

**ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ ҲУЗУРИДАГИ ФАН ДОКТОРИ
ИЛМИЙ ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ 16.07.2013 Ў.17.02. РАҚАМЛИ ИЛМИЙ
КЕНГАШ
ТОШКЕНТ ПЕДИАТРИЯ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ**

Арипходжаева Гулнозахон Зайнитдиновна

**СУРУНКАЛИ ГЕПАТИТ С: МЕТАБОЛИК АДАПТАЦИЯ, ДАВОЛАШ
САМАРАДОРЛИГИНИНГ ПАТОГЕНЕТИК АСОСЛАРИ**

**14.00.10 – Юқумли касалликлар
(тиббий фанлари)**

ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ Тошкент – 2016

1
УДК: 616.36-002-002:616.61-78

Докторлик диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата докторской диссертации
Content of the abstract of doctoral dissertation

Арипходжаева Гулнозахон Зайнитдиновна

Сурункали гепатит С: метаболик адаптация, даволаш
самарадорлигининг патогенетик асослари 3

Арипходжаева Гулнозахон Зайнитдиновна

Хронический гепатит С: метаболическая адаптация,
патогенетические основы эффективности терапии 27

Aripkhodjaeva Gulnozakhon Zaynitdinovna

Chronic hepatitis C: metabolic adaptation, pathogenetic
basis of effective therapy 52

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ 75
List of published works

**ИЛМЙ ДАРАЖАСИНИ БЕРУВЧИ 16.07.2013 Тиб.17.02. РАҚАМЛИ
ИЛМЙ КЕНГАШ
ТОШКЕНТ ПЕДИАТРИЯ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ**

АРИПХОДЖАЕВА ГУЛНОЗАХОН ЗАЙНИТДИНОВНА

**СУРУНКАЛИ ГЕПАТИТ С: МЕТАБОЛИК АДАПТАЦИЯ, ДАВОЛАШ
САМАРАДОРЛИГИНИНГ ПАТОГЕНЕТИК АСОСЛАРИ**

**14.00.10 – Юқумли касалликлар
(тиббйёт фанлари)**

ДОКТОРЛИК ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент – 2016

Докторлик диссертацияси Тошкент педиатрия тиббиёт институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз) илмий кенгаш веб-саҳифаси (www.tma.uz) ва “ZiyoNet” ахборот-таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи: Касимов Илҳамджан Асамович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар: Hubert E. Blum

тиббиёт фанлари доктори, профессор
(Германия)

Фазылов Вильдан Хайруллаевич
тиббиёт фанлари доктори, профессор
(Россия Федерацияси)

Мусабаев Эркин Исакович
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот: Вена тиббиёт университети
(Австрия)

Диссертация ҳимояси Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги 16.07.2013. Tib.17.02. рақамли илмий кенгашнинг 2016 йил «___»_____ куни соат ____ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100109, Тошкент ш., Олмазор тумани, Фаробий кўчаси 2 уй. Тел/факс: (+99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru).

Докторлик диссертацияси билан Тошкент тиббиёт академияси Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (___ рақам билан рўйхатга олинган). Манзил: 100109, Тошкент ш., Олмазор тумани, Фаробий кўчаси 2 уй. Тел/факс: (+99871) 150-78-25.

Диссертация автореферати 2016 йил «___»_____ куни тарқатилди.
(2016 йил «___»_____даги _____рақамли реестр баённомаси)

А.Г. Гадаев
фан доктори илмий даражасини
берувчи илмий кенгаш раиси, т.ф.д.,
профессор

М.Ш. Каримов
фан доктори илмий даражасини
берувчи илмий кенгаш илмий котиби,
т.ф.д., профессор

Л.Н. Туйчиев
фан доктори илмий даражасини
берувчи илмий кенгаш ҳузуридаги
илмий семинар раиси, т.ф.д.

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Кейинги йил ларда жаҳонда сурункали вирусли гепатит С (СВГС) билан хасталанган беморлар сони ортиб бормоқда. Жигар хасталикларини ўрганиш бўйича Европа уюшмаси (EASL) ва Америка уюшмаси (AASLD) маълумотларига кўра¹, бугунги кунда дунёда СВГС беморлари қарийб 120 – 130 млн кишини ташкил этади.

Мамлакатимизда мустақиллик йилларида соғлиқни сақлаш тизимини ислоҳ қилиш жараёнида СВГС профилактикаси, ташхиси ва даволаш тадбирлари сифатини ошириш, мазкур йўналишдаги тиббий-ташкилий тузилмалар моддий-техник базасини жаҳон талаблари асосида мустаҳкамлаш юзасидан кенг камровли ишлар амалга оширилди.

Бугун жаҳонда СВГСда метаболик адаптация механизмларини такомиллаштириш ва даволашга ёндашувни оптималлаштириш юзасидан олиб борилаётган илмий изланишларга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Бу борада қуйидагилар юзасидан илмий тадқиқотларни ташкил этиш муҳим аҳамият касб этмоқда: сурункали HCV-инфекцияда про- ва антиоксидант тизимларида дисбаланс ривожланиши ва касалликнинг клиник манзараси намоён бўлишидан олдин юзага келишини аниқлаш; СВГСда вируснинг узоқ вақт симптомсиз персистенцияси асосида ҳужайра метаболик адаптациясининг индивидуал хусусиятларини очиқ бериш; касалликни дифференциал даволаш тактикасини такомиллаштириш; метаболик адаптация хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда патогенетик давонинг самарадорлигини ошириш ва СВГСда вирусга қраши давонинг (ВҚД) ножўя таъсирлари (НТ) коррекция усуллари янада такомиллаштириш; СВГС беморларда гипоксия даражаси ва ҳужайравий энергетик мувозанат кўрсаткичларини HCVнинг молекуляр-биологик тавсифи, цитоллиз даражаси ва клиник интоксикацион синдром билан боғлиқлигини, шунингдек, ҳужайра метаболик адаптация ҳолатини ҳисобга олган ҳолда ВҚДда юзага келадиган НТларни коррекциялашни амалга ошириш зарурлигини аниқлаш. Мазкур вазифаларни ҳал этишга йўналтирилган ушбу тадқиқот мавзунинг долзарблигини изоҳлайди.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2007 йил 19 сентябрдаги ПФ-3923-сон «Соғлиқни сақлаш тизимини ислоҳ қилишни янада чуқурлаштириш ва уни ривожлантириш давлат дастурини амалга оширишнинг асосий йўналишлари тўғрисида»ги Фармони ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация муайян даражада хизмат қилади.

¹European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection // J Hepatol 2015; 60: 392 – 420; Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSА Recommendations for Testing, Managing, and Treating Adults Infected With Hepatitis C Virus // J Hepatol. 2015; 62 (3); 932 – 954.

нинг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ ДИТД-6-10 «Одам касалликлари профилактикаси, ташхиси, даволаш ва реабилитациясининг янги технологияларини ишлаб чиқиш» дастури доирасида бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шархи¹.

Сурункали HCV-инфекцияси патогенези, вирусга қарши ва патогенетик давонинг самарадорлигини оширишга қаратилган илмий тадқиқотлар жаҳоннинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, University of California, Johns Hopkins University (АҚШ), Universitäts klinikum Freiburg, Universität Hamburg, Universität München (Германия), Vienna Medical University (Австрия), Universitu of Bologna, Padova University Hospital (Италия), Oslo University Hospital (Норвегия), Universidad Complutense de Madrid (Испания), Ankara Üniversitesi (Туркия), The University of Tokyo Hospital (Япония), Yonsei University, Inha University (Корея), Chonnam National University, Ҳарбий-тиббиёт академия, Шимол жанубий давлат тиббиёт университети (Россия), Вирусология илмий текшириш институтида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

СВГС клиник турлари ва оқибатлари ривожланишида этиопатогенетик ва иммунологик жиҳатлар, жигарда сурункали диффуз жараённинг ривожланишида оксидант ва антиоксидант тизимлар, хужайранинг энергетик мувозанат ҳолати тадқиқоти юзасидан дунёда бир қатор муҳим илмий натижалар олинган, жумладан: HCV-инфекциясининг узок вақт яширин кечиши замирида вируснинг иммун «яшириниш» феномени ётиши, бунга антиген процессинги ва презентациясини сусайтирувчи цитокинга боғлиқ жараёнлар сабаблиги аниқланган (Universitäts klinikum Freiburg, Германия; Universidad Complutense de Madrid, Испания; The University of Tokyo Hospital, Япония); вирусли гепатитларда касаллик кечишининг оғирлиги ва пировардида гепатоцит прооксидант ва антиоксидант тизимларнинг функционал ҳолати аҳамияти исботланган (University of California, США; Universidad Complutense de Madrid, Испания); ВКД самарадорлигининг асосий муаммоларидан бири НТ ривожланиши ва ВКДда гепатит С вирусининг эҳтимолли турғунлиги эканлиги аниқланган (Universität Hamburg, Германия; Inha University, Корея; Universität München, Германия); ВКДга салбий жавоб берган, бу давони ўтказишга қарши кўрсатмалари бор беморлар патогенетик асосланган давога муҳтожлиги тасдиқланган (Johns Hopkins University, США; Chonnam National University, Корея; Oslo University Hospital, Норвегия).

¹Диссертация бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шархи www.who.int; www.aasld.org; www.easl.eu; www.asaecenter.org; www.idsociety.org; www.novagi.com; www.gastro.org; www.ghapc.com; hepatitisfoundation.org ва бошқа манбалар асосида амалга оширилган.

самарадорлигини ошириш бўйича бир қатор, жумладан қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: сурункали HCV инфекциясининг узок вақт белгисиз персистенцияси патогенезини ўрганиш; HCV-инфекциянинг самарадор даволаш усулларни ишлаб чиқиш; ВКДда юзага келадиган ножўя асоратларни олдини олиш усуллари ишлаб чиқиш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Бугунги кунда тиббиёт илми ривожланган мамлакатларда HCV-вирус молекуляр-генетик хусусиятлари, HCV турли генотипларида касаллик кечишининг ўзига хос хусусиятлари ва турли генотипларда жигардаги фиброз жараёнларининг кўлами, сурункали HCV-инфекцияси негизидаги хужайравий ва гуморал иммунитет ҳолати, яллиғланиш ва яллиғланишга қарши цитокинларнинг эрта ва олис асоратлардаги патогенетик моҳияти, халқаро даво стандартлари протоколига киритилган α -интерферон билан даволанган беморларда даво самарадорлигини аниқлашга оид тадқиқотлар олиб борилган (Даминов Т.О.; Мусабаев Э.И.; Блюм Х.Е.; Moradpour D.; Ивашкин В.Т.; Jacobson I.M.; Шахгильдян И.В.)¹. Шу билан бирга дунёнинг барча минтақаларида касалланиш даражасининг кескин камаймаётгани бу йўналишда чуқурроқ тадқиқот олиб бориш заруратини кўрсатади.

Қатор муаллифларнинг ишларида турли дори воситаларининг токсик таъсири хужайрадаги метаболик жараёнларининг ҳолати билан боғлиқлиги кўрсатилган (Глушков С.И., 2006; Гейвандова Н.И., 2008)³. Хужайра метаболизм жараёнларида иштирок этувчи асосий тизим - глутатион тизими ва унинг супрессия даражаси бу жараёнларни асосини белгилаб берувчи омил деб кўрсатилган. Айни пайтда, хужайра гипоксияси ва хужайра ўлим ҳолати глутатион тизим фаолияти билан боғлиқлиги таъкидланган (Октябрьский О.Н., 2007; Кулинский В.И., 2009)⁴.

¹Даминов Т.О. Оценка интерферонового статуса у детей с вирусным гепатитом С // Педиатрия. – 2002. - №2. – С. 110-112; Мусабаев Э.И., Юлдашев К.Х., Шарапов М.Б., Мустафаева Э.М. Состояние заболеваемости вирусными гепатитами в Республике Узбекистан // Центрально-Азиатский Медицинский Журнал. – 2003. – Т. 9. Приложение 3. – С. 69-73; Блюм Х.Е. Гепатит С: современное состояние проблемы//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – Москва, 2005. – №1. – С.20-25; Moradpour D., Penin F., Rice C. Replication of hepatitis C virus // Nat.Rev.Microbiol. 2007; 5; 453-463; Ивашкин В.Т. Имунная система и повреждения печени при хронических гепатитах В и С//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – Москва, 2009. – №6. – С.4-9; Jacobson IM, Cacoub P, Dal Maso L, et al. Manifestations of chronic hepatitis C virus infection beyond the liver // Clin Gastroenterol Hepatol. 2010;8:1017– 29. Шахгильдян И.В., Ершова О.Н., Михайлов М.И. и др. Современная характеристика острого и хронического гепатита С в России: Материалы международного симпозиума. – Брест, 2011. – С. 184–186;

³Глушков С.И. Нарушение системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия. Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. СПб., 2006; Гейвандова Н.И., Ягода А.В., Гудзовская Д.А., Косторная И.В. Сывороточные фосфолипиды, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как дополнительные неинвазивные маркеры активности хронического вирусного гепатита С // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. - №6. – С. 38-42.

⁴Кулинский В.И., Леонова З.А., Колесниченко Л.С., Малов И.В., Данилов Ю.А. Система глутатиона в эритроцитах и плазме крови при вирусных гепатитах // Биомедицинская химия. – 2007. – Т.53. – №1. – С. 91-98; Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В. Редокс регуляция клеточных функций // Биохимия. – 2007. - №72(2). – С. 132-145; Wynn A. Cellular and molecular mechanism of fibrosis//J.Pathol. 2008;21(4); 199-210.

иммун-хужайра реакциялари, унга боғлиқ ҳолда ривожланган нитрооксидергик жараёнлар, липидларнинг перекисли оксидланиши, глутатион тизимнинг фаоллигини ВҚД жараёнида юзага келадиган НТлар билан боғлиқ ёки боғлиқ эмаслиги бобида илмий изланишлар олиб борилмаган.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Тошкент педиатрия тиббиёт институтининг илмий-тадқиқот ишлар режасига мувофиқ 01980006703 «Туғма ва орттирилган касаллик ларни диагностикаси, даволаш ва профилактикаси усуллари тақомиллаштириш» мавзуси бўйича бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади СВГСда метаболик адаптация механизми ларини аниқлаш ва даволашга ёндошувни оптималлаштиришдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

тадқиқот гуруҳида СВГС ни клиник кечишини НСVнинг молекуляр биологик тавсифи билан, цитоллиз даражаси ва касалликнинг давомийлиги билан боғлиқ ҳолда таҳлил қилиш;

СВГС беморлар гуруҳида ҳужайравий иммунитет, цитокинлар бошқарилуви ва интерферогенез кўрсаткичларини НСVнинг молекуляр биологик тавсифи, цитоллиз даражаси ва клиник интоксикацион синдром билан боғлиқлигини ўрганиш;

СВГС беморларда прооксидант ва антиоксидант тизимнинг ҳолатини, гипоксия даражаси ва ҳужайравий энергетик мувозанат кўрсаткичларини НСV нинг молекуляр-биологик тавсифи, цитоллиз даражаси ва клиник интоксикацион синдром билан боғлиқлигини ўрганиш;

олиб борилган тадқиқот натижалари асосида сурункали НСV-инфекция шароитида метаболик адаптация ўзгаришлари патогенези чизмасини ишлаб чиқиш;

метаболик адаптацияни хусусиятларини ҳисобга олган ҳолда патогенетик давони самарадорлигини ошириш ва СВГСда ВҚДнинг НТларини коррекция усуллари ишлаб чиқиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида СВГС ташхисли 196 нафар бемор ва назорат гуруҳига 20 нафар соғлом шахс олинган.

Тадқиқотнинг предмети веноз қон ва қон зардоби, иммунологик ва биокимёвий таҳлиллар ўтказиш учун фойдаланилди.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертация ишида умумий клиник, биокимёвий, иммунологик, молекуляр-биологик, инструментал ва статистик таҳлил усулларидан фойдаланилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

сурункали НСV-инфекцияда про- ва антиоксидант тизимларида дисбаланс ривожланиши (патологик жараённинг биокимёвий манифестацияси), касалликнинг клиник манзараси намоён бўлишидан олдин юзага келиши аниқланган;

персистенцияси асосида хужайра метаболик адаптациясининг индивидуал хусусиятлари очиб берилган;

илк бор, сурункали кечувчи HCV-инфекцияда метаболик адаптация ривожланиш босқичларининг хусусиятлари ҳамда глутатион етишмовчилиги ва хужайраларни энергетик метаболизмини ҳисобга олган ҳолда сурункали HCV-инфекцияда дифференциал даволаш тактикаси ишлаб чиқилган;

илк бор, сурункали HCV-инфекцияда глутатионпероксидаза ва АТФ активлик даражасини инобатга олиб хужайра метаболик адаптация ҳолатини баҳолаш усули ишлаб чиқилган.

Тадқиқотнинг амалий натижаси.

