаткичлар юқори бўлди.

Юқорида келтирилган маълумотларни мужассамлаб, шундай, молекуляр эпидемиологик тадқиқотлар вирус генотиплари тақсимланиши кўрсаткичларида бирмунча фарқ бор деб хулоса қилиш мумкинлигини кўрсатиб берди. Жигар сурункали патологияли беморларда С вирусининг 1в генотиби устунлик қилди. Бундан ташқари, СВГС турли оғирлик даражасининг клиник кечишида С вирус генотиби биохимик кўрсаткичлар билан ассоциацияланиши кузатилди. Асосий клиник белгилар холестатик, цитолитик синдромлар билан яққол ажралиб турди.

Диссертациянинг «**Сурункали вирусли гепатит С ли беморларда аллеллар ва CTLA-4, TNF- α , CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4, CYP1A2 генлар генотиплари тақсимланиши хусусиятлари**» деб номланган тўртинчи бобида бизнинг олиб борган тадқиқотларимиз натижалари ўрта фоал СВГС ривожланишида муҳим ўрин эгаллаган генетик омиллар, А аллели полиморф варианты TNF- α (G308A) – гени гетеро- ва гомозигот генотипларида; G аллели ва G/G генотиби CYP2E1 (C9896G) генининг полиморф варианты; С аллели ва А/С генотиби CYP2C9*3 генининг полиморф варианты; G аллели ва А/G генотиби CYP3A4 (A392G) генининг полиморф варианты; С аллели ва Т/С генотиби CYP1A2 (A164C) генининг полиморф варианты.

СВГС фаоллашиши билан TNF- α (G308A), CYP2C9*2, CYP2C9*3 ген вариантлари минор аллеллари полиморф геномлари пасаяди, худди шундай, CTLA-4 (A49G), CYP3A4 (A392G) ва CYP1A2 (A164C) ҳолларда ҳам. Кўрсатилган полиморф геномлар минор аллеллари СВГС енгил кечиши билан ассоцияланади. Бизнинг тадқиқотларимизда CYP2E1 (C9896G) полиморф генининг минор аллели ва С/G генотипини ташувчилик патологик жараённинг фаоллашиши билан боғлиқ бўлган.

СВГС урта фаолли гуруҳда полиморфизмнинг энг юқори даражаси CTLA-4 (A/G) ген учун хос эди. Жигар циррозда CYP3A4 (A/G) гени полиморфизмнинг энг паст даражаси аниқланди.

CYP2C9*2 (C430T), CYP2C9*3 (A1075C) и CYP1A2 (A164C) генлар полиморф варианты гепатоцитларни фиброз тўқима билан алмашилиши ва циррозни ривожланиши генетик факторлари ҳисобланади. Бунда, TNF- α (G308A), CYP2E1 (C9896G), CYP3A4 (A392G) генларнинг полиморф вариантлари минор аллелларини ташувчилик, жигарни фиброз шикастланиши ва касалликнинг цирроз босқичига ўтишига монелик қилади.

Шундай қилиб, олинган натижалар ўрганилган полиморфларнинг аллел вариантлари частотаси, вирусли инфекция натижасида ривожланган СВГС ва жигар патологик жараёнлари турли даражаси фаоллиги ижобий ва салбий кечишида бир-биридан анча фарқ қилади. Юқорида келтирилган далиллар, бизга ўрганилган цитокинлар ва метоболизм ферментларининг ишлаб чиқарилиши регуляциясини издан чиқиши ва биотрансформацияси СВГС патогенези ва касаллик кечишига ўз таъсирини кўрсатишини асослаб берди.

Тадқиқотлардан олинган натижаларни таҳлил қилиш молекуляр-генетик ва патофизиологик асослар инициацияси, жигардаги яллиғланиш ва фиброз жараёнлар фаоллиги СВГС ривожланиши патогенетик механизмини янада чуқурроқ тушунишга ёрдам беради. TNF- α яллиғланиш жараёнлари, иммун жавобни стимуляциловчи ва мувозанатловчи яллиғланиш цитокинлар гуруҳига мансуб. TNF- α гени генотиби полиморфлиги тақсимланиши тадқиқот олиб борилаётган гуруҳлар ичидаги биринчи кичик гуруҳда А/А мутант генотиплар кўпроқ частотаси ва G/G ёввойи генотиплар камроқ частотаси билан ифодаланди. Бизнинг тадқиқотларимиз натижаларида TNF- α полиморф генини А мутант аллеллари ташувчилик сурункали вирусли гепатит С ўрта фаоллиги билан ассоцияланади ва жигарда яллиғланиш жараёни ва фиброз ҳосил бўлишини интенсификациясини ифодалайди (1-жадвал).

СВГСда жигар структур-функционал бузилишининг жадалланишини ривожланиш тезлиги кўпинча беморларнинг иммун ҳолатига боғлиқ. CTLA-4 полиморф генининг мутант аллелини ташувчилик оқсилларнинг функционал фаолиятини сусайишига боғлиқ, «G» аллели функционал реализацияси Т-хужайралар пролиферацияси устидан назоратни сусайишида ифодаланади. CTLA-4 генининг генетик деффектида, рецепторлар фаоллигининг издан чиқиши CD4⁺ Т-лимфоцитлар нерегуляр равишда ажралиши ва аутоиммун жараёнлар ривожланишига олиб келади. Жигарда CTLA-4 нинг функционал активлигини сусайиши оқибатида шикастланган аъзонинг лимфоцитлар билан инфильтрацияланиши яллиғланиш жараёнининг интенсификациясини, гепатоцитлар нобуд бўлиши ва фиброз тўқима билан алмашилиши кузатилади. CTLA-4 мутант генотиби тақсимланиши СВГС ўрта фаоллиги кичик гуруҳларидаги беморларда кўпроқ намоён бўлади, бироқ, айнан шундай полиморфизм назорат гуруҳи кўрсаткичларда ҳам кузатилган.

CYP2E1 гени аллеллари ва геномлари тақсимланиши ўрганиб чиқилганда, C/C гомозигот генотиби учинчи кичик гуруҳда кенг тарқалганлиги кузатилади, C/C гетерозигот генотип кўрсаткичлари иккинчи гуруҳда бошқа гуруҳларга нисбатан кўпроқ эканлиги таъкидланди. G мутант аллел частотаси кўплиги ва CYP2E1 (C9896G) полиморф гени, G/G генотиби CYP2E1 (C9896G) полиморф гени, ксантабиотиклар метоболизми юқори

даражада жадаллиги билан боғлиқ бўлган СВГС, бизнинг тадқиқотларимизда ўрта даражада фаол бўлган беморларда кузатилди. Келтирилган далиллар бошқа изланувчиларнинг кўрсаткичлари билан тасдиқланади ва G минор аллелининг жигарда ПОЛ маҳсулотлари ҳосил бўлишининг ортиши билан кечадиган биотрансформация жадаллашиши, юлдузсимон хужайралар фаоллиги кучайиши ва коллаген ишлаб чиқилиши муҳим ўрин эгаллайди. Бу жараёнларнинг интенсификацияси CYP2E1 генотиби варианти билан ифодаланади, демакки, жигарда яллиғланиш жараёнларининг жадал ривожланиши ва бир меъёрда туриши, СВГС жадаллашиши ва касалликни жигар циррози босқичига ўтишида йўлбошчилик қилади.

1-жадвал.

СВГС, жигар циррози беморларда ва соғлом донорларда ўрганилаётган маркерларнинг полиморф генотипларини тақсимланиши

маркер	генотиплар	асосий гуруҳ		1 кичик гуруҳ		2 кичик гуруҳ		3 кичик гуруҳ		контрол гуруҳ	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TNF- α	G/G	81	75,7	23	69,7	28	75,7	30	81,1	73	90,1
	G/A	18	16,8	6	18,2	7	18,9	5	13,5	6	7,4
	A/A	8	7,5	4	12,1	2	5,4	2	5,4	2	2,5
CTLA-4	A/A	27	25,2	4	12,1	11	29,7	12	32,4	26	32,1
	A/G	60	56,1	22	66,7	20	54,1	18	48,7	37	45,7
	G/G	20	18,7	7	21,2	6	16,2	7	18,9	18	22,2
CYP2E1	C/C	78	72,9	24	72,7	24	64,9	30	81,1	70	86,4
	C/G	25	23,4	7	21,2	12	32,4	6	16,2	11	13,6
	G/G	4	3,7	2	6,1	1	2,7	1	2,7	0,0	0
CYP2C9*2	C/C	79	73,8	20	60,6	31	83,8	28	75,7	61	75,3
	C/T	28	26,2	13	39,4	6	16,2	9	24,3	20	24,7
	T/T	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CYP2C9*3	A/A	86	80,4	24	72,7	33	89,2	229	78,4	71	87,7
	A/C	21	19,6	9	27,3	4	10,8	8	21,6	10	12,3
	C/C	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CYP3A4	A/A	93	86,9	27	81,8	32	86,5	34	91,9	77	95,1
	A/G	14	13,1	6	18,2	5	13,5	3	8,1	4	4,9
	G/G	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CYP1A2	A/A	80	74,8	23	69,7	30	81,1	27	73,0	71	87,7
	A/C	25	23,3	10	30,3	7	18,9	8	21,6	10	12,3
	C/C	2	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	2	5,4	0,0	0,0

CYP2C9*2 ва CYP2C9*3 генларининг полиморфизми тақсимланиши гомозигот генотипнинг мутант тури йўқлиги билан таърифланади. CYP2C9*2 ва CYP2C9*3 генларининг гомозигот генотиби ёввойи тури иккинчи гуруҳда қайт этилди. Генлар мутант аллеллари уларнинг маҳсулотарини ферментатив фаолиги пасайишини таъминлайди, бироқ, СВГС ўрта фаол гуруҳлардаги беморларда CYP2C9*3 генининг полиморф варианти C минор аллели, CYP3A4 (A392G) гени полиморф варианти G аллели ва CYP1A2 (A164C) гени полиморф варианти юқори частотаси, яллиғланиш жараёнларнинг интенсивлиги сусайишида муҳим ўрин эгаллаган.

СВГС салбий кечган беморларда маълум аллеллар ва генотиплар тўпланиши полиморфизмнинг ушбу генетик вариантлари СВГС жадаллаша-

ётганидан, жигар оғир шикастланишининг ривожланишидан дарак берувчи маркер бўлиб ҳисобланиши мумкин ва касалликни оғир кечишини кўрсатади. Бошқа тарафдан олиб қараганда, полиморфизмининг генетик вариантлари касаллик ижобий кечган ҳолларда кўпроқ частота билан учрайди, жигарни оз даражада шикастланишидан дарак берувчи маркер бўлиши мумкин.

Илмий иш генофондда аллеллар частотаси асосида Харди-Вайнбергнинг тасодифан чатишаётган популяцияларда кутилаётган генотиплар частотаси полиморфизм генотипларини тақсимланиши қонунига асосан ҳисоблаб чиқиб TFN- α (G308A), CTLA-4 (A49G), CYP2E1 (C9896G), CYP2C9*2 (C430T), CYP2C9*3 (A1075C), CYP3A4 (A392G) ва CYP1A2 (A164C)га мувофиқлиги таҳлил қилинди.

Изланишларимизда деярли барча текширилувчи гуруҳ ва кичик гуруҳларда TFN- α ген полиморфизми мувозанат ҳолатдан оғанлигидан ва гетерозигот ҳолатидаги рецессив аллелларнинг уларга қарши қаратилган танлов амалларидан қочишига далолат берувчи гетерозигот (D манфий қиймати) ортиқлиги кузатилган; жигар циррози бўлган беморлар кичик гуруҳи ва назорат гуруҳида CTLA-4 ген полиморфизми; беморлар асосий гуруҳи ва назорат гуруҳида, ҳамда СВГС ўрта оғир фаол кичик гуруҳларда ва жигар циррозли беморлар кичик гуруҳларида CYP2E1 ген полиморфизми; жигар циррози бор беморлар кичик гуруҳларида CYP1A2 ген полиморфизми қайд этилган.

Фаолиятидаги гомозиготлар фойдасига бўлган гетерозиготлар дефицити, дифференциал танлаб олиниши билан тушинтирилади, CTLA-4 ген полиморфизми ўрта фаол ва юқори фаол СВГС беморлар асосий ва кичик гуруҳларида қайт этилган, CTLA-4 гени полиморфизми ўрта фаол ва юқори фаол СВГС гуруҳлар ва кичик гуруҳларда кузатилган, CYP2E1 ген полиморфизми СВГС кичик гуруҳи беморларида, CYP2C9*2 полиморфизми, CYP2C9 гени ва CYP3A4 гени ҳамма гуруҳ ва кичик гуруҳларда, CYP1A2 ген полиморфизми СВГС ўрта фаол ва юқори фаол беморлар асосий гуруҳида, назорат ва кичик гуруҳларда кузатилган.

Диссертациянинг «TNF- α , CTLA-4, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4 ва CYP1A2 генлар алелл вариантларининг СВГС ва жигар циррозида яллиғланиш жараёнининг фаоллиги билан ассоциатив боғлиқлигини ўрганиш» деб номланган бешинчи бобда ўзбек популяцияси генетик статуси текширилган TNF- α (G308A), CTLA-4 (A49G), CYP2E1 (C9896G), CYP2C9*2 (C430T), CYP2C9*3 (A1075C), CYP3A4 (A392G) ва CYP1A2 (A164C) генлар полиморф вариантлари фактори нафақат, ксенобиотиклар детоксикация тизими цитокин ва ферментлар функционал фаоллиги билан, балки, сурункали вирусли гепатит С беморлари цитолиз, холестаза, яллиғланиш кўрсаткичлари миқдори билан ҳам ассоцияланади.

