

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

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

ЖАҲОНОВ АЗИЗБЕК ХОЛМИРЗАЕВИЧ

**АУТОИММУН ГЕМОЛИТИК АНЕМИЯНИНГ КЛИНИК-ЛАБОРАТОР
ВА МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК ЖИҲАТЛАРИ**

14.00.29–Гематология ва трансфузиология

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

Тошкент – 2024

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Жахонов Азизбек Холмирзаевич

Аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник-лаборатор

ва молекуляр-генетик жиҳатлари..... 3

Жахонов Азизбек Холмирзаевич

Клинико-лабораторные и молекулярно-генетические

аспекты развития аутоиммунной гемолитической анемии..... 25

Jakhonov Azizbek Kholmiraevich

Clinical-laboratory and molecular-genetic aspects

of development autoimmune hemolytic anemia..... 45

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works..... 49

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМий
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02. РАҚАМЛИ
ИЛМий КЕНГАШ**

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

ЖАХОНОВ АЗИЗБЕК ХОЛМИРЗАЕВИЧ

**АУТОИММУН ГЕМОЛИТИК АНЕМИЯНИНГ КЛИНИК-ЛАБОРАТОР
ВА МОЛЕКУЛЯР-ГЕНЕТИК ЖИХАТЛАРИ**

14.00.29–Гематология ва трансфузиология

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

Тошкент – 2024

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Олий таълим, фан ва инновациялар вазирлиги ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2021.1.PhD/Tib1766 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тошкент тиббиёт академиясида бажарилган.

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

Илмий раҳбар:

Саидов Аълонур Бахтинурович
тиббиёт фанлари доктори, доцент

Расмий оппонентлар:

Махмудова Азиза Джумановна
тиббиёт фанлари доктори

Гильдиева Маргарита Сабировна
биология фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Андижон давлат тиббит институти

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 рақамли илмий кенгашининг 2024 йил «___» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100109, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Фаробий кўчаси 2-уй. Тел/факс: (+99878) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru)

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

Диссертация автореферати 2024 йил «___» _____ да тарқатилди.

(2024 йил «___» _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси)

А.Г. Гадаев

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

Д.А. Набиева

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий котиби, тиббиёт фанлари доктори, профессор

Ш.А. Бабажанова

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

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурияти. Дунёда аутоиммун гемолитик анемия (АИГА) муаммоси - асосан эритроцитларга аутоантителолар томонидан ҳосил бўлган декомпенсацияланган орттирилган гемолиз дунё бўйлаб замонавий тадқиқотчиларнинг алоҳида қизиқишини уйғотади. «...шу билан бирга, касалликни мултифакториал деб ҳисоблашга имкон берадиган АИГА ривожланишининг тўлиқ очилмаган механизми, унда иммунитетнинг бузилиши ва генетик таркибий қисмларнинг дисрегуляцияси алоҳида ўрин тутади...»¹. Цитокинларни тартибга солишнинг бузилиши ва эритроид суяк илиги гематопоезининг самарасиз компенсацияси билан кечадиган иммунитет тизими эффекторларининг ҳаддан ташқари фаоллашиши турли хил асорат ва юқори ўлим билан бирга тананинг оғир гипоксияси ва гемолитик интоксикацияси туфайли беморнинг аҳволи кескин оғирлашишига олиб келади. Ўз навбатида, бу молекуляр-генетик даражада АИГА ҳосил бўлиш механизmlарини чуқурроқ тушунишни талаб қилади.

Жаҳонда АИГА ривожланишида детерминант генларнинг ўрнини ўрганишга қаратилган бир қатор илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Шу муносабат билан, АИГА билан хасталанган беморларда яллиғланиш цитокинлари ўсимта некрози омили (TNF- α) (rs1800629), интерлейкин (IL) 10 (rs1800896), интерлейкин (IL) 10 (rs1800872), интерлейкин (IL)17A (rs2275913) ва интерлейкин (IL) 17F (rs763780) генларининг тарқалишини таҳлил қилиш АИГА ривожланишида яллиғланиш цитокинлари IL 10 (rs1800896), IL 10 (rs1800872), TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913) ва IL 17F (rs763780) полиморфизмларининг ноқулай генотипларини ташиш ўрнини, уларни касалликнинг оғир кечишини шакллантиришда, ушбу патологиянинг клиник ва лаборатор кўринишларининг оғирлиги билан боғлиқлигини баҳолаш алоҳида аҳамиятга эга. Юқоридагиларни инобатга олган ҳолда аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник-лаборатор ва молекуляр-генетик жиҳатлари таҳлил қилиш замонавий гематологиянинг долзарб муаммоларидан биридир.

Мамлакатимизда тиббиёт соҳасини ривожлантири, тиббий тизимни жаҳон андозалари талабларига мослаштириш, жумладан турли соматик касалликларни тўғри мақсадга йўналтирилган даволаш ва олдини олиш чоратадбирларни ўтказишга қаратилган муайян ишлар амалга оширилмоқда. Бу борада 2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегиясининг етти устувор йўналишига мувофиқ аҳолига тиббий хизмат кўрсатиш даражасини янги босқичга кўтаришда «...бирламчи тиббий-санитария хизматида аҳолига малакали хизмат кўрсатиш сифатини яхшилаш...»² каби вазифалар белгиланган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан

¹Fattizzo B., Barcellini W. Autoimmune hemolytic anemia: causes and consequences //Expert Review of Clinical Immunology. – 2022. – Т. 18. – №. 7. – С. 731-745

² Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ–60-сон «2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида»ги Фармони.

холда аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник-лаборатор ва молекуляр-генетик жиҳатларини башоратлаш алохида аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2022 йил 28 январдаги ПФ-60-сон «2022-2026 йилларга мўлжалланган Янги Ўзбекистоннинг тараққиёт стратегияси тўғрисида», 2020 йил 12 ноябрдаги ПФ-6110-сонли «Бирламчи тиббий-санитария ёрдами муассасалари фаолиятига мутлоқо янги механизмларни жорий қилиш ва соғлиқни сақлаш тизимида олиб борилаётган ислоҳатлар самарадорлигини янада ошириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Фармонлари, 2020 йил 10-февралдаги ПҚ-5199-сонли «Ўзбекистон Республикасида гематология ва трансфузиология хизматларини ривожлантириш, шунингдек онкогематологик ва даволаб бўлмайдиган касалликларга чалинган шахсларни янада қўллаб-қувватлаш чора-тадбирлари тўғрисида», 2021 йил 25 майдаги ПҚ-5124-сонли «Соғлиқни сақлашнинг комплекс ривожлантириш бўйича кўшимча чора-тадбирлари тўғрисида», 2021 йил 27 майдаги ПҚ-5130-сонли «Ўзбекистон Республикасида аҳолига гематология ва онкологик хизматларни такомиллаштириш тўғрисида»ги қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Ҳозирги кунда дунёнинг бир қатор йирик тадқиқот марказларида аутоиммун гемолитик анемиянинг сабаб омиллари ва иммуногенезини аниқлашга қаратилган тадқиқотлар олиб борилмоқда (Jäger U. et al., 2020; Berentsen S., 2020; Fattizzo B. et al., 2020; Bianco C. et al., 2021; A. Voulgaridou, T.A. Kalfa, 2021). Комплементар тизимнинг фаоллашуви ва АИГА да гемолизга олиб келадиган ўз эритроцитларига қарши аутоантителолар ишлаб чиқариш туфайли бузилган иммунитет бардошлилигининг ошкор қилинмаган механизмларини топишга қаратилган тадқиқотлар жаҳондаги етакчи илмий марказларда устувор йўналиш ҳисобланади (Neunert C. E., Despotovic J. M., 2019; Murakhovskaya I., 2020; Marina M. A., Rubio M. L., García L. C.; 2023). АИГА даги гемолизнинг оғирлиги ва уни даволашнинг стандарт усуллари кўпинча оғир гипоксия, тромбоз, инфекциянинг қўшилиши каби асоратларнинг ривожланиши билан боғлиқ бўлиб, беморларнинг ҳаёт сифатини муқаррар равишда пасайтиради ва кўпинча ўлимга олиб келади (Chaparro C. M., Suchdev P. S., 2019; Hemminki K. et al., 2020; Ibrahim I. A. et al., 2022). Замонавий илмий маълумотлар АИГА нинг турли шакллари ташхислаш ва даволашда қийинчиликлар мавжудлигини исботлайди (Audia S. et al., 2018; Barcellini W., Fattizzo B., Zaninoni A., 2019; Pasquale R. et al., 2021; Al-Kuraishy H. M. et al., 2022). Ўз навбатида, патогенетик нуқтаи назардан, бу АИГА шаклланишида муҳим аҳамиятга эга бўлган кам маълум бўлган генетик механизмларни очиш бўйича тадқиқотлар ўтказишни талаб қилади (Hill Q. A., Hill A., Laurentino M. R. et al.,

2018; Berentsen S., 2019; Zaninoni A. et al., 2021; Sirianni M. F. M., 2021; Zaninoni A. et al., 2023).

Ўзбекистонда талассемия ва бошқа ирсий гемолитик анемия билан оғриган беморларда гуморал иммунитет ва хелатор терапиясининг самарадорлигини баҳолаш бўйича ишлар олиб борилган (У.У. Рахманова, Д.Н. Сулейманова, 2021, 2022). Бундан ташқари, республикада β -талассемияни генетик ташхислаш усуллари яратиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмоқда (Г.Н. Давлатова, Д.Н. Сулейманова, 2022). Бироқ, республикада АИГАнинг клиник-лаборатор ва молекуляр-генетик хусусиятлари бўйича тадқиқотлар ўтказилмаган.

Юқоридагилардан келиб чиққан ҳолда АИГАнинг шаклланиши ва унинг оғир кечиши иммуногенетик омилларга боғлиқлиги, у билан хасталанган беморларда асорат ҳамда ўлим кўрсаткичининг юқорилиги борасида аниқ тушунча ва ягона фикрларнинг йўқлиги янги тадқиқотлар зарурлигини белгилайди. Бу нафақат касалликнинг иммуногенезини яхшироқ тушуниш, балки эрта ташхислаш ва унинг оғир кечишини тахмин қилишнинг энг самарали усуллари, шунингдек, АИГАни даволаш ва уни олдини олиш усуллари ишлаб чиқиш заруриятини тақозо қилади.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Республика ихтисослаштирилган гематология илмий амалий марказининг илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ АДСС-15.14.4 «Ўсма клонининг молекуляр-биологик хусусиятлари ҳисоби билан кўплаб миеломлар асоратларини башоратлаш» (2018-2022 йй.) мавзусидаги илмий лойиҳа доирасида бажарилган

Тадқиқотнинг мақсади аутоиммун жараён шаклланишининг клиник, лаборатория ва молекуляр-генетик хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда ташхислаш мезонлари ва аутоиммун гемолитик анемиянинг ривожланиш ва кечишини башорат қилиш усуллари ишлаб чиқишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

аутоиммун гемолитик анемиянинг ривожланиши ва оғир кечишида IL10 (rs3024491) гени ахамиятсиз эканлиги, IL10 (rs1800872) гени эса касалликнинг оғир кечишида бевосита таъсири аниқланган;

аутоиммун жараённинг модификатор генлари TNF- α (rs1800629), IL 17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) ва АИГА ривожланиши ўртасидаги ассоциатив боғлиқлик исботланган;

аутоиммун гемолитик анемиянинг оғир даражасида TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913); IL17F (rs763780) генларининг полиморф локусларининг мустақил хавф таъсири исботланган;

аутоиммун гемолитик анемияда IL 23R (11209026) генетик полиморфизимининг касаллик ривожланиши ва оғир кечиши жихатдан прогностик ахамиятсизлиги аниқланган.

Тадқиқотнинг объекти сифатида 2018-2022-йилларда Республика ихтисослаштирилган гематология илмий-амалий тиббиёт марказига (РИГИАТМ) ташхис қўйиш ва даволаш учун қабул қилинган АИГА билан

хасталанган 190 нафардан беморлардан 93 нафари асосий гуруҳни, 97 нафар аутоиммун патологиялари бўлмаган соғлом донорлар назорат гуруҳи олинган.

Тадқиқотнинг предмети сифатида АИГА билан хасталанган беморларни ташхислаш ва даволашда умумий, биокимёвий қон текшируви, иммунологик тадқиқотлар ва полиморф генларни (TNF- α (rs1800629), IL 10 (rs1800872), IL 10 (rs3024491), IL17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) ва IL23R (11209026)) ажратиш учун веноз қон ва миелограмма кўрсаткичлари ҳамда суяк илигини баҳолаш материаллари олинган.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот вазифаларини амалга ошириш учун клиник, лаборатор, биокимёвий, иммунологик, молекуляр-генетик ва статистик усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

аутоиммун гемолитик анемиянинг ривожланиши ва оғир кечишида IL 10 (rs3024491) гени аҳамиятсиз эканлиги, IL 10 (rs1800872) гени эса касалликнинг оғир кечишида бевосита таъсири аниқланган;

аутоиммун жараённинг модификатор генлари TNF- α (rs1800629), IL 17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) ва АИГА ривожланиши ўртасидаги ассоциатив боғлиқлик исботланган;

аутоиммун гемолитик анемиянинг оғир даражасида TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913); IL17F (rs763780) генларининг полиморф локусларининг мустақил хавф таъсири исботланган;

аутоиммун гемолитик анемияда IL 23R (11209026) генетик полиморфизмининг касаллик ривожланиши ва оғир кечиши жиҳатдан прогностик аҳамиятсизлиги аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

клиник амалиётда аутоиммун гемолитик анемияни эрта ташхислаш учун стандарт усуллар билан бир қаторда TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913) ва IL-17F (rs763780) полиморф генларининг молекуляр-генетик тадқиқотларини киритиш таклиф қилинган;

TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780) генларининг полиморф локусларини аутоиммун гемолитик анемиянинг оғир кечишини шакллантириш хавфи билан боғлиқлигини ҳисобга олиб, уларни эрта генетик башорат қилувчи сифатида ишлатиш мақсадга мувофиқлиги аниқланган;

аутоиммун гемолитик анемиянинг ривожланиш ва кечиш характерини башорат қилиш мезонларининг такомиллаштирилиши, касалликнинг оғир кечиш хавфи паст ва юқори бўлган беморлар гуруҳларини ўз вақтида аниқлашга имкон берган;

бу эса беморларни даволаш учун моддий харажатларни камайтириш ва уларнинг ҳаёт сифатини яхшилашга асос бўлган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги ишда қўлланилган назарий ёндашув ва усуллар, олиб борилган тадқиқотларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, етарли даражада материал танланганлиги, қўлланилган усулларнинг замонавийлиги, уларнинг бири иккинчисини тўлдирадиган

клиник, лаборатор, биокимёвий, иммунологик, молекуляр-генетик ва статистик таҳлил усуллар ёрдамида аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник-лаборатор ва молекуляр-генетик жиҳатларини башоратлашнинг ўзига хослиги халқаро ҳамда маҳаллий тажрибалар билан таққосланганлиги, хулоса, олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқлаганлиги билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки аутоиммун гемолитик анемиянинг ривожланиш механизмлари ва клиник кечишининг оғирлигига ҳар томонлама лаборатор ва молекуляр-генетик баҳоланиб, TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780) генларининг полиморф локуслари билан касалликнинг юқори ривожланиш хавфи ва оғир кечиши ўртасида боғлиқликнинг назарий асослари яратилганлиги билан изоҳланган.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки кенг қамровли тадқиқотлар асосида АИГАнинг ривожланиши ва оғир кечишида TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780) полиморф генларининг юқори таххисий ва прогностик самарадорлиги исботланиб, бу эса ўз навбатида оғир шаклларнинг даражасини камайтириш ва ушбу касалликка чалинган беморларнинг ҳаёт сифатини яхшилаш имконини берганлиги билан изоҳланган.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Тошкент Тиббиёт Академияси Мувофиқлаштирувчи Эксперт кенгашининг 2023-йил 23 ноябрдаги 11-23/84-х-сон хулосасига кўра:

Биринчи илмий янгилик: олинган натижаларга кўра аутоиммун гемолитик анемия аниқланган беморларда IL10 (rs 1800872) ва IL10 (rs 3024491) генларининг полиморф локусларининг тарқалишини касаллик келтириб чиқаришдаги ролини эрта аниқлаш даво муолажаларини тўғри олиб боришга ёрдам беради. Бу эса беморларнинг касалхонага қайта ётишлари сонини ва кунини ҳамда даволаш учун кетадиган харажатларни камайтириш орқали иқтисодий самара беради.