глутатионпероксидаза ва АТФ активлик даражасини ҳисобга олиб, патогенетик ва вирусга қарши давонинг индивидуал йўналтирилган коррекция усули тақдим этилган;

ВҚДга турғунлик ривожланганда патогенетик давонинг индивидуал асосланган корекция усули ишлаб чиқилган;

хужайра метаболик адаптация ҳолатини ҳисобга олган ҳолда ВҚДда юзага келадиган НТларни коррекция қилиш лозимлиги аниқланган. **Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги.** Тадқиқотда қўлланилган клиник, биокимёвий, иммунологик, молекуляр-биологик ва инструментал таҳлилларнинг сонли кўрсаткичлари замонавий статистик усуллар асосида тасдиқланган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти сурункали HCV-инфекция шароитида жигарда патологик жараён ривожланиш механизмларини очиб бериши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти СВГСда патогенетик ва ВҚД коррекцияси усули гепатоцитларда метаболизм жараёнларини яхшиланишига, жигар паренхимасининг склерозланиш хавфини камайтиришга ва ВҚД дастурида юзага келадиган НТларни камайишига олиб келиши асосланган. Антиоксидант тизим супрессияси ва хужайра энергетик мувозанат ҳолатини баҳолаш усули, умумий амалиёт шифокорларига қўл келади ва нафақат стационарда, балки поликлиника шароитида ҳам СВГСнинг даво дстурларини аниқлаб, ундан фойдаланишга имконият яратади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Сурункали гепатит С: метаболик адаптация, даволаш самарадорлигининг патогентик асослари бўйича олинган натижалар «Сурункали гепатит Сда патогенетик давони оптималлаштириш» номли услубий тавсиянома асосида соғлиқни сақлаш амалиётига, жумладан Эпидемиология, микробиология, юқумли касалликлар илмий-текшириш институти клиникаси, 5-сон шаҳар юқумли касалликлар шифохонаси амалиётига жорий қилинган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 10 апрель 2015 йилдаги 8Н-д/29 сонли маълумотномаси). Олинган натижалар патогенетик ва вирусга қарши даволашнинг оптимизациясига

даволаниш муддати 1,6 мартага қисқаришига олиб келди. **Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Тадқиқот натижалари 7 та илмий-амалий анжуманларда, жумладан «Инфекцион касалликлар бўйича Евро-Осиё уюшмасининг Учинчи Конгрессида» (Екатеринбург, 2014); «Иммунофармакология, биотехнология ва цитокинлар алмашинувининг замонавий муаммолари» (Санкт-Петербург, 2014), «Инфекцион патологиянинг долзарб муаммолари» (Қозон, 2014), «Гепатология ва ВИЧ инфекциясининг долзарб муаммолари» (Андижон, 2012), «Гастроэнтерологиянинг долзарб муаммолари» халқаро олимлар иштирокидаги Республика илмий-амалий анжуманида (Андижон, 2013), «ВИЧ-инфекция ва вирусли гепатитларнинг долзарб муаммолари» халқаро олимлар иштирокидаги Республика илмий-амалий анжуманида (Андижон, 2014); «Иммунология – соҳалараро муаммолар» халқаро олимлар иштирокидаги илмий-амалий анжуманида (Тошкент, 2014), ТошПМИ Эпидемиология, юқумли касалликлар кафедрасининг илмий-методик кенгашларида (Тошкент, 2013, 2014), ТошПМИ Эпидемиология, юқумли касалликлар ва Болалар юқумли касалликлари, микробиология, вирусология, иммунология кафедраларининг қўшма мажлисида (Тошкент, 2015), Тошкент тиббиёт академияси ҳузуридаги илмий кенгаш қошидаги илмий семинарда (Тошкент, 2016) маъруза кўринишида баён этилган ҳамда апробациядан ўзказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича жами 28 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 10 та мақола, жумладан 8 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

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

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати

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

Диссертациянинг **«СВГС: патогенезнинг айрим қирралари, клиник манзараси ва даволашнинг замонавий усулларининг қиёсий таҳлили»** деб номланган биринчи бобида СВГСнинг клиник вариантлари ва оқибатларининг этиопатогенетик жиҳатларини ўрганиш натижалари, жигар касаллигининг сурункали турга ўтишида оксидант ва антиоксидант тизимнинг, хужайралар энергетик ҳолатининг аҳамияти, СВГСнинг замонавий даволаш жиҳатларини ўрганиш борасидаги адабиётларнинг шарҳи келтирилган. Олиб борилган таҳлил натижалари ишнинг долзарблигини, мақсади ва вазифаларини асослаб берган.

Диссертациянинг **«Текширилган беморлар ва фойдаланилган усуллар хусусиятлари»** деб номланган иккинчи бобида клиник материалнинг умумий тавсифи, қўлланилган тадқиқот услублари келтирилган. 196 нафар СВГС ташхисли бемор текширувдан ўтказилган, улардан 73 нафари эркак ва 123 нафари аёл кишилардир. СВГС ташхиси ва клиник турлари ЎзР Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 05.01.2012 йилда тасдиқланган №5 буйруғи асосида клиник-лаборатор таҳлил натижалари ва қонда Анти-HCV (ИФА) ва РНК-HCV (ПЦР) аниқланганлиги асосида қўйилди.

Барча беморларда умумий клиник ва биокимёвий текширувлар ўтказилган. Умумий билирубин ва унинг фракцияларини миқдорини Ендрасик ва Клеггорн усули ёрдамида аниқланган (Делекторская Л.Н., 1967). Трансаминазалар фаоллиги (АсАт, АлАт) Райтман ва Френкель универсал усули ёрдамида аниқланди (Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., 1987). Тимол синамасы Хуэрго ва Поппер усули ёрдамида аниқланган (Колб В.Г., Камышников В.С., 1976).

Вируснинг генотиби ва қондаги юкламаси ПЦР усули ёрдамида реал вақтда Rotor Gene (Corbet Research, Australia) «Рибосорб-амплифенс» (Россия) тўпламлари ёрдамида аниқланган. Имунокомпетент хужайраларнинг маркерлари (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+, CD38+, CD95+) моноклонал антитаналар ёрдамида аниқланган (ООО «Сорбент», Подольск ш., Москва тум., РФ) (Залялиева М.В., 2004). Иммунитетнинг В-тизими ҳолати иммуноглобулинлар асосий гуруҳи IgG, А, М ни аниқлаш ёрдамида, И. Манчини бўйича гелдаги радиал иммунодиффузия усули ёрдамида баҳоланган. Циркуловчи иммун комплексларнинг катта-кичиклиги ва концентрацияси спектрофотометрик усул ёрдамида аниқланган.

Нейтрофилларнинг фагоцитар активлиги А.Н. Маянский (1993) усули бўйича аниқланди. ИЛ-1β, ИЛ-8, ФНО-α, ИЛ-4 цитокинлар, альфа ва гамма интерферонларини миқдори ТО «Цитокин» ва «Протеиновый контур» (С.-

Петербург, РФ) тест-тўплamlари ёрдамида қаттиқ фазали сендвич методига асосланган ИФА усули ёрдамида аниқланди. Беморларнинг иммунологик текширувлари ЎзР ФА қошидаги Иммунология институтининг иммуноцитокинлар лабораториясида ўтказилган (институт раҳбари, профессор Арипова Т.У).

Беморларда оксид азот миқдори (NO) унинг метаболитлари нитрит ва нитратлар миқдорига асосланиб (Голиков П.П., 2004), эндотелиал NO синтазининг фаоллиги (eNOS) (Сумбаев В.В., Ясинская И.М., 2000), индуцибел NO-синтаза (iNOS) (Вавилова Т.П., Петрович Ю.А., 1991), пероксинитрит миқдори (ONOO⁻) (N.W.Kooy et al., 1994; Азимов Р.К. ва Комарин А.С. модификацияси, 2005) аниқланди. Прооксидант тизимининг ҳолати липидларнинг перекисли оксидланишининг ҳам бирламчи маҳсулоти – диен кетонлар ва диен конъюгатлар (Гаврилова В.Б. и соавт., 1984), ҳамда иккиламчи маҳсулоти - малон диальдегиди (МДА) (Андреева Л.И. ва бошқ., 1988) миқдори бўйича баҳоланди.

Антиоксидант тизимнинг ҳолати СОД ва каталаза миқдорига асосланиб баҳоланди. СОД фаоллиги Мхитрян В.Г. ва бошқ. (1978) усулида, каталаза фаоллиги – Коралик М.А. ва бошқ. (1988) усулида аниқланди. Бундан ташқари антиоксидант тизимнинг фаоллиги эритроцитлардаги умумий глутатион (GS), оксидланган (GSSG) ва тикланган (GSH) глутатион миқдорлари нурли спектрофотометр VIS-2100 (LTD, China) ёрдамида баҳоланди (Чернышов В.Г., 1983), шу жумладан глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, глутатионтрансфераза активлиги бўйича баҳоланди (Власова С.Н. ва бошқ. 1990).

Қондаги 2,3 ДФГ ва АТФ миқдори Виноградова М.Л. (1980) усулида аниқланди.

Ўрта молекулали пептидларни (ЎМП) қон плазмасида М.Я. Малахова (1995) усули билан текширилди. Махсус биокимё изланишлари Гематология ва қон қуйиш ИТИнинг қон ўрнини босувчи лабораториясида (лаб. мудири Шевченко Л.И.) ўтказилди.

Ультратовуш текшируви PHILIPS HD6 конвекс датчик ёрдамида C5-2. 3,5 мГц ўтказилди. Чизиқли қон оқиш тезлиги см/с сонларида ўлчанди. Тадқиқотлар натижасида олинган маълумотларнинг статистик таҳлили ўтказилди (Г.Ф. Лакин, 1990). Тадқиқот натижалари Statistica 6.0 Microsoft программаси ёрдамида, Стъудентни *t*-критерияси қўллаган ҳолда таҳлил қилинди.

Ўтказилган даволаш дастурининг тури бўйича беморлар қуйидаги гуруҳларга бўлинди: 30 нафар бемор - базис даво қабул қилган; 70 нафар бемор – базис даво + Глутатион ва Сорбитол препаратларини қабул қилган, 65 нафар бемор – ВҚД олган, 37 нафар бемор - ВҚД + Глутатион, Сорбитол қабул қилган.

Диссертациянинг «Тадқиқот гуруҳидаги СВГС беморларининг клиник манзараси» деб номланган учинчи бобида тадқиқот гуруҳида СВГСнинг клиник кечиши таҳлил қилинган. Ўтказилган клиник тадқиқотлар

барча беморларда ҳолсизлик қайд этилишини кўрсатди. Айни пайтда бу гуруҳ беморларининг 74% да ўткинчи ҳолсизлик ва 20% беморларда эса доимий ҳолсизлик қайд этилди. Яна бир кўп учраган шикоят – 82,1% беморларда уйқудан кейин эрталабки тетикликнинг йўқлиги қайд этилди. Ўз навбатида 82,1% беморда ўнг қовурға остида оғриқ, худди шу фоиз беморларда қорин дам бўлиши, 69,9% беморда уйқунинг бузилиши, 67,8% беморда қабзият, 60,2% беморда бош оғриғи ва 60,2% беморда оддий жисмоний меҳнатдан кейин толиқиш симптомлари қайд этилди. Беморларда кузатилган клиник манзараларни чуқур таҳлили барча клиник симптомларнинг икки гуруҳ – интоксикация ва диспептик синдром доирасида эканлиги маълум бўлди. Фоиз ҳисобида таҳлил қилинганда интоксикация синдроми 64% ва диспептик синдром 36% беморда қайд этилди. Кузатувдаги беморларда ўтказилган тадқиқотлар бу гуруҳга фаол цитоллиз жараёнининг хос эмаслигини кўрсатди, яъни АЛТ кўрсаткичининг меъёрдан 5 баробарга ортиши кузатилмади. Аксарият беморларда (95 нафар, 48,5%) АЛТ кўрсаткичи меъёрдан 1,5 - 2 баробар ошиқ эканлигини кўрсатди. Паст даражадаги цитоллиз яъни АЛТ кўрсаткичининг меъёрдан 2 - 3 маротаба ортиши 54 нафар (27,6%) беморларда қайд этилди. Ўртача даражадаги цитоллиз, яъни АЛТ кўрсаткичининг меъёрдан 3 - 5 мартагача ортиши эса 47 нафар (23,9%) беморларда қайд этилди. Айни пайтда, кузатувдаги беморлар гуруҳи учун якқол билирубинемия хос эмаслиги ҳам кўрсатилди. Шуниси қизиқки умумий билирубин ва унинг фракциялари миқдори билан тимол синамаси кўрсаткичлари ўртасида ишонарли даражадаги ўзаро боғлиқлик ($p>0,05$) йўқлиги кўрсатилди. Шу билан бирга, клиник симптомлар қайд этилиш кўлами генотип тури, вирус юкламаси ва цитоллиз жараёнининг фаоллик даражалари билан ўзаро боғлиқлик мавжуд эмаслиги кўрсатилди ($p>0,05$). Айни пайтда, касаллик даврининг узайиши билан клиник симптомлар кўлами, хусусан, интоксикацион синдром белгилари кўлами ўртасида боғлиқлик қайд этилди. ($p<0,05$). СВГСни клиник кўринишларида интоксикацион синдромини текширилган беморларда етакчи эканлигини инобатга олган ҳолда ва кейинчалик лаборатор тадқиқотлар натижаларини интоксикацион синдром даражасига қараб тақсимлаш учун қуйидаги бавосита белгилаш киритилди: енгил даража – 1 - 3 та симптом қайд этилиши, ўрта даража – 4 - 6 та симптом қайд этилиши ва якқол даража – 7 - 10 та клиник интоксикацион симптомлар қайд этилиши.

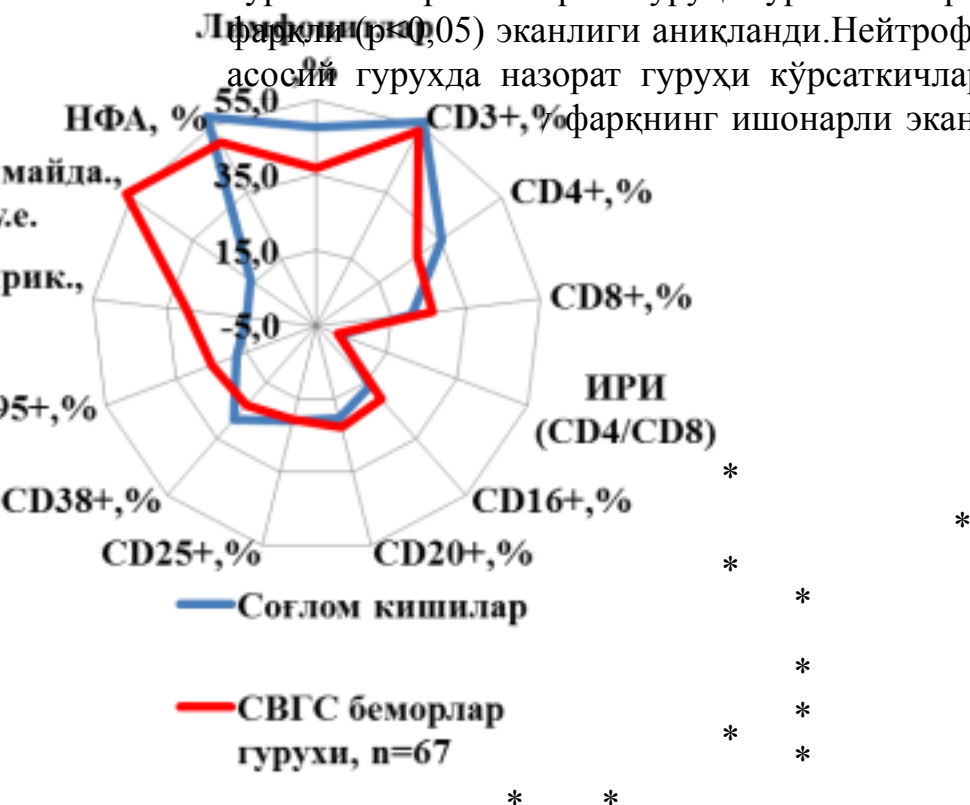
Диссертациянинг «Тадқиқот гуруҳидаги СВГС беморларида иммун ҳужайравий ва иммун-регулятор кўрсаткичлар таҳлили» деб номланган тўртинчи бобида ҳужайравий ва гуморал иммунитет кўрсаткичлари, яллиғланиш ва яллиғланишга қарши цитокинлар, шу жумладан ИФН- α , ИФН- γ ва анти-ИФН- α кўрсаткичлари беморлар ва назорат (соғлом кишилар) гуруҳи билан қиёсий таҳлил натижалари келтирилган. Беморлар гуруҳида (1-расм) соғлом шахсларга нисбатан лейкоцитлар ва лимфоцитларнинг

13

миқдори ишонарли равишда пасайганлиги аниқланди. Беморларда иммунорегулятор индексини (ИРИ) ишонарли равишда назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан пасайиши ($1,06\pm 0,07$ ва $1,7\pm 0,07$, тегишли

равишда) CD4+ лимфоцитларини миқдорини пасайиши ва, аксинча, CD8+ лимфоцитларини кўпайиши ($27,6 \pm 0,58\%$ ва $35,3 \pm 1,2\%$, тегишли равишда) билан изохланади.