Олиб борилган тадқиқотлар натижаси биринчи ва иккинчи кичик гуруҳлар биохимик таҳлилларидаги АЛТ юқори кўрсаткичлари TNF- α (A/A) полиморф вариантлари билан боғлиқлигини кўрсатди. Учинчи кичик гуруҳ беморларда АЛТ энг юқори концентрацияси кўрсаткичлари G/G CYP2E1 генотип ташувчиларда қайт этилган. СВГС ўрта фаол бўлган кичик гуруҳ

беморларидаги АЛТ энг паст кўрсаткичлари СҮР3А4 (А/Г) полиморф вариантлари; СВГС юқори фаол бўлган беморлар кичик гуруҳларида TNF- α (G/A) полиморф вариантлари; жигар циррози бўлган беморлар кичик гуруҳларида СҮР2Е1 (C/G) – полиморф вариантлари билан боғлиқ. Яллиғланиш жараёнининг кўрсаткичлари TNF- α , СҮР2Е1 и СТЛА-4 билан кучли нисбий корреляцион боғлиқлиги аниқланди. Шунда, ушбу ўзаро боғлиқлик СҮР2С9, СҮР3А4 и СҮР1А2 маркерлар билан мусбат характерга эга эди ($p < 0,05$).

Биринчи ва иккинчи кичик гуруҳлар биохимик таҳлилларидаги АСТнинг энг юқори кўрсаткичлари ҳам TNF- α (A/A) полиморф вариантлари билан боғлиқлигини кўрсатган ($p < 0,05$). Жигар циррози бўлган беморлар кичик гуруҳларида АСТнинг юқори кўрсаткичлари СҮР2Е1 (G/G) полиморф вариантни ташувчиларда кузатилган. СВГС ўрта фаол бўлган кичик гуруҳ беморларида АСТнинг энг паст кўрсаткичлар СҮР3А4 (A/G) полиморф варианты; СВГС юқори фаол бўлган беморлар кичик гуруҳларида TNF- α (G/A) полиморф вариантлари; жигар циррози бўлган беморлар кичик гуруҳларида СҮР2Е1 (C/G) – полиморф вариантлари билан боғлиқ бўлганлигини кўрсатади. Бу тенденция АЛТ кўрсаткичларига нисбатан айнан ўхшашлигини айтиб ўтиш керак.

СҮР2Е1 G/G гени полиморф варианты иккинчи ва учинчи кичик гуруҳ беморларининг билирубини энг юқори кўрсаткичлари билан боғлиқ бўлган. Биринчи кичик гуруҳ беморларида билирубиннинг юқори кўрсаткичлари TNF- α (A/A) полиморф варианты ташувчиларида кузатилган. Беморлар гуруҳларига мос равишда билирубиннинг энг паст кўрсаткичлари СТЛА4 (G/G), TNF- α (A/A) ва СҮР2Е1 (C/G) полиморф вариантлари билан боғлиқ бўлди. Хамма кичик гуруҳларда умумий билирубин концентрацияси СҮР2С9, СҮР3А4 и СҮР1А2 полиморфизми билан кучли мусбат корреляцион боғлиқлик аниқланди ($r=1,0$, $p < 0,05$).

Биринчи кичик гуруҳ беморларида ишқорий фосфатаза (ИФ) энг юқори кўрсаткичлари TNF- α (A/A) полиморф вариантлари; иккинчи кичик гуруҳ беморларида СҮР2Е1 (G/G) – полиморфизми; учинчи гуруҳ беморларида – СҮР1А2 (C/C) полиморфизми билан корреляцион ўзаро боғлиқлик аниқланди. СВГС ўрта фаол кичик гуруҳ вакилларида ИФ энг паст кўрсаткичларни СҮР2Е1 (C/G) полиморф варианты, иккинчи гуруҳ беморларида – СТЛА-4 (A/G) полиморф варианты билан ассоцияланади. Учунчи гуруҳ беморларида ИФ энг паст кўрсаткичлари СҮР2Е1 (G/G) ва TNF- α (G/A) полиморфизм билан ассоцияланади.

Текширилган кичик гуруҳ беморларида тимол синамаси миқдори энг юқори кўрсаткичлари, иккинчи кичик гуруҳда TNF- α (A/A) полиморф варианты, учинчи кичик гуруҳ беморлари СҮР2Е1 (G/G) полиморфизми билан боғлиқ бўлган. Бунда, тимол синаманинг энг паст кўрсаткичлари билан ассоцияланган генотипик вариант кузатилмади.

Ўрганилаётган полиморфизмлар генотипик вариантларининг ҳеч бири қондаги альбумин миқдорий ўзгаришларига деярли таъсир этмади. Бирок, биринчи кичик гуруҳда аниқланган СҮР2Е1 (G/G) вариант, ва учинчи кичик

гуруҳда аниқланган СҮР1А2 (С/С) вариант юқорида келтирилган альбумин миқдори концентрациялари максимал кўрсаткичлари билан боғлиқ. Бунда, альбуминнинг энг паст кўрсаткичлари билан ассоцияланган генотипик вариант қайд этилмади.

Гамма-глутаматтрансфераза (ГГТ) нинг энг юқори кўрсаткичлари СВГС ўрта оғир кечаётган гуруҳ вакилларида TNF- α (А/А) полиморф вариантлари билан корреляция аниқланди. ГГТнинг энг юқори кўрсаткичлари СВГС ўта оғир кечаётган гуруҳ вакилларида СҮР2Е1 (G/G) полиморф вариантлари билан ассоцияланди, жигар циррози қайт этилган беморлар кичик гуруҳида СҮР1А2 (С/С) полиморф вариантлари билан корреляцияланди. ГГТнинг энг паст кўрсаткичлари СВГС ўрта оғир кечаётган гуруҳ вакилларида СҮР3А4 (А/Г) полиморф вариант ташувчиларда; СВГС ўта оғир кечаётган гуруҳ беморларида СҮР3А4 (А/Г) ва СҮР1А2 (А/С) полиморф вариантлари; жигар циррози бўлган беморлар кичик гуруҳларида TNF- α (G/A), СТЛА-4 (А/А) ва СҮР2Е1 (С/Г) полиморф вариантлари билан боғлиқ бўлганлигини кўрсатди.

Шундай қилиб, СВГС беморлар генетик статуси ўрганилган TNF- α , СТЛА-4, СҮР2Е1, СҮР2С9, СҮР3А4 ва СҮР1А2 генлар полиморф вариантлар жигар функционал фаолиятини таҳлиллари: АЛТ, АСТ, умумий билирубин, ишқорий фосфатаза ва гамма-глутаматтрансферазаларнинг миқдорий кўрсаткичларини белгилаб берувчи факторлар ҳисобланади. Бунда, биз ўрганиб чиққан полиморфизмлар билан гепатоцитлар шикастланиш даражаси, модда алмашинув жараёнлари издан чиқиши ва мезинхимал яллиғланиш қай даражада эканлигини белгилаб берувчи биохимий кўрсаткичлар миқдори билан корреляцион ўзаро узвий боғлиқлиги нафақат генотипик вариантлар полиморфизми, балки, СВГС фаоллик даражасига ҳам боғлиқ. Олиб борилган изланишлар, СВГС ўрта фаол бўлган кичик гуруҳ беморларида TNF- α (А/А) гени аллел вариантлари билан биохимик таҳлил кўрсаткичлари орасидаги корреляцион боғлиқликни кўрсатиб берди ($p < 0,05$). СВГС ўта фаол бўлган беморларда АЛТ ва АСТ кўрсаткичлари, TNF- α (А/А) мутант генотип ташувчиларда қайт этилди ($p < 0,05$). СҮР2Е1 (G/G) полиморфизм ташувчи кичик гуруҳ беморларида умумий билирубин, ишқорий фосфатаза, гамма-глутаматтрансфераза кўрсаткичларининг юқори бўлиши билан ифодаланади. Олинган натижалар, СҮР2Е1 (G/G) ва СҮР1А2 (С/С) генларининг генотипик вариантлари, жигар циррозли беморларда яллиғланиш жараёнининг юқори даражада фаоллиги билан ассоцияланади. Шундай қилиб, цитолиз ва холестаза юқори кўрсаткичлари билан ассоцияланган полиморфизмлар СВГС кечишини баҳоловчи маркерлар бўла олади.

Диссертациянинг «**Сурункали вирусли гепатит С кечиши хусусиятларини истиқболлашда цитокинлар ва цитохром Р450 изоферментларининг генлари аллел вариантлари ташувчиликни муҳим аҳамиятини баҳолаш**» деб номланган олтинчи бобида СВГС ривожланиши ва кечишини аниқлашда ўрганилган полиморфизмларнинг истиқболловчи маркерлари сифатида самарадорлигини баҳолаш мақсадида сезувчанлик (Se), спецификлик (Sp) ва истиқболлашда – АUC маркери кўрсаткичининг аҳамияти ҳисоблаб чиқилди.

Изланишлар, CYP3A4 (A392G) (Se=0,12) ва CYP2C9*3 (A1075C) (Se=0,20) полиморфизмлари сезувчанлиги ниҳоятда паст эканлигини, CTLA-4 (A49G) (Se=0,75) полиморфизмлари сезувчанлиги юқори эканлигидан далолат берди. CTLA-4 (A49G) полиформизмнинг юқори сезувчанлиги инобатга олган ҳолда, бу маркерни қўллаб ташхислашнинг биринчи босқичларида СВГС ўрта фаол кечишини, СВГС ташувчиларда аниқлаш мумкин. СВГС асосий гуруҳи беморларида спецификликнинг юқори кўрсаткичлари (0,86 – 0,95лар атрофида) CYP3A4 (A392G), TNF- α (G308A), CYP2E1(C9896G), CYP1A2 (A164C) ва CYP2C9*3 (A1075C) полиморфизмларида кузатилди. Юқори спецификлик бу маркерларни СВГС ривожланишини аниқлаш мақсадида қўллаш мумкинлигидан далолат беради. Тадқиқотларимиздаги юқори кўрсаткичга эга бўлган истиқболлаш полиморфизмлари генетик маркерларни касаллик конфирматори сифатида қўллаш мумкинлигини кўрсатади, айти шу ишончли кўрсаткичлар касаллик бор ёки йўқлигини аниқ кўрсатиб беради, бу эса ўз навбатида соғлом кишиларни касал деб даволашдан асрайди.

Изланишларимиз давомида бирор марта ҳам, ўрганилаётган, етти, беш, олти, тўрт, ҳамда уч генларнинг номувофик генотипик вариантларнинг бирикмаларини учратмадик. Номувофик аллеллар баъзи биоген комбинацияларини учрашини баҳолаш частотаси қуйидагиларни кўрсатиб берди:

– амалий соғлом кишилар гуруҳида номувофик генотип аллеллар биоген бирикмалари кўпроқ учраб турди CTLA4+CYP2C9*2 (17,3%), CTLA4+CYP2C9*3 (9,9%), CTLA4+CYP1A2 (7,4%), CYP2C9*2+CYP2C9*3 (6,2%), CTLA4+ CYP2E1 (6,2%);

– СВГС беморлар асосий гуруҳида – CTLA4+CYP2E1 (19,6%), CTLA4+CYP2C9*2 (19,6%), CTLA4+CYP1A2 (18,7%), CTLA4+CYP2C9*3 (12,1%), TNF- α +CTLA4 (13,1%), CYP2E1+CYP1A2 (11,2%);

– СВГС ўртача фаол беморлар гуруҳида – CTLA4+CYP2C9*2 (33,3%), CTLA4+CYP1A2 (30,3%), CTLA4+CYP2E1 (27,3%), TNF- α +CTLA4 (24,2%), CTLA4+CYP2C9*3 (21,2%), CYP2E1+CYP1A2 (21,2%);