Иккинчи илмий янгилик: камқонлик аниқланган беморларда TNF- α (rs 1800629), IL17A (rs 2275913), IL17F (rs 763780) модификатор генларини аниқланганлиги уларда аутоиммун гемолитик анемияни эрта аниқлаш имконини беради. Унга асосланган ҳолда танланган самарали даво асосий касалликни авжланишини ва ногиронликни камайтириб беморларнинг ўртача умр давомийлигини оширади, касалхонага қайта ётишлари сонини ва кунини ҳамда даволаш учун кетадиган харажатларни камайтириш орқали иқтисодий самара беради.

Учинчи илмий янгилик: олинган натижаларга кўра аутоиммун гемолитик анемия аниқланган беморларда TNF- α (rs 1800629), IL10 (rs 1800872), IL17A (rs 2275913); IL17F (rs 763780) генларининг полиморф локусларининг эрта аниқлаш касаллик асоратларни олдини олишга ёрдам беради. Касалликга монанд даво олиб бориш беморларнинг касалхонага қайта

ётишлари сонини ва кунини ҳамда даволаш учун кетадиган харажатларни йил давомида 18 000 000 сўмгача кайтириш орқали иқтисодий самара беради.

Тўртинчи илмий янгилик: аутоиммун гемолитик анемияда клиник, лаборатор ва генетик кўрсаткичларни таҳлил асосида аутоиммун гемолитик анемия ривожланиши ва қайталанишининг ташхисий ҳамда прогностик мезонларини ишлаб чиқиш асосида беморларнинг шифохонада даволаниш кунларини қисқариши, даволаш учун кетадиган харажатлар миқдорини камайтириш имконини берган. Шунингдек, беморларнинг шифохонага қайта ётишлар сони камайганлиги сабабли ҳар бир бемордан йил давомида қўшимча 6.000.000 сўм миқдорда пул маблағлари иқтисод қилинади.

Жахонов Азизбек Холмирзаевичнинг тиббиёт фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) илмий даражасини (14.00.29 – гематология ва трансфузиология) олиш учун “Аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник-лаборатор ва молекуляр-генетик жиҳатлари” мавзусида илмий янгиликларни бошқа соғлиқни сақлаш муассасаларига жорий этиш бўйича Тошкент тиббиёт академияси Эксперт кенгашининг 2023-йил 23-ноябр 11-23/84-х сонли хулосаси тақдим этилган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 8 та илмий анжуманда муҳокома қилинган, жумладан, 4 та халқаро ва 4 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 12 та илмий иш чоп этилган бўлиб, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертациялар асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 5 та мақола, жумладан, 3 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

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

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида бажарилган тадқиқотлар долзарблиги ва зарурияти, тадқиқот мақсади, вазифалари, объекти ва предмети тавсифланган, шу тадқиқотларнинг республика фан ва технологиялари устувор йўналишларига мослиги, тадқиқотнинг илмий янгилиги ҳамда унинг амалий натижалари ўз ифодасини топган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти кўрсатилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий қилиниши, чоп этилган илмий ишлар ҳамда диссертация таркибий тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Аутоиммун гемолитик камқонлик ташхислаш муаммонинг замонавий талқини**» деб номланган биринчи бобида аутоиммун гемолитик анемия муаммоси, унинг эпидемиологик хусусиятлари, кўзгатувчи омиллар, касалликнинг патогенези ва аутоиммун гемолитик анемия ривожланишига олиб келадиган ташаббускор жараёнларни амалга оширишда генетик омилларнинг иштирокини таҳлил қилиш бўйича замонавий тадқиқот натижалари келтирилган. Қўшимча тадқиқотларни талаб

қиладиган касалликнинг иммуногенези нуқтаи назаридан ягона ечимни топпаган масалалар алоҳида акс эттирилган.

Диссертациянинг «**Аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник-лаборатор ва молекуляр-генетик жиҳатлари**» иккинчи боби клиник материални тавсифлашга ва илмий ишда қўлланиладиган асосий лаборатория, молекуляр биологик ва статистик усулларни тавсифлашга бағишланган.

Илмий тадқиқотлар 2018 йилдан 2023 - йилгача РИГИАТМ (Тошкент шаҳри) да диагностика ёрдами ва даволаш учун қабул қилинган АИГА билан касалланган 93 нафар беморни (эркаклар – 47.3%, аёллар – 52.7%) ва аутоиммун касалликлар тарихи бўлмаган, жинси ва ёши бўйича беморлар гуруҳи билан таққослаш мумкин бўлган 97 нафар соғлом донорларни комплекс текшириш орқали амалга оширилган.

АИГА диагностикаси гемолиз белгилари ва антиглобулин тестини аниқлаш билан клиник ва лаборатория натижаларига кўра амалга оширилди.

РИГИАТМ га қилинган муружат бўйича, беморлар 18 ёшдан 80 ёшгача (ўртача ёши $41,2 \pm 3,9$ ёш) тасодифий усул билан танланган.

АИГА билан оғриган беморларни танлашда истисно мезонлари лимфопрлифератив касалликлар, ўсмалар ва бошқа бирламчи сабаблар фонида кузатилган иккиламчи АИГА билан касалланган беморлар эди.

Тадқиқот мақсадларига мувофиқ текширилганларнинг барчаси гуруҳларга бўлинди: I гуруҳ - АИГА билан хасталанган беморларнинг асосий гуруҳи (n=93); II гуруҳ - енгил АИГА билан хасталанган беморлар (n=6); III гуруҳ – АИГА нинг ўртача оғирлиги бўлган беморлар (n=49); IV гуруҳ – оғир АИГА билан хасталанган беморлар (n=38); V гуруҳ – соғлом назорат гуруҳи (n=97).

Тадқиқот методологияси клиник (анамнестик маълумотларни таҳлил қилиш, беморни пальпация, перкуссия ва аускультатив усуллар билан умумий текшириш); лаборатор (перифэрик қон кўрсаткичларининг умумий таҳлили, миелограмма, биокимёвий қон текшируви); иммунологик (антиглобулин тести); TNF- α (rs1800629); IL 10 (rs1800872); IL 10 (rs3024491); IL17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) и IL23R (11209026) полиморф генларининг молекуляр генетик таҳлили (стандарт ПЗР); статистик ҳисоблаш усуллари (дастурлар тўплами «OpenEpi 2009, Version 2.3») ўтказишни ўз ичига олади.

Лаборатор тадқиқот усуллари қуйидагиларни аниқлашни ўз ичига олади:
-умумий қон таҳлили кўрсаткичларини: гемоглобин (HGB) концентрацияси, эритроцитлар (RBC), эритроцитлар таркибидаги ўртача гемоглобин таркибининг эритроцитлар индекслари (MCH), эритроцитларнинг ўртача ҳажми (MCV), эритроцитдаги гемоглобиннинг ўртача концентрацияси (MCHC), эритроцитлар анизоситози (RDW) кўрсаткичи, лейкоцитлар (WBC), лейкоцитар формула элементларини «Sysmex, Япония» гематологик автоматик анализаторида «HUMAN, Германия» фирмаси тест тизимларидан фойдаланган ҳолда ҳисоблаш. Ёруғлик микроскопи (LEICA ICC50 E, Германия) ёрдамида

ретикулотситлар сони алоҳида ҳисоблаб чиқилган ва Панчинков аппаратида (Россия) ЭЧТ даражаси аниқланган;

-қон биокимёвий кўрсаткичлари (умумий оқсил, АЛТ, АСТ, билирубин) ва сийдик таҳлили (биокимёвий ярим автоматик «Mindray, Хитой» анализатори ёрдамида «HUMAN, Германия» фирмаси тўпламларидан фойдаланган ҳолда текширилди;

антиглобулин тести (бевосита ва билвосита Кумбс синамалари) антиглобулин Кумбс зардоби ёрдамида қўлда аниқланган.

TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913), IL-17F (rs763780), IL23R (11209026), TGF β (rs 1800471) генларининг полиморф локусларини генотиплаш стандарт SNP - ПЗР ёрдамида амалга оширилди.

ДНК веноз қон лимфоцитларидан ажратиб олинди, унинг тозалиги ва контсентрасияси спектрофотометрда ўлчанди, охирида амплификатсия қилиниб, агароза гелида амплификатсиялар ажратилди, электрофорез учун эса «Хеликон, Россия» фирмасининг горизонтал камераларидан фойдаланилди.

Олинган натижаларни математик қайта ишлаш шахсий компютерда «ОпенЕпи 2009, Вэрсион 2.3» махсус статистик дастурлари ёрдамида амалга оширилди.

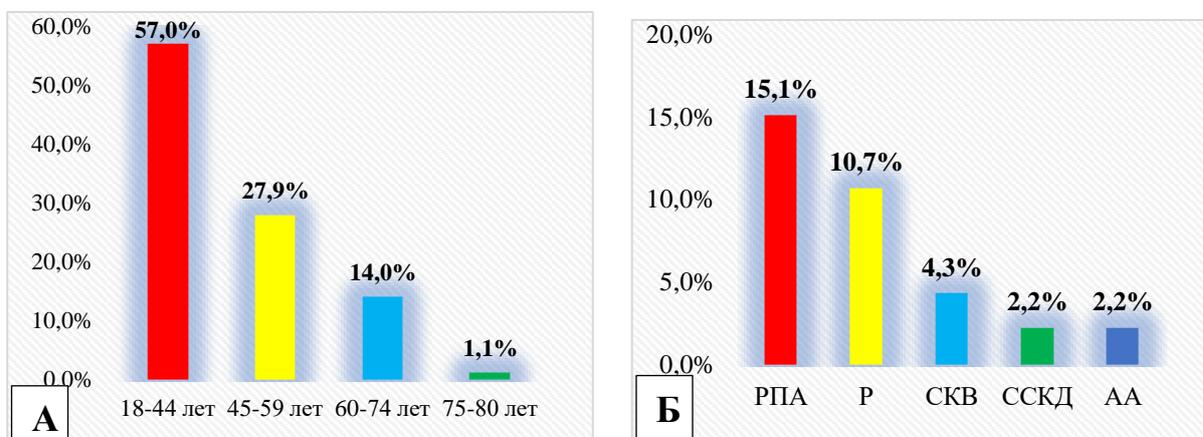
Ген генотипларининг частоталари тақсимотининг Харди-Вайнберг мувозанатидаги кутилган частоталарига мувофиқлиги таҳлили ўтказилди (РХВ, $p > 0.05$); аллеллар ва генотипларнинг нисбатларидаги фарқлар Фишер мезонини (χ^2), ишончлиликни (P), ривожланиш хавфини (OR), ишонч интервали (СИ) аниқлаш орқали ҳисобланди.

Диссертациянинг «Аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник-лаборатор ва молекуляр-генетик жиҳатлари» Аутоиммун гемолитик анемиянинг клиник ва лаборатория кўринишларининг оғирлигини таҳлил қилиш» деб номланган учинчи бобида АИГА клиник кўринишлари ва лаборатория ўзгаришлари натижалари кўрсатилган.

АИГА билан хасталанган беморларнинг асосий гуруҳида жинс таркиби аниқланди: аёллар 52,7% (49) ва эркаклар 47,3% (44). Қабул пайтида беморларнинг ёшини баҳолашда беморларнинг аксарияти 18 ёшдан 59 ёшгача бўлганлиги аниқланди, бу ЖССТ бўйича ёш таснифига кўра, 18 ёшдан 59 ёшгача бўлган ёш (57%) ва ўрта ёшдаги (27,9%) одамлар гуруҳига тўғри келади. Бундан ташқари, 60 ёшдан 74 ёшгача бўлган ёшнинг ўсиши билан касалликнинг даражаси 14% гача пасайишни бошлайди ва қариликда (75-80 ёш) энг паст 1,1%га етади. Ёшликдаги ва ўрта ёшдаги касалликнинг юқори даражаси, эҳтимол, ёшлик даврида тананинг гормонал ҳолатининг энг катта фаоллиги ва ўрта ёшдаги гормонал узилишлар билан боғлиқ. Ўз навбатида, кекса ва қарилик даврида касалланиш даражасининг кескин камайиши, эҳтимол, паст гормонал фаоллик билан боғлиқ (1А-расмга қаранг).

АИГА билан хасталанган беморларнинг анамнестик маълумотлари таҳлил қилиниб, қариндошларининг 32,3% (30) турли хил аутоиммун касалликларга эга эканлиги аниқланди. Жумладан, ушбу касалликлар рўйхати

орасида 12,9% (12) да ревматоид полиартрит (РПА), 10,7% (10) да ревматизм (Р), 4,3% (4) да тизимли қизил югурук (ТҚЮ), 2,2% (2) да аутоиммун аллопеция (АА) ва тизимли склеродерма (ТС) 2,2% (2) ҳолларда аниқланган (1Б-расмга қаранг).



1А-расм. Ёшга қараб АИГА ни рўйхатга олиш даражаси (ЖССТ маълумотларига кўра). Б. АИГА билан хасталанган беморларнинг қариндошлари орасида аутоиммун патологияларнинг мавжудлиги

Шу билан бирга, АИГА билан хасталанган беморларнинг кўпчилигида (67,7/63) анамнезида аутоиммун патологиялар аниқланмади.

Бундан ташқари, беморларда АИГА бошланишининг табиати таҳлил қилинганда, касалликнинг ўткир бошланиши ҳолатлари 29,0% (27) ни ташкил этди, 5-14 кун ичида умумий аҳволнинг кескин тез ёмонлашиши билан намоён бўлди. Тадқиқот учун танланган беморларнинг кўп қисмида (71,0%/66) касаллик сурункали бошланган, касаллик белгилари бир ойдан икки ойгача аста-секин ривожланган, бу кўпинча беморларни ўртача (52,7%/49) ва оғир (11,8%/11) анемия билан мурожат қилишлари учун хизмат қилган, улар орасида фақат 6 нафари (6,4%) га касалликнинг енгил шаклига ташхис қўйилган.

1-жадвал

Тадқиқот гуруҳларида умумий қон таҳлил кўрсаткичларининг ҳолатини баҳолаш, (М±м)

Кўрсаткичлар	Соғлом, назорат гуруҳ, n=97	АИГА билан асосий гуруҳ, n=93	I даражали АИГА, n=6	II даражали АИГА, n=49	III даражали АИГА, n=38
Нв, г/л	137,2±2,1	73,8±1,5	100,0±2,5	82,1±0,8**	59,0±1,5***
эритроцит (x10 ¹² /л)	5,1±0,4	2,3±0,07	3,4±0,2	2,8±0,04*	1,6±0,04**
ретикулоцитлар (%)	1,2±0,001	33,0±1,7	8,2±0,8***	26,6±1,4***	45,3±1,9***
MCV (фл)	87,2±2,3	114,2±1,2	97,3±2,8	112,4±1,4*	119,3±1,8*
MCH (пг)	28,1±0,7	28,1±0,6	29,2±2,3	31,3±0,6	23,9±0,9
MCHC (г/%)	35,1±2,2	32,3±0,3	34,4±1,2	32,8±0,4	31,5±0,4
RDW (%)	11,8±0,2	24,2±0,6*	16,0±1,4	21,2±0,4*	29,4±0,8**
ЭЧТ, мм/соат	7,4±1,1	38,2±1,3***	18,3±3,9*	38,0±1,4***	41,7±2,1***

Изоҳ: *- назорат гуруҳи билан солиштирганда фарқларнинг ишончилиги: * -P<0,05; ** -P<0,01; ***-P<0,001.

Аутоиммун гемолитик анемия ташхиси ва оғирлигини аниқлашнинг якуний текширувида ҳал қилувчи ташхислаш усули қуйидаги лаборатор кўрсаткичларини аниқлашни ўз ичига олган.

Беморларнинг умумий гуруҳида УКҚТ кўрсаткичларининг ҳолатини баҳолашда барча кўрсаткичларнинг ўртача статистик даражаларига эътибор қаратилди.

Беморларнинг умумий гуруҳида гемоглобин кўрсаткичларига кўра ўртача оғирликдаги камқонлик анемия аниқланди, олинган натижалар соғлом шахслардаги кўрсаткичлар билан солиштирилганда 1,86 маротаба паст бўлди ва ишончли фарқ кузатилди ($p < 0.05$). Ушбу кўрсаткич эритроцитларнинг гемолизи туфайли камайди, бу эса ўз навбатида назорат гуруҳига нисбатан эритроцитлар сонининг ҳам 2,2 баравар камайишига олиб келди.

Шу билан бирга, муҳим ташхисий меъзон ҳисобланган ретикулоцитларнинг мавжудлиги асосий гуруҳда назорат гуруҳига нисбатан 27.5 маротаба баланд бўлди ва юқори ишончли фарқ аниқланди. ЭЧТ даражаси сезиларли даражада 5,2 баравар ошди.

АИГА билан оғирган беморларнинг оғирлик даражасига кўра УКҚТ ўзгаришларининг табиатини таҳлил қилганда, енгил оғирликдаги беморлар орасида табиий равишда минимал силжишлар аниқланди.