Асосий гуруҳ беморлар қонида хужайра апоптози маркерлари ҳисобланган CD95+ лимфоцитларининг назорат гуруҳга нисбатан юқорилиги аниқланди ($24,8 \pm 1,21\%$ ва $17,9 \pm 0,8\%$ тегишли равишда). СВГС беморлар гуруҳида назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан гуморал иммунитетни ифодаловчи кўрсаткичларининг миқдори ишонарли равишда ошганлиги қайд этилди: IgA ($159,1 \pm 6,0\text{мг}\%$ ва $108,0 \pm 9,7\text{мг}\%$ тегишли равишда), IgM ($119,0 \pm 5,84\text{мг}\%$ ва $84,5 \pm 5,1\text{мг}\%$), шундай расмда ҳам ЦИК (йирик ва кичик) кўрсаткичлари назорат гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан юқори даражада фарқли (p<0,05) эканлиги аниқланди. Нейтрофилларнинг фагоцитар фаоллиги асосий гуруҳда назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан юқори эканлиги асосий гуруҳда назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан юқори эканлиги фарқнинг ишонарли эканлиги қайд этилмади (p>0,05) (1



1-расм. СВГС беморлар гуруҳида иммунологик кўрсаткичлар.
Эслатма: * - назорат гуруҳига нисбатан ишонарли (p<0,05) фарқнинг мавжудлиги

Текширилган беморларда яллиғланишни чақирувчи цитокинлар ичида кўрсаткичларни қарама-қаршилиги намоён бўлди. Айти пайтда, ИЛ-1 β ($2,4\pm 0,15$ пг/мл ва $4,32\pm 0,35$ пг/мл тегишли равишда) ва ИЛ-8 ($10,8\pm 0,42$ пг/мл ва $32,2\pm 1,9$ пг/мл тегишли равишда) миқдорлари ишонарли даражада пасайганда, ФНО- α ни миқдори ($8,9\pm 0,41$ пг/мл ва $5,8\pm 0,27$ пг/мл, $p<0,05$) эса ишонарли кўпайди. Яллиғланишни белгиловчи ИЛ-4 назорат гуруҳининг кўрсаткичларига нисбатан икки баробарга ошди ($4,1\pm 0,16$ пг/мл ва $2,35\pm 0,17$ пг/мл тегишли равишда).

СВГС беморларида ИФН- α миқдорини ишонарли пасайиши ($p<0,01$) ИНФ- γ эса ишонарли ортиши инobatга сазовордир ва бу ҳолат интерфероногенез хусусиятини акс эттиради (расм 2). Олиб борилган тадқиқотлар иммунологик кўрсаткичлар билан вируснинг генотиби, вируснинг юклама даражаси, гепатоцитлар цитолизи даражаси ва клиник интоксикацион синдром билан боғлиқлик фарқлилиги ($p>0,05$) йўқлигини аниқлади.

25,0

20,0

15,0

32,3

10,6

10,0

10,8

8,9 6,3 8,3

5,0 0,0

ИЛ-8

пг/мл

5,8

пг/мл

2,4 4,1

ИФН- α *

пг/мл

ИНФ- γ

пг/мл

4,3 2,4

**

ФНО- α *

6,9

пг/мл

ИЛ-4

*

ИЛ-1 β

пг/мл

Соғлом кишилар СВГС беморлари

2-расм. СВГС беморлар гуруҳида яллиғланиш ва яллиғланишга қарши цитокинларнинг кўрсаткичлари

мавжудлиги

Эслатма: * - назорат гуруҳига нисбатан ишонарли фарқнинг ($p<0,05$)

Диссертациянинг «Тадқиқот гуруҳидаги СВГС беморларида прооксидант ва антиоксидант тизимларнинг ҳолати» деб номланган бешинчи бобида СВГС беморлар гуруҳида прооксидант ва антиоксидант тизим ҳолатини ўрганиш натижалари келтирилган. Тадқиқотларнинг бу босқичида нитрооксидергик жараёнларнинг кўламини акс эттирувчи NO, iNOS, eNOS кўрсаткичларининг СВГС билан оғриган беморларда фаоллик даражалари ўрганилди. Ўтказилган тадқиқотлар асосий гуруҳ беморларида NO миқдори соғлом гуруҳ кўрсаткичларидан фарқ қилмаслиги ($19,4 \pm 0,37$ ва $17,9 \pm 0,88$ мкмоль/л, $p > 0,05$) қайд этилди (1-жадвал). Айни пайтда, асосий гуруҳ беморларида iNOS миқдорининг фарқли ($p < 0,05$) кўпайиши ($0,73 \pm 0,01$ ва $0,28 \pm 0,01$ мкмоль/мин/мл) ва аксинча eNOS миқдорининг фарқли камайиши ($7,33 \pm 0,17$ ва $14,6 \pm 0,73$, $p < 0,05$) аниқланди. Тадқиқотлар NO метаболитларидан бири – ONOO кўрсаткичини асосий гуруҳ беморларида юқори ($0,67 \pm 0,01$ ва $0,12 \pm 0,01$, $p < 0,01$) эканлигини қайд этди. СВГС билан оғриган беморларда интоксикацион синдромнинг патогенетик асосларини ўрганиш учун ҳужайра мембраналарининг емирилиш кўрсаткичлари - липидларнинг перекисли оксидланиши (ЛПО) ўрганилди. Хусусан, СВГС билан оғриган барча беморларда бирламчи ва иккиламчи липидларнинг перекисли оксидланиши (ЛПО) кўрсаткичларининг фаоллик белгилари аниқланди (1-жадвал). Бунда диен кетонини, диен конъюгатларини, малон диальдегид даражасини соғлом гуруҳ кўрсаткичларидан фарқли ($p < 0,05$) ўзгаришлари қайд этилди, бу эса эндоген интоксикациянинг даражасини кўрсатиб берувчи асосий кўрсаткич деб қайд этилди. Тадқиқот жараёнида эндоген интоксикациянинг яна бир кўрсаткичи – ўртамолекуляр пептидлар (ЎМП) миқдори ўрганилди. Ўтказилган тадқиқотлар асосий гуруҳ беморларида бу кўрсаткич соғлом гуруҳга нисбатан 1,5 баробар юқорилиги аниқланди (1-жадвал). Маълумки патологик жараёнларнинг кечишида антиоксидант тизим (АОТ) жуда катта аҳамиятга эга. СВГС беморлар гуруҳида оксидлашга қаршилик кўрсатувчи глутатион миқдорини аниқлаш натижалари ички муҳитни сақловчи глутатион тизим фаолияти ишонарли равишда бузилганлиги қайд этилди. Беморларда тикланган глутатион кўрсаткичи кескин - деярли икки баробар пасайган. Бу ҳолат глутатионга боғланган ферментларнинг супрессияси билан кечиб боради. Глутатионпероксидазани фаоллиги соғлом шахсларникига нисбатан 1,8 марта пасайди (1-жадвал). Глутатионредуктазанинг фаоллиги ҳам ишонарли фарқланди, лекин унинг пасайиш даражаси кескиндан йироқ эди. Оксидланган глутатионни тиклаш учун НАДФН молекуласи зарур унинг донатори бўлиб Г-6-ФДГ ҳисобланади, ва шу билан бирга унинг фаоллиги ишонарли равишда пасайгани қайд этилди (1-жадвал). Ўтказилган

изланишлар прооксидант ва антиоксидант тизимлари кўрсаткичларини цитолиз чуқурлиги, вирус юкламаси даражаси, С вирусини генотиби ўртасида ишонарли узвийлигини йўқлигини кўрсатди. Кейинги тадқиқотлар прооксидант ва антиоксидант тизимларини интоксикацион синдроми билан узвий боғланишини кўрсатди.

16

1-жадвал.

**СВГС гуруҳ беморларида турли интоксикация даражаларида
прооксидант ва антиоксидант тизим кўрсаткичлари, n=196
(M±m)**

Биокимёвий кўрсаткичлар	Соғлом кишилар (n=20)	Беморлар нинг умумий гуруҳи (n=196)	Турли интоксикация даражадаги беморлар гуруҳи		
			I гуруҳ енгил (n=49)	II гуруҳ ўрта, (n=74)	III гуруҳ яққол, (n=73)
NOx, мкмоль/л	17,9 ±0,88	19,4 ±0,37	18,7 ±0,49	19,9 ±0,76	20,3 ±0,80
eNOS, мкмоль/мин/мл	14,6 ±0,73	7,33 ±0,17*	7,15 ±0,25	7,60 ±0,29*	7,37 ±0,39*
iNOS, мкмоль/мин/мл	0,28 ±0,01	0,73 ±0,01*	0,70 ±0,02*	0,75 ±0,03*	0,76 ±0,03*
ONOO, мкмоль/л	0,12 ±0,01	0,67 ±0,01*	0,65 ±0,02*	0,67 ±0,02*	0,70 ±0,03*
Диено кетонлари, отн. Ед/мл	0,32 ±0,02	0,64 ±0,01*	0,64 ±0,02*	0,62 ±0,02*	0,66 ±0,02*
Диен конъюгатлари, отн. Ед./мл	1,07 ±0,06	1,79 ±0,03*	1,66 ±0,05*●	1,76 ±0,06*#	1,91 ±0,06*#§
МДА, нмоль/мл	2,50 ±0,13	3,61 ±0,07*	3,62 ±0,15*	3,49 ±0,11*	3,73 ±0,11*
ЎМП, у/е	9,79 ±0,09	14,02 ±0,28*	11,9 ±0,35*●	14,86 ±0,49*#	14,6 ±0,45*#
Каталаза, мкат/мл	22,8 ±1,04	50,1 ±0,96*	52,4 ±1,82*	50,1 ±1,50*	48,6 ±1,65*
СОД, мкг/мл	36,1 ±1,52	38,6 ±0,84	40,8 ±1,52*	38,6 ±1,34	37,0 ±1,47
GS, мкмоль/мл.эр.	45,3 ± 2,12	23,7 ±0,45*	28,2 ±0,75*●	24,7 ±0,61*#	19,7 ±0,66*#§
GSH, мкмоль/мл.эр.	43,2	22,2	26,5	23,2	18,4

	$\pm 2,14$	$\pm 0,45^*$	$\pm 0,75^{*\bullet}$	$\pm 0,65^{*#}$	$\pm 0,64^{*#\S}$
GSSG, мкмоль/мл.эр.	2,15 $\pm 0,15$	1,51 $\pm 0,04^*$	1,71 $\pm 0,06^{*\bullet}$	1,53 $\pm 0,06^{*#}$	1,34 $\pm 0,06^{*#\S}$
ГР, мкмоль/НАДФ Н/мин/Нб	2,84 $\pm 0,13$	2,14 $\pm 0,04^*$	3,25 $\pm 0,12^{*\bullet}$	2,52 $\pm 0,06^{*#}$	1,19 $\pm 0,05^{*#\S}$
ГП, мкмоль/GSSG/ мин/Нб	583,5 $\pm 28,28$	332,3 $\pm 6,17^*$	464,0 $\pm 5,5^{*\bullet}$	350,5 $\pm 3,4^{*#}$	225,3 $\pm 5,0^{*#\S}$
ГТ,мкмоль/ GSH/мин/Нб	2,44 $\pm 0,11$	1,35 $\pm 0,03^*$	1,54 $\pm 0,05^{*\bullet}$	1,36 $\pm 0,04^{*#}$	1,22 $\pm 0,04^{*#\S}$
Г-6-ФДГ, мкмоль НАДФ/мин/Нб	5,5 $\pm 0,27$	4,39 $\pm 0,08^*$	5,01 $\pm 0,21^{\bullet}$	4,41 $\pm 0,12^{*#}$	3,94 $\pm 0,10^{*#\S}$

Эслатма: * - соғлом кишиларга нисбатан ишонарли фарқ мавжудлиги;

- I гуруҳга нисбатан ишонарли фарқ мавжудлиги;

§ - II гуруҳга нисбатан ишонарли фарқ мавжудлиги;

● –умумий беморлар кўрсаткичларига нисбатан ишонарли фарқ мавжудлиги.

17

Айнан, iNOS ва ONOO⁻ фаоллиги интоксикацион синдромнинг енгил даражасидаги беморларда умумий гуруҳ беморларига нисбатан ишонарли пасайган, ва беморларни аҳволи ёмонлашиб шикоятлари кўпайган сари бу фарқ чуқурлашди ($0,68 \pm 0,02$ мкмоль, $0,71 \pm 0,02$ мкмоль, $0,78 \pm 0,02$ мкмоль ва $0,56 \pm 0,02$ мкмоль/л, $0,72 \pm 0,02$ мкмоль/л, $0,70 \pm 0,02$ мкмоль/л тегишли равишда, $p < 0,05$). ЛПО кўрсаткичларининг интоксикация даражалари билан боғлиқлигини ўрганишга бағишланган тадқиқотлар фақат диен конъюгатлар интоксикация даражаси билан ҳамоҳанг ўзгаришини кўрсатди. Глутатион ва глутатионга боғлиқ ферментларнинг ва Г-6-ФДГнинг фаоллиги кўрсаткичларининг пастлиги интоксикацион синдромнинг яққол даражасида қайд этилди. ГРнинг фаоллиги ўзгариши динамикаси ўзига қизиқиш уйғотади. Интоксикацион синдромини енгил шаклида ГР фаоллигини кескин ошиши қайд этилиб, бу ўзгариш умумий гуруҳ беморларникига ва назорат гуруҳига нисбатан ишонарли эди. Интоксикацион синдром чуқурлашган сари ГР фаоллиги пасайиб боради ва энг паст даражаси III гуруҳда намоён бўлди, бинобарин уларда интоксикацион синдромга хос шикоятлар ҳам кўп эди (1-жадвал).

Глутатион тизимининг барча ферментлари орасида интоксикация даражаси билан бир йўналишда ўзгарувчи фермент ГП эканлиги аниқланди. Бу ҳолатни янада ойдинлаштириш учун турли интоксикация даражаларида ГП даражаси аниқланди ва глутатион тизимининг компенсация даражасида ГП фаоллигини 30% гача камайиши, субкомпенсация даражасида ГП фаоллигининг 30% дан 50% гача камайиши ва декомпенсация даражасида ГП

фаоллигининг 50% дан кўп камайиши аниқланди. Ўтказилган тадқиқотлар глутатион етишмовчилик жараёни интоксикация даражаси билан боғлиқлигини ва шу билан бирга биохимик ўзгаришлар СВГС ни клиник намоён бўлишдан аввал бошланишини кўрсатди (2-жадвал).

2-жадвал.

СВГС беморларида глутатион етишмовчилик ва интоксикацион синдром даражалари орасидаги ўзаро нисбат

Глутатион етишмовчилик даражаси	Турли интоксикация даражаларидаги беморлар гуруҳи		
	I гуруҳ енгил (n=49)	II гуруҳ ўрта (n=74)	III гуруҳ яққол (n=73)
Компенсация	(40)81,6%±6,9*	-	-
Субкомпенсация	(9)18,4%±6,9* ²	(55)74,3%±6,2* ¹	-
Декомпенсация	-	(19)25,6%±6,2* ³	(73)100% ²

Эслатма:

* - $p < 0,05$ глутатион етишмовчилик даражалари ўртасида ишонрли фарқ мавжудлиги
^{1,2,3} – $p < 0,05$ белгиланган гуруҳлар орасида ишонрли фарқ мавжудлиги.

18

Диссертациянинг «Тадқиқот гуруҳидаги СВГС беморларида хужайра энерготаъминоти ва гипоксияси ҳолати» деб номланган олтинчи бобида СВГС билан оғриган беморларда тўқима хужайраларининг гипоксия ва энергетик ҳолатини аниқлаш учун эритроцитар 2,3-ДФГ ва АТФ миқдори ўрганилди (3-жадвал).

3-жадвал.

СВГС беморларида турли интоксикация даражаларида АТФ ва 2,3-ДФГ кўрсаткичлари

Биокимёвий кўрсаткичлар	Соғлом кишилар (n=20)	Беморларнинг умумий гуруҳи (n=196)	Турли интоксикация даражаларидаги беморлар гуруҳи		
			I гуруҳ енгил (n=49)	II гуруҳ ўрта (n=74)	III гуруҳ яққол (n=73)
АТФ, мг/100 мл	19,6±0,26	4,8±0,15*	7,4±0,28*	4,4±0,17* ¹	3,5±0,13* ²
2,3 ДФГ, мкмоль/мл	5,61±0,19	10,4±0,19*	8,9±0,32*	10,4±0,28* ¹	11,5±0,30* ²

Эслатма: * - $p < 0,05$ соғлом кишиларга нисбатан ишонарли фарқ мавжудлиги;
1,2,3 – $p < 0,05$ белгиланган гуруҳлар орасида ишонарли фарқ мавжудлиги.

Ўтказилган тадқиқотлар асосий гуруҳ беморларда АТФ миқдори фарқли равишда ($p < 0,05$) пасайганлиги ва 2,3-ДФГ миқдори фарқли ($p < 0,05$) равишда кўпайганлиги аниқланди. Кейинги тадқиқотлар бу кўрсаткичларнинг вирус генотиби, вирус юкламаси ва цитоллиз фаоллиги даражалари билан боғлиқ эмаслигини кўрсатди. Аксинча, ўтказилган тадқиқотлар хужайравий АТФ ва 2,3-ДФГ миқдорларини ўзгаришини интоксикация синдромининг даражалари билан узвий боғлиқлигини кўрсатди.

Ўтказилган корреляция натижалари АОТнинг етакчи кўрсаткичи – ГП билан асосий иммунологик фаоллик кўрсаткичи – ФНО- α ($r = -0,28$), ҳамда нитрооксидергик жараён кўрсаткичи – ONOO^- ($r = -0,16$), ЛПО кўрсаткичи – диен конъюгатлари ($r = -0,16$) ва эндоген интоксикациянинг лаборатор маркери – ЎМП ($r = -0,18$) ўртасида манфий боғлиқликни кўрсатди, хужайра энергетик кўрсаткичи – АТФ билан ГП ($r = 0,16$) ўртасида тўғри корреляцион боғлиқлик ва гипоксия кўрсаткичи – 2,3-ДФГ ўртасида манфий корреляцион боғлиқлик ($r = -0,17$) борлиги аниқланди.