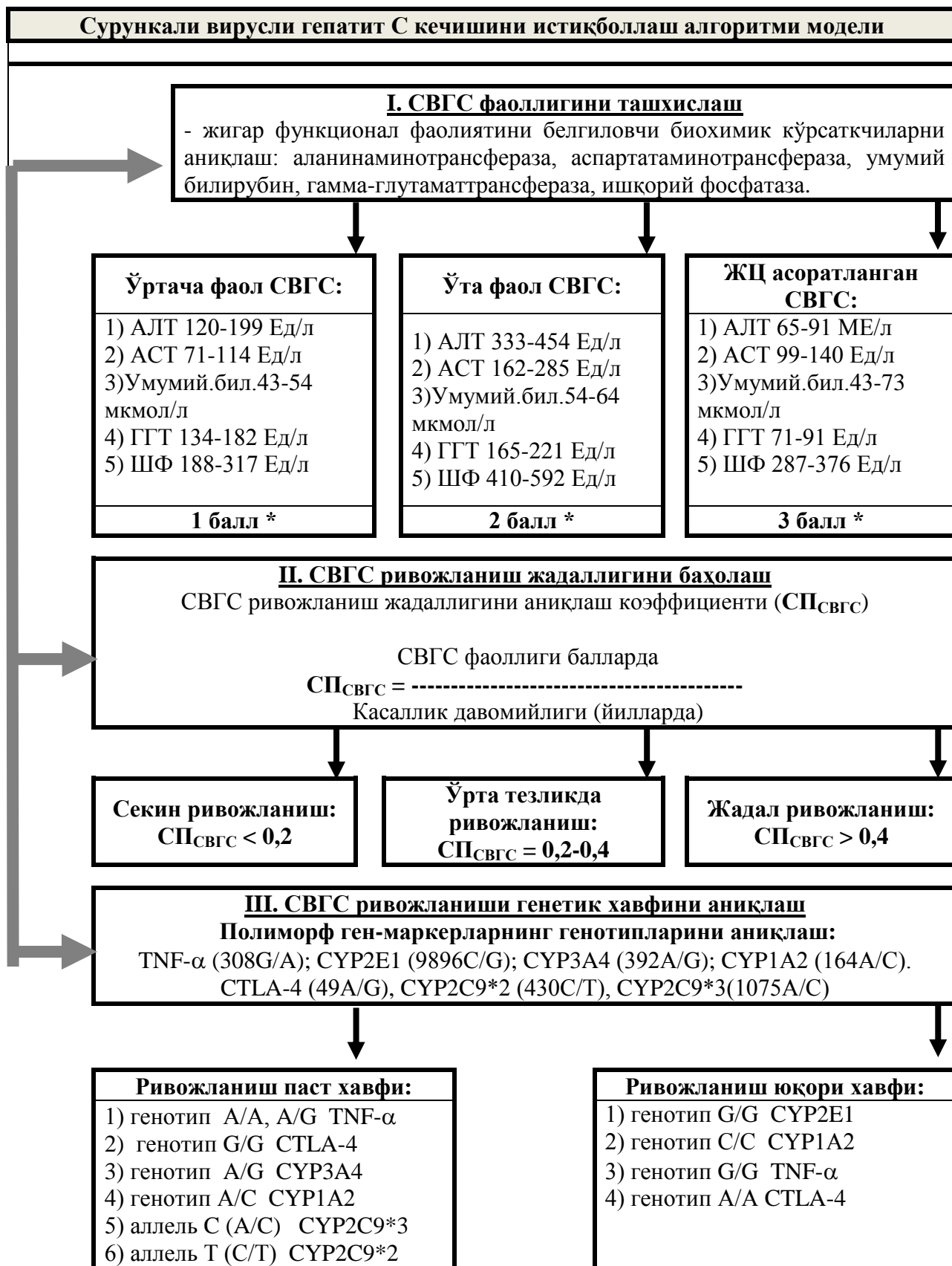
– СВГС юқори фаол беморлар гуруҳида – CTLA4+CYP2E1 (21,6%), CTLA4+ CYP1A2 (16,2%), CTLA4+CYP2C9*2 (10,8%), TNF- α +CTLA4 (10,8%), TNF- α + CYP2E1 (10,8%);

– жигар циррози беморлари гуруҳида– CTLA4+CYP2C9*2 (16,2%), CTLA4+CYP2E1 (10,8%), CTLA4+CYP1A2 (10,8%), CYP2C9*3+CYP1A2 (10,8%).

Изланишларимиз, тадқиқот олиб борилган гуруҳларнинг деярли барчасида полиморф вариантларнинг CTLA4+CYP2C9*2, CTLA4+CYP2E1 ва CTLA4+CYP1A2 биоген бирикмалари кўпроқ учрашини кўрсатди.

CTLA4+CYP2C9*3, TNF- α +CTLA4 ва CYP2E1+CYP1A2 биоген бирикмалар ниҳоятда кам учради, ва бунда, уларни ташувчилик СВГС йўқлиги ёки касалликни солиштирма энгил кечиши билан ассоцияланди. Баъзи полиморф вариантларнинг биоген бирикмалари частотаси ва истиқболлашдаги ахамияти тахлил қилинганда, СВГС патологик жараённинг

паст фаоллигида CTLA4+CYP2C9*2, CTLA4+CYP2E1 ва CTLA4+CYP1A2 генотипик комбинация ташувчилик ассоциацияси эканлиги маълум бўлди, бу уларнинг протектив роли ҳақида далолат беради.



Изох: (*) – СВГС фаоллиги кўрсаткичлари баллар йиғиндиси билан ифододаланади.

2- расм. Сурункали вирусли гепатит С кечишини истиқболлаш алгоритми модели

Олинган натижалар СВГС патологик жараён фаоллиги ва касалликни кечиши патологик жараён ишончли генотипик комбинацияси TNF- α +CTLA4, CTLA4+CYP2C9*3 ва CYP2E1+CYP1A2 ассоциациясидан далолат беради. Генотипик вариантлар ва биокимёвий кўрсаткичлар асосида СВГС истиқболлаш алгоритми таклиф этилди (2-расм).

ХУЛОСА

«Ўзбек популяциясида HCV-инфекция патогенези молекуляр-генетик аспектлари ва сурункали гепатит С кечишини истиқболлашда уларнинг эгаллаган ўрни» мазусидаги докторлик диссертацияси ишидан олинган натижалар қуйидагилардан иборат:

1. Ўзбек миллатига мансуб кишиларда аниқланган TNF- α , CTLA-4, ҳамда, P450 цитохромни CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9 ва CYP3A4 полиморфизмлари, аллел ва генотиплар тақсимланиши хусусиятлари аниқланди ва олинган натижалар Ўзбекистон генофонд маълумотларига ўз ҳиссасини кўшади. СВГС ўрта фаолли полиморфизмларнинг TNF- α , CTLA-4, CYP2C9 ва CYP3A4 юқори даражасига хос бўлган, СВГС оғир фаолликдаги полиморфизмнинг энг кўп учраши CYP2E1 мутант аллелда кузатилиб, жигар циррозида эса CYP1A2 бўлиб, улар патогенезини ва касалликни кечишини ифодаловчи маркер сифатида хизмат қилиши мумкин.

2. Жигар функционал фаолияти кўрсаткичлари ўзгаришининг юқорилиги 1в вирус генотиби ташувчиларда ифодаланиб, СВГС ўрта фаол даражасидаги беморларда устунлиги аниқланди. СВГС оғир фаол бўлган беморларда 3а генотип устун бўлиб, ушбу беморларда цитоллиз ва холестаза синдромларининг юқори кўрсаткичлари кузатилди.

3. СВГС ўрта фаоллигида TNF- α (A/A) полиморф вариант цитоллиз ва холестазининг юқори кўрсаткичлари билан ассоцияланади, ва ушбу касаллик патогенезида ўрганилган полиморфизм ўрнини кўрсатади.

4. CTLA-4 генининг юқори сезувчанлиги ва CTLA-4+CYP2C9*2, CTLA-4+ CYP2E1, CTLA-4+ CYP1A2 генлараро бирикмалар ўрта фаолликдаги СВГС учраши касалликнинг жадаллашиши юқори ва паст хавфлари стратификация прогностик критерийси бўла олишини белгилаб беради.

5. Изофермент CYP2E1ни мутант аллел ва G/G генотиби СВГС оғир фаолли ривожланишида прогностик омил сифатида хизмат қилиб, токсинлар ва ксенобиотикларни юқори метаболизми, оксидант стрессини кучайиши ва патологик жараённи оғирлашишига олиб келиши мумкин.

6. С вируси билан ассоциялашган жигар циррози беморларида CYP2E1 (G/G) ва CYP1A2 (C/C) генотиплар полиморфизми ҳамда жигарнинг функционал ҳолатининг кўрсаткичлари манфий корреляцион ўзаро боғлиқлиги ($p < 0,05$) аниқланган, бу полиморфизм жигарда яллиғланиш ва фиброз ҳосил бўлишини стимуляциясида муҳим аҳамият касб этади.

**РАЗОВЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017. ТВ.30.03 ПРИ
ТАШКЕНТСКОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ ПО
ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК**

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

АЗИМОВА СЕВАРА БАХОДИРОВА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА
И ИХ РОЛЬ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ
НСV-ИНФЕКЦИИ В УЗБЕКСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ**

**14.00.16 – нормальная и патологическая физиология
14.00.05 - внутренние болезни**

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

ТАШКЕНТ – 2018

Тема докторской диссертации (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за № B2017.2.DSc/Tib163.

Докторская диссертация выполнена в Ташкентской медицинской академии.

Автореферат диссертации на двух языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.tma.uz) и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

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

Закирходжаев Шерзод Яъхяевич
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Рустамова Мамалакат Тулабаевна**
доктор медицинских наук, профессор

Саидов Саидамир Аброрович
доктор медицинских наук

Халиков Пулат Хужамкулович
доктор медицинских наук, профессор

Ведущая организация: **ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), (Россия).**

Защита диссертации состоится «__» _____ 2018 г. в __ ч. на заседании разового Научного совета DSc 27.06.2017.Tib.30.03 при Ташкентской медицинской академии (Адрес: 100109, г. Ташкент, ул. Фараби, 2. Зал заседания 1-го учебного корпуса Ташкентской медицинской академии. Тел/факс: (+99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

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

Автореферат диссертации разослан «__» _____ 2018 года
(реестр протокола рассылки №__ от «__» _____ 2018 года.).

Г. И. Шайхова

Председатель разового научного совета по присуждению учёных степеней, д.м.н., профессор

Н. Ж. Эрматов

Ученый секретарь разового научного совета по присуждению учёных степеней, д.м.н., доцент

Б.У. Ирискулов

Председатель разового научного семинара при научном совете по присуждению учёных степеней, д.м.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация докторской диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. Заболеваемость вирусным гепатитом в мире растет с каждым днем. Согласно данным ВОЗ, в настоящее время, в мире насчитывается более 170 млн. больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС). В структуре хронических заболеваний печени вирусный гепатит С занимает лидирующее положение. Наиболее высокая зараженность отмечается в странах Восточной Европы, Азии, Африки, Южной Америки. Инфицированность данным заболеванием в Узбекистане составляет 6,2%¹. Широкая распространенность HCV-инфекции, высокая частота развития хронических форм заболевания, отсутствие специфической профилактики обуславливают необходимость более глубокого и детального изучения патогенеза заболевания. Одним из наиболее перспективных направлений в современной молекулярной патофизиологии является поиск полиморфных генов-маркеров и выявление их ассоциации в развитии заболеваний. Ограниченность данных по узбекской популяции определили актуальность и необходимость проведения работы по выявлению аллельных вариантов генов-кандидатов, ассоциированных с особенностями течения, и прогнозу заболеваемости хроническим вирусным гепатитом С в Узбекистане.

В мире проводится целый ряд научных исследований, направленных на изучение особенностей патогенеза HCV-инфекции и их роли в прогнозировании течения среди различных слоев населения с целью достижения высокой эффективности диагностики и профилактических мероприятий; изучение роли и значения молекулярно-генетических особенностей патогенеза хронической HCV-инфекции в популяции; обоснование ответных реакций организма на хроническую HCV-инфекцию при прогнозировании течения заболевания; определение механизмов влияния внешних факторов на изменение пролиферации, апоптоза, функциональной активности; оценку встречаемости генов TNF-а, CTLA-4, а также CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP3A4 цитохрома P450 при хроническом вирусном гепатите С и циррозе печени и обоснованию их связи с биохимическими маркерами у пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени; разработку методов идентификации, ассоциированных с генетическим полиморфизмом при хроническом гепатите; изучение патогенетических аспектов хронического гепатита С и цирроза цирроза и значения полиморфизма генов цитохрома P450 в их механизме; прогрессирования воспалительного процесса и межгенных взаимосвязей у пациентов с хроническим гепатитом С и циррозом печени. Тщательное изучение общих и специфических особенностей молекулярных механизмов хронического гепатита позволяет осуществить разработку объективных критериев оценки активности ферментов пролиферативной и антиоксидантной систем в развитии хронического гепатита; усовершенствовать методы консервативного лечения хронического гепатита;

¹ По данным ВОЗ 2014 г.

включить в комплексное лечение хронического гепатита иммунокорректоры широкого спектра; оптимизировать тактику лечения, направленного на уменьшение осложнений и повышение эффективности лечения у пациентов с хроническим гепатитом, что имеет важное практическое значение.

На сегодня решён ряд важных задач по предотвращению хронического гепатита в области медицинской практики. В целях уменьшения частоты и профилактики гепатитов А и В были разработаны и внедрены вакцины, что привело к повышению эффективности диагностики и лечения больных хроническим гепатитом и циррозом печени. Клиническая практика показала, что в результате применения современных методов раннего выявления, диагностики и лечения хронического гепатита и цирроза печени осложнения заболевания были снижены с 25% до 12%. В этой связи, стратегия пяти приоритетов развития Республики Узбекистан на 2017-2021 годы, направленная на «... повышение качества оказания медицинской помощи на новый уровень, в том числе за счет расширения использования современных технологий в диагностике и лечении инфекционного гепатита различной степени»² имеет решающее значение для улучшения качества жизни среди различных слоев населения.

Результаты данной диссертационной работы в определенной степени послужат выполнению задач, обозначенных в Стратегическом плане действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан на 2017-2021 гг., Указе Президента Республики Узбекистан от 28 ноября 2011 г. № ПП-1652 «О мерах по дальнейшему реформированию системы здравоохранения», PQ-3071 от 20 июня 2017 г. «О мерах по дальнейшему развитию специализированной медицинской помощи населению Республики Узбекистан» и другим нормативным и правовым актам, касающимся этой деятельности.

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

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации³.