Енгил АИГА билан хасталанган беморлар гуруҳида гемоглобин миқдори ва эритроцитлар сони 1.4 ($P < 0,05$) ва 1.5 ($P < 0,05$) маротаба паст бўлди. Ушбу гуруҳдаги ретикулоцитоз 6,8 баравар юқори ($P < 0,001$), MCV 1,1 маротаба ва RDW 1,4 маротаба бўлди. Енгил даражали беморларда ЭЧТ соғлом шахслар кўрсаткичларидан 2,5 баравар юқори бўлди ($p < 0,001$).

АИГАнинг ўртача оғирлиги бўлган беморларда гемоглобин ва эритроцитларнинг ўртача кўрсаткичлари соғлом одамларга нисбатан мос равишда 1,7 ($p < 0.01$) ва 1,8 баравар ($p < 0.05$) паст бўлди, беморлар орасида ретикулоцитлар медианаси эса 16,0 баравар ($p < 0.001$) кўплиги аниқланган. MCV ва RDW қийматлари 1,3 баравар ва 1,8 бараварга ошди. АИГА нинг ўртача оғирлиги бўлган беморлар орасида ЭЧТ $38,0 \pm 1,4$ м/соатгача кўтарилиб, назорат гуруҳидаги кўрсаткичдан 5,1 баравар ошди ($p < 0.001$).

Оғир АИГА билан оғирган беморлар орасида гемоглобин ва эритроцитлар медианаси соғлом одамларга нисбатан мос равишда 2,3 ($P < 0.01$) ва 3,2 марта ($P < 0.05$) паст бўлган, бу гуруҳда ретикулоцитлар ўртача сони энг юқори $45,3 \pm 1,9\%$ ва назорат гуруҳидан 37,7 баравар кўп ($p < 0.001$) ни ташкил этган.

Табиийки, ушбу беморлар гуруҳида MCV ва RDW медианаларида ҳам янада яққолроқ ўзгаришлар аниқланди, улар соғлом инсонлардан 1,4 баравар ($119,3 \pm 1,8$ фл) ва 2.5 баравар ($29,4 \pm 0,8$ %) га ошди. АИГА нинг оғир даражасида ҳам ЭЧТ нинг ўртача қиймати максимал бўлиб, назорат гуруҳидагидан 5.6 баравар ошди ($P < 0.001$).

Ушбу таҳлилдан ташқари, биз гемоглобин, қизил қон таначалари даражасининг пасайиши ва ретикулоцитлар, MCV, RDW ва ЭЧТ ларнинг кўпайиши ўртасидаги корреляцион алоқаларни ўргандик.

Бундан ташқари, биз эритроцитлар гемолизи тез-тез кузатиладиган бошқа тизимли гематологик касалликларни истисно қилиш учун миелограмма кўрсаткичларини таҳлил қилдик (2-жадвалга қаранг).

Миелограмма натижаларига кўра, бошқа тизимли гематологик касалликларга хос бўлган ўзгаришлар аниқланмади.

2-жадвал

Аутоиммун гемолитик анемияда миелограмма кўрсаткичлари ҳолатини баҳолаш, (M±m)

Кўрсаткичлар	Норма	АИГА билан асосий гуруҳ n =93	И даражали АИГА n =6	ИИ даражали АИГА n=49	ИИИ даражали АИГА n =38
Эритробластлар, %	0,2-1,1	1,02±0,06	0,8±0,2	1,1±0,06	0,9±0,1
Базофил нормобластлар, %	1,4-5,8	4,5±0,2	4,5±0,2	3,9±0,2	5,4±0,4
Полихроматофил нормобластлар, %	8,9-16,9	20,1±0,9	20,7±0,4	19,8±0,6	20,4±1,04
Оксифил нормобластлар, %	0,8-5,6	35,2±0,3 ***	31,2±1,3 ***	34,7±0,5 ***	36,6±0,4 ***
Жами	15,5-26,5	60,82±1,4** *	57,2±2,1 ***	59,5±1,36 ***	63,3±1,94 ***

Изоҳ: *- назорат гуруҳи билан солиштирганда фарқларнинг ишончилиги: * -P<0,05; ** -P<0,01; ***-P<0,001.

Шу билан бирга, АИГА билан оғриган беморларнинг асосий гуруҳида 60,82±1,8% (P<0.001) гача, енгил даражасида 57,2±2, (P<0.001) гача, ўртача ва оғир даражасида мос равишда 59,5±1,36 (P<0.001) ва 63,3±1,94 (P<0.001) гача кизил ўсиқнинг гиперплазияси билан кечадиган нормобластик эритропоэзнинг шакли кузатилди.

Шундай қилиб, нормобластик гематопоез ва эритроид ўсиқнинг гиперплазияси билан тавсифланган натижалар, текширилган беморларда АИГА мавжудлигини исботлади.

АИГА билан касалланган асосий гуруҳдаги беморлар орасида биокимёвий қон таҳлили (БҚТ) даги ўзгаришлар соғлом одамларга нисбатан умумий билирубин миқдорининг, унинг билвосита фраксияси туфайли (61,9±2.2 ммол/л; P<0.001) 82,5±2,7 ммол/л (P<0.001) гача ошиши билан тавсифланган (3-жадвалга қаранг).

Енгил АИГА билан оғриган беморларда соғлом одамларга нисбатан умумий билирубин миқдори ва унинг билвосита улуши 2,4 баравар (P<0.01) ва 2,5 баравар (P<0.01) ошган.

АИГА нинг ўртача оғирлиги бўлган гуруҳда соғлом одамлар билан солиштирганда умумий билирубин миқдори ва унинг билвосита улуши 4,7 баравар (P<0,001) ва 4,6 баравар ошган. (P<0,001).

Нихоят, соғлом одамларга нисбатан оғир АИГА бўлган гуруҳда биокимёвий кўрсаткичлардаги ўзгаришлар энг яққол бўлди ва умумий билирубин миқдори ва унинг билвосита фраксиясини 6,1 баравар (P<0,001) ошди.

АИГА билан хасталанган беморларнинг барча гуруҳларида умумий оксил даражасини баҳолашда нормал қийматлардан оғиш аниқланмади.

Ўртача ва оғир оғирлик даражаси мос равишда ($r=62$) ва ($r=68$) бўлган беморларда умумий билирубин ва гемоглобин қийматлари ўртасида сезиларли корреляцион боғлиқлик аниқланди. Муҳим лаборатор диагностик текшируви беморларнинг барча гуруҳларида бевосита ва билвосита Кумбс антиглобулин синамаларини ўтказиш эди.

3-жадвал

Аутоиммун гемолитик анемия билан хасталанган беморларда биокимёвий қон таҳлил кўрсаткичлари, (М±м)

Кўрсаткичлар	Соғлом, назорат гуруҳи, n=97	АИГА билан асосий гуруҳ, n=93	I даражали АИГА, n=6	II даражали АИГА, n=49	III даражали АИГА, n=38
Умумий оксил, г/л	82,9±3,05	75,4±0,62	82,8±1,2	74,5±0,6	75,5±1,2
Умумий билирубин, (ммол / л)	16,1±1,5	82,5±2,7****	40,0±15,7 **	75,5±3,2 ****	98,3±3,2 ****
Боғланмаган билирубин, (ммол / л)	4,02±0,91	20,6±0,7 ****	9,5±1,02 **	19,3±0,8 ****	24,1±0,8 ****
Боғланган билирубин, (ммол/л)	12,1±1,02	61,9±2,2 ****	29,8±4,3 **	56,2±2,4 ****	74,3±2,9****

Изоҳ: *-назорат гуруҳи билан солиштирганда фарқларнинг ишончлилиги: * - $P<0,05$; ** - $P<0,01$; ****- $P<0,001$.

Шуни таъкидлаш керакки, текширилганларнинг барчасида билвосита синов манфий бўлган. Шу билан бирга, мусбат бевосита Кумбс синови беморларнинг асосий гуруҳида беморларнинг 83,9%да (78), енгил даражали гуруҳда 100%да (6), ўртача даражали гуруҳда 85,7%да (42) ва оғир даражали беморлар орасида мос равишда 78,9%да (30) аниқланди.

Шундай қилиб, текширилган беморларнинг кўпчилигида бевосита Кумбс синови ижобий бўлди, бу уларда иссиқлик антителлари билан АИГА борлигини кўрсатади. Шу билан бирга, асосий гуруҳдаги беморларнинг 16,1 фоизида (15) аниқланган салбий антиглобулин синови ушбу беморларда қизил қон таначаларининг яққол гемолизи билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Диссертациянинг «**TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913), IL-17F (rs763780), IL23R (11209026), TGF β (rs 1800471)** цитокин генларининг полиморф локусларининг аутоиммун гемолитик анемияда тарқалиш хусусиятлари» деб номланган тўртинчи бобида АИГА билан хасталанган беморларда ва соғлом одамларда генетик полиморфизмларнинг хусусиятларини ўрганиш натижалари келтирилган.

Бизнинг тадқиқотимизда АИГА (n=93) бўлган беморларда соғлом (n=97) гуруҳга нисбатан кичик аллел частоталарини тарқалиш хусусиятлари ва TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913), IL-17F (rs763780), IL23R (11209026), TGF β

(rs 1800471) генларининг полиморф вариантларининг ноқулай генотиплари аниқланди. Ўрганилган генлар генотипларининг кузатилган ($H_{обс}$) ва кутилган (H_{exp}) частоталарининг тақсимланиши Ҳардй-Вайнберг мувозанатига ($P>0.05$) мос келди. TNF- α (rs1800629) нинг текширилган гуруҳларда тақсимлаш натижалари 4-жадвалда келтирилган (4-жадвалга қаранг).

4-жадвал

Соғлом ва аутоиммун гемолитик анемия беморлар гуруҳларида ўсима некрози омили TNF- α (rs1800629) генининг полиморфизмининг полиморф локусларининг тарқалиш табиати

Ўрганилган гуруҳлар	Алелларнинг учраши				Генотипларнинг учраши					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
I–АИГА нинг асосий гуруҳи, (n=93)	167	89.8	19	10.2	74	79.6	19	20.4	0	0.0
II–оғир бўлмаган АИГА гуруҳи, (n=55)	103	93.6	7	6.4	48	87.3	7	12.7	0	0.0
III – оғир кечадиган АИГА гуруҳи, (n=38)	64	84.2	12	15.8	26	68.4	12	31.6	0	0.0
IV – соғлом одамларнинг таққослаш гуруҳи, (n=97)	181	93.3	13	6.7	84	86.6	13	13.4	0	0.0

АИГА билан хасталанган беморларнинг асосий гуруҳида ноқулай аллел А нинг частотаси соғлом инсонларникига қараганда 1,6 баравар ($\chi^2=1,5$; $P=0,3$; OR=1,6; СИ: 0,76-3,29) юқори бўлиб, статистик жиҳатдан ишончли даражага етмади. Шу билан бирга, G/A генотипининг частотаси бўйича унинг соғлом инсонларга нисбатан мос равишда 1,7 баравар ($\chi^2=1,7$; $P=0,2$; OR=1,7; СИ: 0,77-3,57) кўпайишида яққол бўлмаган тенденцияси кузатилди.

Оғир бўлмаган АИГА билан хасталанган беморлар гуруҳида қулай ва ноқулай аллеллар (G: $\chi^2<3,84$; $P=0,95$; OR=1,1; СИ: 0,41-2,73 ва А: $\chi^2<3,84$; $P=0,95$; OR=1,1; СИ: 0,37-2,45) ва генотиплар (G/G: $\chi^2<3,84$; $P=0,95$; OR=1,1; СИ: 0,4-2,84 ва G/A: $\chi^2<3,84$; $P=0,95$; OR=0,9; СИ: 0,35-2,52) вариантларини тарқалишида соғлом гуруҳдагиларга нисбатан статистик жиҳатдан сезиларли фарқлар топилмади.

Шу билан бирга, оғир АИГА ривожланиш хавфи бўйича TNF- α (rs1800629) ўсма некрози омили ситокин генининг полиморф локуслари билан боғлиқлик ўрнатилди. (А: $\chi^2=5,4$; $P=0,03$; OR=2,6; СИ: 1,16-5,88 ва G/A: $\chi^2=6,0$; $P=0,03$; OR=3,0; СИ: 1,24-7,16)

Бундан ташқари, ўсма некрози омили TNF- α (rs1800629) ситокин генининг полиморф локусларини тарқалишидаги сезиларли фарқлар энгил ва оғир АИГА билан оғриган беморлар гуруҳлари ўртасида ҳам аниқланган. (А: $\chi^2=4,4$; $P=0,05$; OR=2,8; СИ: 1,06-7,16 ва G/A: $\chi^2=4,9$; $P=0,05$; OR=3,2; СИ: 1,14-8,77)

Шундай қилиб, олинган натижалар TNF- α (rs1800629) полиморфизмининг Ўзбекистонда АИГА шаклланиши ва унинг оғир кечиши хавфини оширишда иштирок этишини исботлайди.

Ўрганилган гуруҳларда IL10 (rs1800872) ситокин генининг тарқалишини таҳлил қилиш натижалари 5-жадвалда келтирилган.

5-жадвал

IL10 (rs1800872) интерлейкин ген полиморфизмининг полиморф локусларининг аутоиммун гемолитик анемия ва соғлом беморлар гуруҳларида тарқалиш табиати

Ўрганилган гуруҳлар	Алелларнинг учраши				Генотипларнинг учраши					
	C		A		C/C		C/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I- АИГА нинг асосий гуруҳи, (n=93)	134	72.1	52	27.9	51	54.8	32	34.4	10	10.8
II – оғир бўлмаган АИГА гуруҳи, (n=55)	87	79.1	23	20.9	35	63.6	17	30.9	3	5.4
III- оғир кечадиган АИГА гуруҳи, (n=38)	47	61.8	29	38.2	16	42.1	15	39.5	7	18.4
IV– соғлом инсонларнинг таққослаш гуруҳи, (n=97)	144	74.2	50	25.8	56	57.7	32	33.0	9	9.3

Цитокин полиморф интерлейкин IL10 (rs1800872) генининг аллеллари ва генотиплари улушларини соғломлар билан солиштирганда, ноқулай А аллели улушининг 1,1 баравар га статистик жиҳатдан аҳамиятсиз ўсиши аниқланди ($\chi^2=0,2$; $P=0,7$; OR=1,1; СИ: 0,71-1,76). АИГА билан оғриган беморларнинг асосий гуруҳидаги гетерозигота C/A ва мутант гомозигота A/A улушлари ҳам, уларнинг соғлом одамлардаги частоталарига нисбатан, статистик аҳамиятга эга бўлмаган ҳолда, 1,1 (C/A.; $\chi^2<3,84$; $P=0,9$; OR=1,1; СИ: 0,58-1,95) ва 1,2 баравар (A/A: $\chi^2=0,1$; $P=0,8$; OR=1,2; СИ: 0,46-3,04) ошди. Шу билан бирга, асосий аллел ва генотип бўйича ўрганилган гуруҳлар ўртасида яна сезиларли фарқлар топилмади ($\chi^2<3,84$; $P>0,05$).

Цитокин полиморф интерлейкин IL10 (rs1800872) генининг тарқалиш хусусиятини соғлом беморларга нисбатан АИГА кечишининг оғирлигига қараб ўрганиш, оғир бўлмаган АИГА да ноқулай аллел А ($\chi^2=0,9$; $P=0,4$; OR=0,8; СИ: 0,43-1,33), гетерозиготалар C/A ($\chi^2=0,1$; $P=0,8$; OR=0,9; СИ: 0,45-1,85) ва мутант вариант A/A ($\chi^2=0,7$; $P=0,5$; OR=0,6; СИ: 0,15-2,15) улушининг ортиши бирликка етиб бормаганлиги аниқланди.

Цитокин полиморф интерлейкин IL10 (rs1800872) генининг оғир АИГА гуруҳи орасида соғлом гуруҳга нисбатан тарқалиш натижаларини таққослаб, ноқулай аллел А улушида ($\chi^2=4,0$; $P=0,05$; OR=1,8; СИ: 1,01-3,11) статистик жиҳатдан ишончли фарқлар мавжудлиги аниқланди.

A/A генотипининг мутант вариантынинг улушига келсак, оғир АИГА билан касалланган гуруҳ орасида унинг 2,2 баравар (18,4% га нисбатан 9,3%; $\chi^2=2,2$; $P=0,2$; OR=2,2; СИ: 0,77-6,31) кўпайиши тенденцияси аниқланди.

Шу билан бирга, ушбу гуруҳлар ўртасида гетерозигота С/А ларнинг тарқалиш улушида (39,5% га нисбатан 33,0%; $\chi^2=0,5$; $P=0,5$; OR=1,3; СИ: 0,61-2,88) статистик жиҳатдан муҳим фарқлар аниқланмади.