Юқорида кўрсатилган асосий патологик жараёнлар кўрсаткичларини ўрнини аниқлаган ҳолда СВГС билан оғриган беморларда метаболик адаптация механизмларининг сурункали инфекция шароитидаги чизмаси ифодалаб берилди (3-расм). Хусусан, HCV организмда Th1/Th2 иммун тизимида дисбалансни ҳосил қилиб, интерферон тизимининг сусайиши ва бошқа цитокинларнинг дисрегуляциясига ва иммункомплексларни пайдо бўлишига олиб келади. Айни пайтда, Купфер, ИТО, фагоцитар ва эндотелиал хужайралар томонидан кислороднинг эркин радикаллари ишлаб чиқарилади.

19

Кислороднинг эркин радикаллари миқдорининг ошиши ЛПО реакциялари фаоллашишига сабаб бўлади¹. ЛПО омилларининг концентрацияси ошиши натижасида хужайравий адаптация механизмлари шаклланади. Бу жараёнда глутатион тизими фаоллашиб, кислороднинг эркин радикалларига қарши курашда ГПнинг ўрни катта. ГП учун фермент-донор ролини GSH ўйнайди, ва бу ҳолатда GSSGдан GSHни биорегенерациясини таъминлаб берадиган ягона ферментлар бўлиб ГР ва Г-6-ФДГдир². Бир қатор беморларда ГР миқдорини умумий ва тикланган глутатион миқдорлари пасайганида ишонарли ошиши, бизнинг фикримизча бу мураккаб тизимнинг адаптив зўриқишини таърифлайди. Бу фаоллик ўз ўрнида оксидлаш стресси жараёни фонида мембраналарни бутунлигини сақлашга олиб келади. Кислороднинг эркин радикаллари инактивлаштириш митохондрияларнинг шишини бартараф этади. Бў эса ўз ўрнида Кребс циклида нафас ферментларини фаоллигини сақлашга ёрдам беради. Шу билан бирга қўшимча АТФ ишлаб чиқариш учун анаэроб гликолиз жараёнлари фаоллашади². Ушбу жараёнлар оксидлаш стресси ҳолатида хужайраларнинг энергодефицитни олдини

олишга ва бутунлигини сақлашга ёрдам беради ва бу жараёнларни глутатион етишмовчилигини компенсатор босқичи деб ҳисоблаш мумкин.

Узоқ вақт давом этган прооксидант зўриқиш СВГС патогенезида етакчи ўрин эгаллаб, аста-секин глутатионни тикланиш резервларини камайишига олиб келади. Кислородни эркин радикаллари инактивлаштириш жараёнининг сусайиши митохондриялар шишига сабаб бўлади ва нафас занжири ферментларининг фаоллиги пасайишига олиб келади, бу ўз ўрнида хужайраларда энергодефицит ривожланишига олиб келади. Айни вақтда, хужайра ривожланган энергодефицитни қўшимча фаоллашган анаэроб гликолиз ҳисобига тўлдиради. Хужайрада метаболизм жараёнларининг бузилиши гипоксия ривожланишига сабаб бўлади, бу ҳолат беморларда 2,3-ДФГ миқдори ортганлиги билан намоён бўлди. Бу босқични глутатион етишмовчилигининг субкомпенсация даври деб баҳолаш мумкин.

Про- ва антиоксидант тизимлар ўртасидаги қарама-қаршилиқнинг кейинги босқичи глутатион тикланиш резервларини кескин пасайиши, хужайрани энергетик потенциалини прогрессив тарзда камайиши, бу эса АТФ миқдори пасайиб компенсатор тарзда 2,3-ДФГнинг кўпайишидир, айтилганларнинг бари хужайранинг чуқур гипоксиясини таърифлайди. Кўриб чиқилган жараёнлар хужайрани ҳалокатга олиб келади, турғун яллиғланиш, жигар паренхимасини склерозланишига ва кейинчалик цирроз шаклланишига олиб келади³. Бу босқич ҳақли равишда глутатион етишмовчилигининг декомпенсация босқичи деб этиш мумкин.

¹Лебедев В.В., Бондаренко И.Н., Авдеева М.Г., Стриханов К.С., Шубич М.Г. Клиническое значение уровня оксида азота в дифференциальной диагностике острых, хронических вирусных и токсических поражений печени//Инфекционные болезни. – 2010. – Т. 8. - №1. – С. 19-24.

²Северин Е.С. Биохимия / Е.С.Северин. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2005. - С.622-623.

³Farias MS, Budni P, Ribeiro CM, Parisotto EB, Santos CE, Dias JF et al. Antioxidant supplementation attenuates oxidative stress in chronic hepatitis C patients//Gastroenterol Hepatol. 2012;35(6):386-94.

Th-1 и Th-2 лимфоцитлар ўртасида HCV мувозанат бузилиши

Иммунокомплекс жараёнлар ва тўқима
аутоагрессиясининг ривожланиши
Интерфероногенез супрессияси

Цитокинлар дисрегуляцияси
ФНО-α активлашиши

Компенсация босқичи
Глутатион тизим активацияси

GSH нинг ГП ёрдамида эркин O₂ радикалларининг инактивлантириши
Купфер, ИТО, фагоцитар ва эндотелиал хужайралардан кислород эркин радикалларининг ишлаб чиқарилиши

ЛПО активлашиши

Субкомпенсация босқичи
Глутатион тизимнинг фаоллигининг камайиши

↓GSH и ↓ГП
Декомпенсация босқичи
Глутатион тизим фаоллигининг чуқур сўниши ↓↓GSH и ↓↓ГП

GSSG миқдорининг ортиши ↑ ГР активлигининг
↑ GSSG ↓ ГР
↑ GSSG ↓↓ ГР

ошиши
GSH биорегенерацияси ортиши
GSH биорегенерациясининг зўриқиши
↓ Г-6-ФДГ
↓ НАДФН ↓↓ Г-6-ФДГ GSH

O₂ эркин радикалларининг инактивланиши митохондриялар шишини олдини олади
↑ Г-6-ФДГ ↑ НАДФН
O₂ эркин радикалларининг инактивациясининг сусайиши ва митохондриялар шиши биорегенерациясининг кескин камайиши
Митохондриялар лизиси
↓↓ НАДФН

Нафас занжиридаги ферменталрнинг активлигининг сақланиши ва АТФ ишлаб чиқариш учун анаэроб гликолизнинг фаоллашиши

Хужайрада метаболизм жараёнларининг сақланиши
Нафас занжиридаги ферментларнинг активлигининг сусайиши ва АТФ ишлаб чиқариш учун қўшимча анаэроб гликолизнинг фаоллашиши

Хужайра гипоксияси
↑ 2,3-ДФГ
Хужайра энергодефицити ривожланиши Хужайра ўлими

Расм. 3. СВГС метаболик адаптация жараёнларининг чизмаси

21

СВГСда келтирилган метаболик адаптация жараёнлари чизмасини

хисобга олиб ва бунда глутатион етишмовчилиги билан энергияни ишлаб чиқариш функциясини етакчилигини инобатга олиб, табиийки, кўриб чиқилган жараёнларни бемор одам организмида коррекция қилувчи воситаларни излаш лозим.

Диссертациянинг «СВГС да патогенетик ва вирусга қарши давланинг самарадорлигини ошириш» деб номланган олтинчи бобида мақсадли патогенетик даволаш дастурининг илмий асослари ёритиб берилган. Глутатион тизимидаги бузилишларни коррекциялаш мақсадида биз Испанияда «Welfarm» фирмаси ишлаб чиқарган ўз таркибида GSH ни сақлайдиган «Глутион» препаратини қўлладик. Глутатион тизими фаолиятининг етишмовчилигига асосланиб беморлар 3 гуруҳга бўлинди: глутатион тизим етишмовчилигининг компенсация босқичидаги беморлар (I гуруҳ), глутатион тизим етишмовчилигининг субкомпенсация босқичидаги беморлар (II гуруҳ) ва глутатион тизим етишмовчилигининг декомпенсация босқичидаги беморлар (III гуруҳ) ни ташкил этди. Ҳар бир гуруҳда базис ва симптоматик даволаш билан бирга Глутион препарати 600 мг суткалик дозада 0,9% физиологик эритмада эритилиб, 10 кун давомида томчилаб юборилди. Ўтказилган терапия тадқиқот гуруҳларида аввалги GS ва GSH кўрсаткичларида маълум даражада ўзгариш борлигини аниқланди ($38,2 \pm 2,83$; $28,8 \pm 2,08$; $30,8 \pm 2,43$ мкмоль/мл.эр. – даволашдан олдин тегишли равишда; $36,4 \pm 2,69$; $27 \pm 1,95$; $29,1 \pm 2,3$ мкмоль/мл.эр. даволашдан кейин тегишли равишда). Хусусан, I гуруҳ беморларида даволашдан олдин қайд этилган ГП ($466,1 \pm 36,7$ мкмоль/GSSG/мин/Hb) ўтказилган терапиядан кейинги ГП ($526,3 \pm 37,9$ мкмоль/GSSG/мин/Hb) ўртасида фарқли ($p < 0,05$) ўзгариш қайд этилди. Айни пайтда глутатион етишмовчилиги субкомпенсация ва декомпенсация босқичларидан (2-3 гуруҳ) беморларида ГП динамикасида фарқли ўзгариш қайд этилмади. Олинган натижаларга асосланиб, Глутион препаратини 600 мг суткалик дозада 10 кун давомида қўллаш фақатгина глутатион етишмовчилигининг компенсация босқичида нафли эканлиги аниқланди.

Даволаш дастурининг кейинги босқичида II-III гуруҳ беморларида қўлланилган воситанинг суткалик дозаси 1200 мг гача ошириб 10 кун давомида берилди ва ушбу даврдан кейин GS, GSH ва ГП миқдорларини концентрацияси субкомпенсация босқичидаги беморларда компенсация гуруҳи кўрсаткичларига, декомпенсация гуруҳи беморларининг кўрсаткичлари эса субкомпенсация гуруҳини кўрсаткичларидан фарқ ($p > 0,05$) эмаслигини аниқлади. Шу билан бирга айнан II, III гуруҳ беморларида Г-6-ФДГ, 2,3-ДФГ, АТФ кўрсаткичларида даволашдан олдин ва кейин фарқли ўзгариш ($p > 0,05$) қайд этилмади.

Бу ҳолатни патогенетик коррекция қилиш мақсадида, хусусан, гликолиз ферментларини макроэргик ҳосилалар билан таъминлаш мақсадида Сорбитол (Imuna Pharm, Словакия Республикаси) препарати Глутион препарати билан комбинация ҳолида кейинги гуруҳ беморларида тадқиқот ўтказилди. Сорбитол глутатион етишмовчилиги субкомпенсация ($n=13$) ва

қўлланилди. Ўтказилган тадқиқотлар Глутинон+Сорбитол препаратлари билан комплекс тарзда даволаш ГП, Г-6-ФДГ, 2,3-ДФГ, АТФ кўрсаткичларининг беморларнинг икки гуруҳида ҳам фарқли ўзгаришига сабаб бўлди. Хусусан, II-гуруҳ беморларида АТФ миқдори $4,0 \pm 0,28$ дан $15,6 \pm 1,13$ Мг/100мл ($p < 0,05$) га, III-гуруҳ беморларида эса $3,1 \pm 0,21$ дан $8,6 \pm 0,6$ Мг/100мл ($p < 0,05$) гача кўтарилгани қайд этилди ва бу ўзгаришлар айни пайтда беморларда интоксикация симптомларини регрессия тарафга силжитди. Олдимизда қўйилган кейинги мақсад олинган натижалар қанчалик турғунликни таъминлаб бериши эди. Ўтказилган клиник-лаборатор мониторинг натижалари I- ва II- гуруҳ беморларида хужайра турғунлигини таъминлаб берувчи ферментлар 6 ойдан 12 ойгача, III-гуруҳ беморларида эса 2 ойдан 3 ойгача сақланиб тура олишини кўрсатди. Бу ҳол III-гуруҳ беморларида узайтирилган тарзда метаболик даволаш программасини ўтказишимизга асос бўлди. Дастур 1 йил давомида III-гуруҳ беморларини ҳар 3 ойда комплекс даволаш тадбиридан иборат бўлди. Тадқиқот якунида олинган натижалар нафақат глутатион тизими ферментлари, гипоксия ва энерготаяминот кўрсаткичларининг турғун ҳолда бўлиши, балки бу реабилитациянинг инструментал ташхис кўрсаткичлари билан исботи сифатида гуруҳ беморларида портал венадаги қон оқими тезлигининг базис терапия олгин гуруҳига нисбатан ишонарли ортиши кузатилди ($21,9 \pm 1,5$; $18,2 \pm 1,2$ см\сек, $p < 0,05$). Бу ҳол тавсия этилган патогенетик даволашнинг илмий асосланганлигидан далолат беради.

Кейинги тадқиқотлар 65 нафар беморда вирусга қарши комплекс даволаш – Альтевир ва рибавирин препаратларини 12-24 ҳафта мобайнида қўллашдан иборат бўлди. Клиник кузатишларни натижаларини таҳлили барча касалларда ВҚД НТлар пайдо бўлишига сабаб бўлди. Қайд этилган НТлари таърифи бўйича беморлар икки гуруҳга бўлинди: 1-чи гуруҳ - 18 нафар (27,7%) беморларида ВҚД давомида НТлар қайд этилмади; 2-чи гуруҳ – 47 нафар (72,3%) даволаш дастури давомида НТлар намоён бўлди, ва уларнинг спектри хилма-хил эди. Энг кўп гриппга ўхшаш ва астеник синдром (89,5% ва 84,2% тегишли равишда) намоён бўлди. 2-чи ўринни диспептик, психопатик ва артралгик синдромлар (79,2%, 72,9% ва 68,7% тегишли равишда) эгаллади. Аксарият беморларда ВҚД оғир кечди. 52,1% беморларда даволаш дастури ўтказилган даврида тана вазнининг камайиши қайд этилди. Бу ҳолат 16 нафар (24,6%) беморлар вирус юкламаси пасайишига қарамасдан даволаш курсидан воз кечишига сабаб бўлди. Даволаш курсининг 12 чи ҳафтасида 16 нафар (24,6%) беморларда яққол кам қонлик, тромбоцитопения, аутоиммун тиреоидит, вазн 10 кг дан ортиқ камайиш ҳолатлари кузатилгани сабабли шифокор томонидан даволаш курси тўхтатилди. Хулоса қилиб айтганда жами 65 нафар беморлардан 32 (49,2%) бемор турли НТлар туфайли даволаш курсини ололмади. 12-24 ҳафта охирида ўтказилган вирусологик текширувлар 18 (27,7%) нафар беморда РНК-НСV қонда қайд этилмаганини, 11 (19,3%) беморда вирус юкламасида ўзгариш бўлмаганлиги қайд этилди (4-жадвал), яъни 32,3% беморда ижобий

беморда эса турли НТлар асосида даволаш курсини ўтказа ололмаганлиги қайд этилди.

4-жадвал.

СВГС гуруҳ беморларида ВҚТ самарадорлиги билан НТларнинг намоён бўлиш даражаси орасидаги боғлиқлик

Ножўя таъсирларнинг беморлар гуруҳида турли даражада намоён бўлиши	ВҚД да вирусологик жавоб вариантлари		Ножуя таъсирлар натижасида ВҚД тўхтатилди, n (%)
	мусбат, n (%)	манфий, n (%)	
I гуруҳ (n=18)	6 (33,3±11,1%)	12 (66,7±11,1%)	-
II гуруҳ (n=47)	15 (31,9±5,7%) * p>0,05	-	32 (68,1±5,7%)
Жами, (n=65)	21 (32,3±5,8%)	12 (18,5±4,8%)	32(49,2±5,2%)

Эслатма: *p – I ва II гуруҳ орасида ишонарли фарқнинг мавжудлиги.

Тадқиқотларнинг кейинги босқичида ВҚДнинг НТларини намоёнлигини беморларда даволаш дастуридан олдинги про- ва антиоксидант тизими ҳолатлари билан патогенетик боғлиқлигини ўрганишдан иборат эди.

5-жадвал

ВҚД ва ВҚД билан патогенетик даволаш олиб борилиши самарадорлиги

Беморлар гуруҳи	ВҚД га ижобий жавоб	ВҚД га манфий жавоб	ВҚД ни НТ ҳисобига тўхтатилиши
ВҚД, (n=65)	21 (32,3±5,8%)	12 (18,5±4,8%)	32(49,2±5,2%)
Патогенетик даво+ ВҚД (n=37)	23 (64,9±1,8%)*	6 (16,2±5,0%)	8 (21,6±5,7%)*

Эслатма: *-солиштирилаётган гуруҳлар орасидаги ишонарли фарқ (p<0,05)

Аниқланишича, ВҚД ўтказилган ва кейинчалик НТлар кузатилган беморларда дастлаб ГР, ГП, ГТ, Г-6-ФДГ кўрсаткичларини ишонарли равишда ($p<0,01$) пасайганлиги аниқланди. СВГС билан хасталанган беморлардаги дастлаб АОТ кўрсаткичларини турлилигини ҳисобга олган ҳолда 37 нафар беморларда ВҚДдан олдин глутатион тизими ва АТФни

24

ҳисобга олган ҳолда 10 кун давомида Глутинон ва Сорбитол препаратлари билан даволаш курси ўтказилди. Ўтказилган даволаш дастуридан сўнг диен кетонлар ва диен конъюгатлар миқдорининг ишонарли пасайиши ($p<0,05$) каталазани ишонарли пасайганлиги фонида кечди. Айнан шу вақтда GS, GSH, ГП ва АТФ миқдорларини даволашдан олдинги кўрсаткичларига нисбатан ишонарли кўпайиши ва, аксинча, 2,3-ФДГ ни пасайиши намоён бўлди (5-жадвал). Бу ҳолат беморларни ВҚД ўтказилишига тайёрлиги ҳақида ҳулоса чиқаришга имкон берди. Ўтказилган даволашнинг натижалари АОТ коррекциясини ўтказган беморларда назорат гуруҳга нисбатан 27,6% ножўя таъсирлар кам ($p<0,05$) қайд этилганлигини кўрсатди. Бу эса ижобий вирусологик натижа олган беморлар сонини 32,6% кўпайишига олиб келди ва ўтказилган тадқиқот самарасини намоён этди.