Научные исследования по изучению аспектов патогенеза и мер, направленных на оптимизацию диагностики и профилактики заболеваний печени, проводятся на базе ведущих мировых центров и высших учебных заведений, в том числе Research Center for Liver Diseases; Infectious Diseases Society of America; American Association for the Study of Liver Diseases; National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases; University of California; University of Oklahoma; National Institute of Diabetes and Digestive

² Стратегический план действия по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан на 2017-2021 гг.

³ www.universityofcalifornia.edu, keck.usc.edu, www.ou.edu, www.niddk.nih.gov, www.cu.edu.eg, www.unige.it, www.utu.fi, www.vub.ac.be, www.unime.it, www.ucdenver.edu, www.sgpqi.ac.in, www.ucl.ac.uk, www.otago.ac.nz, www.usask.ca, www.ibis-sevilla.es, isim.ku.dk, www.it-chiba.ac.jp, en.uniroma1.it, www.gla.ac.uk, www.ntuh.gov.tw, www.tzuchi.com.tw, www.gsia.sums.ac.ir, www.unibe.ch, http://www.pitt.edu, www.tma.uz и другие.

and Kidney Diseases; University of Colorado Denver (США), Institute for Liver and Digestive Health, University College London (Великобритания), European Association for the Study of the Liver (Германия); International Liver Cancer Association (Бельгия); Instituto de Biomedicina de Sevilla (Испания), University of Genoa (Италия), University of Messina (Италия), Institute of Gastroenterology, Nutrition and Liver Diseases (Израиль); University of Saskatchewan (Канада), Turku University (Турция), University Otago (Новая Зеландия), Vrije Universiteit Brussel (Белгия), Cairo University (Египет), Sanjay Gandhi Postgraduate Institute of Medical Sciences (Индия), University of Medical Sciences (Иран), Department of Internal Medicine (Тайвань), Ташкентская медицинская академия (Узбекистан).

Благодаря исследовательским работам, направленным на предупреждение развития заболеваний печени, разработку эффективных методов диагностики и лечения данного заболевания, получены научные результаты, согласно которым выявлены механизмы и причины распространения вирусного гепатита среди различных слоев населения, современные методы его профилактики (Division of Gastroenterology and Hepatology, University of Colorado Health Sciences Center; Department of Medicine, University of Florida, Department of Clinical Medicine University of California, (США)); разработаны новые генетические маркеры клинического течения на основе полиморфизма генов при хроническом гепатите С (Department of Internal Medicine (Тайвань)); University of Medical Sciences (Иран); Instituto de Biomedicina de Sevilla (Испания); доказана роль полимеразной реакции в противовирусном лечении хронического гепатита С и ее осложнений после трансплантации почек (University of Genoa (Италия)); доказано, что в результате нарушения функции поджелудочной железы меняется течение гепатита С, экспрессия цитокинов, понижается уровень инсулина (University Otago (Новая Зеландия)); разработана система противовирусного лечения, направленная на предупреждение эпидемии хронического вирусного гепатита С (University of Saskatchewan (Канада)); выявлено, что в результате регуляции обмена протеин-конвертаза субтилизин кексин 9 ингибитора липидов раскрыт механизм предупреждения развития вирусного гепатита С (University of Colorado Denver (США)); выявлено, что в результате ограничения спиртных напитков предупреждается распространение гепатита С (University of Oklahoma (США)); доказано, что у больных вирусным гепатитом С снижается зрение и отмечается изменение склеры (Turku University, (Турция)), доказано, что загрязнение окружающей среды, в результате повсеместного использования пестицидов в сельском хозяйстве, создаёт условия для развития различных видов гепатитов, в том числе и гепатита С (Первый Московский медицинский государственный университет, Россия); раскрыты патогенетические механизмы хронического гепатита С на основании учета молекулярно-генетических особенностей патогенеза хронической HCV-инфекции в узбекской популяции (Ташкентская медицинская академия, (Узбекистан)).

Для достижения высокой эффективности диагностики и лечения на основе молекулярно-генетических аспектов патогенеза хронической HCV-инфекции среди различных этнических групп населения в мире продолжают исследования по приоритетным направлениям, в том числе: разработка молекулярно-генетических механизмов патогенеза хронической HCV-инфекции; разработка оптимальной диагностической модели на основании молекулярно-генетических особенностей патогенеза хронической HCV-инфекции для снижения последующих осложнений; обоснование этиопатогенетической роли экологических факторов в развитии заболевания; разработка методов оценки статуса иммуноцитокина при хроническом гепатите; выявление новых генетических маркеров заболевания печени; разработка современных компьютерных технологий в диагностике заболевания; разработка и внедрение патогенетически обоснованных подходов к противовирусной терапии.

Степень изученности проблемы. На сегодняшний день в мире хронический вирусный гепатит С представляет собой медленную инфекцию, исходом которой является развитие латентного хронического воспаления печени с дальнейшим прогрессированием в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному (Bosch F. X. et al., 2005). Выявлено, что при заражении острой HCV-инфекцией в 85% случаев наступает хронизация процесса, и лишь у 15% инфицированных HCV-инфекцией возможно спонтанное выздоровление (Berkes J. et al., 2005; Онищенко Г. Г. и соавт. 2003; Игнатова Т. М., 2005; Abbas Z. et al., 2005). В настоящее время всё больше исследований направлено на изучение генетических основ и их влияние на патогенез заболеваний, в частности хронического вирусного гепатита. Существует достаточное количество сведений, свидетельствующих о значении провоспалительного цитокина (TNF- α) и антигена цитотоксических Т-лимфоцитов (CTLA-4) в генезе вирусных заболеваний печени (Alizadeh M. A. et al., 2006; Алленов М. Н. и соавт., 2006; Лазарева А. С. и соавт., 2006; Yu M. L. et al., 2003; Goyal A. et al., 2004). Исследования, посвященные выявлению наличия ассоциации полиморфизма 308G>A гена TNF- α с развитием ХВГС и выраженным фиброзом или циррозом печени, достаточно противоречивы. Одни работы свидетельствуют о влиянии полиморфизма данного цитокина на развитие хронического заболевания печени, в то же время другие авторы опровергают данное утверждение (Tokushige K., 2003; Yu M. L., 2003). В настоящее время активно исследуют влияние CTLA-4 на различные патологии. Известно, что ген CTLA-4 участвует в регуляции активации Т-лимфоцитов, и соответственно, в формировании аутоиммунных процессов, обусловленных действием этих клеток (Cough S. C. et al., 2005; Hodi F. S. 2007; Homann D., 2006). Выявлено, что прогрессирование заболевания связано не с вирусологическими факторами, а в большей степени с особенностями макроорганизма (Алиева В. Ш. и соавт., 2010; Chistiakov D. A. et al., 2006; Jones G. et al., 2006; Yee L. J. et al., 2003). Получены данные исследований, проведенные в Узбекистане, о том, что полиморфизм генов IFNL3 и IFNL4 могут быть использованы в

качестве генетических маркеров для прогноза исхода противовирусной терапии при вирусном гепатите С (Секлер Д.Э. и соавт, 2014).

Данные литературы свидетельствуют о том, что мутантные варианты генов цитохромов P450 могут оказывать влияние на частоту возникновения патологий (Булгакова И. В. и соавт., 2013; Середина Т. А. и соавт., 2008; Pilotto A. et al., 2007; Ахмадишина Л. З., 2007). В практике наибольшее значение имеет полиморфизм генов, ответственных за синтез ферментов, катализирующих метаболические процессы, например процессы окисления с участием системы цитохрома P450 (Лисица А. В., 2007; Пустыльник В. О. и соавт., 2008). В литературе имеются сведения о влиянии генов изоферментов цитохрома P450, кодирующих ферменты метаболизма ксенобиотиков, на тяжесть течения и эффективность лечения хронического заболевания печени, обусловленного вирусной инфекцией гепатита С (Коротчаева Ю. В., 2008; Ahmad F. et al., 2011; Петров В. И. и соавт., 2010; Gochee P.A. et al., 2003). Одними из значимых изоферментов цитохрома P450 по содержанию в печени и вкладу в метаболизм лекарственных средств, являются такие гены, как CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9 и CYP3A4. В связи с этим, изучение роли генетических факторов, в частности CTLA-4, TNF- α и изоферментов цитохрома P450, в разработке методов прогнозирования исходов патологии печени приобретает большое практическое значение.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного или научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация.

Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ Ташкентской медицинской академии «Разработка современных методов диагностики, лечения и профилактики» (01.1100158) и в рамках реализации гранта ФЁСС-1 «Сравнительный анализ полиморфизма генов цитохрома P-450 при хронических гепатитах» (2009-2011г.г.).

Цель исследования: оценка молекулярных механизмов клинического течения хронического вирусного гепатита С с учетом прогностической значимости полиморфизма цитокинов и генов, ответственных за систему биотрансформации ксенобиотиков, у представителей узбекской популяции.

Задачи исследования:

изучить частоту встречаемости аллелей и распределения генотипов TNF- α , CTLA-4, а также CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP3A4 цитохрома P450 у больных хроническим вирусным гепатитом С и циррозом печени;

выявить ассоциативную параллель показателей функционального состояния печени с генетическим полиморфизмом TNF- α , CTLA-4, CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9 и CYP3A4 цитохрома P450 у больных хроническим гепатитом и циррозом печени и её роль в патогенезе заболевания;

изучить патогенетические аспекты хронического гепатита С и цирроза печени на основе прогностической значимости полиморфизма цитокинов и генов, ответственных за биотрансформацию ксенобиотиков;

определить взаимосвязь между интенсивностью воспалительного процесса в печени и межгенным сочетанием у больных хроническим гепатитом С и циррозом печени.

Объектом исследования явились больные хроническим вирусным гепатитом С и циррозом печени, а также здоровые доноры, у которых были получены образцы ДНК. По результатам клинико-лабораторных исследований в основную группу было включено 107 пациентов в возрасте от 22 до 81 лет, находящихся на диспансерном учете НИИ Вирусологии МЗРУз. Группу контроля составили 81 человек, без хронической патологии печени.

Предметом исследования являлась венозная кровь и сыворотка для количественного определения основных показателей клинико-биохимического, цитокинового и генетического статуса.

Методы исследования: В диссертации использованы такие исследовательские методы, как клинические, биохимические, генетические, иммунологические, инструментальные и статистические методы исследования.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые проведено комплексное исследование генетического полиморфизма 308G>A TNF- α , 49A>G CTLA-4, а также 164A>C CYP1A2, 1295G>C CYP2E1, 430C>T CYP2C9*2, 1075A>C CYP2C9*3 и 392A>G CYP3A4 цитохрома P450 у больных хроническим гепатитом С и циррозом печени в Узбекистане и выявлена их роль в патогенезе заболевания;

впервые проведен анализ распределения аллелей и генотипов цитокинов и изоферментов цитохрома P450 при ХВГС у лиц узбекской национальности и показаны характерные отличия по сравнению со здоровыми лицами;

впервые проанализирована взаимосвязь полиморфизма изучаемых генов с показателями синдромов цитолиза, холестаза и мезенхимального воспаления, характеризующими тяжесть течения хронического гепатита С.

впервые показана ассоциация полиморфных вариантов цитокинов и генов, ответственных за биотрансформацию ксенобиотиков с прогрессированием ХВГС в цирроз печени, что может быть использовано в разработке прогностических критериев для выделения группы риска инфицированных лиц к прогрессированию течения ХВГС. Определение генетического профиля, позволяющее прогнозировать течение ХВГС и оценить риск формирования цирроза печени, имеет важное значение для выбора тактики ведения больных. Выявленные ассоциации расширяют понимание патогенетических механизмов ХВГС.

Практические результаты исследования:

Определена прогностическая значимость полиморфизма генов TNF- α , CTLA-4, CYP1A2, CYP2E1 в формировании неблагоприятных исходов клинического течения ХВГС.

Носительство мутантного аллеля «А» и генотипа А/А TNF- α позволяет выдвинуть предположение о патогенетической роли данного гена в развитии ХВГС умеренной степени активности и возможности их использования в

качестве дополнительных критериев фиброгенеза при индивидуальной оценке течения заболевания и персонализированного лечения.

Высокая чувствительность полиморфизма гена CTLA-4 и его межгенное сочетание является благоприятным маркером при диагностике и косвенной оценке степени фиброза печени при ХВГС, что поможет выделить группы риска для дальнейшей коррекции лечения, направленного на снижение повреждения паренхимы печени, тем самым увеличивая продолжительность и улучшая качество жизни пациентов.

Носительство мутантного аллеля «G» и генотипа C/G гена CYP2E1 может быть использовано в качестве фактора высокого риска патологического фиброгенеза и прогрессирования фиброза печени, тем самым позволяет предопределить прогноз заболевания и служить основой для разработки антифиброзной стратегии в терапии ХВГС.