Интерлейкин IL10 (rs1800872) генининг энгил ва оғир АИГА бўлган гуруҳлар орасида тарқалишидаги фарқлар даражасини таҳлил қилиб, оғир АИГА касаллиги бўлган беморлар гуруҳида асосий аллел С нинг ҳимоя таъсирининг статистик жиҳатдан сезиларли 2,3 баравар ($\chi^2=6,6$; $P=0,01$; OR=2,3; СИ: 1,22-4,45) ва генотип С/С нинг 2,4 баравар ($\chi^2=4,2$; $P=0,05$; OR=2,4; СИ: 1,04-5,57) пасайиши аниқланди.

АИГА билан хасталанган беморларнинг асосий гуруҳи ва касалликнинг энгил кечиши билан хасталанган беморлар гуруҳидаги цитокин полиморф интерлейкин IL10 (rs1800872) генининг аллеллари ва генотипларининг тарқалиши частотасини соғлом гуруҳдагиларга нисбатан таҳлил қилиш, улар ўртасида статистик жиҳатдан ишонарсиз фарқлар йўқлигини аниқлашга имкон берди ($\chi^2<3,84$; $P>0,05$).

Шу билан бирга, оғир АИГА ва соғлом гуруҳлар орасида ситокин полиморф интерлейкин IL10 (rs1800872) гени бўйича ноқулай аллел А нинг ($\chi^2=4,0$; $P=0,05$) тарқалишида ва мутант гомозигота А/А ($\chi^2=2,2$; $P=0,2$) частотасини ўсиш тенденциясида статистик жиҳатдан ишончли фарқларнинг мавжудлиги IL10 (rs1800872) генининг полиморф локуслари ва оғир АИГА ривожланиш хавфининг мос равишда 1,8 ва 2,2 баравар ошиши ўртасида ассоциатив муносабатлар мавжудлигини кўрсатади. Бундан ташқари, оғир АИГА билан оғирган беморлар гуруҳида оғир бўлмаган гуруҳга нисбатан асосий С аллелининг ҳимоя таъсирининг 2,3 баравар ($\chi^2=6,6$; $P=0,01$; OR=2,3; СИ: 1,22-4,45) ва С/С генотипининг 2,4 баравар ($\chi^2=4,2$; $P=0,05$; OR=2,4; СИ: 1,04-5,57) аниқланган статистик ишонарли пасайиши ўрганилган цитокин полиморф интерлейкин IL10 (rs1800872) генининг АИГА кечишининг оғирлик эҳтимолини оширишдаги аҳамиятини тасдиқлайди.

АИГА нинг асосий гуруҳидаги интерлейкин IL10 (rs1800872) ситокин генининг аллел частоталари ва генотипларининг тарқалиш ҳолатини соғломларга нисбатан баҳолашда аллел частоталари (Г: $\chi^2<3,84$; $P=0,95$; OR=1,0; СИ: 0,59-1,64 ва А: $\chi^2<3,84$; $P=0,95$; OR=1,0; СИ: 0,61-1,7) орасида ҳам ва генотиплар частоталари (Г/Г: $\chi^2<3,84$; $P=0,98$; OR=1,0; СИ: 0,54-1,79; Г/А: $\chi^2<3,84$; $P=0,98$; OR=1,0; СИ: 0,54-1,88; А/А: $\chi^2<3,84$; $P=0,98$; OR=1,0; СИ: 0,25-4,31) орасида ҳам статистик жиҳатдан аҳамиятли қийматларнинг мутлак йўқлиги аниқланди (б-жадвалга қаранг).

Шу билан бирга, интерлейкин IL10 (rs3024491) цитокин полиморф генининг АИГА оғирлигини шакллантиришдаги ролини баҳолаб, унинг йўқлигини исботловчи натижалар ҳам олинган.

АИГА оғирлигини шакллантиришда интерлейкин IL10 (rs3024491) генининг полиморф локусларининг мустақил иштироки йўқлигининг яна бир далили АИГА нинг оғир ва оғир бўлмаган гуруҳлари ўртасида статистик жиҳатдан аҳамиятсиз фарқларнинг мавжудлиги эди ($\chi^2<3,84$; $P>0,05$).

**Аутоиммун гемолитик анемия ва соғлом беморлар гуруҳларида
интерлейкин IL10 (rs3024491) гени полиморфизмининг полиморф
локусларининг тарқалиш хусусияти**

Ўрганилган гуруҳлар	Аллелларнинг учраши				Генотипларнинг учраши					
	Г		А		Г/Г		Г/А		А/А	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I–АИГА нинг асосий гуруҳи, (n=93)	150	80.6	36	19.4	61	65.6	28	30.1	4	4.3
II–оғир бўлмаган АИГА гуруҳи, (n=55)	87	79.1	23	20.9	35	63.6	17	30.9	3	5.5
III–оғир кечадиган АИГА гуруҳи, (n=38)	63	82.9	13	17.1	26	68.4	11	29.0	1	2.6
IV–соғлом инсонларнинг таққослаш гуруҳи, (n=97)	157	80.9	37	19.1	64	66.0	29	29.9	4	4.1

АИГА билан касалланган беморлар ва соғлом одамлар гуруҳларида интерлейкин IL 17A (rs 2275913) гени учун полиморф локусларнинг тарқалиш частоталари қуйида келтирилган (7-жадвалга қаранг).

Цитокин полиморф интерлейкин IL17A (rs2275913) генининг аллеллар ва генотипларни ташишдаги фарқларининг аҳамиятини баҳолаб, беморлар орасида заифлашган А аллелининг нисбати 2,1 баравар ($\chi^2=7,9$; $P=0,01$; OR=2,1; СИ: 1,26-3,58) ва А/А генотипини 6,6 баравар ($\chi^2=3,9$; $P=0,05$; OR=6,6; СИ: 1,02-42,9) статистик жиҳатдан ошганлиги аниқланди.

Бундан ташқари, асосий генотип Г/Г бўйича гуруҳлар ўртасидаги фарқ биттадан кам бўлишига қарамай ($\chi^2=6,3$; $P=0,03$; OR=0,5; СИ: 0,25-0,84), аммо гетерозигота Г/А бўйича беморлар орасида, уни 1,8 баравар ($\chi^2=3,1$; $P=0,1$; OR=1,8; СИ: 0,94-3,27) ошишига нисбатан аниқ тенденцияси кузатилди.

**Яллиғланишга олиб келувчи интерлейкин IL17A (rs2275913) ситокин
гени полиморфизмининг полиморф локусларининг аутоиммун
гемолитик анемия билан касалланган беморлар ва соғлом одамлар
гуруҳларида тарқалиш табиати**

Ўрганилган гуруҳлар	Аллелларнинг учраши				Генотипларнинг учраши					
	Г		А		Г/Г		Г/А		А/А	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I–АИГА нинг асосий гуруҳи, (n=93)	140	75.3	46	24.7	53	57.0	34	36.6	6	6.4
II–оғир бўлмаган АИГА гуруҳи, (n=55)	88	80.0	22	20.0	35	63.6	18	32.7	2	3.7
III–оғир кечадиган АИГА гуруҳи, (n=38)	52	68.4	24	31.6	18	47.4	16	42.1	4	10.5
IV–соғлом одамларнинг таққослаш гуруҳи, (n=97)	168	86.6	26	13.4	72	74.2	24	24.7	1	1.1

Енгил АИГА билан хасталанган беморлар ва соғлом инсонлар гуруҳлари ўртасидаги интерлейкин IL17A (rs2275913) цитокин генининг полиморф локусларидаги фарқларнинг табиатини баҳолашда заифлашган А аллелининг учраш частотасини 1,6 баравар ($\chi^2=2,3$; $P=0,2$; OR=1,6; СИ: 0,87-3,0) ошишига нисбатан заиф тенденцияси аниқланди.

Бунга параллел равишда, асосий G/G ($\chi^2=1,9$; $P=0,2$; OR=0,6; СИ: 0,3-1,24), шунингдек заифлашган G/A ($\chi^2=1,1$; $P=0,3$; OR=1,5; СИ: 0,72-3,06) ва A/A ($\chi^2=1,2$; $P=0,3$; OR=3,6; СИ: 0,37-35,2) генотипларини тарқалишида ўрганилган гуруҳлар орасида статистик жиҳатдан аҳамиятли фарқлар кузатилмади.

Цитокин полиморф интерлейкин IL17A (rs2275913) генининг аллеллар ва генотипларни ташишдаги фарқларининг аҳамиятлилик даражасини таҳлил қилиб, оғир АИГА билан хасталанган беморлар гуруҳида соғлом одамларга нисбатан заифлашган А аллелининг частотасида 3,0 баравар ($\chi^2=12,0$; $P=0,01$; OR=3,0; СИ: 1,61-5,54) статистик жиҳатдан жуда сезиларли ўсиш борлиги аниқланди.

Бундан ташқари, G/A ($\chi^2=3,9$; $P=0,05$; OR=2,2; СИ: 1,01-4,84) ва A/A ($\chi^2=6,9$; $P=0,01$; OR=11,3; СИ: 1,85-68,9) иккала заифлашган генотипларни ташишда статистик жиҳатдан сезиларли фарқлар топилди, уларнинг ташилиши оғир АИГА ривожланиш хавфини мос равишда 2,2 ва 11,3 баравар оширди.

Цитокин полиморф интерлейкин IL17A (rs2275913) генининг аллеллари ва генотипларининг частоталарини оғир ва оғир бўлмаган АИГА гуруҳлар ўртасида таққослаб, А аллелининг ноқулай вариантини ташувчилар орасида касалликнинг оғир кечиши хавфини деярли икки баравар ($\chi^2=3,2$; $P=0,1$; OR=1,9; СИ: 0,95-3,6) ошиш тенденцияси аниқланди.

Шундай қилиб, цитокин полиморф интерлейкин IL17A (rs2275913) генининг аллеллари ва генотипларининг тарқалишидаги фарқларнинг табиатини баҳолаб, уларнинг АИГА шаклланиши хавфи ва унинг оғир кечиши билан сезиларли даражада боғлиқлиги аниқланди.

Интерлейкин IL-17F (rs763780) цитокин генининг полиморфик локусларининг тарқалиш натижалари 8-жадвалда келтирилган.

8-жадвал

Яллиғланишга олиб келувчи интерлейкин IL-17F (rs763780) ситокин гени полиморфизмининг полиморф локусларининг аутоиммун гемолитик анемия билан хасталанган беморлар ва соғлом инсонлар гуруҳларида тарқалиш табиати

Ўрганилган гуруҳлар	Аллелларнинг учраши				Генотипларнинг учраши					
	His		Arg		His/His		His/Arg		Arg/Arg	
	n	%	n	%	N	%	N	%	n	%
I- АИГА нинг асосий гуруҳи, (n=93)	167	89.8	19	10.2	74	79.6	19	20.4	0	0.0
II – оғир бўлмаган АИГА гуруҳи, (n=55)	100	90.9	10	9.1	45	81.8	10	18.2	0	0.0
III- оғир кечадиган АИГА гуруҳи, (n=38)	67	88.2	9	11.8	29	76.3	9	23.7	0	0.0
IV – соғлом инсоннинг таққослаш гуруҳи, (n=97)	183	94.3	11	5.7	86	88.7	11	11.3	0	0.0

Асосий АИГА гуруҳида соғлом гуруҳга нисбатан ўтказилган таҳлил мутант Arg аллелини деярли икки баравар (10,2% га нисбатан 5,7%; $\chi^2=2,7$; $P=0,2$; OR=1,9; СИ: 0,88-4,05) ошиш тенденциясини кўрсатди.

Ушбу хусусиятлар билан бир қаторда, His/Arg гетерозиготасининг частотасида ҳам тенденциясилар мавжудлиги аниқланди, бу беморлар орасида (20.4% га нисбатан 11.3%; $\chi^2=3.0$; $P=0.1$; OR=2.0; СИ: 0.91-4.45) соғломларга нисбатан 2,0 баравар юқори эди.

Интерлейкин IL-17F (rs763780) цитокин генининг полиморф локусларидаги оғир бўлмаган АИГА беморлари ва соғлом одамлар гуруҳлари ўртасидаги фарқларининг табиатини баҳолашда заифлашган Arg аллелининг ($\chi^2=1,3$; $P=0,3$; OR=1,7; СИ: 0,69-4,02) ва His/Arg гетерозиготаларининг ($\chi^2=1,4$; $P=0,3$; OR=1,7; СИ: 0,69-4,37) нисбатларида статистик жиҳатдан сезиларли фарқлар аниқланмади, гарчи уларнинг нисбати соғломларга нисбатан 1,7 баравар ошган бўлса ҳам.

АИГА оғир даражаси билан хастланган беморлар гуруҳидаги цитокин полиморф интерлейкин IL-17F (rs763780) генининг ноқулай аллели (Arg) ва генотиби (His/Arg) ўртасидаги фарқлар соғлом инсонларга нисбатан уларни мос равишда 2,2 ($\chi^2=3,0$; $P=0,1$; OR=2,2; СИ: 0,9-5,52) ва 2,4 баравар ($\chi^2=3,3$; $P=0,1$; OR=2,4; СИ: 0,93-6,32) ошиш тенденциясига эга бўлди.

Шунинг учун интерлейкин IL-17F (rs763780) полиморф гени АИГА ва унинг оғир кечиши хавфини оширишда иштирок этиши мумкинлиги сабабли ушбу патологиянинг ривожланишида рол ўйнайдиган генетик омилдир.

Ўрганилган гуруҳларда интерлейкин IL-17F (rs763780) цитокин генининг полиморф локусларининг тарқалиши 9-жадвалда келтирилган.

9-жадвал

IL23R (rs11209026) нинг I турдаги цитокин рецепторлари гени полиморфизмининг полиморф локусларининг аутоиммун гемолитик анемия билан касалланган беморлар ва соғлом инсонлар гуруҳларида тарқалиш табиати

Ўрганилган гуруҳлар	Аллелларнинг учраши				Генотипларнинг учраши					
	G		A		G / G		G / A		A/A	
	n	%	n	%	N	%	n	%	N	%
I- АИГА нинг асосий гуруҳи, (n=93)	182	97.8	4	2.2	89	95.7	4	4.3	0	0.0
II – оғир бўлмаган АИГА гуруҳи, (n=55)	109	99.1	1	0.9	54	98.2	1	1.8	0	0.0
III- оғир кечадиган АИГА гуруҳи, (n=38)	73	96.0	3	4.0	35	92.1	3	7.9	0	0.0
IV – соғлом инсоннинг таққослаш гуруҳи, (n=97)	191	98.4	3	1.6	94	96.9	3	3.1	0	0.0

Беморларнинг асосий гуруҳида цитокин полиморф интерлейкин IL23R (rs11209026) генининг аллелари ва генотипларини ташишда ноқулай А аллели ($\chi^2=0,2$; $P=0,7$; OR=1,4; СИ: 0,31-6,3) ва гетерозигота Г/А ($\chi^2=0,2$; $P=0,7$; OR=1,4; СИ: 0,31-6,43) генотиби частоталари ўртасида статистик жиҳатдан сезиларли фарқлар топилмади.

Интерлейкин IL23R (rs11209026) цитокин генининг полиморф локусларидаги фарқлар оғир бўлмаган АИГА билан оғриган беморлар ва соғлом одамлар гуруҳлари ўртасида ҳам статистик аҳамиятга эга эмаслиги тавсифланди ($\chi^2 < 3,84$; $P = 0,05$).

Шунинг учун полиморф интерлейкин IL23R (rs11209026) гени АИГА ривожланишига ҳисса қўшадиган мустақил генетик омил сифатида кўриб чиқилмайди.

Муҳокамани яқунлаб, шуни таъкидлаш керакки, тадқиқот натижалари АИГА шаклланиш механизмлари ҳақидаги замонавий қарашларни кенгайтиришга имкон беради. Генетик полиморфизмларнинг таҳлили, хусусан, уларнинг аллел ва генотип вариантларининг частота тақсимооти аҳоли ўртасида АИГА ривожланишига мойилликни ва унинг оғир кечишини, ушбу касалликка чалинган беморларда асоратларни бошқариш ва олдини олишда дифференциал ёндашувни аниқлашга имкон беради.

ХУЛОСАЛАР

«Аутоиммун гемолитик анемия ривожланишининг клиник-лаборатория ва молекуляр-генетик аспектлари» мавзусидаги фалсафа доктори (PhD) диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқот асосида куйидагилар шакллантирилди:

1. Ретикулоцитоз ($r=70$ ва $r=67$) ва ЭЧТ даражаси ($r=61$ ва $r=58$) билан боғлиқ бўлган гемоглобин ва эритроцитларнинг пасайиши кўринишидаги лаборатор кўрсаткичларидаги ўзгаришларнинг оғирлиги, шунингдек ретикулоцитлар концентрациясининг ($r=68$) ошиши билан боғлиқ бўлган гипербилирубинемия аутоиммун гемолитик анемиянинг оғирлиги билан боғлиқлиги аниқланди.

2. TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913) ва IL-17F (rs763780) яллиғланиш жараёни модификатори генларининг полиморф локуслари билан аутоиммун гемолитик анемия ривожланиш хавфи ўртасида боғлиқлик аниқланди. Аутоиммун гемолитик анемия хавфи IL17A (rs2275913) генининг аллел ($\chi^2=7,9$; $P=0,01$) ва генотипининг ($\chi^2=3,9$; $P=0,05$) кам учрайдиган вариантларини ташишда IL17A (rs2275913) ($\chi^2=3,1$; $P=0,1$) ва TNF- α (rs1800629) ($\chi^2=1,7$; $P=0,2$) генлари бўйича гетерозиготаларни ташишдаги каби сезиларли даражада ошади, шунингдек IL-17F (rs763780) гени бўйича заифлашган аллел ($\chi^2=2,7$; $P=0,2$) ва гетерозиготаларни ($\chi^2=3,0$; $P=0,1$) ташишда ҳам касаллик хавфини ошиш тенденцияси мавжуд.

3. Аутоиммун гемолитик анемиянинг оғир кечишининг ривожланиш хавфи TNF- α (rs1800629) (A - $\chi^2=5,4$; $P=0,03$) ва G/A - $\chi^2=6,0$; $P=0,03$); IL10 (rs1800872) (A - $\chi^2=4,0$; $P=0,05$); IL17A (rs2275913) (A - $\chi^2=12,0$; $P=0,01$, G/A - $\chi^2=3,9$; $P=0,05$ ва A/A - $\chi^2=6,9$; $P=0,01$) генларининг полиморф локуслари билан сезиларли даражада боғлиқ. IL10 (rs1800872) (A/A - $\chi^2=2,2$; $P=0,2$) ва IL-17F (rs763780) (Arg- $\chi^2=3,0$; $P=0,1$ ва His/Arg- $\chi^2=3,3$; $P=0,1$) генларининг ноқулай полиморф локусларини ташишда касалликнинг оғир даражасини шаклланиш эҳтимолини ошиш тенденцияси кузатилади.

4. Аутоиммун гемолитик анемиянинг оғир кечишини ривожланиш эҳтимолини оширишда IL10 (rs3024491) ва IL23R (rs11209026) генларининг полиморф локусларининг мустақил иштироки йўқлиги ($\chi^2 < 3.84$; $P > 0.05$) аниқланди.

5. Молекуляр генетик технологиялардан фойдаланишни ҳисобга олган ҳолда, аутоиммун гемолитик анемиянинг ривожланиши ва оғирлигини шаклланишининг ташхислаш ва прогностик мезонлари такомиллаштирилди ва ташхис қўйишнинг дастлабки босқичларида терапевтик тактикани тўғри танлаш ва беморларда ҳаёт сифатини яхшилашга эришиш учун юқори хавфли гуруҳларни табақалаштиришга имкон берди.

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

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

ЖАХОНОВ АЗИЗБЕК ХОЛМИРЗАЕВИЧ

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ АУТОИММУННОЙ
ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ**

14.00.29–Гематология и трансфузиология

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

Ташкент - 2024

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за B2021.1.PhD/Tib1766.

Диссертация выполнена в Ташкентской медицинской академии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице научного совета (www.tma.uz) и информационно-образовательном портале "ZiyoNet" (www.ziynet.uz).

Научный руководитель:

Саидов Аълонур Бахтинурович
доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Махмудова Азиза Джумановна
доктор медицинских наук

Гильдиева Маргарита Сабировна
доктор биологических наук

Ведущая организация:

**Андижанский государственный
медицинский институт**

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2024 г. в ____ часов на заседании Научного совета DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 при Ташкентской медицинской академии (Адрес: 100109, г.Ташкент, Алмазарский район, ул. Фароби, 2. Тел./Факс: (+99878) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрирована, № ____). (Адрес: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Фаробий, 2. Тел./Факс: (+99878) 150-78-14).

Автореферат диссертации разослан « ____ » _____ 2024 года.

(Протокол рассылки № ____ от « ____ » _____ 2024 года)

А.Г. Гадаев

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

Д.А. Набиева

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

Ш.А. Бабажанова

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

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Проблема аутоиммунной гемолитической анемии (ГА) - декомпенсированного приобретенного гемолиза, обусловленного преимущественно образующимися аутоантителами к собственным эритроцитам вызывает особый интерес современных исследователей во всем мире. «...вместе с тем, до конца не раскрытый механизм развития АИГА, позволяющий рассматривать заболевание как многофакторное, в котором особое место отводится как нарушениям иммунной толерантности, так и дизрегуляции генетических компонентов вызывает бурные дискуссии...»¹. Гиперактивация эффекторов иммунной системы, сопровождающаяся нарушением регуляции цитокинов и неэффективной компенсацией эритроидного костномозгового кроветворения приводит к резкому утяжелению состояния больного за счет выраженной гипоксии и гемолитической интоксикации организма, сопровождающиеся различными осложнениями и высокой летальностью. В свою очередь, это требует более глубокого понимания механизмов формирования АИГА на молекулярно-генетическом уровне.

В мире проводятся ряд научных исследований направленных на изучение роли генов-детерминантов в развитии АИГА. В этой связи анализ распределения генов провоспалительных цитокинов TNF- α (rs1800629), IL 10 (rs1800896), IL 10 (rs1800872), IL17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) и и IL23R (11209026) у больных с АИГА; определение роли носительства неблагоприятных генотипов полиморфизмов провоспалительных цитокинов IL 10 (rs1800896), IL 10 (rs1800872), TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) и и IL23R (11209026) в развитии АИГА; оценка значимости этих генов в формировании тяжести течения, ассоциации их с выраженностью клинических и лабораторных проявлений этой патологии имеет отдельное значение.

В нашей стране, в соответствии с требованиями международных стандартов для развития медицинской сферы, предупреждения и снижения осложнений посредством изучения основных механизмов развития и поиска предикторов развития тяжелых форм АИГА реализуются мероприятия по адаптации системы здравоохранения в соответствии с требованиями мировых стандартов. В связи с этим, в соответствие с семью приоритетными направлениями стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы, для поднятия качества медицинского обслуживания населения на новый уровень определены такие задачи, как «...повышение качества оказания квалифицированных услуг населению в первичной медико-санитарной службе...»². Реализация определенных задач позволит повысить уровень современной медицинской помощи в ранней диагностике и прогнозировании развития тяжелых форм АИГА, что позволит снизить показатели нетрудоспособности и летальности от осложнений этой патологии.

¹ Fattizzo B., Barcellini W. Autoimmune hemolytic anemia: causes and consequences //Expert Review of Clinical Immunology. – 2022. – Т. 18. – №. 7. – С. 731-745.

² Указ Президента Республики Узбекистан за №УП-5590 «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан» от 7 декабря 2018 года.

Настоящее диссертационное исследование в определенной степени служит реализации задач, определенных в Указах Президента Республики Узбекистан за № УП-60 от 28 января 2022 года «О стратегии развития нового Узбекистана на 2022-2026 годы», № УП-5590 от 7 декабря 2018 года «О комплексных мерах по коренному совершенствованию системы здравоохранения Республики Узбекистан», в Постановлениях Президента Республики Узбекистан от 20 июня 2017 года за № ПП-3071 «О мерах по дальнейшему развитию специализированной медицинской помощи населению Узбекистана в 2017-2021 годах», в Постановлениях Президента от 10 февраля 2020 года за № ПП-4592 «О мерах по развитию служб гематологии и трансфузиологии в республике Узбекистан, а также дальнейшей поддержке лиц, страдающих онкогематологическими и трудноизлечимыми заболеваниями», в Постановлениях Президента от 27 мая 2021 года за № ПП-5130 «Об усовершенствовании гематологической и онкологической службы населению», а также задач обозначенных в других нормативно-правовых документах касающихся деятельности в данном направлении.

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

Степень изученности проблемы. В настоящее время, в ряде крупных научно-исследовательских центров мира, проводятся исследования направленных на определение причинных факторов и иммуногенеза аутоиммунной гемолитической анемии (Jäger U. et al., 2020; Berentsen S., 2020; Fattizzo V. et al., 2020; Bianco C. et al., 2021; A. Voulgaridou, T.A. Kalfa, 2021). Исследования направленные на поиск не раскрытых механизмов нарушения иммунной толерантности за счет активации комплементарной системы и выработки антител против собственных эритроцитов приводящие к гемолизу при АИГА является приоритетным направлением в ряде крупных научно-исследовательских центрах мира (Neunert C. E., Despotovic J. M., 2019; Murakhovskaya I., 2020; Marina M. A., Rubio M. L., García L. C.; 2023). Тяжесть гемолиза при АИГА и стандартные методы её лечения, зачастую ассоциируются с развитием таких осложнений, как выраженная гипоксия, тромбоз, присоединение инфекции неизбежно снижают качество жизни больных не редко приводя к летальному исходу (Chaparro C. M., Suchdev P. S., 2019; Hemminki K. et al., 2020; Ibrahim I. A. et al., 2022).

Современные научные данные дозывают наличие затруднений в диагностике и лечении различных форм АИГА (Audia S. et al., 2018; Barcellini W., Fattizzo V., Zaninoni A., 2019; Pasquale R. et al., 2021; Al-Kuraishy H. M. et al., 2022). В свою очередь, с патогенетической точки зрения это требует проведение исследований по раскрытию мало известных генетических механизмов имеющих важное значение в формировании АИГА (Hill Q. A., Hill A., Laurentino M. R. et al., 2018; Berentsen S., 2019; Zaninoni A. et al., 2021; Sirianni M. F. M., 2021; Zaninoni A. et al., 2023).

Известно, что в инициации АИГА значительная роль отводится генам-регуляторам иммунного ответа, в связи, с чем на сегодняшний день имеются

достоверные данные о вовлеченности про- и противовоспалительных цитокиновых генов, которые принимают непосредственное участие в процессах регуляции аутоиммунного ответа при АИГА (González-Vicent M. et al., 2018; Neunert C. E., Despotovic J. M., 2019; Ames P. R. J. et al., 2020; Yan K. et al., 2020; Deng J. et al., 2020). Между тем, существующие на сегодня результаты не позволяют сделать однозначных выводов, в связи с чем исследования в этом направлении востребованы и актуальны.

В Узбекистане проведены работы по оценке гуморального иммунитета и эффективности хелаторной терапией у больных талассемией, т.е. наследственной гемолитической анемией (У.У. Рахманова, Д.Н. Сулейманова, 2021, 2022). Более того, в нашей республике ведутся исследования по разработке методов генетической диагностики β -талассемии (Г.Н. Давлатова, Д.Н. Сулейманова, 2022). Однако, исследования в отношении клинико-лабораторных и молекулярно-генетических особенностей АИГА в нашей республике не проводились.

Исходя из вышеизложенного, отсутствие четких пониманий и единых мнений в отношении вклада иммуногенетических факторов в формировании АИГА и тяжести ее течения, высокие показатели осложнений и смертности среди пациентов с АИГА, определяют необходимость проведения новых исследований, т.к. это позволит не только глубже понять иммуногенез заболевания, но и разработать наиболее эффективные способы ранней диагностики и прогноза тяжелого её течения, а также методы профилактики лечения АИГА.

Связь диссертационной работы с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательского плана Ташкентской медицинской академии (2020-2025 гг).

Цель исследования с учетом клинических, лабораторных и молекулярно-генетических особенностей формирования аутоиммунного процесса, усовершенствовать критерии диагностики и разработать способы прогнозирования развития и течения аутоиммунной гемолитической анемии.

Задачи исследования:

провести анализ клинических и лабораторных изменений при аутоиммунной гемолитической анемии, определить их взаимосвязь с тяжестью течения;

оценить роль генов-модификаторов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (TNF- α (rs1800629); IL 10 (rs1800872); IL 10 (rs3024491); IL17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) и IL23R (11209026)) в развитии аутоиммунной гемолитической анемии;

определить вклад исследованных полиморфных генов в повышении риска формирования тяжелого течения аутоиммунной гемолитической анемии;

усовершенствовать способы диагностики и разработать новые критерии прогнозирования развития и тяжести течения аутоиммунной гемолитической анемии.

Объектом исследования явились 190 лиц, из которых 93 были пациенты с АИГА (основная группа), поступившие для диагностики и лечения в

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр Гематологии (РСНПМЦГ) с 2018 по 2022 гг.

Сравниваемая контрольная группа сформирована из 97 здоровых доноров без аутоиммунных патологий в анамнезе.

Предметом исследования явились биологические материалы исследования больных с АИГА: венозная кровь для проведения общего анализа крови, биохимического анализа крови, иммунологических исследований и детекции полиморфных генов (TNF- α (rs1800629), IL 10 (rs1800872), IL 10 (rs3024491), IL17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) и IL23R (11209026)); костный мозг для анализа показателей миелограммы.

Методы исследования. Для реализации задач исследования были использованы клинические, лабораторные (общий анализ крови, миелограмма биохимический анализ крови, иммунологические методы), а также статистические методы анализа полученных результатов.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

установлено, что генетический полиморфизм IL10 (rs3024491) не имеет самостоятельной значимости в развитии и тяжести аутоиммунной гемолитической анемии, тогда как ген IL10 (rs1800872) оказывает самостоятельное влияние на развитие тяжелого течения заболевания;

доказана ассоциативная связь между генами-модификаторами аутоиммунного процесса TNF- α (rs1800629), IL 17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) и развитием АИГА;

доказан независимый рисковый эффект полиморфных локусов генов TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) и IL17F (rs763780) в развитии тяжелого течения аутоиммунной гемолитической анемии;

при аутоиммунной гемолитической анемии полиморфизм (IL) 23R (11209026) не имеет прогностического значения в плане развития и тяжести течения заболевания;

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

в клинической практике наряду со стандартными методами диагностики для ранней диагностики АИГА предложено включить молекулярно-биологические исследования полиморфных генов TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780);

ввиду ассоциированности полиморфных локусов генов TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780) риском формирования тяжести течения АИГА целесообразно использовать их в качестве ранних генетических предикторов;

усовершенствованы критерии прогноза развития и характера течения АИГА, позволяющие своевременно определить группы пациентов с низким и высоким риском развития тяжелого течения заболеваний, что позволяет сократить материальные затраты на лечение больных и улучшить качество их жизни.

Достоверность результатов исследований обосновывается правильностью использованного в работе теоретического подхода, применением адекватных и высокоспецифичных современных методов изучения патогенетических механизмов развития и коррекции аутоиммунной

гемолитической анемии, достаточным числом клинического материала и точностью результатов проведенных анализов, подвергнутых статистической обработке, рациональной оценкой и сопоставлением полученных результатов с зарубежными и отечественными исследованиями.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Теоретическая значимость работы заключается в том, что дана комплексная лабораторная и молекулярно-генетическая оценка механизмов развития и тяжести клинического течения аутоиммунной гемолитической анемии, установлена взаимосвязь между повышенным риском развития, утяжелением течения с полиморфными локусами генов TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780).

Практическая значимость данной работы заключается в том, что на основе комплексного исследования обоснована высокая диагностическая и прогностическая эффективность полиморфных генов TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780) в развитии и тяжести течения АИГА, что в свою очередь позволит снизить частоту тяжелых форм и улучшить качество жизни больных с этим заболеванием.

Внедрение результатов исследования. Согласно заключению Экспертного совета Ташкентской Медицинской Академии от 23 ноября 2023 года № 11-23/84-х:

Первая научная инновация: согласно полученным результатам, раннее выявление роли полиморфных локусов распределения генов IL10 (rs 1800872) и IL10 (rs 3024491) в патогенезе заболевания у пациентов с диагнозом аутоиммунная гемолитическая анемия поможет в правильном лечении. Это экономически эффективно за счет сокращения количества и дней повторных госпитализаций, а также стоимости лечения.

Вторая научная инновация: выявление генов-модификаторов TNF- α (rs 1800629), IL17A (rs 2275913), IL17F (rs 763780) у пациентов с анемией позволяет на ранних стадиях выявлять у них аутоиммунную гемолитическую анемию. Исходя из этого, выбранное эффективное лечение увеличивает среднюю продолжительность жизни больных за счет снижения обострения основного заболевания и инвалидизации, а также обеспечивает экономический эффект за счет снижения количества и дней повторных госпитализаций и затрат на лечение.

Третья научная инновация: согласно полученным результатам, у больных аутоиммунной гемолитической анемией выявлены ФНО- α (rs 1800629), ИЛ10 (rs 1800872), ИЛ17А (rs 2275913); Раннее выявление полиморфных локусов генов ИЛ17F (rs 763780) способствует профилактике осложнений заболевания. Лечение заболевания экономически эффективно за счет сокращения количества и дней повторных госпитализаций больных, а также затрат на лечение до 18 000 000 сум в год.