Шундай қилиб, олинган натижалар СВГС ни узок давом кечган шаклнинг патогенезида глутатион тизими фаоллиги ва хужайраларни энергия билан таъминланиши метаболик адаптация замирида ётганлиги, ўз навбатида, гепатоцитларни сақлашда етакчи ўринни эгаллаши аниқланди. Глутатион тизимини ва хужайраларни энергия билан таъминлашни коррекция қилиш комплекс даволашни самарадорлигини оширади ва СВГСда вирусга қарши даво қўлланганида ножўя таъсирларнинг олдини олади.

ХУЛОСАЛАР

1. Сурункали С вирусли гепатит узок давр субклиник кўринишда кечади. СВГСни етакчи синдроми - интоксикацион синдромдир ва у клиник симптомларни маълум муддат ичида намоён бўлиш даражасининг ошиб бориши билан ифодаланади.
2. СВГСда интоксикацион синдромининг клиник намоён бўлиши вирус генотиби, вирус юкламаси ҳамда гепатоцитлар цитолиз даражаси билан узвий боғлиқ эмас.
3. СВГС да Th-1, Th-2 лимфоцитлар тизими орасида дисбаланс цитокинларни ишлаб чиқарилишини бузилиши билан намоён бўлади, ва шу қаторда ФНО- α ни фаоллигини ўсиши, интерфероногенезни супрессияси, иммунокомплекс жараёни ва тўқималарга қарши аутоагрессия шаклланиши кузатилади.
4. СВГС да нитрооксидергик фаоллашув ва про- ҳамда антиоксидант тизими мувозанатини бузилиши, хужайралар энергетик ҳолатининг сусайиши кузатилади. Бу биокимёвий ўзгаришлар касалликлнинг клиник намоён бўлишидан олдин юзага келади.
5. СВГСда иммун тизимдаги, нитрооксидергик, прооксидант ва антиоксидант тизимдаги ўзгаришлар вирусининг генотиби, вируснинг юклама даражаси, гепатоцитлар цитолиз жаражаси билан ўзаро боғлиқ эмас. Юқорида

ўрганилган тизимлар фаолияти интоксикацион синдромнинг намоён бўлиш даражаси билан боғлиқ.

6. СВГС беморларида ВҚДа юзага келадиган НТларнинг патогенезида антиоксидант тизимнинг ва хужайра энергетик ҳолатининг супрессияси муҳим ўринни эгаллайди.

25

7. СВГС комплекс давосига антиоксидант тизим ва хужайранинг энергетик ҳолатини коррекцияловчи препаратларнинг киритилиши патогенетик ва ВҚД самарадорлигини ошишига, шу билан бирга, беморларнинг ҳаёт сифатининг ошишига олиб келади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА НАУК 16.07.2013.Тйb.17.02 ПРИ ТАШКЕНТСКОЙ
МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ
ТАШКЕНТСКИЙ ПЕДИАТРИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

АРИПХОДЖАЕВА ГУЛНОЗАХОН ЗАЙНИТДИНОВНА

**ХРОНИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ С: МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ,
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ**

**14.00.10 – Инфекционные болезни
(медицинские науки)**

АВТОРЕФЕРАТ ДОКТОРСКОЙ ДИССЕРТАЦИИ

Ташкент – 2016

27

Тема докторской диссертации зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за №30.09.2014/Б2014.3-4.Тib40

Докторская диссертация выполнена в Ташкентском педиатрическом медицинском институте.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском) размещен на

веб-странице совета (www.tma.uz) и Информационно-образовательном портале “ZiyoNet” (www.ziyonet.uz).

Научный консультант: Касимов Илхамджан Асамович доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: Hubert E. Blum

доктор медицинских наук, профессор
(Германия)

Фазылов Вильдан Хайруллаевич
доктор медицинских наук, профессор
(Российская Федерация)

Мусабаев Эркин Исакович
доктор медицинских наук, профессор

Ведущая организация: Венский медицинский университет (Австрия)

Защита диссертации состоится «___»_____ 2016 г. в ___ часов на заседании Научного совета **16.07.2013.Tib.17.02** при Ташкентской медицинской академии по адресу: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Фараби 2. Тел/Факс: (+99871) 150-78-25. E-mail: tta2005@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентской медицинской академии (зарегистрировано за №___). Адрес: 100109, г. Ташкент, Алмазарский район, ул. Фараби 2. Тел/Факс: (+99871) 150-78-25

Автореферат диссертации разослан «___»_____ 2016 года
(протокол рассылки №___ от «___»_____ 2016 года)

А.Г. Гадаев

председатель научного совета по
присуждению ученой степени доктора наук,
д.м.н., профессор

М.Ш. Каримов

ученый секретарь научного совета по
присуждению ученой степени доктора наук,
д.м.н., профессор

Л.Н. Туйчиев

председатель научного семинара при научном
совете по присуждению ученой степени
доктора наук, д.м.н.

28

ВВЕДЕНИЕ (аннотация докторской диссертации)

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире заболеваемость хроническим вирусным гепатитом С (СВГС) в последнее время растет. По данным Европейской (EASL) и Американской ассоциации по изучению болезней печени (AASLD)¹ в мире насчитывается около 130 -

150 млн. больных ХВГС.

В годы независимости в нашей Республике в процессе реформирования системы здравоохранения проведены широкомасштабные мероприятия по повышению качества профилактики, диагностики и лечебных мероприятий ХВГС, а также по укреплению на основании мировых требований по этим направлениям материально-технических баз медико-организационных структур.

В настоящее время в мире особое внимание уделяется научным исследованиям, направленным на изучение механизмов метаболической адаптации к хронической HCV-инфекции и на оптимизацию терапевтических подходов при ХВГС. При этом особое значение имеют научные исследования в области определения состояния про- и антиоксидантных систем во взаимосвязи с клиническим течением ХВГС; раскрытия индивидуальных особенностей клеточных механизмов метаболической адаптации в основе длительного персистирования вируса при ХВГС; усовершенствования дифференцированного подхода к терапии заболевания; повышения эффективности патогенетической терапии с учетом особенностей метаболической адаптации и усовершенствования методов коррекции ПЭ ПВТ при ХВГС; определения взаимосвязи между молекулярно генетическими характеристиками HCV, уровнем цитолиза и клинического интоксикационного синдрома с уровнями гипоксии и показателями энергетического баланса клеток, а также осуществления коррекции ПЭ ПВТ с учетом состояния клеточной метаболической адаптации у больных ХВГС. Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан УП-3923 от 19 сентября 2007 года «Об основных направлениях дальнейшего углубления реформ и реализации государственной программы развития здравоохранения», а также других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствия исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий республики VI. «Медицина и фармакология» ГНТП-6-10 - «Разработка новых технологий профилактики, диагностики, лечения и реабилитации заболеваний человека».

¹ European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection // J Hepatol 2015;60:392–420; Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Adults Infected With Hepatitis C Virus // J Hepatol., 2015; 62(3); 932-954.

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации¹. Научно-исследовательские работы, направленные на изучение патогенеза хронической HCV-инфекции и повышения эффективности противовирусной и патогенетической терапии проводятся в крупных медицинских центрах мира, в том числе University of California, Johns Hopkins University (США), Universitäts klinikum Freiburg, Universität Hamburg, Universität München

(Германия), Vienna Medical University (Австрия), Universitu of Bologna, Padova University Hospital (Италия), Oslo University Hospital (Норвегия), Universidad Complutense de Madrid (Испания), Ankara Üniversitesi (Турция), The University of Tokyo Hospital (Япония), Yonsei University, Inha University (Корея), Chonnam National University, Военно-медицинской академии, Северо-западном государственном медицинском университете (Россия), Научно-исследовательском институте Вирусологии (Узбекистан).

В результате проведения научно-исследовательских работах, посвященных изучению этиопатогенетических и иммунологических аспектов клинических вариантов и исходов ХВГС, роли оксидантной и антиоксидантной систем, состояния энергетического баланса клетки в прогрессировании хронических диффузных заболеваний печени, были получены важные научные результаты, в том числе: установлено, что в пролонгировании HCV-инфекции важную роль играет феномен иммунного «ускользания» вируса, который использует цитокиноопосредованные процессы в качестве механизмов подавления процессинга и презентации антигенов (Universitäts klinikum Freiburg, Германия; Universidad Complutense de Madrid, Испания; The University of Tokyo Hospital, Япония); определено, что при вирусных гепатитах тяжесть течения и прогноз развития хронических процессов в печени тесно взаимосвязаны с функциональным состоянием оксидантной и антиоксидантной систем гепатоцитов (University of California, США; Universidad Complutense de Madrid, Испания); установлено, что одной из проблем эффективности ПБТ является развитие ПЭ и возможная устойчивость вируса гепатита С к ПБТ (Universität Hamburg, Германия; Inha University, Корея; Universität München, Германия); установлено, что больные с отрицательным ответом на ПБТ и с противопоказаниями для ее проведения, нуждаются в патогенетически обоснованной терапии (Johns Hopkins University, США; Chonnam National University, Корея; Oslo University Hospital, Норвегия).

В мире по изучению течения хронической HCV-инфекции и повышению эффективности противовирусной терапии проводятся исследования по ряду приоритетных направлений, в том числе изучение патогенеза длительного бессимптомного персистирования вируса при хронической HCV-инфекции, разработать эффективные терапевтические схемы HCV-инфекции; разработать методы предотвращения ПЭ ПБТ.

¹Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации проведен на основании www.who.int; www.aasld.org; www.easl.eu; www.asaecenter.org; www.idsociety.org; www.novagi.com; www.gastro.org; www.ghapc.com; hepatitisfoundation.org и др. источников.

Степень изученности проблемы. На сегодняшний день в странах где развита медицинская наука изучены молекулярно-генетические характеристики вируса, особенности течения и выраженность фиброза в зависимости от генотипа HCV, роли клеточных и гуморальных иммунных реакций, взаимодействия провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в патогенезе хронического процесса и исходах, повышение

эффективности противовирусной α -интерфероновой терапии, которая входит в состав протокола международного стандарта (Даминов Т.О.; Мусабаев Э.И.; Блюм Х.Е.; Moradpour D.; Ивашкин В.Т.; Jacobson I.M.; Шахгильдян И.В.)¹. Наряду с этим рост заболеваемости во всем мире определяют востребованность научных исследований в этом направлении.

Работами ряда авторов показано, что клеточная устойчивость к токсическим воздействиям обуславливается состоянием уровней метаболических процессов в клетке (Глушков С.И., 2006; Гейвандова Н.И., 2008)². Одной из основных составляющих клеточного метаболизма является глутатионовая система, степень супрессии которой определяет развитие клеточной гипоксии и гибели клетки (Октябрьский О.Н., 2007; Кулинский В.И., 2009)³.

Однако исследований по комплексному изучению иммунно-клеточных реакций, запускаемых вирусом гепатита С, и взаимосвязанных с ними нитрооксидергических процессов и перекисного окисления липидов, активности глутатионовой системы, взаимосвязи этих процессов в развитии ПЭ ПВТ, не проводилось.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Ташкентского педиатрического медицинского института №01980006703 «Совершенствование диагностики, лечение и методов профилактики врожденных и приобретенных заболеваний».

¹Даминов Т.О. Оценка интерферонового статуса у детей с вирусным гепатитом С // Педиатрия. – 2002. - №2. – С. 110-112; Мусабаев Э.И., Юлдашев К.Х., Шарапов М.Б., Мустафаева Э.М. Состояние заболеваемости вирусными гепатитами в Республике Узбекистан // Центрально-Азиатский Медицинский Журнал. – 2003. – Т. 9. Приложение 3. – С. 69-73; Блюм Х.Е. Гепатит С: современное состояние проблемы//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – Москва, 2005. – №1. – С.20-25; Moradpour D., Penin F., Rice C. Replication of hepatitis C virus // Nat.Rev.Microbiol. 2007; 5; 453-463; Ивашкин В.Т. Иммунная система и повреждения печени при хронических гепатитах В и С//Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – Москва, 2009. – №6. – С.4-9; Jacobson IM, Sacoub P, Dal Maso L, et al. Manifestations of chronic hepatitis C virus infection beyond the liver // Clin Gastroenterol Hepatol. 2010;8:1017– 29. Шахгильдян И.В., Ершова О.Н., Михайлов М.И. и др. Современная характеристика острого и хронического гепатита С в России: Материалы международного симпозиума. – Брест, 2011. – С. 184–186;

²Глушков С.И. Нарушение системы глутатиона и их роль в патогенезе острых интоксикаций ксенобиотиками с различными механизмами токсического действия. Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. СПб., 2006; Гейвандова Н.И., Ягода А.В., Гудзовская Д.А., Косторная И.В. Сывороточные фосфолипиды, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как дополнительные неинвазивные маркеры активности хронического вирусного гепатита С // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. - №6. – С. 38-42.

³Кулинский В.И., Леонова З.А., Колесниченко Л.С., Малов И.В., Данилов Ю.А. Система глутатиона в эритроцитах и плазме крови при вирусных гепатитах // Биомедицинская химия. – 2007. – Т.53. – №1. – С. 91-98; Октябрьский О.Н., Смирнова Т.В. Редокс регуляция клеточных функций // Биохимия. – 2007. - №72(2). – С. 132-145; Wynn A. Cellular and molecular mechanism of fibrosis//J.Pathol. 2008;21(4); 199-210.

Целью исследования является определение механизмов метаболической адаптации и оптимизирование терапевтических подходов при ХВГС.

Задачи исследования:

проанализировать клиническое течение ХВГС в группе обследованных

больных во взаимосвязи с молекулярно-биологическими характеристиками HCV, уровнем цитолиза и продолжительностью заболевания;

изучить показатели клеточного иммунитета, цитокиновой регуляции и интерфероногенеза у больных ХВГС во взаимосвязи с молекулярно-биологическими характеристиками HCV, уровнем цитолиза и клиническим интоксикационным синдромом;

определить состояние прооксидантной и антиоксидантной систем, уровней гипоксии и энергетического баланса клеток у больных ХВГС во взаимосвязи с молекулярно-биологическими характеристиками HCV, уровнем цитолиза и клиническим интоксикационным синдромом;

на основании результатов проведенных исследований сформулировать схему патогенеза изменений метаболической адаптации при пролонгированной HCV – инфекции;

с учетом особенностей изменений метаболической адаптации разработать методы повышения эффективности патогенетической терапии и коррекции ПЭ ПВТ при ХВГС.

Объектом исследования явились 196 больных ХВГС, группа контроля – 20 здоровых лиц.

Предмет исследования венозная кровь и сыворотка, применялись для оценки иммунологических, биохимических показателей.

Методы исследования. В диссертации применены общеклинические, биохимические, иммунологические, молекулярно-биологические, инструментальные и статистические методы исследования.

Научная новизна исследования заключается в следующем: определена первичная биохимическая манифестация патологического процесса при хронической HCV-инфекции с развитием дисбаланса про- и антиоксидантных систем, опережающая появление клинических симптомов заболевания;

раскрыты индивидуальные особенности клеточной метаболической адаптации организма больного, лежащие в основе длительной бессимптомной персистенции вируса при хронической HCV-инфекции;

впервые охарактеризованы варианты метаболической адаптации, определяющие дифференцированный терапевтический подход при хронической HCV-инфекции с учетом степеней глутатионовой недостаточности и состояния энергетического метаболизма клеток;

впервые, разработан метод оценки состояния клеточной метаболической адаптации при хронической HCV-инфекции с учетом активности глутатионпероксидазы и АТФ.

Практические результаты исследования.

предложен метод индивидуально ориентированной коррекции патогенетической и противовирусной терапии, с учетом активности глутатионпероксидазы и АТФ;

предложен метод индивидуально ориентированной коррекции

патогенетической терапии при устойчивости вируса к ПВТ; определена необходимость коррекции побочных эффектов противовирусной терапии с учетом состояния метаболической адаптации клетки.

Достоверность результатов исследования обосновывается тем, что все цифровые данные клинических, биохимических, иммунологических, молекулярно-биологических и инструментальных исследований обработаны с использованием современных статистических методов.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Полученные научные результаты диссертации раскрывают механизмы формирования патологического процесса в печени на фоне хронической HCV-инфекции.

Результаты проведенных исследований легли в основу предлагаемого метода коррекции патогенетической и противовирусной альфа интерфероновой терапии хронического гепатита С, что позволяет улучшить метаболизм гепатоцитов, снизить риск склерозирования паренхимы печени и частоту развития побочных эффектов противовирусной альфа интерфероновой терапии. Предлагаемый метод оценки степени супрессии антиоксидантной системы и энергетического баланса клетки, доступен врачам общей практики и может быть использован для определения терапевтических программ при ХВГС не только в стационарных, но и в поликлинических условиях.