Достоверность результатов исследования подтверждена методологической корректностью проведенных исследований, достаточным количеством больных, современностью использованных методов, использование взаимодополняющих клинических, биохимических, молекулярно-генетических и статистических методов исследования; использование различных методов эффективного прогнозирования молекулярно-генетических аспектов патогенеза и течения хронической HCV-инфекции в узбекской популяции, оценка особенностей течения заболевания, заключение и полученные результаты были подтверждены полномочными структурами.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов работы заключается в изучении патогенетических механизмов течения ХВГС у лиц узбекской национальности. Выявленные молекулярно-генетические маркеры, ассоциированные с риском развития и клиническим течением ХВГС и цирроза печени, позволят более детально проводить периодические медицинские осмотры в целях выявления лиц предрасположенных к прогрессированию течения хронического гепатита С вплоть до исхода в цирроз печени. В дальнейшем это позволит разработать превентивные терапевтические методы, позволяющие предотвратить развитие тяжелых форм заболевания, снизить активность воспалительного процесса, уменьшить гибель гепатоцитов и их замещение фиброзными компонентами, а также определять необходимость применения адаптированной терапии у конкретных больных ХВГС. Патогенетически обосновано использование показателей полиморфизма генов в качестве критериев прогнозирования течения хронического вирусного гепатита С. Выявленные особенности патогенеза хронической HCV-инфекции могут служить основой для совершенствования и создания новых методов диагностики, а также патогенетически обоснованных разработок персонализированных методов лечения.

Выявление аллельных вариантов полиморфных маркеров TNF- α , CTLA-4, а также CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4 цитохрома P450 создает базу

для оптимизации диагностических методов прогнозирования течения хронического гепатита, что позволит выбрать правильную и экономически выгодную тактику лечения больных и улучшить качество жизни больных.

Предложена модель прогностического алгоритма течения ХВГС с учетом роли возможных факторов, определяющих молекулярно-патогенетические механизмы течения ХВГС. Проведенные исследования в этой области позволят не только лучше понять механизмы патогенеза, но и выделить группу лиц высокого риска прогрессирования заболевания.

Внедрение результатов исследования. На основании научных результатов по изучению молекулярно-генетических особенностей патогенеза хронической HCV-инфекции в узбекской популяции:

разработаны и внедрены в практическое здравоохранение методические рекомендации «Роль генетических факторов в патогенезе развития хронического вирусного гепатита С в узбекской популяции» (Заключение 8н-д/55 от 15 ноября 2017 года Министерства здравоохранения Республики Узбекистан). Полученные результаты дают возможность диагностики различного течения вирусного гепатита С у лиц узбекской национальности и выявлению патогенетических механизмов на основе взаимосвязи биохимических маркеров с полиморфизмом генов TNF- α , CTLA-4, CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4.

Полученные результаты по изучению молекулярно-генетических аспектов патогенеза хронической HCV-инфекции в узбекской популяции внедрены в практическое здравоохранение, в том числе, научно-исследовательскую лабораторию Ташкентской медицинской академии, 2-клинику Ташкентской медицинской академии и клинику научно-исследовательского института Гематологии и переливания крови (Заключение 8н-з/55 от 15 декабря 2017 года Министерства здравоохранения Республики Узбекистан). Внедрение полученных результатов на основании молекулярно-генетических аспектов патогенеза хронической HCV-инфекции в узбекской популяции способствуют индивидуальному подходу к терапии заболевания, улучшению качества жизни больного, снижению потребности в медикаментах и снижению государственных бюджетных средств на 47,2% за счет предупреждения неблагоприятных исходов заболевания.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 2 международных и 4 республиканских научно-практических конференциях

Публикация результатов исследования.

По теме диссертации опубликованы 30 научных работ. Среди них 18 журнальных статей: 4 - зарубежные, 10 – республиканские, рекомендованных ВАК РУз для публикации научных результатов докторских диссертаций, и 10 тезисов. Результаты работы также включены в методические рекомендации для врачей.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 200 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, соответствие исследования приоритетным направлениям науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Современные аспекты патогенеза хронического вирусного гепатита С**» представлен обзор литературы, где приводятся данные об эпидемиологической ситуации и особенностях клинического течения ХВГС. Изложена актуальность проблемы ХВГС, отражена медико-социальная значимость изучаемого вопроса, освещены патогенетические аспекты развития ХВГС. Также проанализированы данные о роли генетического полиморфизма изучаемых генов в развитии патологии печени.

Во второй главе диссертации «**Материал и методы исследования**» представлена характеристика объекта исследования, методы и методологические подходы, обеспечивающие решение поставленных задач.

Диагноз хронического вирусного гепатита С и цирроза печени устанавливались на основании комплекса данных клинико-лабораторного и инструментального обследования. Критериями для включения в исследование служили:

1) клинико-биохимическая верификация диагноза с определением степени активности показателей (анамнез, жалобы, определение АЛТ, АСТ, коэффициента де Ритиса, общего билирубина, тимоловой пробы, альбумина, гаммаглутаматтрансферазы, проведение ультразвукового исследования);

2) этиологическая верификация диагноза проводилась качественным определением в крови у пациентов РНК HCV (Hepatitis C virus) с генотипированием вируса С методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в приборе RotorGene 6000 (набор фирмы «Интерлабсервис», Россия).

Содержание биохимических показателей (АСТ, АЛТ, общего билирубина, щелочной фосфатазы, альбумина, ГГТ) определяли на биохимическом полуавтоматическом анализаторе ВА 88 (Mindray, Китай) с использованием тест-систем «Human». Тимоловая проба проведена с использованием набора реактивов ООО «Агат-Мед» на спектрофотометре согласно инструкции производителя. Коэффициент де Ритиса вычислялся соотношением АСТ/АЛТ.

Молекулярно-генетическое обследование биоматериалов (ДНК) выполняли на базе отдела молекулярной медицины и клеточных технологий НИИ гематологии и переливания крови МЗ РУз (руководитель, Заслуженный деятель наук РУз, профессор Каримов Х.Я.).

Молекулярно-генетическая часть работы состояла из следующих этапов: забор крови; выделение ДНК из лимфоцитов периферической крови;

проведение ПЦР; проведение электрофореза и визуализация результатов.

Анализ генетического полиморфизма осуществлялся методом полимеразной цепной реакции синтеза ДНК с использованием локус специфических олигонуклеотидных праймеров эндонуклеаз и Tag-полимеразы. Оптимизацию работы систем олигопраймеров проводили на программируемых термоциклерах фирмы «Applied Biosystems» (США) и «Corbett Research», (Quagen, Германия). Опытным путем был определен состав реакционного буфера и оптимизированы условия проведения ПЦР. Сбор остальных компонентов, включая реагенты для выделения нуклеиновых кислот, был приобретен у ведущих мировых производителей («Serva», «Sigma» т.д.) и России (ООО Синтол, ООО Интерлабсервис, НПФ «Литех», ДНК-технология, Сибэнзим и т.д.), работающих в области молекулярной биологии. Детекцию продуктов амплификации и рестрикции проводили методом электрофореза в 2% агарозном геле.

Оценку полученных результатов осуществляли с использованием пакета статистических программ «OpenEpi 2009, Version 2.3». Отклонения распределений генотипов изученных полиморфизмов ДНК от канонического распределения Харди-Вайнберга высчитывали с помощью компьютерной программы анализа генетических данных «GenePop» («Genetics of Population») (<http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop>). С целью обнаружения связи между исследованными показателями проводили корреляционный анализ путем вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r) по ссылке <http://medstatistic.ru/calculators/calcspirmen.html> ($p < 0,05$).

Частоту вариантов аллелей и генотипов (f) вычисляли по формуле:

$$f = \frac{n}{2N} \text{ и } f = \frac{n}{N}$$

где n – встречаемость варианта (аллеля или генотипа), N – объем выборки.

Оценку частоты аллелей рассчитывали по формуле:

$$p = \frac{2N_1 + N_2}{2N}, \quad q = \frac{2N_3 + N_2}{2N}$$

где p – частота аллеля A , q – частота аллеля a , N – общий объем выборки $N = N_1 + N_2 + N_3$, где N_1, N_2, N_3 – численности особей с генотипами.

Для расчета коэффициента «соотношения шансов» (OR – odds ratio) с 95% доверительным интервалом (CI – confidence interval), χ^2 и p -значения использовался пакет статистических программ «OpenEpi 2009, Version 2.3».

Об ассоциации аллелей или генотипов с исходом заболевания судили по величине отношения шансов (OR). OR рассчитывали по формуле: $OR = ad/bc$; где a - частота анализируемого аллеля у больных; b - частота анализируемого аллеля в контрольной выборке; c и d - суммарная частота остальных аллелей у больных и в контроле соответственно. Величина $OR=1$ указывает на отсутствие ассоциации, $OR > 1$ - рассматривали как положительную ассоциацию («фактор повышенного риска») и $OR < 1$ - как отрицательную ассоциацию («фактор пониженного риска»). Доверительный интервалом (CI) был принят 5% уровень статистической значимости.

Относительное отклонение ожидаемой гетерозиготности от наблюдаемой (D) рассчитывали по формуле по М. Nei (1987):

$$D = \frac{h_{obs} - h_{exp}}{h_{exp}}$$

где h_{obs} и h_{exp} – наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность, соответственно.

Прогностическая эффективность (AUC-классификатор) изученных нами генетических маркеров определялась стандартной формулой:

$$AUC = \frac{Se + Sp}{2}$$

где Se и Sp – чувствительность и специфичность генетического маркера, соответственно. Если показатель $AUC < 0,5$, то маркер – случайный классификатор; $AUC = 0,5-0,6$ – плохой; $AUC = 0,6-0,7$ – средний; $AUC = 0,7-0,8$ – хороший; $AUC > 0,8$ – отличный классификатор.

В третьей главе диссертации представлена «**Клиническая характеристика больных хроническим вирусным гепатитом С**». Клиническо-лабораторное обследование пациентов включало оценку жалоб и анамнестических данных, физикальный осмотр, а также исследование биохимических показателей крови, характеризующих функциональное состояние печени.

Среди обследованных больных было 58 лиц женского пола (54,2%) и 49 лиц мужского пола (45,8%).

Среди клинических проявлений поражения печени наиболее частыми симптомами были астенический (86,9%), который проявлялся усталостью, быстрой утомляемостью, раздражительностью. Также наблюдались диспептический (73,8%) и болевой (60,7%) симптомы, гепатомегалия (88,8%), реже выявлялись спленомегалия (41,1%), асцит (34,6%), кожный зуд (26,2%).

Среди обследованных больных были определены генотипы HCV. Анализ распространённости показал, что доминировал 1в генотип, который составил 72,9%. Наши исследования показали, что генотип 3а составил 23,4% больных. Генотип 2 встречался реже других выявленных генотипов (3,7%) (рис. 1).

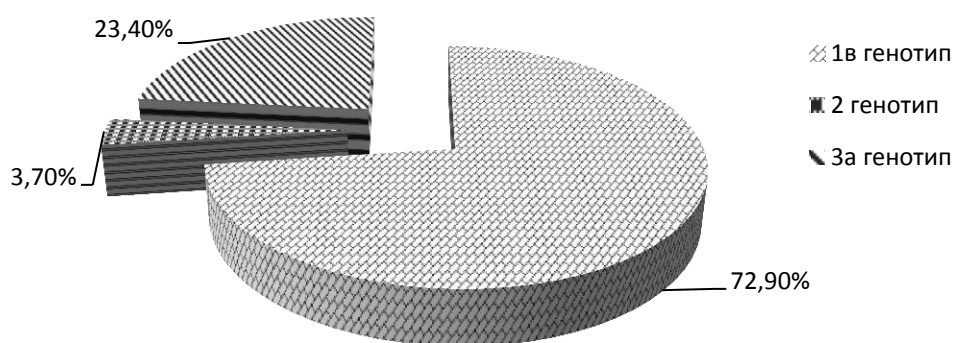


Рис.1. Распределение генотипов HCV

Молекулярные эпидемиологические исследования показали заметные различия в распределении генотипов вируса С. В ходе работы была проанализирована взаимосвязь показателей функционального состояния печени с генотипами вируса С у больных имеющих подгрупп: изучена

зависимость динамики биохимических показателей от разновидности генотипа вируса гепатита С, были определены особенности клинического течения и ассоциации генотипа вируса С с биохимическими показателями при различной тяжести течения ХВГС. Основные клинические проявления сопровождались отчетливо выраженными холестатическим, цитолитическим и другими характерными синдромами.

В ходе работы была проанализирована взаимосвязь показателей функционального состояния печени с генотипами вируса С у больных имеющих подгрупп. Так, в первой подгруппе более выраженные изменения биохимических показателей, в частности АСТ, АЛТ, билирубина выявлены у носителей 1в генотипа вируса гепатита С. В группе больных с переходом в цирроз по клинико-биохимическим показателям выделялись носители с 3а генотипом. У пациентов с циррозом печени биохимические показатели были выше у лиц, у которых был выявлен 2 генотип.

Обобщая изложенные данные, можно заключить, что молекулярные эпидемиологические исследования показали заметные различия в распределении генотипов вируса. При этом, среди больных хронической патологией печени преобладал генотип 1в вируса С. Кроме этого, были определены особенности клинического течения и ассоциации генотипа вируса С с биохимическими показателями при различной тяжести течения ХВГС. Основные клинические проявления сопровождались отчетливо выраженными холестатическим, цитолитическим синдромами.

В четвертой главе диссертации рассмотрены **«Особенности распределения частоты аллелей и генотипов генов CTLA-4, TNF- α , CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4 и CYP1A2 у больных хроническим вирусным гепатитом С»**. По результатам нашего исследования, генетическими факторами, играющими роль в развитии умеренно активного ХВГС, являются аллель А полиморфного варианта гена TNF- α (G308A) – у носителей как гетеро-, так и гомозиготного генотипа; аллель G и генотип G/G полиморфного варианта гена CYP2E1 (C9896G); аллель С и генотип А/С полиморфного варианта гена CYP2C9*3; аллель G и генотип А/G полиморфного варианта гена CYP3A4 (A392G); аллель С и генотип Т/С полиморфного варианта гена CYP1A2 (A164C).