Четвертая научная инновация: на основе анализа клинико-лабораторных и генетических показателей при аутоиммунной гемолитической анемии, на основе разработки диагностических и прогностических критериев развития и рецидива аутоиммунной гемолитической анемии удалось сократить количество дней стационарного лечения и снизить стоимость лечения. Также за счет

сокращения количества повторных госпитализаций пациентов в течение года будет дополнительно сэкономлено 6 млн сумов с каждого пациента.

«Способ ранней диагностики и прогнозирования формирования аутоиммунной гемолитической анемии и неполного ответа на базисную терапию заболевания» (заключение экспертной комиссии Ташкентской медицинской академии от 23 ноября 2023 г. № 11-23/84-х). Данные методические рекомендации дают возможность предупредить развитие новых случаев аутоиммунной гемолитической анемии, ухудшение ее течения и повышение эффективности лечения заболевания.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 8 научных конференциях, в том числе 4 международных и 4 республиканских научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 5 статей, в том числе 3 в республиканских и 2 в зарубежных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации доктора философии (PhD).

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 120 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ.

Во введении обоснована актуальность и значение, востребованность темы диссертации, сформулированы цель, задачи, объект и предмет исследования, приведено соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, изложены научная новизна и практические результаты исследований, раскрыты теоретическая и практическая значимость полученных результатов, даны сведения по внедрению результатов исследований, по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Аутоиммунная гемолитическая анемия: современный взгляд на проблему**», изложенной в трех разделах, представлены современные результаты исследований о проблеме аутоиммунной гемолитической анемии, ее эпидемиологической характеристике, сведения о причинных факторах, патогенезе заболевания и анализу участия генетических факторов в реализации инициативных процессов, приводящих к развитию аутоиммунной гемолитической анемии. Отдельно отражены вопросы, не нашедшие единого решения в плане иммуногенеза заболевания, требующие дополнительных исследований.

Вторая глава диссертации «**Клинический материал и методологические подходы в исследовании**» посвящена характеристике клинического материала и описанию основных лабораторных, молекулярно-биологических и статистических методов, примененных в научной работе.

Научное исследование осуществлялось путем проведения комплексного обследования 93 больных (мужчин - 47,3%, женщины - 52,7%) с АИГА,

поступивших с 2018 по 2023 гг для диагностической помощи и лечения в РСНПМЦГ (г. Ташкент) и 97 - здоровых доноров без аутоиммунных заболеваний в анамнезе, которые были сопоставимы по полу и возрасту с группой больных.

Диагностику АИГА проводили согласно клиническим и лабораторным результатам с определением признаков гемолиза и антиглобулинового теста.

По мере обращения в РСНПМЦГ больные отбирались в возрасте от 18 до 80 лет (медиана возраста $41,2 \pm 3,9$ лет) случайным методом.

Критериями исключения при отборе больных с АИГА были пациенты со вторичной АИГА, наблюдавшиеся на фоне лимфопролиферативных нарушений, злокачественных новообразований и других первичных причин.

Все обследованные в соответствии с поставленными задачами исследования распределены по группам:

I -я группа – основная группа больных с АИГА (n=93);

II -я группа –больные с легкой степенью тяжести АИГА (n=6);

III -я группа – больные со средней степенью тяжести АИГА (n=49);

IV -я группа – больные с тяжелой степенью тяжести с АИГА (n=38);

V - я группа – контрольная здоровая (n=97).

Методология исследования включала проведение клинических (анализ анамнестических данных, общий осмотр больного с проведением пальпаторных, перкуторных и аускультативных методов); лабораторных (общий анализ показателей периферической крови, миелограмма, биохимический анализ крови); иммунологических (антиглобулиновый тест); молекулярно-генетический анализ полиморфных генов TNF- α (rs1800629); IL 10 (rs1800872); IL 10 (rs3024491); IL17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) и IL23R (11209026) (стандартная ПЦР); методы статистических расчётов (пакет программ «OpenEpi 2009, Version 2.3»).

Лабораторные методы исследования включали определение:

- показателей общего анализа крови с подсчетом концентрации гемоглобина (Hb), эритроцитов (RBC), эритроцитарных индексов среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH), среднего объема эритроцитов (MCV), средней концентрации гемоглобина в эритроците (MCHC), показателя анизоцитоза эритроцитов (RDW), лейкоцитов (WBC), элементов лейкоформулы на гематологическом автоматическом анализаторе «Sysmex, Япония» с использованием тест-систем фирмы «HUMAN, Германия». Отдельно подсчитывалось количество ретикулоцитов с помощью световой микроскопии (LEICA ICC50 E, Германия) и на аппарате Панчинкова (Россия) определялся уровень СОЭ.

- биохимические показатели крови (общий белок, АЛТ, АСТ, билирубин) и мочи (биохимический полуавтоматический анализатор «Mindray, Китай» используя наборы фирмы «HUMAN» (Германия).

- антиглобулинового теста (прямая и непрямая пробы Кумбса) с помощью антиглобулиновой сыворотки Кумбса ручным методом.

Генотипирование полиморфных локусов генов выполнялось с помощью стандартной SNP - ПЦР. ДНК выделяли из лимфоцитов венозной крови, с

измерением её чистоты и концентрации на спектрофотометре, с последующей амплификацией, детекцией амплификатов в агарозном геле с использованием для электрофореза горизонтального камер фирмы «Хеликон, Россия».

Математическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с помощью специальных статистических программ «OpenEpi 2009, Version 2.3».

Проведен анализ соответствия распределения наблюдаемых частот генотипов генов к их ожидаемым частотам при равновесии Харди-Вайнберга (РХВ, $p > 0.05$); различия в долях аллелей и генотипов рассчитаны с помощью определения критерия Фишера (χ^2), достоверности (P), риска развития (OR), интервала доверия (ДИ).

В третьей главе диссертации «Анализ тяжести клинических и лабораторных проявлений аутоиммунной гемолитической анемии» показаны результаты клинических проявлений и лабораторных изменений при АИГА.

В основной группе больных с АИГА определен гендерный состав: пациенты женского пола составили 52,7% (49), а мужского 47,3% (44).

Оценивая возраст больных при поступлении выявлено, что большая часть больных обращалась в возрасте от 18 до 59 лет, что согласно возрастной классификации по ВОЗ, соответствует группе людей молодого (57%) и среднего возраста (27,9%) от 18 до 59 лет. Далее с увеличением возраста, начиная с 60 до 74 лет частота заболевания начинает снижаться до 14% достигая своего минимума 1,1% в старческом возрасте (75-80 лет) (смотрите Рисунок 1А).

Анализируя анамнестические данные больных с АИГА установлено, что у 32,3% (30) среди родственников имелись различные заболевания аутоиммунного характера. В частности, среди этого перечня заболеваний в 12,9% (12) выявлялось наличие ревматоидного полиартрита (РПА), в 10,7% (10) ревматизма (Р), в 4,3% (4) системной красной волчанки (СКВ), аутоиммунной алопеции (АА) в 2,2% (2) и системной склеродермии (ССКД) в 2,2% (2) случаях (смотрите Рисунок 1.Б).

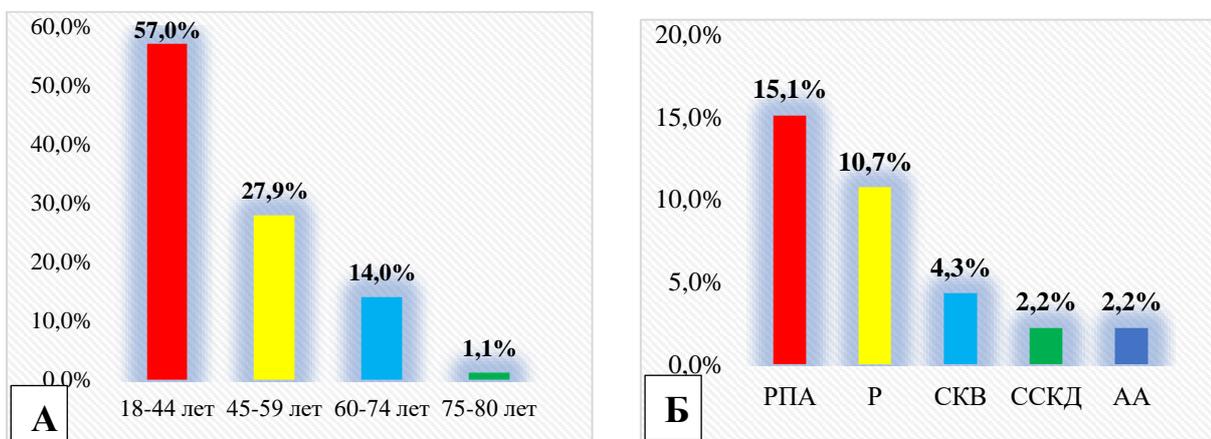


Рис. 1.А. Частота регистрации АИГА в зависимости от возраста (по ВОЗ) и Б. наличие аутоиммунных патологий среди родственников больных с АИГА

Между тем, у большего числа больных с АИГА (67,7/63) в анамнезе не было выявлено наличие каких-либо патологий аутоиммунного характера.

Далее, анализируя характер начала АИГА среди больных случаи острого начала заболевания составили 29,0% (27) проявлялись внезапным быстрым ухудшением общего самочувствия в течение 5-14 дней. У большего же числа больных (71,0%/66), отобранных для исследования, заболевание имело хроническое начало, т.е. симптомы заболевания развивались постепенно в течение одного – двух месяцев, что и послужило в большей части обращению больных со среднетяжелой (52,7%/49) и тяжелой степенью (11,8%/11) анемии, среди которых всего лишь у 6 (6,4%) была диагностирована легкая степень тяжести заболевания.

Решающим диагностическим методом в окончательной верификации диагноза и определении степени тяжести аутоиммунной гемолитической анемии послужили лабораторные исследования.

Оценивая состояние показателей ОКАК в общей группе больных проводилась ориентация на средние статистические уровни всех показателей.

Таблица 1

Оценка статуса показателей ОКАК в группах обследованных, (M±m)

Показатели	Здоровый контроль, n=97	Основная группа АИГА, n=93	I ст АИГА, n=6	II ст АИГА, n=49	III ст АИГА, n=38
Нв, г/л	137,2±2,1	73,8±1,5	100,0±2,5	82,1±0,8**	59,0±1,5***
RBC (x10 ¹² /л)	5,1±0,4	2,3±0,07	3,4±0,2	2,8±0,04*	1,6±0,04**
Ретикулоциты (%)	1,2±0,001	33,0±1,7	8,2±0,8***	26,6±1,4***	45,3±1,9***
MCV (фл)	87,2±2,3	114,2±1,2	97,3±2,8	112,4±1,4*	119,3±1,8*
MCH (пг)	28,1±0,7	28,1±0,6	29,2±2,3	31,3±0,6	23,9±0,9
MCHC (г/%)	35,1±2,2	32,3±0,3	34,4±1,2	32,8±0,4	31,5±0,4
RDW (%)	11,8±0,2	24,2±0,6*	16,0±1,4	21,2±0,4*	29,4±0,8**
СОЭ, мм/ч	7,4±1,1	38,2±2,3***	18,3±3,9*	38,0±1,4***	41,7±2,1***

Примечание: *- достоверность различий по сравнению с контролем: * -P<0.05; ** -P<0.01; *** -P<0.001.

В общей группе больных по уровню концентрации гемоглобина выявлено наличие среднетяжелой степени анемии, при этом концентрация этого показателя по сравнению со здоровыми снижалась статистически достоверно в 1,86 раза (P<0.05). Данный показатель снижался за счет гемолиза эритроцитов, сопровождавшееся снижением их количества по отношению к контролю в 2,2 раза (P<0.01). В то же время ключевым диагностическим показателем служило наличие выраженного ретикулоцитоза в группе больных, который оказался статистически достоверно выше, чем в контроле в 27,5 раза (P<0.001). В группе с АИГА, как признак аутоиммунного процесса, повышался уровень СОЭ в 5,2 раза (P<0.001).

Более того, весь спектр выявленных изменений сопровождался анизохромией, пойкилоцитозом и анизоцитозом эритроцитов.

Анализируя характер изменений в ОКАК больных с АИГА в зависимости от степени тяжести, закономерно минимальные сдвиги обнаруживались среди больных с легкой степенью тяжести.

В группе больных с легкой степенью тяжести АИГА концентрация гемоглобина и число эритроцитов снижались в 1,4 ($P<0.05$) и 1,5 раза ($P<0.05$). Ретикулоцитоз статистически достоверно оказался выше контрольного уровня в 6,8 раза ($P<0.001$), наблюдалось увеличение MCV в 1,1 раза и RDW в 1,4 раза. СОЭ среди больных с легкой степенью превышала аналогичный показатель среди здоровых в 2,5 раза ($P<0.001$) (смотрите Таблицу 1).

Среди больных со средней степенью тяжести АИГА средние значения гемоглобина и эритроцитов по сравнению со здоровыми оказались ниже в 1,7 ($P<0.05$) и 1,8 раза ($P<0.05$) соответственно, тогда как медиана ретикулоцитов среди больных увеличивалась в 22,2 раз ($P<0.001$). Средние показатели MCV и RDW увеличивались в 1,3 раза () и 1,8 раза (). Между тем, медиана СОЭ среди больных со средней степенью тяжести АИГА повышалась до $38,0\pm 1,4$ мм/ч, превышая аналогичный в контроле в 5,1 раза ($P<0.001$) (смотрите Таблицу 1).

Среди больных тяжелой степенью тяжести АИГА медиана гемоглобина и эритроцитов по сравнению со здоровыми была ниже в 2,3 ($P<0.01$) и 3,2 раза ($P<0.05$) соответственно, при том, что медиана ретикулоцитов среди этой группы была максимальной и составила $45,3\pm 1,9\%$, превышая аналогичный в контроле в 37,7 раза ($P<0.001$).

Закономерно, в этой группе больных обнаружены более выраженные изменения и в медиане MCV и RDW, которые превышали таковые среди здоровых в 1,4 раза ($119,3\pm 1,8$ фл) и 2,5 раза ($29,4\pm 0,8$ %). Среднее значение СОЭ при тяжелой степени АИГА также оказалось максимальным и превышала аналогичный в контроле в 5,6 раза ($P<0.001$).

Помимо этого анализа нами проведено изучение корреляционных связей между снижением уровней гемоглобина, эритроцитов и повышением ретикулоцитов, MCV, RDW и СОЭ.

Далее, нами проведен анализ показателей миелограммы, для исключения других системных гематологических заболеваний, при которых нередко наблюдается гемолиз эритроцитов (смотрите Таблицу 2).

Таблица 2

Оценка статуса показателей миелограммы при АИГА, ($M\pm m$)

Показатели	норма	Основная группа с АИГА, n=93	I степень АИГА, n=6	II степень АИГА, n=49	III степень АИГА, n=38
Эритробласты, %	0,2-1,1	$1,02\pm 0,06$	$0,8\pm 0,2$	$1,1\pm 0,06$	$0,9\pm 0,1$
Нормобласты базофильные, %	1,4-5,8	$4,5\pm 0,2$	$4,5\pm 0,2$	$3,9\pm 0,2$	$5,4\pm 0,4$
Нормобласты полихроматофильные, %	8,9-16,9	$20,1\pm 0,9$	$20,7\pm 0,4$	$19,8\pm 0,6$	$20,4\pm 1,04$
Нормобласты оксифильные, %	0,8-5,6	$35,2\pm 0,3$ ***	$31,2\pm 1,3$ ***	$34,7\pm 0,5$ ***	$36,6\pm 0,4$ ***
Всего	15,5-26,5	$60,82\pm 1,4$ ***	$57,2\pm 2,1$ ***	$59,5\pm 1,36$ ***	$63,3\pm 1,94$ ***

Примечание: * - достоверность различий по сравнению с нормой: * - $P<0.05$; ** - $P<0.01$; *** - $P<0.001$.

По результатам миелограммы изменений характерных для других системных гематологических заболеваний не обнаружено.

Между тем, наблюдалась картина нормобластического эритропоэза, сопровождавшаяся гиперплазией красного ростка в основной группе больных с АИГА до $60,82 \pm 1,4\%$ ($P < 0.001$), в группе больных с легкой степенью тяжести до $57,2 \pm 2,1\%$ ($P < 0.001$), в группах больных со средней и тяжелой степенями тяжести до $59,5 \pm 1,36\%$ ($P < 0.001$) и $63,3 \pm 1,94\%$ соответственно.

Таким образом, результаты характеризовавшиеся нормобластическим кроветворением и гиперплазией эритроидного ростка послужили доказательством наличия АИГА у обследованных больных.

Изменения в биохимическом анализе крови (БАК) среди больных основной группы с АИГА по сравнению со здоровыми характеризовались повышением количества общего билирубина до $82,5 \pm 2,7$ ммоль/л ($P < 0.001$) за счет непрямого его фракции ($61,9 \pm 2,2$ ммоль/л; $P < 0.001$) (смотрите Таблицу 3).