Внедрение результатов исследования. На основании проведенных исследований по направлению - Хронический гепатит С: метаболическая адаптация, патогенетические основы эффективности терапии, полученные результаты в виде практических рекомендаций «Оптимизация патогенетической терапии хронического вирусного гепатита С» внедрены в практику здравоохранения, в том числе в практическую деятельность клиники НИИ Эпидемиологии, микробиологии, инфекционных болезней, городской инфекционной больницы №5 (справка №8Н-д/29 от 10.04.2015 года Министерства здравоохранения). Полученные результаты исследования позволяют оптимизировать патогенетическую и противовирусную терапию, снизить сроки временной нетрудоспособности и пребывания в стационаре в 1,6 раза.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования изложены в виде докладов и апробированы на 7 научно-практических конференциях, в частности республиканских и международных научно практических конференциях: на Третьем Конгрессе Евро-Азиатского Общества по Инфекционным Болезням (Екатеринбург, 2014), на научно практических конференциях «Современные проблемы иммунофармакологии,

33

биотехнологии и цитокиновой регуляции» (Санкт-Петербург, 2014) и «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (Казань, 2014), «Актуальные проблемы гепатологии и ВИЧ-инфекции» (Андижан, 2012), «Актуальные проблемы гастроэнтерологии» (Андижан, 2013), «Актуальные проблемы ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов» (Андижан, 2014), «Иммунология – междисциплинарные проблемы» (Ташкент, 2014); на

научно-методических заседаниях кафедры Эпидемиология, инфекционные болезни ТашПМИ (Ташкент, 2013, 2014), на совместном заседании кафедр Эпидемиологии, инфекционных болезней и Детских инфекционных болезней, микробиологии, вирусологии, иммунологии ТашПМИ (Ташкент, 2015), на заседании научного семинара при Научном совете ТМА (Ташкент, 2016).

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликованы всего 28 научных работ. Из них 10 научных статей, в том числе 8 в республиканских и 2 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

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

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуется объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и

практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Сравнительный анализ некоторых сторон патогенеза, клиники и современных методов лечения ХВГС»** представлен анализ литературных данных по результатам изучения этиопатогенетических и иммунологических аспектов клинических вариантов и исходов ХВГС, роли оксидантной и антиоксидантной систем, состояния энергетического баланса клетки в прогрессировании хронических диффузных заболеваний печени, а также освещены аспекты современной терапии ХВГС. Результаты проведенного анализа обосновали актуальность, цель и задачи исследования.

Во второй главе **«Характеристика клинического материала и методов исследований»** описаны материалы и методы исследования. Обследовано 196 больных ХВГС, мужчин -73, женщин -123. Диагноз и клинические формы ХВГС устанавливались в соответствии с приказом МЗ РУз №5 от 05.01.2012г. на основании клинико-лабораторных данных и выявления в сыворотке крови Анти-HCV (ИФА) и РНК-HCV (ПЦР).

Все больные были подвергнуты общеклиническим и биохимическим исследованиям. Содержание общего билирубина и его фракций определялось унифицированным методом Ендрасика и Клеггорна (Делекторская Л.Н., 1967). Исследование активности трансаминаз (АсАТ и АлАТ) проводилось унифицированным методом Райтмана и Френкеля (В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, 1987). Тимоловую пробу определяли по Хуэрго и Поппер (В.Г. Колб, В.С. Камышников, 1976).

Вирусная нагрузка и генотип вируса С определялись методом ПЦР в реальном времени Rotor Gene (Corbet Research, Australia) с использованием наборов «Рибосорб-амплифенс» (Россия). Маркеры иммунокомпетентных клеток (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+, CD38+, CD95+) определяли с использованием моноклональных антител (ООО «Сорбент», Подольск, Московская область). Функциональное состояние В-системы иммунитета оценивали путем определения сывороточных иммуноглобулинов основных классов IgG, А, М общепринятым методом радиальной иммунодиффузии в геле по И. Манчини с использованием наборов моноспецифических сывороток против IgG, А, М. Определение циркулирующих иммунных комплексов различных величин (ЦИК) определяли спектрофотометрическим методом. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по методу Маянского А.Н. и соавт. (1993).

35

Определение уровня продукции цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-8, ФНО- α , ИЛ-4, интерферонов –альфа и –гамма, проведено с использованием тест-наборов ТО «Цитокин» и «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург), основанный на сэндвич методе твердофазного ИФА. Исследования по изучению иммунного статуса наблюдаемых больных проведены в лаборатории цитокинов НИИ иммунологии АН РУз (директор д.м.н., проф. Арипова Т.У.).

У больных определялись уровень оксида азота (NO) по сумме его

метаболитов нитритов и нитратов (Голиков П.П., 2004), активность эндотелиальной (eNOS) (Сумбаев В.В., Ясинская И.М., 2000) и индуцибельной NO-синтазы (iNOS) (Вавилова Т.П., Петрович Ю.А., 1991), уровень пероксинитрита (ONOO^-) (N.W.Кооу и соав., 1994 в модификации Азимова Р.К., Комарина А.С., 2005). Состояние прооксидантной системы изучали по содержанию как первичного продукта ПОЛ – диеновые кетоны и конъюгаты (Гаврилова В.Б. и др., 1984), так и вторичного - малоновый диальдегид (МДА) (Андреевой Л.И. и др., 1988).

Состояние антиоксидантной защиты определяли по показателям активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы. Активность СОД определяли по методу Мхитрян В.Г. с соавт. (1978), активность каталазы – по методу Коралика М.А. и соавт. (1988). Так же, активность системы антиоксидантной защиты определяли спектрофотометрически на лучевом спектрофотометре VIS-2100 (LTD, China) и оценивали по показателям изменения содержания в эритроцитах общего (GS), окисленного (GSSG), восстановленного (GSH) глутатиона (Чернышов В.Г., 1983), а также глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР) и глутатионтрансферазы (ГТ) (Власова С.Н., и др. 1990).

Определение содержания 2,3 ДФГ и АТФ в эритроцитах проводили по методу Виноградовой М.Л. (1980).

Уровень среднемолекулярных пептидов (СМП) в плазме определяли методом М.Я. Малаховой (1995). Специальные биохимические исследования были проведены в лаборатории кровезаменителей НИИ Гематологии и переливания крови (зав. лабораторией Шевченко Л.И.).

Ультразвуковые исследования проводились на аппарате PHILIPS HD6 конвексном датчике С5-2. с частотой 3,5 мГц. Линейная скорость кровотока измерялась в см/с.

Статистический анализ полученных данных проводился при помощи компьютерной интегрированной системы обработки «Statistica» с использованием общепринятых критериев (Лакин Г.Ф., 1990).

В зависимости от вида получаемой терапии обследованные больные разделены на группы: базисная терапия – 30, базисная терапия + Глутинон и Сорбитол – 70, противовирусная терапия – 65 больных, противовирусная терапия + Глутинон и Сорбитол – 37 больных.

В третьей главе диссертации **«Клиническая характеристика ХВГС у обследованных больных»** проанализировано клиническое течение ХВГС в обследованной группе больных. Клинические наблюдения показали, что все пациенты предъявляли жалобы на слабость. При этом большинство из них

36

(74,0%) отмечали периодическую слабость и лишь у 26,0% больных слабость имела постоянный характер. Другими, наиболее постоянными симптомами, отмечаемыми пациентами, были отсутствие бодрости после ночного сна – 82,1%, тяжесть и боли в правом подреберье (82,1%), вздутие живота после обильной пищи (82,1%). Более половины больных жаловались на нарушение сна (69,9%), запоры (67,8%), головную боль (60,2%), быструю утомляемость после обычной физической нагрузке (60,2%). Результаты клинического

анализа позволили сгруппировать симптомы в интоксикационный и диспептический синдромы. Частота регистрации симптомов интоксикационного синдрома составила 64%, а диспептического - 36%. Выраженный цитолиз не был характерным симптомом для обследованных больных. Почти у половины больных – 95 (48,5%) уровень АЛТ не превышал показатели 1,5-2 норм. Низкая степень цитолиза - показатели АЛТ на уровне 2-3 норм – была зарегистрирована у 54 (27,6%) больных. Умеренная степень цитолиза - повышение уровня АЛТ в пределах от 3 до 5 норм – наблюдалась у 47 (23,9%) больных. Необходимо отметить, что выраженный уровень цитолиза, превышающий 5 норм, не был зарегистрирован ни у одного больного. Для обследованных больных не была характерна и выраженная гипербилирубинемия. Не была обнаружена достоверная взаимосвязь уровней билирубина и его фракций с уровнем цитолиза и показателями тимоловой пробы ($p>0,05$). Частота встречаемости клинических симптомов заболевания не была взаимосвязана с генотипов вируса С, с вирусной нагрузкой, выраженностью цитолиза гепатоцитов ($p>0,05$). С нарастанием продолжительности заболевания увеличивается выраженность и частота встречаемости симптомов интоксикационного синдрома, а также тяжести и болей в правом подреберье после приема обильной пищи ($p<0,05$). Учитывая ведущую роль интоксикационного синдрома в клиническом проявлении ХВГС в группе обследованных больных и для систематизации в последующем результатов лабораторных исследований, выраженность интоксикационного синдрома была условно разделена по количеству регистрируемых симптомов на три степени: легкая степень – наличие 1-3 симптомов, умеренная – 4-6 симптомов, выраженная – 7-10 клинических симптомов интоксикации.

В четвертой главе диссертации **«Анализ иммуно-клеточных и иммуно-регуляторных показателей в обследованной группе больных ХВГС»** представлены результаты анализа основных показателей клеточного и гуморального иммунитета, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, в том числе ИФН- α , ИФН- γ и анти-ИФН- α по отношению к аналогичным показателям здоровых лиц. В обследованной группе больных (рис.1) отмечается достоверное по отношению к группе здоровых снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов. Достоверное снижение регуляторного индекса по отношению к контролю ($1,06\pm0,07$ и $1,7\pm0,07$ соответственно, p) происходит за счет снижения содержания CD4+ ($27,6\pm0,58\%$ и $35,3\pm1,2\%$ соответственно) и повышения CD8+ ($26,0\pm1,13\%$ и $20,7\pm0,61\%$ соответственно). Обращает на себя внимание увеличение лимфоцитов с

37

рецепторами CD95+, активирующих процессы клеточного апоптоза ($24,8\pm1,21\%$ и $17,9\pm0,8\%$ соответственно). В группе обследованных больных ХВГС наблюдается достоверно по отношению контролю повышение уровней составляющих гуморального иммунитета IgA ($159,1\pm6,0\text{мг}\%$ и $108,0\pm9,7\text{мг}\%$ соответственно), IgM ($119,0\pm5,84\text{мг}\%$ и $84,5\pm5,1\text{мг}\%$ соответственно), а также ЦИК как крупных, так и мелких. Повышение показателей ФАН не имело достоверности (рис.1).

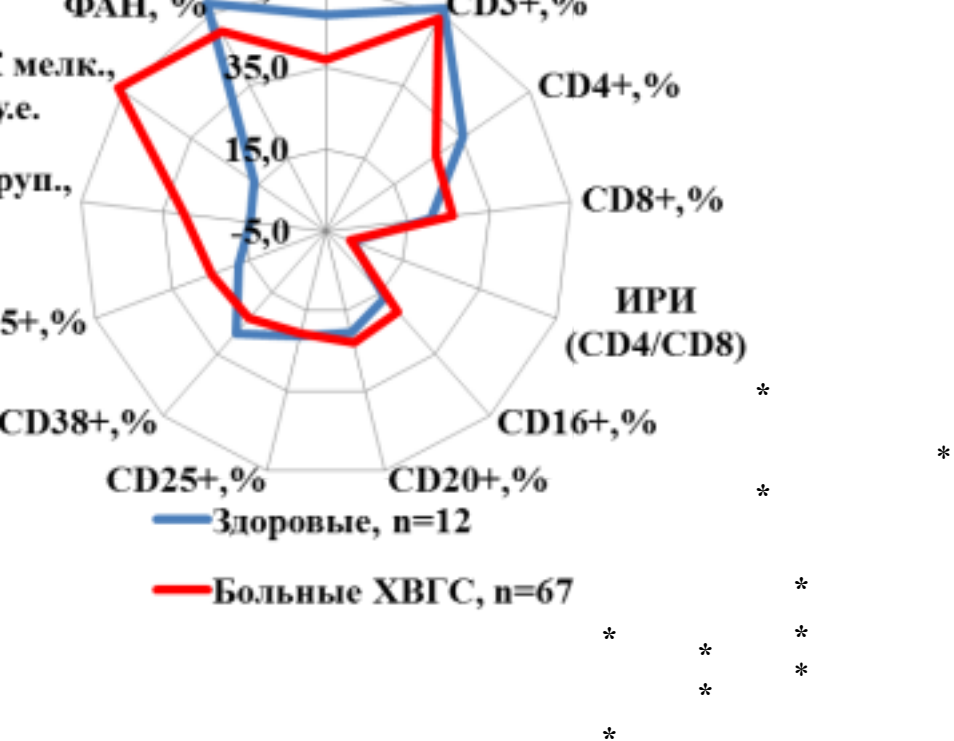


Рис. 1. Иммунологические показатели больных ХВГС

Примечание: * - достоверность ($p < 0,05$) отличий от группы здоровых

У обследованных больных наблюдаются разнонаправленные изменения в показателях как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов (рис.2). Так, достоверное по отношению к контролю снижение уровней ИЛ-1 β ($2,4 \pm 0,15$ пг/мл и $4,32 \pm 0,35$ пг/мл соответственно) и ИЛ-8 ($10,8 \pm 0,42$ пг/мл и $32,2 \pm 1,9$ пг/мл соответственно) сопровождается повышением уровня ФНО- α ($8,9 \pm 0,41$ пг/мл при контроле $5,8 \pm 0,27$ пг/мл, $p < 0,05$). Уровень противовоспалительного ИЛ-4 в два раз превышает контрольные показатели ($4,1 \pm 0,16$ пг/мл и $2,35 \pm 0,17$ пг/мл соответственно).

Необходимо отметить достоверное снижение ($p < 0,01$) показателей ИФН- α у больных ХВГС при достоверном повышении ($p < 0,01$) уровня ИФН- γ , что подчеркивает особенность интерфероногенеза у данного контингента (рис. 2). Проведенный анализ взаимосвязи иммунологических показателей с генотипом вируса, вирусной нагрузкой, выраженностью

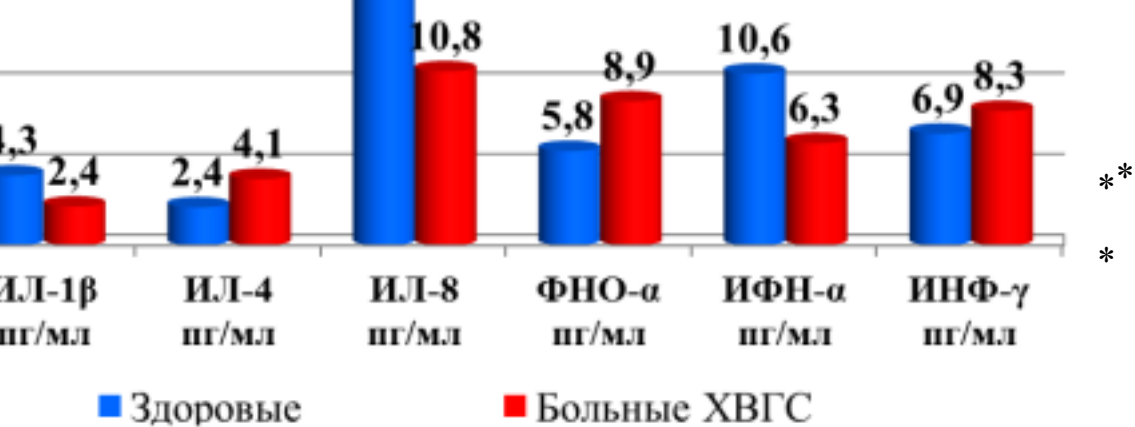


Рис.2. Показатели провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у больных ХВГС.

Примечание: * - достоверность отличий ($p < 0,05$) от группы здоровых

В пятой главе диссертации «Состояние прооксидантных и антиоксидантных систем в обследованной группе больных ХВГС» освещены результаты изучения состояния прооксидантной и антиоксидантной систем у больных ХВГС. В общей группе обследованных больных уровень основного метаболита нитрооксидергических процессов - NO_x (оксид азот) достоверно не отличается от показателей здоровых лиц ($19,4 \pm 0,37$ и $17,9 \pm 0,88$ мкмоль/л соответственно, $p > 0,05$) (табл. 1). При этом отмечается достоверное повышение по отношению к показателям здоровых лиц iNOS ($0,73 \pm 0,01$ и $0,28 \pm 0,01$ мкмоль/мин/мл соответственно), при достоверном снижении показателя eNOS ($7,33 \pm 0,17$ и $14,6 \pm 0,73$ соответственно, $p < 0,01$). Обращает на себя внимание повышение уровня пероксинитрита (ONOO^-), образующегося из NO и свободных радикалов ($0,67 \pm 0,01$ и $0,12 \pm 0,01$ соответственно, $p < 0,01$). При анализе состояния перекисного окисления липидов (ПОЛ) в группе обследованных больных установлено повышение интенсивности реакций ПОЛ (табл.1). У больных ХВГС отмечается достоверное ($p < 0,05$) по отношению к показателям здоровых лиц как первичных продуктов ПОЛ – диеновых кетонов, диеновых конъюгатов, так и вторичного продукта – малонового диальдегида. Маркер эндогенной интоксикации СМП у больных ХВГС в 1,5 раза превышает показатели здоровых лиц (табл. 1).