С активизацией ХВГС оказалось связанным снижение частоты минорного аллеля полиморфного варианта генов TNF- α (G308A), CYP2C9*2, CYP2C9*3, а также в определенной степени CTLA-4 (A49G), CYP3A4 (A392G) и CYP1A2 (164A/C). Носительство минорного аллеля и генотипа С/G полиморфного гена CYP2E1 (C9896G) в нашем исследовании было связано с увеличением активности патологического процесса.

Наибольший уровень полиморфизма в группе ХВГС умеренной степенью активности был характерен для гена CTLA-4 (A/G). При этом наименьший уровень полиморфизма был выявлен у гена CYP3A4 (A/G) при циррозе печени.

Таким образом, полученные результаты показали существование разницы в частоте встречаемости аллельных вариантов изученных

полиморфизмов у больных с благоприятным и неблагоприятным течением ХВГС и различной степенью активности в печени патологического процесса, обусловленного вирусной инфекцией С. Данный факт дал основание для утверждения того, что нарушение регуляции выработки изученных нами цитокинов и ферментов метаболизма и биотрансформации является фактором, влияющим на патогенез ХВГС и течение заболевания.

Анализ результатов молекулярно-генетического исследования и патофизиологических основ инициации и активизации воспалительных и фиброзных процессов в печени позволил глубже понять патогенетические механизмы развития ХВГС. TNF- α относится к группе провоспалительных цитокинов, стимулирующих и регулирующих интенсивность воспаления и иммунного ответа. Распределение генотипов полиморфизма гена TNF- α , характеризовалось высокой частотой мутантного генотипа А/А и наименьшей частотой дикого генотипа G/G в первой подгруппе среди исследуемых групп. Согласно результатам нашего исследования носительство мутантного аллеля А полиморфного гена TNF- α , ассоциировано с умеренно-активным течением ХВГС и обуславливает интенсивность воспаления и фиброзообразования в печени (табл.1).

Таблица 1.

Распределение генотипов полиморфизма изучаемых маркеров у пациентов с ХВГС, циррозом печени и здоровых доноров

Исследуемый маркер	генотипы	Основная группа		1 подгруппа		2 подгруппа		3 подгруппа		Контрольная группа	
		п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
TNF- α	G/G	81	75,7	23	69,7	28	75,7	30	81,1	73	90,1
	G/A	18	16,8	6	18,2	7	18,9	5	13,5	6	7,4
	A/A	8	7,5	4	12,1	2	5,4	2	5,4	2	2,5
CTLA-4	A/A	27	25,2	4	12,1	11	29,7	12	32,4	26	32,1
	A/G	60	56,1	22	66,7	20	54,1	18	48,7	37	45,7
	G/G	20	18,7	7	21,2	6	16,2	7	18,9	18	22,2
CYP2E1	C/C	78	72,9	24	72,7	24	64,9	30	81,1	70	86,4
	C/G	25	23,4	7	21,2	12	32,4	6	16,2	11	13,6
	G/G	4	3,7	2	6,1	1	2,7	1	2,7	0,0	0
CYP2C9*2	C/C	79	73,8	20	60,6	31	83,8	28	75,7	61	75,3
	C/T	28	26,2	13	39,4	6	16,2	9	24,3	20	24,7
	T/T	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CYP2C9*3	A/A	86	80,4	24	72,7	33	89,2	229	78,4	71	87,7
	A/C	21	19,6	9	27,3	4	10,8	8	21,6	10	12,3
	C/C	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CYP3A4	A/A	93	86,9	27	81,8	32	86,5	34	91,9	77	95,1
	A/G	14	13,1	6	18,2	5	13,5	3	8,1	4	4,9
	G/G	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
CYP1A2	A/A	80	74,8	23	69,7	30	81,1	27	73,0	71	87,7
	A/C	25	23,3	10	30,3	7	18,9	8	21,6	10	12,3
	C/C	2	1,9	0,0	0,0	0,0	0,0	2	5,4	0,0	0,0

Скорость развития прогрессирования структурно-функциональных нарушений печени при ХВГС в большой степени зависит от иммунного статуса пациента. Носительство мутантного аллеля G полиморфного гена

CTLA-4 связано со снижением функциональной активности белка, а функциональная реализация мутантного аллеля «G» характеризуется снижением контроля над пролиферацией Т-клеток. При наличии генетического дефекта гена *CTLA-4* нарушение функционирования этого рецептора ведет к нерегулируемому возбуждению CD4⁺ Т-лимфоцитов и развитию аутоиммунного процесса. Итогом снижения функциональной активности *CTLA-4* в печени является массивная инфильтрация пораженного органа лимфоцитами, интенсификация воспаления, гибель гепатоцитов и замещение их фиброзной тканью. Распределение мутантного генотипа *CTLA-4* было наибольшим в подгруппе больных с ХВГС умеренной активности, однако данный полиморфизм был аналогичен данным контрольной группы.

Изучение распространения аллелей и генотипов гена *CYP2E1* показало, что гомозиготный генотип C/C был наиболее распространен в третьей подгруппе, а гетерозиготный генотип C/G был выше во второй подгруппе по сравнению с другими подгруппами. Наибольшая частота мутантного аллеля G и генотипа G/G полиморфного гена *CYP2E1* (C9896G), связанная с высокой скоростью метаболизма ксенобиотиков, в нашем исследовании наблюдалась у больных ХВГС с умеренной степенью активности. Этот факт подтверждается данными других исследователей и показывает значимую роль минорного аллеля G в усилении реакций биотрансформации, сопровождающихся повышенным образованием в печени продуктов ПОЛ, активацией звездчатых клеток и повышением продукции коллагена. Интенсификация этих процессов, обусловленных генотипическим вариантом *CYP2E1*, по-видимому, в значительной мере способствует активному развитию и поддержанию воспаления в печени, активизации ХВГС и предшествует переходу заболевания в стадию цирроза печени.

Распределение полиморфизма генов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* характеризовалось отсутствием гомозиготного генотипа по мутантному типу. При этом наибольшее накопление гомозиготного генотипа по дикому типу генов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* отмечалось во второй подгруппе. Мутантные аллели генов обуславливают снижение ферментативной активности их продуктов, однако высокая частота минорного аллеля C полиморфного варианта гена *CYP2C9*3*, аллеля G полиморфного варианта гена *CYP3A4* (A392G) и аллеля C полиморфного варианта гена *CYP1A2* (A164C) в группе больных ХВГС с умеренно активным течением заболевания говорит об их роли в снижении интенсивности воспалительных процессов.

Связь между накоплением определенных аллелей и генотипов у больных с неблагоприятным течением ХВГС указывает на то, что данные генетические варианты полиморфизма могут являться маркерами прогрессирования ХВГС и развития тяжелого поражения печени. С другой стороны, генетические варианты полиморфизмов, встречающиеся с наибольшей частотой среди больных с более благоприятным течением заболевания, могут являться маркерами слабой степени поражения печени.

В работе был осуществлен анализ соответствия закону Харди-Вайнберга распределения генотипов полиморфизмов TNF- α (G308A), CTLA-4 (A49G), CYP2E1 (C9896G), CYP2C9*2 (C430T), CYP2C9*3 (A1075C), CYP3A4 (A392G) и CYP1A2 (A164C), который позволил вычислить ожидаемые частоты генотипов в случайно скрещивающейся популяции на основании частот аллелей в генофонде.

В нашем исследовании избыток гетерозигот (отрицательное значение D), свидетельствующий об отклонении от равновесного состояния и ускользании рецессивных аллелей в гетерозиготном состоянии от действия направленного против них отбора, зафиксирован практически во всех исследуемых группах и подгруппах для полиморфизма гена TNF- α ; в подгруппе больных с циррозом печени и в контроле для полиморфизма гена CTLA-4; в основной группе больных и в контроле, а также в подгруппах больных с умеренноактивным ХВГС и циррозом печени для полиморфизма гена CYP2E1; в подгруппе больных с циррозом печени для полиморфизма гена CYP1A2.

Дефицит гетерозигот, который, по-видимому, был обусловлен дифференциальным отбором, действующим в пользу гомозигот, был отмечен для полиморфизма CTLA-4 в основной группе больных и в подгруппе больных с умеренно активным и высокоактивным ХВГС, для полиморфизма CYP2E1 - в подгруппе больных с высокоактивным ХВГС, для полиморфизмов CYP2C9*2, CYP2C9*3 и CYP3A4 - во всех исследуемых группах и подгруппах, для полиморфизма CYP1A2 - в основной группе больных, в контроле и в подгруппах больных с умеренноактивным и высокоактивным ХВГС.

В пятой главе диссертации **«Изучение ассоциативной связи аллельных вариантов генов TNF- α , CTLA-4, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4 и CYP1A2 с активностью воспалительного процесса в печени при ХВГС и циррозе печени»** показано, что генетический статус лиц узбекской популяции по полиморфным вариантам исследованных генов TNF- α (G308A), CTLA-4 (A49G), CYP2E1 (C9896G), CYP2C9*2 (C430T), CYP2C9*3 (A1075C), CYP3A4 (A392G) и CYP1A2 (A164C) является фактором, ассоциирующимся не только с функциональной активностью цитокинов и ферментов системы детоксикации ксенобиотиков, но и с уровнем показателей цитолиза, холестаза, воспаления у больных хроническим вирусным гепатитом С.

В результате проведенного нами исследования было установлено, что наиболее высокие значения АЛТ в первой и второй подгруппах больных были связаны с полиморфным вариантом TNF- α (A/A). В третьей подгруппе наибольшее повышение концентрации АЛТ было отмечено у носителей генотипа G/G CYP2E1. Наиболее низкие показатели АЛТ в подгруппе больных с умеренно активным ХВГС были связаны с полиморфными вариантами CYP3A4 (A/G); в подгруппе больных с высокоактивным ХВГС – с полиморфными вариантами TNF- α (G/A); в подгруппе больных с циррозом печени – с полиморфным вариантом CYP2E1 (C/G). При этом показатели

воспалительного процесса имели тесную отрицательную корреляционную связь с TNF- α , CYP2E1 и CTLA-4. В тоже время между другими маркерами CYP2C9, CYP3A4 и CYP1A2 данная взаимосвязь носила положительный характер в основной группе ($p < 0,05$).

Максимальные значения АСТ в первой и второй подгруппах также были связаны с полиморфным вариантом TNF- α (A/A) ($p < 0,05$). В подгруппе больных с циррозом печени высокие значения АСТ отмечались при носительстве полиморфного варианта CYP2E1 (G/G). Наиболее низкие показатели АСТ в подгруппе больных с умеренно активным ХВГС были связаны с полиморфным вариантом CYP3A4 (A/G); в подгруппе больных с высокоактивным ХВГС – с полиморфным вариантом TNF- α (G/A); в подгруппе больных с циррозом печени – с полиморфными вариантами CYP2E1 (C/G). Следует отметить, что тенденция носила аналогичный характер по сравнению с данными по показателю АЛТ.

Полиморфный вариант G/G гена CYP2E1 был связан с наиболее высоким значением билирубина во второй и третьей подгруппах больных. Повышенные значения билирубина в первой подгруппе больных отмечались и при носительстве полиморфного варианта TNF- α (A/A). Наиболее низкие показатели билирубина были связаны с полиморфными вариантами CTLA4 (G/G), TNF- α (A/A) и CYP2E1 (C/G) в соответствующих подгруппах больных. У больных изучаемых подгрупп были выявлены сильные положительные корреляционные связи между полиморфизмами генов CYP2C9, CYP3A4 и CYP1A2 и концентрацией общего билирубина ($r = 1,0$, $p < 0,05$).

Максимальные значения ЩФ в первой подгруппе больных носили обратную корреляционную взаимосвязь с полиморфным вариантом TNF- α (A/A) ($p < 0,05$); во второй группе больных – с полиморфизмом CYP2E1 (G/G); в третьей группе больных – с полиморфизмом CYP1A2 (C/C). Наиболее низкие показатели ЩФ в подгруппе больных с умеренно активным ХВГС были связаны с полиморфным вариантом CYP2E1 (C/G), во второй подгруппе больных – с полиморфным вариантом CTLA-4 (A/G). В третьей подгруппе наименьшие показатели ЩФ были ассоциированы с полиморфизмом CYP2E1 (G/G) и TNF- α (G/A).

Высокие значения уровня тимоловой пробы в исследованных подгруппах больных были связаны с полиморфными вариантами TNF- α (A/A) во второй подгруппе, а также с полиморфизмами CYP2E1 (G/G) в третьей подгруппе. При этом нами не было выявлено ни одного генотипического варианта, ассоциируемого со значительным снижением значений тимоловой пробы.

Генотипические варианты изучаемых полиморфизмов практически не оказывали влияние на изменение концентрации альбумина. Однако можно выделить варианты CYP2E1 (G/G) в первой подгруппе, CYP1A2 (C/C) - в третьей подгруппе, связанные с максимальным повышением данного показателя. При этом не удалось отметить ни одного генотипического варианта, ассоциируемого со значительным снижением значения альбумина.