Таблица 3

Показатели БАК у пациентов с АИГА, (M±m)

Показатели	Здоровый контроль, n=97	Основная группа с АИГА, n=93	I степень АИГА, n=6	II степень АИГА, n=49	III степень АИГА, n=38
Общий белок, г/л	$82,9 \pm 3,05$	$75,4 \pm 0,62$	$82,8 \pm 1,2$	$74,5 \pm 0,6$	$75,5 \pm 1,2$
Билирубин общий, (ммоль/л)	$16,1 \pm 1,5$	$82,5 \pm 2,7$ ***	$40,0 \pm 15,7$ **	$75,5 \pm 3,2$ ***	$98,3 \pm 3,2$ ***
Прямой билирубин, (ммоль/л)	$4,02 \pm 0,91$	$20,6 \pm 0,7$ ***	$9,5 \pm 1,02$ **	$19,3 \pm 0,8$ ***	$24,1 \pm 0,8$ ***
Непрямой билирубин, (ммоль/л)	$12,1 \pm 1,02$	$61,9 \pm 2,2$ ***	$29,8 \pm 4,3$ **	$56,2 \pm 2,4$ ***	$74,3 \pm 2,9$ ***

Примечание: *- достоверность различий по сравнению со здоровыми: * - $P < 0.05$; ** - $P < 0.01$; *** - $P < 0.001$.

Среди больных с легкой степенью тяжести АИГА по сравнению со здоровыми количество общего билирубина и непрямого его фракции было увеличено в 2,4 раза ($P < 0.01$) и в 2,5 раза ($P < 0.01$).

В группе со средней степенью тяжести АИГА по сравнению со здоровыми количество общего билирубина и непрямого его фракции повышалось в 4,7 раз ($P < 0.001$) и 4,6 раз ($P < 0.001$) соответственно.

И, наконец, в группе с тяжелой степенью тяжести АИГА по сравнению со здоровыми изменения со стороны биохимических показателей были максимально выраженные и характеризовались увеличением количества общего билирубина и непрямого его фракции повышалось в 6,1 раза ($P < 0.001$) соответственно.

Оценивая уровень общего белка во всех группах больных с АИГА не выявлено его отклонения от нормальных величин.

Значимая корреляционная связь была обнаружена между значениями общего билирубина и гемоглобина среди больных со средней и тяжелой степенями тяжести ($r=62$) и ($r=68$) соответственно.

Важным лабораторным диагностическим тестом было и проведение прямой и непрямой антиглобулиновых проб Кумбса во всех группах больных.

Важно подчеркнуть, что непрямая проба у всех обследованных была отрицательной. При этом, в основной группе больных положительная прямая проба Кумбса определялась у 83,9% (78) больных, в группе с легкой степенью у 100% (6), в группе со средней степенью у 85,7% (42) и среди больных с тяжелой степенью тяжести у 78,9% (30) больных соответственно.

Таким образом, прямая проба Кумбса была положительной у большинства обследованных больных, что свидетельствует о наличии у них АИГА с тепловыми антителами. Между тем, установленный в целом у 16,1% (15) больных в основной группе отрицательный прямой антиглобулиновый тест возможно был связан с выраженным гемолизом эритроцитов у этих больных.

В четвертой главе диссертации «**Особенности распределения полиморфных локусов генов цитокинов TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913), IL-17F (rs763780), IL23R (11209026), TGF β (rs 1800471) при АИГА**» представлены результаты изучения особенностей генетических полиморфизмов у пациентов с АИГА и здоровых лиц.

В нашем исследовании у пациентов с АИГА (n=93) по сравнению с группой здоровых (n=97) были выявлены особенности распределения частот минорных аллелей и неблагоприятных генотипов полиморфных вариантов генов TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913), IL-17F (rs763780), IL23R (11209026), TGF β (rs 1800471). Распределение наблюдаемых (H_{obs}) и ожидаемых (H_{exp}) частот генотипов изученных генов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0.05$).

Результаты распределения TNF- α (rs1800629) в обследованных группах представлены в Таблице 4 (смотрите Таблицу 4).

Таблица 4

Характер распределения полиморфных локусов полиморфизма гена фактора некроза опухоли TNF- α (rs1800629) в группах больных с АИГА и здоровых

Обследованные группы	Встречаемость аллелей				Встречаемость генотипов					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-я основная группа АИГА, (n=93)	167	89.8	19	10.2	74	79.6	19	20.4	0	0.0
II – я группа АИГА с не тяжелым течением, (n=55)	103	93.6	7	6.4	48	87.3	7	12.7	0	0.0
III-я группа АИГА с тяжелым течением, (n=38)	64	84.2	12	15.8	26	68.4	12	31.6	0	0.0
IV – я сравниваемая группа здоровых, (n=97)	181	93.3	13	6.7	84	86.6	13	13.4	0	0.0

В основной группе больных с АИГА частота неблагоприятного аллеля А оказалась выше аналогичной среди здоровых в 1.6 раза ($\chi^2=1.5$; $P=0.3$; $OR=1.6$; ДИ: 0.76-3.29) не достигая статистически достоверного уровня. В

то же время со стороны частоты генотипа G/A наблюдалась не выраженная тенденция к ее увеличению по сравнению со здоровыми в 1.7 раза ($\chi^2=1.7$; P=0.2; OR=1.7; ДИ: 0.77-3.57) соответственно.

В группе больных с не тяжелым течением АИГА в распределении благоприятных и неблагоприятных вариантов аллелей (G: $\chi^2<3.84$; P=0.95; OR=1.1; ДИ: 0.41-2.73 и A: $\chi^2<3.84$; P=0.95; OR=1.1; ДИ: 0.37-2.45) и генотипов (G/G: $\chi^2<3.84$; P=0.95; OR=1.1; ДИ: 0.4-2.84 и G/A: $\chi^2<3.84$; P=0.95; OR=0.9; ДИ: 0.35-2.52) по сравнению к аналогичным в здоровой группе не обнаружено статистических значимых различий.

Однако, в отношении риска формирования тяжелого течения АИГА установлена ассоциация с полиморфными локусами (аллель A: $\chi^2=5.4$; P=0.03; OR=2.6; ДИ: 1.16-5.88 и генотип G/A: $\chi^2=6.0$; P=0.03; OR=3.0; ДИ: 1.24-7.16) цитокинового гена фактора некроза опухоли TNF- α (rs1800629).

Более того, достоверно значимые различия в распределении полиморфных локусов изученного гена установлены и в группе больных с тяжелым течением АИГА по сравнению с не тяжелым течением (A: $\chi^2=4.4$; P=0.05; OR=2.8; ДИ: 1.06-7.16) и гетерозиготы (G/A: $\chi^2=4.9$; P=0.05; OR=3.2; ДИ: 1.14-8.77).

Таким образом, полученные результаты доказывают участие полиморфизма TNF- α (rs1800629) в повышении риска формирования АИГА и тяжелого его течения в Узбекистане.

Результаты анализа распределения цитокинового гена интерлейкина IL10 (rs1800872) в обследованных группах представлены в Таблице 5 (смотрите Таблицу 5).

Таблица 5

Характер распределения полиморфных локусов полиморфизма гена интерлейкина IL10 (rs1800872) в группах больных с АИГА и здоровых

Обследованные группы	Встречаемость аллелей				Встречаемость генотипов					
	C		A		C/C		C/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-я основная группа АИГА, (n=93)	134	72.1	52	27.9	51	54.8	32	34.4	10	10.8
II – я группа АИГА с не тяжелым течением, (n=55)	87	79.1	23	20.9	35	63.6	17	30.9	3	5.4
III-я группа АИГА с тяжелым течением, (n=38)	47	61.8	29	38.2	16	42.1	15	39.5	7	18.4
IV – я сравниваемая группа здоровых, (n=97)	144	74.2	50	25.8	56	57.7	32	33.0	9	9.3

Сравнивая в основной группе с АИГА доли аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL10 (rs1800872) к аналогичным среди здоровых определено статистически недостоверное повышение доли неблагоприятного A аллеля в 1.1 раза ($\chi^2=0.2$; P=0.7; OR=1.1; ДИ: 0.71-1.76). Доля гетерозиготы C/A и мутантной гомозиготы A/A в основной группе больных с АИГА по сравнению с их частотами среди здоровых также не имея статистически достоверного характера превышали в 1.1 ($\chi^2<3.84$; P=0.9; OR=1.1; ДИ: 0.58-1.95) и 1.2 раза ($\chi^2=0.1$; P=0.8; OR=1.2;

ДИ: 0.46-3.04). Вместе с этим, со стороны основных аллеля и генотипа между изученными группами значимых различий опять же не было выявлено ($\chi^2 < 3.84$; $P > 0.05$).

Изучая характер распределения цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL10 (rs1800872) в зависимости от тяжести течения АИГА среди группы с тяжелым течением АИГА по отношению к группе здоровых выявлено наличие статистически достоверных различий лишь в доле неблагоприятного аллеля А ($\chi^2 = 4.0$; $P = 0.05$; OR=1.8; ДИ: 1.01-3.11). В отношении доли мутантного варианта генотипа А/А выявлена тенденция к ее увеличению в 2.2 раза ($\chi^2 = 2.2$; $P = 0.2$; OR=2.2; ДИ: 0.77-6.31) при отсутствии значимых различий в доле распределения гетерозиготы С/А ($\chi^2 = 0.5$; $P = 0.5$; OR=1.3; ДИ: 0.61-2.88).

Анализируя степень различий в распределении гена интерлейкина IL10 (rs1800872) между группами с не тяжелым и тяжелым течением АИГА определено статистически достоверное снижение протективного действия основных аллеля С в 2.3 раза ($\chi^2 = 6.6$; $P = 0.01$; OR=2.3; ДИ: 1.22-4.45) и генотипа С/С в 2.4 раза ($\chi^2 = 4.2$; $P = 0.05$; OR=2.4; ДИ: 1.04-5.57) в группе больных с тяжелым течением АИГА.

Проведенный анализ распределения частот аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL10 (rs1800872) в основной группе больных с АИГА и с не тяжелым течением заболевания по отношению к аналогичным в здоровой группе позволил определить между ними отсутствие статистически недостоверных различий ($\chi^2 < 3.84$; $P > 0.05$).

В то же время наличие статистически достоверных отличий в распределении неблагоприятного аллеля А ($\chi^2 = 4.0$; $P = 0.05$) и тенденции к увеличению частоты мутантной гомозиготы А/А ($\chi^2 = 2.2$; $P = 0.2$) по цитокиновому полиморфному гена интерлейкина IL10 (rs1800872) между группами с тяжелым течением АИГА и здоровыми показывает наличие ассоциативной связи между полиморфными локусами гена IL10 (rs1800872) и повышением риска формирования тяжелого течения АИГА в 1.8 и 2.2 раза соответственно. Более того, обнаруженное статистически достоверное снижение протективного действия основных аллеля С в 2.3 раза ($\chi^2 = 6.6$; $P = 0.01$; OR=2.3; ДИ: 1.22-4.45) и генотипа С/С в 2.4 раза ($\chi^2 = 4.2$; $P = 0.05$; OR=2.4; ДИ: 1.04-5.57) в группе больных с тяжелым течением АИГА по сравнению и с не тяжелым течением подтверждают значимость изученного цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL10 (rs1800872) гена в повышении шанса утяжеления течения АИГА.

Оценивая статус распределения частот аллелей и генотипов цитокинового гена интерлейкина IL10 (rs3024491) в основной группе с АИГА по сравнению к здоровым выявлено абсолютное отсутствие статистически достоверных значений как между частотами аллелей (G: $\chi^2 < 3.84$; $P = 0.95$; OR=1.0; ДИ: 0.59-1.64 и А: $\chi^2 < 3.84$; $P = 0.95$; OR=1.0; ДИ: 0.61-1.7), так и между частотами генотипов (G/G: $\chi^2 < 3.84$; $P = 0.98$; OR=1.0; ДИ: 0.54-1.79; G/A: $\chi^2 < 3.84$; $P = 0.98$; OR=1.0; ДИ: 0.54-1.88; А/А: $\chi^2 < 3.84$; $P = 0.98$; OR=1.0; ДИ: 0.25-4.31) (смотрите Таблицу 6).

Таблица 6

Характер распределения полиморфных локусов полиморфизма гена интерлейкина IL10 (rs3024491) в группах больных с АИГА и здоровых

Обследованные группы	Встречаемость аллелей				Встречаемость генотипов					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-я основная группа АИГА, (n=93)	150	80.6	36	19.4	61	65.6	28	30.1	4	4.3
II – я группа АИГА с не тяжелым течением, (n=55)	87	79.1	23	20.9	35	63.6	17	30.9	3	5.5
III-я группа АИГА с тяжелым течением, (n=38)	63	82.9	13	17.1	26	68.4	11	29.0	1	2.6
IV – я сравниваемая группа здоровых, (n=97)	157	80.9	37	19.1	64	66.0	29	29.9	4	4.1

Одновременно, оценивая роль цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL10 (rs3024491) в формировании тяжести течения АИГА также получены результаты, доказывающие ее отсутствие.

Помимо этого, еще одним доказательством отсутствия самостоятельного участия полиморфных локусов гена интерлейкина IL10 (rs3024491) в формировании тяжести течения АИГА послужило наличие статистически недостоверных различий и между группами с не тяжелыми и тяжелым течением АИГА ($\chi^2 < 3.84$; $P > 0.05$).

Частоты распределения полиморфных локусов по гену интерлейкина IL17A (rs2275913) в группах больных с АИГА и здоровых представлены ниже (Смотрите Таблицу 7).

Таблица 7

Характер распределения полиморфных локусов полиморфизма провоспалительного цитокинового гена интерлейкина IL17A (rs2275913) в группах больных с АИГА и здоровых

Обследованные группы	Встречаемость аллелей				Встречаемость генотипов					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-я основная группа АИГА, (n=93)	140	75.3	46	24.7	53	57.0	34	36.6	6	6.4
II – я группа АИГА с не тяжелым течением, (n=55)	88	80.0	22	20.0	35	63.6	18	32.7	2	3.7
III-я группа АИГА с тяжелым течением, (n=38)	52	68.4	24	31.6	18	47.4	16	42.1	4	10.5
IV – я сравниваемая группа здоровых, (n=97)	168	86.6	26	13.4	72	74.2	24	24.7	1	1.1

Оценивая значимость различий в носительстве аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) между основной и здоровой групп выявлено среди больных наличие статистически достоверного увеличения доли ослабленного А аллеля в 2.1 раза ($\chi^2 = 7.9$; $P = 0.01$; OR=2.1; ДИ: 1.26-3.58) и A/A генотипа в 6.6 раз ($\chi^2 = 3.9$; $P = 0.05$; OR=6.6; ДИ: 1.02-42.9).

Анализируя степень значимости различий в носительстве аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) в группе больных АИГА с тяжелым течением по сравнению со здоровыми установлено наличие статистически высоко достоверного увеличения частоты ослабленного А аллеля в 3.0 раза ($\chi^2=12.0$; P=0.01; OR=3.0; ДИ: 1.61-5.54), а также ослабленных генотипов G/A ($\chi^2=3.9$; P=0.05; OR=2.2; ДИ: 1.01-4.84) и A/A ($\chi^2=6.9$; P=0.01; OR=11.3; ДИ: 1.85-68.9), носительство которых достоверно повышали риск формирования тяжелого течения АИГА в 2.2 и 11.3 раза соответственно.

Сравнивая частоты аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) между группами с не тяжелым и тяжелым течением АИГА выявлена тенденция к повышению риска формирования тяжелого течения заболевания среди носителей неблагоприятного варианта аллеля А почти в два раза ($\chi^2=3.2$; P=0.1; OR=1.9; ДИ: 0.95-3.6).

Таким образом, оценивая характер различий в распределении аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL17A (rs2275913) установлены достоверное ассоциируются с повышенным риском формирования АИГА и тяжелого её течения.

Результаты распределения полиморфных локусов цитокинового гена интерлейкина IL-17F (rs763780) показаны в Таблице 8.

Таблица 8

Характер распределения полиморфных локусов полиморфизма провоспалительного цитокинового гена интерлейкина IL-17F (rs763780) в группах больных с АИГА и здоровых

Обследованные группы	Встречаемость аллелей				Встречаемость генотипов					
	His		Arg		His/His		His/Arg		Arg/Arg	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-я основная группа АИГА, (n=93)	167	89.8	19	10.2	74	79.6	19	20.4	0	0.0
II – я группа АИГА с не тяжелым течением, (n=55)	100	90.9	10	9.1	45	81.8	10	18.2	0	0.0
III-я группа АИГА с тяжелым течением, (n=38)	67	88.2	9	11.8	29	76.3	9	23.7	0	0.0
IV – я сравниваемая группа здоровых, (n=97)	183	94.3	11	5.7	86	88.7	11	11.3	0	0.0

Анализ проведенный в основной группе АИГА по сравнению со здоровой показал наличие тенденции к увеличению мутантного аллеля Arg почти в два раза ($\chi^2=2.7$; P=0.2; OR=1.9; ДИ: 0.88-4.05) и гетерозиготы His/Arg ($\chi^2=3.0$; P=0.1; OR=2.0; ДИ: 0.91-4.45) в 2.0 раза.