больных ХВГС с различной степенью интоксикации, n=196 (M±m)

Биохимические показатели	Здоровые (n=20)	Общая группа больных (n=196)	Группы больных с различной степенью интоксикации		
			I группа легкая (n=49)	II группа умеренная (n=74)	III группа выраженная (n=73)
NOx, мкмоль/л	17,9 ±0,88	19,4 ±0,37	18,7 ±0,49	19,9 ±0,76	20,3 ±0,80
eNOS, мкмоль/мин/мл	14,6 ±0,73	7,33 ±0,17*	7,15 ±0,25	7,60 ±0,29*	7,37 ±0,39*
iNOS, мкмоль/мин/мл	0,28 ±0,01	0,73 ±0,01*	0,70 ±0,02*	0,75 ±0,03*	0,76 ±0,03*
ONOO, мкмоль/л	0,12 ±0,01	0,67 ±0,01*	0,65 ±0,02*	0,67 ±0,02*	0,70 ±0,03*
Диеновые кетоны, отн. Ед/мл	0,32 ±0,02	0,64 ±0,01*	0,64 ±0,02*	0,62 ±0,02*	0,66±0,02*
Диеновые конъюгаты, отн. Ед./мл	1,07 ±0,06	1,79 ±0,03*	1,66 ±0,05*●	1,76 ±0,06*#	1,91 ±0,06*#§
МДА, нмоль/мл	2,50 ±0,13	3,61 ±0,07*	3,62 ±0,15*	3,49 ±0,11*	3,73 ±0,11*
СМП, в плазме у/е	9,79 ±0,09	14,02 ±0,28*	11,9 ±0,35*●	14,86 ±0,49*#	14,6 ±0,45*#
Каталаза, мкат/мл	22,8 ±1,04	50,1 ±0,96*	52,4 ±1,82*	50,1 ±1,50*	48,6 ±1,65*
СОД, мкг/мл	36,1 ±1,52	38,6 ±0,84	40,8 ±1,52*	38,6 ±1,34	37,0 ±1,47
GS, мкмоль/мл.эр.	45,3 ±2,12	23,7 ±0,45*	28,2 ±0,75*●	24,7 ±0,61*#	19,7 ±0,66*#§
GSH, мкмоль/мл.эр.	43,2 ±2,14	22,2 ±0,45*	26,5 ±0,75*●	23,2 ±0,65*#	18,4 ±0,64*#§
GSSG, мкмоль/мл.эр.	2,15 ±0,15	1,51 ±0,04*	1,71 ±0,06*●	1,53 ±0,06*#	1,34 ±0,06*#§
ГР, мкмоль/НАДФ Н/м ин/Нб	2,84 ±0,13	2,14 ±0,04*	3,25 ±0,12*●	2,52 ±0,06*#	1,19 ±0,05*#§
ГП, мкмоль/GSSG/	583,5 ±28,28	332,3 ±6,17*	464,0 ±5,5*●	350,5 ±3,4*#	225,3 ±5,0*#§

мин/Нб					
ГТ, мкмоль/ GSH/мин/Нб	2,44 ±0,11	1,35 ±0,03*	1,54 ±0,05*●	1,36 ±0,04*#	1,22 ±0,04*#§
Г-6-ФДГ, мкмоль НАДФ/мин/Нб	5,5 ±0,27	4,39 ±0,08*	5,01 ±0,21●	4,41 ±0,12*#	3,94 ±0,10*#§

Примечание: * - наличие достоверности различий от показателей здоровых лиц;

- наличие достоверности различий от I группы;

§ - наличие достоверности различий от II группы;

● - наличие достоверности отличий от показателей общей группы больных.

40

Результаты исследований уровней глутатионовой антиперекисной защиты показали, что у больных ХВГС наблюдается достоверный срыв гомеостатической функции системы глутатиона. У обследованных больных регистрируется выраженное снижение восстановленного глутатиона (GSH) – практически в 2 раза. Наряду со снижением уровней глутатиона отмечается супрессия активности глутатионзависимых ферментов. Активность глутатионпероксидазы (ГП) снижается по отношению к показателям здоровых лиц в 1,8 раза (табл. 1). Достоверные изменения по отношению к показателям здоровых лиц, но в меньшей выраженности наблюдаются и в активности глутатионредуктазы (ГР). Для восстановления окисленной формы глутатиона необходима молекула НАДФН, донатором водорода для которой является Г-6-ФДГ. Установлено, что активность Г-6-ФДГ достоверно снижалась по отношению к показателям здоровой группы (табл. 1).

Результаты проведенных исследований показали отсутствие достоверной взаимосвязи ($p > 0,05$) изменений в показателях прооксидантной и антиоксидантной систем с выраженностью цитолиза, вирусной нагрузкой и генотипом вируса С. При этом отмечается взаимосвязь изменений в показателях прооксидантной и антиоксидантной систем с выраженностью интоксикационного синдрома.

Так, активность iNOS и ONOO, достоверно снижаясь по отношению к показателям общей группе больных в группе больных с легкой степенью интоксикации, повышалась с ухудшением самочувствия больных и увеличением числа их жалоб ($0,68 \pm 0,02$ мкмоль, $0,71 \pm 0,02$ мкмоль, $0,78 \pm 0,02$ мкмоль и $0,56 \pm 0,02$ мкмоль/л, $0,72 \pm 0,02$ мкмоль/л, $0,70 \pm 0,02$ мкмоль/л, соответственно $p < 0,05$). Взаимосвязь интенсивности реакции ПОЛ с клиническим синдромом интоксикации достоверно ($p < 0,05$) проявлялась только в изменениях показателей диеновых конъюгатов. Наиболее низкие показатели активности глутатиона и глутатионзависимых ферментов и Г-6-ФДГ зарегистрированы у больных с выраженным интоксикационным синдромом. Обращает на себя внимание динамика изменений активности ГР. При наименьшей выраженности интоксикационного синдрома регистрируется всплеск активности фермента с достоверным значением

повышения уровня как по отношению к общей группе больных, так и по отношению к показателям здоровых лиц. В дальнейшем, при нарастании интоксикации отмечается снижение показателей активности ГР с наименьшим уровнем активности у больных III группы, предъявляющих наибольшее количество жалоб. Следовательно, у больных ХВГС наблюдается достоверное снижение активности глутатиона, глутатионзависимых ферментов и Г-6-ФДГ (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что из трех глутатионзависимых ферментов – ГР, ГП, ГТ, наиболее последователен в своей взаимосвязи с выраженностью клинических симптомов интоксикации является фермент ГП. Учитывая вышеизложенное, нами проведен анализ степеней снижения по отношению к контролю показателей ГП в общей группе больных ХВГС и

41

условно выделены 3 степени глутатионовой недостаточности: компенсированная – снижение до 30% от контрольных показателей, субкомпенсированная – снижение от 30 до 50% и декомпенсированная – снижение показателей ГП свыше 50% от контроля. Анализ соотношения глутатионовой недостаточности и степеней интоксикационного синдрома у обследованных больных ХВГС показал, что у больных ХВГС клиническая манифестация интоксикационного синдрома по степени своей выраженности «отстает» от степени снижения уровня ГП (табл.2).

Таблица 2.

Соотношения глутатионовой недостаточности и степеней интоксикационного синдрома у обследованных больных ХВГС

Степени выраженности глутатионовой недостаточности	Группы больных с различной степенью интоксикации		
	I группа – легкая (n=49)	II группа умеренная (n=74)	III группа – выраженная (n=73)
Компенсация	(40)81,6%±6,9*	-	-
Субкомпенсация	(9)18,4%±6,9* ²	(55)74,3%±6,2* ¹	-
Декомпенсация	-	(19)25,6%±6,2* ³	(73)100% ²

Примечание: * - $p < 0,05$ между степенями глутатионовой недостаточности
^{1,2,3} - $p < 0,05$ между соответствующими группами.

В шестой главе диссертации «Состояния энергообеспечения клеток в группе обследованных больных ХВГС» освещены результаты изучения состояния энергообеспечения клетки у больных ХВГС. Исследования показали достоверное ($p < 0,05$) снижение содержания эритроцитарного АТФ и повышение уровня 2,3 ДФГ (табл.3).

Таблица 3.

Показатели АТФ и 2,3 ДФГ в группах больных ХВГС с различной степенью интоксикации

Биохимические показатели	Здоровые, n=20	Общая группа больных, n=128	Группы больных с различной степенью интоксикации		
			I группа легкая (n=32)	II группа умеренная (n=48)	III группа выраженная (n=48)
АТФ, мг/100 мл	19,6±0,26	4,8±0,15*	7,4±0,28*	4,4±0,17* ¹	3,5±0,13* ²
2,3 ДФГ, мкмоль/мл	5,61±0,19	10,4±0,19*	8,9±0,32*	10,4±0,28* ¹	11,5±0,30* ²

Примечание: * - $p < 0,05$ между степенями глутатионовой недостаточности
^{1,2,3} - $p < 0,05$ между соответствующими группами.

42

Установлено, что изменения показателей АТФ и 2,3 ДФГ не имеют достоверной взаимосвязи с вариантами генотипа вируса С, вирусной нагрузкой и выраженностью цитолиза гепатоцитов. При этом отмечается достоверная взаимосвязь показателей гипоксии клетки – снижение уровня АТФ и повышение показателей 2,3 ДФГ с выраженностью интоксикационного синдрома (табл.3).

Проведенный корреляционный анализ в группе обследованных больных выявил отрицательную зависимость между уровнями ГП и показателями ведущего представителя межклеточной иммунной регуляции – ФНО- α ($r = -0,28$), показателями интенсивности нитрооксидергических процессов - ONOO^- ($r = -0,16$) и ПОЛ – диеновые конъюгаты ($r = -0,16$) и лабораторным маркером эндогенной интоксикации – СМП ($r = -0,18$) как в общей группе, так и в группах с различной степенью интоксикации, а также наличии прямой корреляционной связи ($r = 0,16$) показателей АТФ с показателями ГП и отрицательной корреляционной связи с показателями 2,3-ДФГ ($r = -0,17$).

На основании результатов проведенных исследований была сформулирована схема процессов метаболической адаптации к пролонгированной HCV-инфекции (Рис. 3.).

Вирус запускает механизмы самосохранения путем супрессии интерфероногенеза, развития дисбаланса Th1/ Th2 звеньев иммунного ответа с формированием иммуннокомплексных процессов и цитокиновой дисрегуляции¹. Запущенные процессы индуцируют выработку АФК клетками Купфера, ИТО, эндотелиальными клетками, фагоцитами. Повышение уровня АФК приводит к инициации реакций ПОЛ¹. В ответ на повышение

концентрации продуктов ПОЛ – ДК, МДА, формируются клеточные механизмы адаптации в виде активации системы глутатиона, в которой ключевым ферментом в утилизации АФК является ГП. Ферментом донором для ГП является GSH. При этом единственным ферментом, обеспечивающим биорегенерацию GSH из GSSG, являются ГР и Г-6-ФДГ². Выявленное в работе у ряда больных достоверное повышение ГР на фоне снижения уровня общего и восстановленного глутатиона, на наш взгляд, характеризует адаптивное напряжение этой сложной системы, направленное на сохранение целостности мембран при хроническом окислительном стрессе.

Инактивация свободных радикалов O₂ предотвращает набухание митохондрий. Это в свою очередь позволяет сохранить активности ферментов дыхательной цепи в цикле Кребса. При этом для дополнительной выработки АТФ активизируются процессы анаэробного гликолиза².

¹Лебедев В.В., Бондаренко И.Н., Авдеева М.Г., Стриханов К.С., Шубич М.Г. Клиническое значение уровня оксида азота в дифференциальной диагностике острых, хронических вирусных и токсических поражений печени//Инфекционные болезни. – 2010. – Т. 8. - №1. – С. 19-24.

²Северин Е.С. Биохимия / Е.С.Северин. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2005. - С.622-623.

Нарушение баланса Th-1 и Th-2 HCV лимфоцитов

Формирование иммунокомплексных
процессов и тканевой аутоагрессии
Супрессия интерфероногенеза

Дисрегуляция ЦК
Активация ФНО-α

Стадия компенсации
Активация глутатионовой системы

Расходование GSH в инактивации радикалов O₂ с помощью ГП
Активация синтеза купферовскими клетками, клетками ИТО, фагоцитами АФК

Активация ПОЛ

Стадия субкомпенсации
**Снижение активности глутатионовой
системы**

↓GSH и ↓ГП

Стадия декомпенсации
Глубокое снижение активности глутатионовой системы

↓↓GSH и ↓↓ГП

Повышение уровня GSSG Увеличение

↑ GSSG ↓ ГР

↑ GSSG ↓↓ ГР

активности ↑ ГР

Усиление биорегенерации GSH

Напряжение

биорегенерации GSH

↓ Г-6-ФДГ ↓ НАДФН

Истощение

биорегенерации GSH

↓↓ Г-6-ФДГ ↓↓ НАДФН

Инактивация свободных радикалов O_2 предотвращает набухание митохондрий

Сохранение активности ферментов дыхательной цепи (цикл Кребса) и активация анаэробного гликолиза для выработки АТФ

Сохранение метаболизма в клетке

↑ Г-6-ФДГ ↑ НАДФН

Снижение инактивации свободных радикалов O_2 и набухание митохондрий

Снижение активности ферментов дыхательной цепи (цикл Кребса) и дополнительная активация анаэробного гликолиза для выработки АТФ

Гипоксия клетки

↑ 2,3-ДФГ

Распад митохондрий

Развитие клеточного энергодифицита Гибель клетки

Рис. 3. Схема процессов метаболической адаптации при ХВГС

44

Эти процессы способствуют в условиях окислительного стресса предотвращению развития энергодифицита и сохранению клетки и могут быть расценены как компенсаторной стадией глутатионовой недостаточности (Рис. 3).

Длительная прооксидантная нагрузка, являясь ведущим звеном в патогенезе ХВГС, приводит к постепенному истощению резервов восстановления глутатиона и снижению активности ГР. Снижение инактивации свободных радикалов O_2 приводит к набуханию митохондрий и

снижению активности ферментов дыхательной цепи, что сопровождается энергодефицитом клетки. При этом клетка восполняет энергодефицит из дополнительно активизированного анаэробного гликолиза¹. Нарушения метаболизма в клетке приводит к развитию гипоксии, что подтверждается повышением уровня 2,3-ДФГ в обследованной группе больных. Эта стадия может быть оценена как субкомпенсированная стадия глутатионовой недостаточности.

Следующей стадией противостояния про- и антиоксидантной систем является выраженное истощение резервов восстановления глутатиона, прогрессирующее снижение энергетического потенциала клетки – снижение уровня АТФ и еще большим компенсаторным повышением 2,3 ДФГ, характерным для выраженной гипоксии клеток. Эти процессы ведут к гибели клетки, стойкому воспалению, склерозированию паренхимы с последующим формированием цирроза². Эта стадия по праву может называться декомпенсированной стадией глутатионовой недостаточности (Рис. 3).

На основании предложенной схемы процессов метаболической адаптации при ХВГС и определенной в ней ведущей роли глутатионовой недостаточности и энергопродуцирующей функции естественным становится поиск препаратов, способных коррегировать эти процессы в организме больного.

В седьмой главе диссертации **«Повышение эффективности патогенетической и противовирусной терапии при ХВГС»** представлены результаты разработки патогенетически ориентированной терапии.

Для коррекции нарушений в системе глутатиона нами использован «Глутион» - препарат фирмы «Welfarm» производство Испания содержащий в своем составе GSH. Неоднородность больных по степени глутатионовой недостаточности позволила нам выделить 3 группы: компенсированную (I группа), субкомпенсированную (II группа) и декомпенсированную (III группа) степени глутатионовой недостаточности. В каждой из групп нами был применен препарат Глутион® в дозе 600 мг на физиологическом растворе в/в капельно в течение 10 дней на фоне дезинтоксикационной и симптоматической терапии.

¹Северин Е.С. Биохимия / Е.С.Северин. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2005. - С.622-623;

²Farias MS, Budni P, Ribeiro CM, Parisotto EB, Santos CE, Dias JF et al. Antioxidant supplementation attenuates oxidative stress in chronic hepatitis C patients//Gastroenterol Hepatol. 2012;35(6):386-94.

На фоне проводимой терапии препаратом Глутион® в дозе 600 мг отмечено достоверное ($p<0,05$) повышение показателей GSH по отношению как к показателями до начала лечения, так и к показателями после проведенной базисной терапии ($38,2\pm 2,83$; $28,8\pm 2,08$; $30,8\pm 2,43$ мкмоль/мл.эр., соответственно; $36,4\pm 2,69$; $27\pm 1,95$; $29,1\pm 2,3$ мкмоль/мл.эр., соответственно). Необходимо отметить, что у больных I группы к концу курса лечения препаратом Глутион® в дозе 600 мг уровень ГП достоверно ($p<0,05$) повышался и при этом отличался от показателей больных, получивших базовую терапию ($526,3\pm 37,9$ и $466,1\pm 36,7$

мкмоль/GSSG/мин/Hb, соответственно). При анализе таковых показателей у больных с субкомпенсированной и декомпенсированной глутатионовой недостаточностью (II и III группа больных) достоверности отличий от показателей до начала лечения не отмечается.