Максимальные значения гамма-глутаматтрансферазы в подгруппе больных с умеренно активным ХВГС достоверно коррелировали с полиморфными вариантами TNF- α (A/A) ($p < 0,05$). Наиболее высокие показатели ГГТ в подгруппе больных с высокоактивным ХВГС были связаны с полиморфными вариантами CYP2E1 (G/G), а в подгруппе больных с циррозом печени – коррелировали с полиморфными вариантами CYP1A2 (C/C). Наиболее низкие показатели ГГТ в подгруппе больных с умеренно активным ХВГС отмечались при носительстве полиморфных вариантов CYP3A4 (A/G); в подгруппе больных с высокоактивным ХВГС – CYP3A4 (A/G) и CYP1A2 (A/C); в подгруппе больных с циррозом печени – TNF- α (G/A), CTLA-4 (A/A) и CYP2E1 (C/G).

Таким образом, генетический статус больных ХВГС по полиморфным вариантам исследованных генов TNF- α , CTLA-4, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4 и CYP1A2 является фактором, определяющим уровень показателей функционального состояния печени, таких как АЛТ, АСТ, общий билирубин, щелочной фосфатазы и гамма-глутаматтрансферазы. При этом выявленная нами корреляция изученных полиморфизмов с количественными биохимическими показателями, характеризующими уровень повреждения гепатоцитов, нарушения обменных процессов и степень выраженности мезенхимального воспаления, определяется не только генотипическим вариантом полиморфизма, но и стадией активности ХВГС. Результаты исследования выявили корреляционную взаимосвязь аллельных вариантов генов TNF- α (A/A) с биохимическими показателями в подгруппе больных с ХВГС умеренной степени активности ($p < 0,05$). У больных с ХВГС высокой активности показатели АЛТ и АСТ были выражены у носителей мутантного генотипа TNF- α (A/A) ($p < 0,05$). При этом носители полиморфизма CYP2E1 (G/G) в данной подгруппе характеризовались максимальными значениями общего билирубина, щелочной фосфатазы, гаммаглутаматтрансферазы. Полученные результаты показали ассоциацию генотипических вариантов генов CYP2E1 (G/G) и CYP1A2 (C/C) с активностью воспалительного процесса в печени у больных с циррозом печени. Таким образом, полиморфизмы, ассоциируемые с высоким уровнем показателей цитолиза и холестаза, могут быть маркерами прогнозирования течения ХВГС.

В шестой главе диссертации «**Оценка прогностической значимости носительства аллельных вариантов генов цитокинов и изоферментов цитохрома P450 для характера течения хронического вирусного гепатита С**» были рассчитаны чувствительность (Se), специфичность (Sp) и показатель прогностической ценности маркера – AUC, с целью определения эффективности изучаемых полиморфизмов как прогностических маркеров развития и течения ХВГС.

Исследования показали, что наименее чувствительными оказались полиморфизмы CYP3A4 (A392G) (Se=0,12) и CYP2C9*3 (A1075C) (Se=0,20), а наиболее чувствительным – CTLA-4 (A49G) (Se=0,75). Высокая чувствительность полиморфизма CTLA-4 (A49G) говорит о возможности применения данного маркера для выявления умеренно активной формы

ХВГС у его носителей, особенно на первом этапе диагностики. Высокие значения специфичности в основной группе больных ХВГС (в пределах 0,86 – 0,95) показали полиморфизмы CYP3A4 (A392G), TNF- α (G308A), CYP2E1 (C9896G), CYP1A2 (A164C) и CYP2C9*3 (A1075C). Высокая их специфичность говорит о возможности применения этих маркеров для определения риска развития ХВГС. При этом высокие значения прогностического показателя для изученных полиморфизмов позволяют говорить о надежности этих генетических маркеров как конфирматоров заболевания, доказывающих наличие болезни и не позволяющих расценивать здорового человека как больного.

В ходе исследования нам не удалось обнаружить ни одного случая сочетания неблагоприятных генотипических вариантов семи, пяти, шести, четырех, а также трех изучаемых генов. Оценка частоты встречаемости отдельных бигенных комбинаций неблагоприятных аллелей показала, что:

- в группе условно здоровых лиц чаще всего встречались бигенные сочетания неблагоприятных аллелей генотипов CTLA4+CYP2C9*2 (17,3%), CTLA4+CYP2C9*3 (9,9%), CTLA4+CYP1A2 (7,4%), CYP2C9*2+CYP2C9*3 (6,2%), CTLA4+ CYP2E1 (6,2%);

- в основной группе больных ХВГС – CTLA4+CYP2E1 (19,6%), CTLA4+CYP2C9*2 (19,6%), CTLA4+CYP1A2 (18,7%), CTLA4+CYP2C9*3 (12,1%), TNF- α +CTLA4 (13,1%), CYP2E1+CYP1A2 (11,2%);

- в подгруппе больных с умеренноактивным ХВГС – CTLA4+CYP2C9*2 (33,3%), CTLA4+CYP1A2 (30,3%), CTLA4+CYP2E1 (27,3%), TNF- α +CTLA4 (24,2%), CTLA4+CYP2C9*3 (21,2%), CYP2E1+CYP1A2 (21,2%);

- в подгруппе больных с высокоактивным ХВГС – CTLA4+CYP2E1 (21,6%), CTLA4+CYP1A2 (16,2%), CTLA4+CYP2C9*2 (10,8%), TNF- α +CTLA4 (10,8%), TNF- α + CYP2E1 (10,8%);

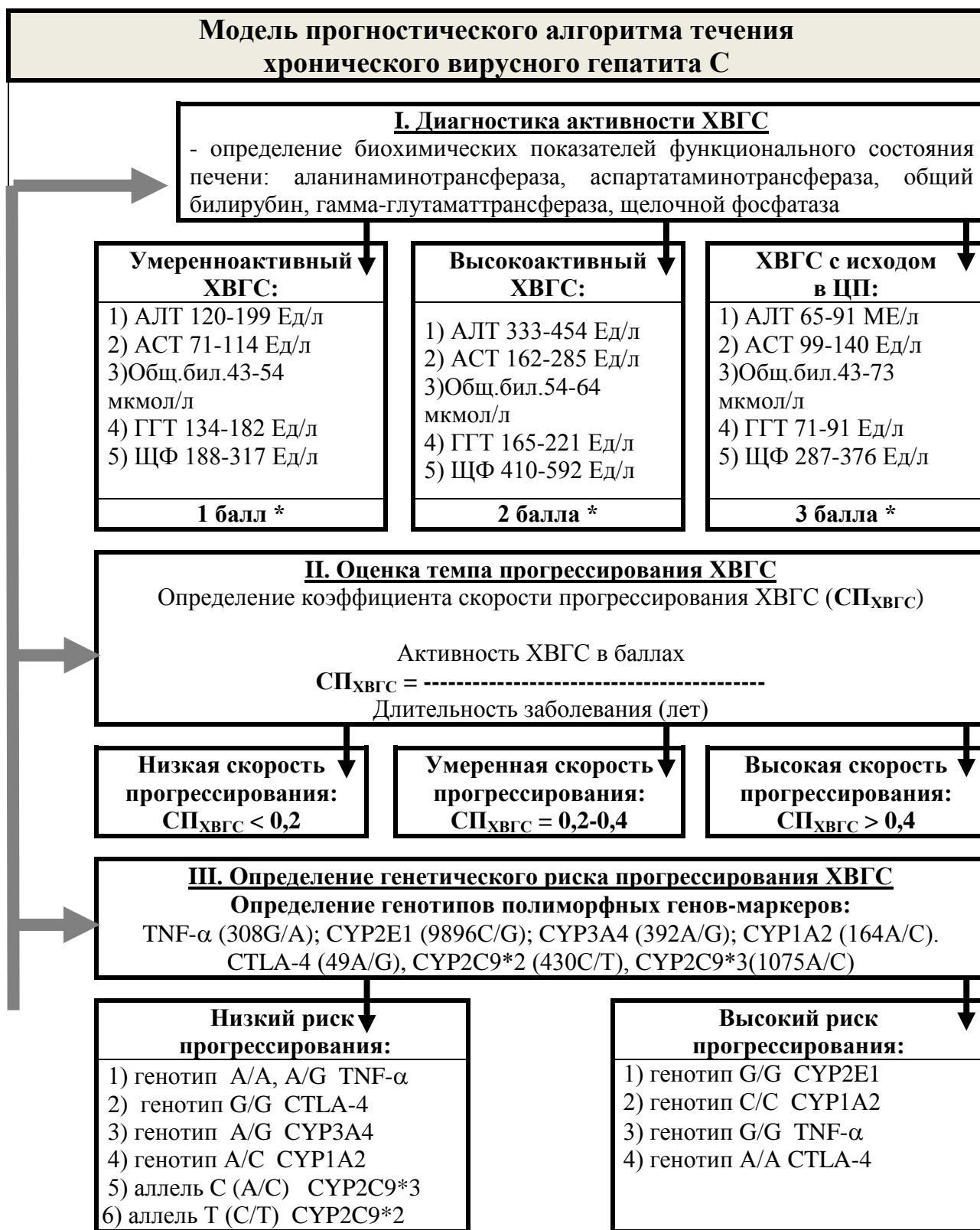
- в подгруппе больных с циррозом печени – CTLA4+CYP2C9*2 (16,2%), CTLA4+CYP2E1 (10,8%), CTLA4+CYP1A2 (10,8%), CYP2C9*3+CYP1A2 (10,8%).

Исследованием было показано, что наиболее частыми всех исследованных групп были бигенные сочетания полиморфных вариантов CTLA4+CYP2C9*2, CTLA4+CYP2E1 и CTLA4+CYP1A2.

Бигенные сочетания CTLA4+CYP2C9*3, TNF- α +CTLA4 и CYP2E1+CYP1A2 встречались несколько реже и, при этом, их носительство было ассоциировано с отсутствием ХВГС или со сравнительно легким течением заболевания. Анализ частоты и прогностической значимости отдельных бигенных сочетаний полиморфных вариантов показал наличие ассоциации носительства генотипической комбинации CTLA4+CYP2C9*2, CTLA4+CYP2E1 и CTLA4+CYP1A2 с низкой активностью патологического процесса при ХВГС.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии достоверной ассоциации генотипических комбинаций TNF- α +CTLA4, CTLA4+CYP2C9*3 и CYP2E1+CYP1A2 с течением и активностью патологического процесса при

ХВГС. Учет генотипических вариантов и биохимических показателей позволил нам разработать модель прогностического течения ХВГС (рис.2).



Примечание :(*) – балл выставляется на основании соответствия группе большинства показателей активности ХВГС.

Рис. 2. Модель прогностического алгоритма течения хронического вирусного гепатита С

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе исследований по докторской диссертации на тему «Молекулярно-генетические аспекты патогенеза и их роль в прогнозировании течения хронической HCV-инфекции в узбекской популяции» представлены следующие выводы:

1. Выявлены популяционные особенности распределения аллелей и генотипов полиморфизмов TNF- α , CTLA-4, а также CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9 и CYP3A4 цитохрома P450 у лиц узбекской национальности, которые пополняют базу данных генофонда Узбекистана. При ХВГС умеренной степени активности наибольший уровень полиморфизма характерен для TNF- α , CTLA-4, CYP2C9 и CYP3A4, при ХВГС выраженной степени активности наибольшая частота полиморфизма отмечалась у мутантного аллеля CYP2E1, а при циррозе печени - CYP1A2, которые могут служить маркерами, характеризующими патогенез и течение заболевания.

2. Наиболее выраженные изменения показателей функционального состояния печени отмечались у носителей 1в генотипа вируса, который доминировал у больных ХВГС умеренной степени активности. У больных ХВГС выраженной степени преобладал 3а генотип вируса, который характеризовался высокими значениями показателей цитолитического и холестатического синдромов.

3. При ХВГС умеренной степени ген-кандидат TNF- α (A/A) ассоциировался с высокими значениями показателей цитолиза и холестаза, что свидетельствует о роли данного полиморфизма в патогенезе заболевания.

4. Высокая чувствительность гена CTLA-4 и частота межгенного сочетания CTLA-4+CYP2C9*2, CTLA-4+CYP2E1, CTLA-4+CYP1A2 при ХВГС умеренной степени могут быть использованы в качестве прогностического критерия стратификации пациентов на группы с высоким и низким риском прогрессирования заболевания.

5. Прогностическим фактором развития ХВГС выраженной степени может служить мутантный аллель и генотип G/G изофермента CYP2E1, носительство которого может быть обусловлено высоким метаболизмом токсинов и ксенобиотиков, усилением оксидативного стресса и прогрессированием патологического процесса.

6. Выявлена отрицательная корреляционная взаимосвязь ($p < 0,05$) показателей функционального состояния печени с полиморфизмом CYP2E1 (G/G) и CYP1A2 (C/C) у больных циррозом печени, ассоциированного вирусом С, что свидетельствует о роли данного полиморфизма в стимуляции воспаления и фиброобразования в печени.

**THE DIFFERENT SCIENTIFIC COUNCIL DSc.27.06.2017.Tib.30.03
ON THE ADMISSION OF SCIENTIST DEGREES AT
TASHKENT MEDICAL ACADEMY**

TASHKENT MEDICAL ACADEMY

AZIMOVA SEVARA BAKHODIROVNA

**MOLECULAR-GENETIC ASPECTS OF PATHOGENESIS AND THEIR
ROLE IN PREDICTION OF CHRONIC HCV-INFECTION IN UZBEK
POPULATION**

**14.00.16-Normal and pathological physiology
14.00.05 - Internal Diseases**

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR SCIENCES (DSc)
ON MEDICAL SCIENCES**

TASHKENT – 2018

The theme of doctoral dissertation (DSc) was registered at the Supreme Attestation Committee at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under № B2017.2.DSc/Tib163.