Оценивая характер различий полиморфных локусов цитокинового гена интерлейкина IL-17F (rs763780) между группами больных АИГА с не тяжелым течением и здоровыми установлено отсутствие статистически значимых различий в долях ослабленного аллеля Arg ($\chi^2=1.3$; P=0.3; OR=1.7; ДИ: 0.69-

4.02) и гетерозиготы His/Arg ($\chi^2=1.4$; P=0.3; OR=1.7; ДИ: 0.69-4.37), несмотря на повышение их доли по сравнению со здоровыми в 1.7 раза.

Различия между неблагоприятными аллелем (Arg) и генотипом (His/Arg) цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL-17F (rs763780) в группе больных АИГА с тяжелым течением по сравнению со здоровыми имели характер явной тенденции к их увеличению соответственно 2.2 ($\chi^2=3.0$; P=0.1; OR=2.2; ДИ: 0.9-5.52) и 2.4 раза ($\chi^2=3.3$; P=0.1; OR=2.4; ДИ: 0.93-6.32).

Следовательно, полиморфный ген интерлейкина IL-17F (rs763780) за счет возможного участия в повышении риска формирования АИГА и её тяжелого течения, может рассматриваться в качестве генетического фактора, имеющего роль в развитии этой патологии.

Распределение полиморфных локусов цитокинового гена интерлейкина IL23R (rs11209026) в исследованных группах показаны в Таблице 9.

Таблица 9

Характер распределения полиморфных локусов полиморфизма гена рецептора цитокина I типа IL23R (rs11209026) в группах больных с АИГА и здоровых

Обследованные группы	Встречаемость аллелей				Встречаемость генотипов					
	G		A		G/G		G/A		A/A	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I-я основная группа АИГА, (n=93)	182	97.8	4	2.2	89	95.7	4	4.3	0	0.0
II – я группа АИГА с не тяжелым течением, (n=55)	109	99.1	1	0.9	54	98.2	1	1.8	0	0.0
III-я группа АИГА с тяжелым течением, (n=38)	73	96.0	3	4.0	35	92.1	3	7.9	0	0.0
IV – я сравниваемая группа здоровых, (n=97)	191	98.4	3	1.6	94	96.9	3	3.1	0	0.0

В основной группе больных в носительстве аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL23R (rs11209026) не обнаружено статистически достоверных различий между частотами неблагоприятного А аллеля ($\chi^2<3.84$; P>0.05) и гетерозиготного генотипа G/A ($\chi^2<3.84$; P>0.05).

В то же время, различия в носительстве аллелей и генотипов цитокинового полиморфного гена интерлейкина IL23R (rs11209026) в группе больных АИГА с тяжелым течением по сравнению со здоровыми и с пациентами нетяжелого течения заболевания также характеризовались отсутствием их статистической значимости ($\chi^2<3.84$; P>0.05).

Следовательно, полиморфный ген интерлейкина IL23R (rs11209026) не может рассматриваться в качестве самостоятельного генетического фактора имеющего вклад в развитие АИГА.

Завершая обсуждение, следует отметить, что полученные результаты проведенного исследования позволяют расширить современные представления о механизмах формирования АИГА. Анализ генетических полиморфизмов, в частности распределения частот их аллельных и

генотипических вариантов позволяет проводить мониторинг среди населения по выявлению предрасположенности к развитию АИГА и ее тяжелого течения, дифференциального подхода в ведении и профилактике осложнений у больных с этим заболеванием.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований по диссертации доктора философии (PhD) на тему: «**Клинико-лабораторные и молекулярно-генетические аспекты развития аутоиммунной гемолитической анемии**» сделаны следующие выводы:

1. Установлено, что выраженность изменений в лабораторных показателях в виде снижения гемоглобина и эритроцитов коррелирующие со степенью ретикулоцитоза ($r=70$ и $r=67$) и СОЭ ($r=61$ и $r=58$), а также гипербилирубинемии коррелирующей с уровнем ретикулоцитоза ($r=62$ и $r=68$) связана с тяжестью аутоиммунной гемолитической анемии.

2. Определена связь между риском развития аутоиммунной гемолитической анемии с полиморфными локусами генов-модификаторов провоспалительных процессов TNF- α (rs1800629), IL17A (rs2275913) и IL-17F (rs763780). Риск аутоиммунной гемолитической анемии значимо повышается при носительстве редких вариантов аллеля ($\chi^2=7.9$; $P=0.01$) и генотипа ($\chi^2=3.9$; $P=0.05$) гена IL17A (rs2275913), тогда как при носительстве гетерозиготы по генам IL17A (rs2275913) ($\chi^2=3.1$; $P=0.1$) и TNF- α (rs1800629) ($\chi^2=1.7$; $P=0.2$), а также ослабленного аллеля ($\chi^2=2.7$; $P=0.2$) и гетерозиготы ($\chi^2=3.0$; $P=0.1$) по гену IL-17F (rs763780) наблюдается тенденция к повышению риска заболевания.

3. Риск формирования тяжелого течения аутоиммунной гемолитической анемии достоверно ассоциируется с полиморфными локусами генов TNF- α (rs1800629) (A - $\chi^2=5.4$; $P=0.03$) и G/A - $\chi^2=6.0$; $P=0.03$); IL10 (rs1800872) (A - $\chi^2=4.0$; $P=0.05$); IL17A (rs2275913) (A - $\chi^2=12.0$; $P=0.01$, G/A - $\chi^2=3.9$; $P=0.05$ и A/A - $\chi^2=6.9$; $P=0.01$). Тенденция к повышению шанса формирования тяжелой степени заболевания наблюдается при носительстве неблагоприятных полиморфных локусов по генам IL10 (rs1800872) (A/A- $\chi^2=2.2$; $P=0.2$) и IL-17F (rs763780) (Arg - $\chi^2=3.0$; $P=0.1$ и His/Arg - $\chi^2=3.3$; $P=0.1$).

4. Установлено отсутствие самостоятельного участия полиморфных локусов генов IL10 (rs3024491) и IL23R (rs11209026) в повышении шанса развития формирования тяжелого течения аутоиммунной гемолитической анемии ($\chi^2<3.84$; $P>0.05$).

5. С учетом применения молекулярно-генетических технологий усовершенствованы диагностические и прогностические критерии развития и формирования тяжести течения аутоиммунной гемолитической анемии позволяющие на ранних этапах диагностики стратифицировать группы высокого риска для адекватного выбора терапевтической тактики и достижения у пациентов повышения качества жизни.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.04/30.12.2019.Tib.30.02 ON
AWARDING OF ACADEMIC DEGREES AT
TASHKENT MEDICAL ACADEMY**

TASHKENT MEDICAL ACADEMY

JAKHONOV AZIZBEK KHOLMIZAYEVICH

**CLINICAL-LABORATORY AND MOLECULAR-GENETIC ASPECTS OF
DEVELOPMENT AUTOIMMUNE HEMOLYTIC ANEMIA**

14.00.29 – Hematology and transfusiology

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

Tashkent – 2024

The topic of the dissertation of the Doctor of Philosophy (PhD) was registered in the Higher Attestation Commission under the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan for B2022.2.PhD/Tib2820.

The dissertation was prepared at the Tashkent Medical Academy.

Abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English (summary)) posted on the website of the Scientific Council (www.tma.uz) and the information and educational portal "ZiyoNET" (www.ziynet.uz).

Scientific adviser:

Saidov Alonur Bakhtinurovich

Doctor of Medical Sciences, Docent

Official opponents:

Makhmudova Aziza Djumanovna

Doctor of Medical Sciences

Gildieva Margarita Sabirovna

Doctor of Biological Sciences

Leading organization:

Andijan State Medical Institute

The dissertation defense will take place " ____ " _____ 2024 at ____ hours at the meeting of the Scientific Council 04/30.12.2019.Tib.30.02 at the Tashkent Medical Academy (Address: 100109, Tashkent, Almazarsky district, Farobi str., 2. Tel./Fax: (+99878) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

The dissertation can be reviewed in the Information Resource Centre of the Tashkent Medical Academy, (registered No. ____), (Address: 100109. Tashkent city, Olmazor district, Farabi street. 2. Tel./fax: (+99878) 150-78-14).

Abstract of the dissertation sent out on « ____ » _____ 2024 year.

(mailing report №. ____ on « ____ » _____ 2024 year).

A.G. Gadaev

Chairman of the Scientific Council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor

D.A. Nabieva

Scientific Secretary of the Scientific Council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor

Sh.A. Babajanova

Chairman of the Scientific Seminar under the Scientific Council awarding scientific degrees, Doctor of Medical Sciences, Professor

INTRODUCTION (abstract of the PhD dissertation)

The aim of the study taking into account the clinical, laboratory and molecular genetic features of the formation of the autoimmune process, is to improve the diagnostic criteria and develop methods for predicting the development and course of autoimmune hemolytic anemia.

The study involved 190 individuals, 93 of whom were patients with AIHA (The subjects of the study) were 190 individuals, of which 93 were patients with AIHA (main group), admitted for diagnosis and treatment to the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Hematology (RSNPMCG) from 2018 to 2022.

The compared control group was formed from 97 healthy donors without a history of autoimmune pathologies.

The scientific novelty of the study is as follows:

it was found that the genetic polymorphism IL10 (rs3024491) has no independent significance in the development and severity of autoimmune hemolytic anemia, whereas the IL10 gene (rs1800872) has an independent effect on the development of severe disease;

an associative relationship has been proven between the autoimmune process modifier genes TNF- α (rs1800629), IL 17A (rs2275913), IL 17F (rs763780) and the development of AIGA;

the independent risk effect of polymorphic loci of TNF- α (rs1800629), IL10 (rs1800872), IL17A (rs2275913) and IL17F (rs763780) genes in the development of the same course of autoimmune hemolytic anemia has been proven;

in autoimmune hemolytic anemia, polymorphism (IL) 23R (11209026) has no prognostic value in terms of the development and severity of the disease.

Implementation of research results. According to the conclusion of the Expert Council of the Tashkent Medical Academy dated 23 November 2023 No. 01-4/255-A (a letter from the Expert Council of the Tashkent Medical Academy dated ... December 2023 No. 01-4/255-A):

The first scientific innovation: according to the obtained results, early detection of the role of polymorphic loci of the IL10 (rs 1800872) and IL10 (rs 3024491) gene distribution in the pathogenesis of the disease in patients diagnosed with autoimmune hemolytic anemia will help in the correct treatment. This is cost-effective due to a reduction in the number and days of repeated hospitalizations, as well as the cost of treatment.

The second scientific innovation: detection of TNF- α (rs 1800629), IL17A (rs 2275913), IL17F (rs 763780) modifier genes in patients with anemia allows for the early detection of autoimmune hemolytic anemia in them. Based on this, the selected effective treatment increases the average life expectancy of patients by reducing the exacerbation of the underlying disease and disability, and also provides an economic effect by reducing the number and days of repeated hospitalizations and treatment costs.

The third scientific innovation: according to the obtained results, TNF- α (rs 1800629), IL10 (rs 1800872), IL17A (rs 2275913) were detected in patients with

autoimmune hemolytic anemia; Early detection of polymorphic loci of the IL17F genes (rs 763780) helps prevent complications of the disease. Treatment of the disease is cost-effective due to a reduction in the number and days of re-hospitalization of patients, as well as the cost of treatment to 18,000,000 soums per year.

The fourth scientific innovation: based on the analysis of clinical, laboratory and genetic indicators for autoimmune hemolytic anemia, based on the development of diagnostic and prognostic criteria for the development and relapse of autoimmune hemolytic anemia, it was possible to reduce the number of days of inpatient treatment and reduce the cost of treatment. Also, due to the reduction in the number of repeated hospitalizations of patients during the year, an additional 6 million soums will be saved from each patient.

“A method for early diagnosis and prognosis of the formation of autoimmune hemolytic anemia and incomplete response to basic therapy of the disease” (conclusion of the expert commission of the Tashkent Medical Academy dated November 23, 2023, No. 11-23 / 84-x). These guidelines provide an opportunity to prevent the development of new cases of autoimmune hemolytic anemia, worsening its course and increasing the effectiveness of treatment of the disease.

Structure and scope of the dissertation. The dissertation consists of an introduction, 4 chapters, a conclusion, conclusions and a list of references. The volume of the dissertation is 120 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Жахонов А.Х., Саидов А.Б., Маткаримова Д.С. Гемолитические анемии (обзор литературы) // International Bulletin of Applied Science and Technology. – 2023. – Т. 3. – №. 6. – P. 1086-1093. (14.00.00; (23) SJIF 2023: 6.904)

2. Jaxonov A.X., Saidov A.B., Matkarimova D.S. Analysis of the significance of polymorphic Loci of the IL17A (rs2275913) and IL17F (rs763780) gene in autoimmune hemolytic anemia // Central asian journal of medical and natural sciences. – Volume 04. – Issue 06. – Nov-Dec 2023. – Pages 1252-1261.

3. Jaxonov A.X., Saidov A.B., Matkarimova D.S. Лабораторные проявления у больных с аутоиммунной гемолитической анемией // Eurasian journal of medical and Natural sciences. – Volume 3. – Issue 12. – December 2023. – Pages 28-34.

4. Жахонов А.Х., Саидов А.Б., Маткаримова Д.С., Бобоев К.Т. / Роль полиморфных локусов цитокинового гена интерлейкина IL17A (G-197A) при аутоиммунной гемолитической анемии // Журнал гуманитарных и естественных наук. – 2023. – Т. 11. – №. 5. – С. 108-111. (14.00.00)

5. Жахонов А.Х., Саидов А.Б., Маткаримова Д.С. Анализ клинических проявлений у больных с аутоиммунной гемолитической анемией // Тиббиётда янги кун. – 2024. – №2 (64). – С. 400-404.

6. Жахонов А.Х., Саидов А.Б., Маткаримова Д.С. Вклад полиморфного гена IL17a (rs2275913) в механизмы формирования аутоиммунной гемолитической анемии. // Журнал Наука и инновация. – Ташкент, 2023. – №1(15). – С.77–78. (14.00.00)

II бўлим (II часть; II part)

7. Jaxonov A.X., Saidov A.B., Matkarimova D.S. Особенности полиморфизма гена фактора некроза опухоли TNF- α (rs1800629) при аутоиммунной гемолитической анемии // World scientific research journal. – January -2024. – Volume-23. – Issue-1. – P.71.

8. Jaxonov A.X., Saidov A.B., Matkarimova D.S. Аллельный полиморфизм гена интерлейкина IL10 (rs1800872) при аутоиммунной гемолитической анемии. // World scientific research journal. – January -2024. – Volume-23. – Issue-1. – P.68.

9. Жахонов А.Х., Саидов А.Б., Маткаримова Д.С. Анализ клинико-лабораторных проявлений аутоиммунной гемолитической анемии // Academic International Conference on Multi-Disciplinary Studies and Education. – 2023. – Т. 1. – №. 12. – P. 40-42.

10. Жахонов А.Х. Изучение полиморфного гена TNF-α (rs1800629) у больных с аутоиммунной гемолитической анемии // “Sog‘lom turmush tarzini

targ'ib qilishda Nutritsiologiyaning o'rni" xalqaro ilmiy-amaliy anjuman. – Toshkent, 2023 yil 16 dekabr. – С.80.

11. Жахонов А.Х. Оценка степени участия цитокиновых генов в развитии аутоиммунной гемолитической анемии // “Sog'lom turmush tarzini targ'ib qilishda Nutritsiologiyaning o'rni" xalqaro ilmiy-amaliy anjuman. – Toshkent, 2023 yil 16 dekabr. – С.81.

12. Жахонов А.Х., Маткаримова Д.С., Саматова Л.Д., Исламова Р.К. анализ распространенности аллельного полиморфизма интерлейкина IL23R (RS11209026) при аутоиммунной гемолитической анемии. // Journal of cardiorespiratory research. – Самарканд, 5-6 апрел, 2024 й. – №1.1 – 146-бет.

Автореферат «Тошкент тиббиёт академияси ахборотномаси» журнали
тахририятида тахрирдан ўтказилди



MUHARRIRIYAT VA NASHRIYOT BO'LIMI

Разрешено к печати: 28 сентября 2024 года
Объем – 3,3 уч. изд. л. Тираж – 60. Формат 60x84. 1/16. Гарнитура «Times New Roman»
Заказ № СИГ - 2024. Отпечатано РИО ТМА
100109. Ул. Фароби 2, тел: (998 71)214-90-64, e-mail: rio-tma@mail.ru