The doctoral dissertation has been prepared at the Tashkent medical academy.

The abstract of dissertation is posted in two (Uzbek, Russian, English(resume)) languages on the web-site of Scientific Council (www.tma.uz) and Informative-educational portal «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Scientific consultants: **Karimov Hamid Yakubovich**
Doctor of Medical Sciences, Professor

Zakirhodgaev Sherzod Yahyaevich
Doctor of Medical Sciences, Professor

Official opponents: **Rustamova Mamlakat Tulabaevna**
Doctor of Medical Sciences, Professor

Saidov Saidamir Abrorovich
Doctor of Medical Sciences

Halikov Pulat Hujamkulovich
Doctor of Medical Sciences, Professor

Leading organization: **FSA HEI First Moscow State Medical University named after I.M. Sechenov Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), (Russia)**

The defense will take place « ____ » _____ 2018 at ____ at the meeting of one-time Scientific Council Dsc.27.06.2017.Tib.30.03 at the Tashkent Medical Academy (Address: 100109, Tashkent, Farobi St., 2. The meeting room of the 1st training of the building of the Tashkent Medical Academy. Phone/Fax: (99871)150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

With a doctoral dissertation (DSc) can be found at the Information and Resource Center of the Tashkent Medical Academy (registered № ____). (Address: 100109, Tashkent, st. Farobi, 2. Tashkent Medical Academy, 2 educational building, «B» wing, 1 floor 7 study. Phone/Fax: (99871)150-78-14).

Abstract of dissertation sent out on « ____ » _____ 2018.
(mailing report № ____ on « ____ » _____ 2018).

G.I. Shayhova

Chairman of a one-time scientific council on awarding of scientific degree, Doctor of Medical Sciences, professor

N. J. Ermatov

Scientific secretary of a one-time scientific council on awarding of scientific degree, Doctor of Medical Sciences, docent

B. U. Iriskulov

Chairman of a one-time scientific seminar by awarding of scientific degree Doctor of Medical Sciences, professor

INTRODUCTION (Annotation of doctoral dissertation)

The research purpose: evaluation of molecular mechanisms of the clinical course of chronic viral hepatitis C, taking into account the prognostic significance of the polymorphism of cytokines and genes responsible for the biotransformation system of xenobiotics in representatives of the Uzbek population.

The research object: patients with chronic viral hepatitis C and liver cirrhosis, as well as healthy donors in whom DNA samples were obtained. According to the results of clinico-laboratory studies, 107 patients aged 22 to 81 years who were on dispensary registration at the Research Institute of Virology of Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan the were included in the main group. The control group consisted of 81 people, without chronic liver pathology.

Scientific novelty of research.

the complex study of the genetic polymorphism 308G>A of the TNF- α gene, 49A>G of the CTLA-4 gene, as well as the 164A>C gene of the CYP1A2, 1295G>C gene CYP2E1, 430C>T gene CYP2C9*2, 1075A>C gene CYP2C9*3 and 392A> G of CYP3A4 cytochrome P450 gene in patients with chronic hepatitis C and liver cirrhosis in Uzbekistan and their role in pathogenesis of the disease was revealed;

the analysis of the distribution of alleles and genotypes of cytokines and isoenzymes of cytochrome P450 among uzbeks of Uzbekistan is conducted for the first time, and characteristic differences in comparison with healthy individuals are shown;

the relationship between the polymorphism of the studied genes and the indices of cytolysis, cholestasis and inflammation syndromes characterizing the severity of the course of chronic hepatitis C has been analyzed for the first time;

the association of allelic variants of cytokine genes with the progression of CVHC in cirrhosis of the liver has been shown for the first time, which can be used to develop prognostic criteria for isolating the risk group of infected individuals for the progression of the CVHC course. Determination of the genetic profile, allowing to predict the course of CVHC and assess the risk of formation of liver cirrhosis, which is important for the choice of tactics of patients. The revealed associations broaden the understanding of the pathogenetic mechanisms of CVHC.

Implementation of the research results. Based on scientific results on the study of molecular genetic features of the pathogenesis of chronic HCV infection in the Uzbek population:

methodical recommendations «The role of genetic factors in the pathogenesis of the development of chronic viral hepatitis C in the Uzbek population» (Conclusion 8n-d / 55 of 15 November 2017 of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan) were developed and implemented in practical public health. The obtained results make it possible to diagnose different course of viral hepatitis C in persons of Uzbek nationality and to reveal pathogenetic mechanisms based on the revealed interrelation of biochemical markers with the polymorphism of the genes TNF- α , CTLA-4, CYP1A2, CYP2E1, CYP2C9, CYP3A4.

The results of the study of the molecular genetic aspects of the pathogenesis

of chronic HCV infection in the Uzbek population have been introduced into practical health care, including the research laboratory of the Tashkent Medical Academy, the 2-clinic of the Tashkent Medical Academy and the clinic of the Research Institute of Hematology and Blood Transfusion (Conclusion 8n-c / 55 from 15 December 2017 of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan). The introduction of the results based on the molecular genetic aspects of the pathogenesis of chronic HCV infection in the Uzbek population contributes to an individual approach to the treatment of the disease, improving the quality of life of the patient and reducing the need for medications, and reducing government budget funds by 47.2% by preventing adverse outcomes of the disease.

Structure and volume of the dissertation. The thesis consists of an introduction, six chapters, conclusion, list of used literature. The volume of the dissertation is 200 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I Бўлим (I часть; I part)

1. Азимова С. Б., Каримов Х. Я. Касалликлар молекуляр-генетик ҳолатини ўрганишда цитокинлар роли ва аҳамияти // Теоретическая и клиническая медицина. – 2012. - №7. - С. 72-76 (14.00.00; 3).

2. Azimova S.B., Karimov H.Ya., Iriskulov B.U. Immunogenetic aspects of pathogenesis of chronic HCV-infection (Review) // European Medical, Health and Pharmaceutical Journal. – 2012. – Vol. 4. – P. 18-20.

3. Азимова С. Б., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т. Анализ генотипических вариантов полиморфизма гена CYP2C9 в узбекской популяции // Международный медицинский журнал. - 2012, том 18, №4, с. 106-109.

4. Азимова С. Б. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма гена CYP2E1 при хроническом гепатите у лиц узбекской национальности // Инфекция, иммунитет и фармакология. – 2013. - №5-6. - С. 13-17 (14.00.00; 15).

5. Азимова С. Б., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т. Оценка взаимосвязи полиморфизма генов TNF- α и CTLA-4 с клинико-биохимическими данными больных хроническим гепатитом С // Теоретическая и клиническая медицина. – 2014. - Том 1, №3. - С. 161-164 (14.00.00; 3).

6. Азимова С. Б., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т. Оценка ассоциации полиморфизма CYP2C9*2 гена цитохрома P450 с течением HCV-инфекции в узбекской популяции // Медицинский журнал Узбекистана. – 2015. - №6. - С. 10-15 (14.00.00; 8).

7. Азимова С. Б. Анализ неравновесия по сцеплению полиморфизмов генов у больных с HCV- инфекцией в Узбекистане // Теоретическая и клиническая медицина. – 2015. - №4. - С. 17-19 (14.00.00; 3).

8. Azimova S.B., Karimov H.Ya. Assessment of association cytochrome P450 gene polymorphism with pathogenesis and course of HCV in Uzbek population // British journal of medicine & medical research.- 2016.- Vol.14.- №12.- P. 1-10 (14.00.00; 5).

9. Azimova S.B., Karimov H.Ya., Zakirhodjaev Sh. Y. Modern aspects in predicting the clinical course of chronic hepatitis C // European Science review. - № 11-12.- 2017.- P. 53-56 (14.00.00; 19).

10. Азимова С.Б., Закирходжаев Ш.Я. Особенности клинического течения хронической HCV-инфекции и факторы его прогнозирования // Биология ва тиббиёт муаммолари.- №4 (96).- 2017.- С. 26-28 (14.00.00; 19).

11. Азимова С.Б., Каримов Х.Я. Влияние генетического полиморфизма изоферментов цитохрома P450 на течение HCV-инфекции // Вестник Ташкентской медицинской академии.- №4.- 2017.- С. 22-26 (14.00.00; 13).

12. Азимова С.Б. Молекулярно-генетические маркеры и особенности течения хронической HCV-инфекции в Узбекистане // Биология ва тиббиёт муаммолари.- №4 (96).- 2017.- С.7-9 (14.00.00; 19).

13. Azimova S.B. Estimation of prognostic significance of carriage of allelic variants of cytokine and cytochrome P450 isoenzymes in patients with chronic hepatitis C // European Science review. - №9-10.- 2017.- P. 25-26 (14.00.00; 19).

14. Азимова С.Б. Взаимосвязь молекулярно-генетических факторов и биохимических показателей у больных хроническим гепатитом С // Биология ва тиббиёт муаммолари.- №3 (96).- 2017.- С.19-22 (14.00.00; 19).

15. Azimova S.B. Genetic factors determining the progression of chronic hepatitis C in the Uzbek population // European Science review.- № 9-10.- 2017.- P. 22-24 (14.00.00; 19).

16. Азимова С.Б., Закирходжаев Ш.Я. Диагностическая значимость клинико-биохимических и генетических маркеров при хроническом гепатите С. // Теоретическая и клиническая медицина. – 2018.- №1. - С. 32-36 (14.00.00; 3).

II Бўлим (II часть; II part)

17. Azimova S.B., Karimov H.Ya., Boboev K.T. Analysis of CTLA-4 GENE 49A/G polymorphism in patients with chronic hepatitis C in Uzbekistan // Medical and Health Science Journal. – 2013. – Vol. 14. - P 17-23.

18. Азимова С. Б., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т. Оценка роли полиморфизма G308A гена TNF- α в патогенезе хронического вирусного гепатита С // European Applied Sciences. – 2013. - №11. – Vol.1. - P. 33-36.

19. Азимова С. Б. Влияние цитокинов на патогенез хронической патологии печени // Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. - Москва, 2013. - С. 13.

20. Азимова С. Б. Ассоциация полиморфизма поверхностного антигена цитотоксических Т-лимфоцитов с хроническим гепатитом // Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. - Москва 2013. - С. 12-13.

21. Азимова С. Б. К вопросу о роли генетических факторов в развитии хронического гепатита С // Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. - Москва, 2013. - С. 13-14.

22. Азимова С. Б., Каримов Х. Я., Бобоев К. Т. Особенности развития хронического гепатита в зависимости от генетической характеристики цитокинов // Сборник научных трудов научно-практической конференции гематологов и трансфузиологов Узбекистана «Нововведения в лечении и профилактике заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии». - Ташкент, 2013. - С. 10-11.

23. Азимова С. Б., Бобоев К. Т. Функциональный полиморфизм гена TNF- α при вирусном поражении печени // Сборник научных трудов научно-практической конференции гематологов и трансфузиологов Узбекистана

«Нововведения в лечении и профилактике заболеваний системы крови и проблемы трансфузиологии». - Ташкент, 2013. - С. 12-13.

24. Азимова С. Б. Сравнительный анализ полиморфизма CYP2E1 у больных хроническим гепатитом и циррозом печени // Материалы VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. - Москва, 2014. - С. 8.

25. Азимова С. Б., Бобоев К. Т. Некоторые аспекты генетических факторов развития хронического гепатита // Материалы VII международной научно-практической конференции «Учения ИБН СИНО». - Бухара, 2013. - С. 51.

26. Азимова С. Б., Шамсутдинова Д. Б. Анализ ассоциации аллельных вариантов генов TNF- α и CTLA-4 с клинико-биохимическими показателями больных вирусным гепатитом С // 8 Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика-2014». – 2014. - Том 1. - С. 122-123.

27. Азимова С. Б., Бобоев К. Т. Молекулярно-генетические характеристики патогенеза хронического гепатита С в Узбекистане // Материалы VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. - Москва, 2014. - С. 8.

28. Азимова С. Б., Алимова С. М., Абдурахманова Н. Н. Влияние генетического полиморфизма на патогенез развития хронического гепатита в Узбекистане // Материалы Международного Конгресса гематологов и трансфузиологов Узбекистана «Совершенствование гематологии и трансфузиологии в современных условиях». - Ташкент, 2015. - С. 204-206.

29. Азимова С. Б., Шамсутдинова Д. Б., Ибрагимов З. З. Оценка частоты распределения генотипов полиморфизма гена CTLA4 в узбекской популяции // Материалы Международного Конгресса гематологов и трансфузиологов Узбекистана «Совершенствование гематологии и трансфузиологии в современных условиях». - Ташкент, 2015. - С. 18-20.

30. Азимова С.Б., Каримов Х.Я., Закирходжаев Ш.Я. Роль генетических факторов в патогенезе развития хронического вирусного гепатита С в узбекской популяции // Ташкент, 2011. – С. 19.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси»
журнали тахририятида тахрирдан ўтказилди
(04.01.2018)

Босишга рухсат этилди: 15.02.2018 йил.
Бичими 60x45 ¹/₈, «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табағи 3,5. Адади: 100. Буюртма: № 50.

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

«АКАДЕМИЯ НОШИРЛИК МАРКАЗИ»
Давлат унитар корхонасида чоп этилди.