Полученные результаты позволили сделать вывод о возможности достижения удовлетворительной коррекции равновесия ПОЛ/АОС препаратом Глутион® 600 мг только в группе больных с компенсированной степенью глутатионовой недостаточности. Следующим этапом наших исследований явилось повышение дозы препарата до 1200 мг в сутки у больных II и III групп глутатионовой недостаточности - субкомпенсированной и декомпенсированной. Результаты проведенных исследований показали положительное влияние данной дозы Глутиона® на коррекцию равновесия ПОЛ/АОС. Так, как во II, так и в III группах больных отмечено достоверное повышение показателей активности GSH и ГП по отношению к группе больных получивших Глутиона в дозе 600 мг/сутки, что позволило оценить показатели II группы больных как компенсированную стадию глутатионовой недостаточности, а показатели III группы больных фактически стали соответствовать субкомпенсированной стадии глутатионовой недостаточности. Однако, несмотря на достоверное повышение активности глутатионовой системы у больных получавших Глутион в дозе 1200 мг/сутки, в показателях Г-6-ФДГ, 2,3-ДФГ, АТФ выявлена лишь тенденция к повышению их уровней. Исходя из этого, следующим этапом наших исследований было решение вопроса по коррекции энергетического метаболизма клеток. Для решения этой задачи нами выбран препарат Сорбитол® (Imuna Pharm, Словацкая Республика), предназначенный для восполнения небелковой энергии путем поддержания ферментов гликолиза и синтеза макроэргических соединений. Сорбитол® применялся в дозе 250 мл через день №5 на фоне лечения глутатионом 1200 мг в группах больных с субкомпенсированной (n=13) и декомпенсированной (n=14) стадиями глутатионовой недостаточности. Результаты проведенных исследований показали положительное влияние комплексной терапии Глутион+Сорбитол на показатели ГП, Г-6-ФДГ, 2,3-ДФГ, АТФ как у больных с субкомпенсированной стадией, так и у больных с декомпенсированной стадией глутатионовой недостаточности. Так, у больных II группы – субкомпенсированная стадия, уровень АТФ на фоне лечения повысился с $4,0 \pm 0,28$ до $15,6 \pm 1,13$ Мг/100мл ($p < 0,05$). У больных III

47

группы – декомпенсированная стадия, отмечено повышение АТФ с $3,1 \pm 0,21$ до $8,6 \pm 0,6$ Мг/100мл ($p < 0,001$). Эти изменения сопровождались регрессией интоксикационных симптомов. Следующим этапом наших исследований явился вопрос временной устойчивости глутатионовой системы в рассматриваемых лечебных группах больных. Проведенный клиничко-лабораторный мониторинг показал достаточную устойчивость глутатионовой системы после проведенного комплексного лечения у больных I и II групп, которая составляла от 6 до 12 месяцев. У больных с декомпенсированной стадией глутатионовой недостаточности проведенная

комплексная терапия способствовала сохранению повышенного уровня показателей от 2 до 3 месяцев.

Рекомендуемая пролонгированная метаболическая терапия позволила не только достичь достоверного ($p<0,01$) повышения показателей глутатионовой системы (GSH, ГП), системы энергообеспечения клетки, но и достоверного повышения ЛСК (как показателя замедления процессов фиброобразования в печени) у больных основной группы по сравнению с больными, получавшими базисную терапию ($21,9\pm1,5$; $18,2\pm1,2$ см\сек соответственно, $p<0,01$).

В группу обследованных больных, получавших комплексную ПВТ: Альтевир® в сочетании с рибавирином, вошло 65 больных ХВГС. Анализ результатов клинических наблюдений показал, что у всех больных ПВТ сопровождалась развитием ПЭ. При этом по характеру регистрируемых ПЭ больные четко распределились на две группы. Первая (I) группа 18 человек (27,7%) - больные перенесшие ПВТ без побочных эффектов. Вторую (II) группу составили 47 больных (72,3%) с пролонгированными ПЭ, регистрируемыми весь противовирусный курс. Спектр клинических проявлений, сопровождавших ПВТ, был очень широким. Наиболее часто регистрировались гриппоподобный и астенический синдромы (89,5% и 84,2% соответственно). На втором месте по частоте встречаемости были диспептический, психопатический и артралгический синдромы (79,2 – 72,9 – 68,7% соответственно). Более чем у половины больных (52,1%) на фоне проводимой терапии отмечалось снижение массы тела. Большая часть больных очень тяжело переносила ПВТ. При этом 16 больных (24,6%) отказались от его продолжения, несмотря на снижение вирусной нагрузки. На 12 неделе лечения 16 больным (24,6%) мы сами были вынуждены прекратить введение препарата из-за нарастания, несмотря на проведение корригирующей терапии, анемии и тромбоцитопении, развития аутоиммунного тиреоидита. Следовательно, 32 больных (49,2%) из 65 начавших противовирусный курс были вынуждены прервать лечение из-за выраженности ПЭ. Анализ эффективности проводимой терапии в группе наблюдаемых больных показал, что у 18 больных, что составило 27,7%, на 12-24 неделях лечения РНК-НСV переставала обнаруживаться в крови и не обнаруживалась в течение последующих 6 месяцев наблюдения. К 12 неделе лечения у 11 больных (19,3%) не наблюдалась динамика в вирусной нагрузке, что было расценено как отсутствие вирусологического ответа на

48

проводимую терапию. На следующем этапе исследований нами проведен анализ взаимосвязи выраженности ПЭ с эффективностью ПВТ (табл.4). Как видно из данных, представленных в таблице, достоверной разницы в частоте положительного вирусологического ответа между I и II группами больных не обнаружено. При этом все больные, вынуждены прервавшие лечение, находились во II группе. Таким образом, в обследуемой группе больных ХВГС положительный вирусологический ответ на проводимую ПВТ наблюдался у 32,3% больных, не ответили на терапию 18,5% больных и 49,2% больных из-за развившихся ПЭ не смогли довести терапию до

логического конца, теряя при этом шанс на выздоровление.

Таблица 4.

Взаимосвязь эффективности ПВТ с выраженностью ПЭ у больных ХВГС

Группы больных с различной выраженностью ПЭ	Варианты вирусологического ответа на ПВТ		Прекращение лечения из-за ПЭ, n (%)
	Положительный, n (%)	Отрицательный, n (%)	
I группа (n=18)	6 (33,3±11,1%)	12 (66,7±11,1%)	-
II группа (n = 47)	15 (31,9±5,7%) p>0,05	-	32 (68,1±5,7%)
Всего (n=65)	21 (32,3±5,8%)	12 (18,5±4,8%)	32(49,2±5,2%)

Примечание: p – достоверность отличий между группами I и II

Следующим этапом этих исследований явилось изучение возможной патогенетической взаимосвязи побочных эффектов ПВТ с исходным состоянием прооксидантной и антиоксидантной защиты у больных ХВГС. Исследованиями установлено, что еще до начала ПВТ в группе больных, у которых в последующем ПВТ будет сопровождаться ПЭ, изначально регистрируются достоверно низкие уровни показателей ГР, ГП, ГТ, Г-6ФДГ ($p<0,01$). Учитывая разнородность больных ХВГС по исходным показателям АОС, нами у 37 больных до начала ПВТ по индивидуальным показателям глутатионовой системы и АТФ проведен курс лечения Глутатион+Сорбитол в течение 10 дней. После курса лечения отмечалось достоверное снижение ($p<0,05$) уровней диеновых кетонов и диеновых конъюгатов на фоне достоверного ($p<0,05$) снижения каталазы. Одновременно отмечается достоверное повышение по отношению к показателям до лечения уровней GS, GSH, ГП и АТФ, на фоне достоверного снижения ($p<0,05$) 2,3-ДФГ. Это позволило сделать вывод о достаточной подготовленности больных к ПВТ.

Сравнительный анализ результатов проведенной ПВТ у больных с предварительной коррекцией и без коррекции состояния АОС (табл. 5) показал снижение частоты развития побочных эффектов на 27,6% и

49

увеличение количества больных продолживших ПВТ до логического конца и соответственно, увеличение количества больных на 32,6% с положительным ответом на ПВТ.

Таблица 5.

**Сравнительная эффективность ПВТ и ПВТ в сочетании с
патогенетической терапией**

Лечебные группы больных	Положительный ответ на ПВТ	Отрицательный ответ на ПВТ	Прекращение ПВТ из-за ПЭ
ПВТ (n=65)	21 (32,3±5,8%)	12 (18,5±4,8%)	32(49,2±5,2%)
Патогенетическая терапия+ ПВТ, (n=37)	23 (64,9±1,8%)*	6 (16,2±5,0%)	9 (21,6±5,7%)*

Примечание: *- $p < 0,05$ показателей сравниваемых групп

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют заключить, что в патогенезе пролонгированного течения инфекционно-патологического процесса при ХВГС определенное значение имеет состояние активности глутатионовой системы и энергообеспечения клетки, определяющие уровень метаболической адаптации и сохранность гепатоцитов. Терапевтическая коррекция состояния глутатионовой системы и энергетического обеспечения клетки, позволяет повысить эффективность комплексной патогенетической терапии и снизить частоту развития ПЭ ПВТ при ХВГС.

ВЫВОДЫ

1. ХВГС длительное время протекает на субклиническом уровне. Ведущим синдромом хронического гепатита С является синдром клинической интоксикации, характеризующийся нарастанием выраженности на протяжении индивидуально определенного периода времени
2. Клиническая выраженность интоксикационного синдрома ХВГС достоверно не взаимосвязана с генотипом вируса, с вирусной нагрузкой и уровнем цитолиза гепатоцитов.
3. При ХВГС развивается дисбаланс системы Th1-, Th2-лимфоцитов с дисрегуляцией цитокиновой системы, активацией ФНО- α , супрессией ИФН генеза, формированием иммунокомплексных процессов и тканевой аутоагрессии.
4. При ХВГС отмечается активация нитрооксидергических и нарушение функционального равновесия прооксидантных и антиоксидантных систем, снижение энергетического баланса клеток, опережающие в своей биохимической манифестации появление клинических симптомов заболевания.

5. При ХВГС изменения в иммунной системе, нитрооксидергических, прооксидантных и антиоксидантных системах достоверно не взаимосвязаны с генотипом вируса, вирусной нагрузкой, уровнем цитолиза гепатоцитов. Определена достоверная взаимосвязь изученных систем с выраженностью интоксикационного синдрома.

6. В патогенезе развития побочных эффектов противовирусной альфа интерфероновой терапии определенное место принадлежит снижению антиоксидантной защиты и уровня энергетического баланса клеток больных ХВГС.

7. Включение в комплексную терапию ХВГС препаратов коррегирующих антиоксидантную систему и энергетический баланс клеток позволяет повысить эффективность патогенетической и противовирусной альфа-интерфероновой терапии и повысить качество жизни больных.

**SCIENTIFIC COUNCIL 16.07.2013.TIB.17.02 ON AWARD OF
SCIENTIFIC DEGREE OF DOCTOR OF SCIENCES AT THE
TASHKENT MEDICAL ACADEMY
TASHKENT PEDIATRIC MEDICAL INSTITUTE**

ARIPKHODJAYEVA GULNOZAKHON ZAYNITDINOVNA

CHRONIC HEPATITIS C: METABOLIC ADAPTATION, PATHOGENETIC BASIS OF EFFECTIVE THERAPY

**14.00.10 - Infectious diseases
(medical sciences)**

ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION Tashkent – 2016

52

The theme of the doctoral dissertation is registered at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number №30.09.2014/Б2014.3-4.Tib40

The doctoral dissertation has been carried out in Tashkent pediatric medical institute.

The abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English) is posted on the webpage of Scientific council (www.tma.uz) and information-educational portal “ZiyoNet” at the address: www.ziynet.uz

Scientific consultant: Ilhamdjan Asamovich Kasimov Doctor of Medical Sciences, Professor

Official opponents: Hubert E. Blum

Doctor of Medical Sciences, Professor
(Germany)

Vildan Khayrullaevich Fazilov
Doctor of Medical Science, Professor
(Russian Federation)

Erkin Isakovich Musabaev

Lead organization: Vienna Medical University
(Austria)

The defence will take place on “___” _____ 2016 at _____ at the meeting of Scientific Council 16.07.2013.Tib.17.02 at the Tashkent Medical Academy at the address: 100109, Tashkent city, Almazar district, Farobiy str.–2. Phone/fax: (99871) 150-78-25, e-mail: tta2005@mail.ru.

The doctoral dissertation is registered in the Information-Resource Center of the Tashkent Medical Academy under number _____. It is possible to review it in the Information-Resource Center of the Tashkent Medical Academy at the address: 100109, Tashkent city, Almazar district, Farobiy str.–2, Phone/fax: (99871) 150-78-25

The abstract of the doctoral dissertation is distributed on «___» _____ 2016 year. Protocol at the register No _____ dated _____ 2016 year)

A.G.Gadaev

Chairman of scientific council on award
of scientific degree of doctor of sciences,
MD, professor

M.Sh. Karimov

Scientific secretary of scientific council
on award of scientific degree of doctor of
sciences, MD, professor

L.N.Tuychiyev

Chairman of scientific seminar under
scientific council on award of scientific
degree of doctor of sciences, MD

53

INTRODUCTION (abstract of doctoral dissertation)

The urgency and relevance of theme of the dissertation. The incidence of chronic hepatitis C (CVHC) has been rising lately in the world. According to the European (EASL) and the American Association of the Study of Liver Diseases (AASLD)¹, there are about 130-150 millions of patients with HCV in the world.

In the years of independence of our Republic, large-scale activities to improve the quality of preventive, diagnostic and therapeutic measures of HCV, as well as to strengthen on the basis of international requirements in these areas of material and technical base of medical and organizational structures were held during the process of reforming the health care system.

The world puts more emphasis on researches aimed to improve the mechanisms of metabolic adaptation and optimization of therapeutic approaches for HCV. In this regard, of particular importance are the organizations of scientific research in the field of: studying the state of the pro- and antioxidant systems in conjunction with the clinical course of HCV; studying the individual characteristics of the cellular mechanisms of metabolic adaptation at the heart of a long

persistence of the virus in chronic hepatitis C; differential approach to improve HCV disease; improving the effective methods of correction of pathogenetic therapy and the development of side effects (SE) during antiviral therapy (AVT) for HCV, based on the given adaptive metabolic changes; studying the state of hypoxia and cellular energy balance in relation to molecular biological characteristics of HCV, with the help of level of cytolysis and clinical intoxication syndrome with chronic hepatitis C, as well as determining the need for SE correction given the state of metabolic adaptation of the cells during the AVT.

This thesis will help solve the tasks set in the decrees of the President of the Republic of Uzbekistan –PD-3923 «On main directions of further deepening reforms and implementing the State Program for Health Development» issued on 19 September 2007, as well as in other normative legal acts concerning this area.

Relevant research priority areas of science and developing technology of the republic. This research work has been carried out in accordance with the prioritic tendency to the development of science and technologies VI.«Medicine and Pharmacology» within the framework of SSTP-6-10 «Work out of new technologies of prophylactics, diagnostics, therapy and rehabilitation of human diseases».

A review of the international research on the topic of dissertation².

Scientific researches directed to study of pathogenesis of chronic HCV-infection and increase of efficiency of antiviral and pathogenic therapy are being carried out

¹European Association for Study of Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection // J Hepatol 2015; 60: 392 – 420; Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA Recommendations for Testing, Managing, and Treating Adults Infected With Hepatitis C Virus // J Hepatol. 2015; 62 (3); 932 – 954. ²Review of foreign scientific research on the topic of the dissertation carried out based on www.who.int; www.aasld.org; www.easl.eu; www.asaecenter.org; www.idsociety.org; www.novagi.com; www.gastro.org; www.ghapc.com; hepatitisfoundation.org et al. sources.

at the leading scientific centers and higher education institutions around the world, in particular, University of California, Johns Hopkins University (USA), Universitäts klinikum Freiburg, Universität Hamburg, Universität München (Germany), Vienna Medical University (Austria), Universitu of Bologna, Padova University Hospital (Italy), Oslo University Hospital (Norway), Universidad Complutense de Madrid (Spain), Ankara Üniversitesi (Turkey), The University of Tokyo Hospital (Japan), Yonsei University, Inha University (Korea), Chonnam national University, Military medical Academy, Northwestern State medical University (Russia) Research Institute of Virology (Uzbekistan).

As a result of research works devoted to the study of etiological and pathogenetic and immunological aspects of clinical options and HCV outcomes, the role of oxidant and antioxidant systems, the state of the energy balance of the cell in the progression of chronic diffuse liver diseases, important scientific results have been obtained, namely, establishing that the phenomenon of immune "escape" of the virus, which uses cytokine-mediated processes as the suppression mechanisms of processing and presentation of antigens plays an important role in the prolongation of HCV infection (Universitäts klinikum Freiburg, Germany;

Universidad Complutense de Madrid, Spain; The University of Tokyo Hospital, Japan); determining that severity and prognosis of chronic processes in the liver are closely related to the functional state of oxidant and antioxidant systems of hepatocytes in viral hepatitis (University of California, USA; Universidad Complutense de Madrid, Spain); finding that one of the problems of the effectiveness of the AVT is the development of SE and possible resistance of the virus of the hepatitis C to AVT (Universität Hamburg, Germany; Inha University, Korea; Universität München, Germany); finding that patients with a negative response to the AVT and contraindications for its implementation need pathogenetically substantiated therapy (Johns Hopkins University, USA; Chonnam National University, Korea; Oslo University Hospital, Norway).

On the global arena, there are researches being carried out in the number of priority directions studying the course of chronic HCV-infection, and improvements in the effectiveness of antiviral therapy, including the study of the pathogenesis of the long asymptomatic persistence of the virus in chronic HCV infection, development of effective therapeutic regimens of HCV-infection and development of methods to prevent SE AVT.

The degree of study of a problem. Nowadays, countries where the medical science is developed, studied the molecular and genetic characteristics of the virus, the course and fibrosis severity, depending on the HCV genotype, the roles of cellular and humoral immune responses, the interaction of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of chronic process and outcomes, improvements in the efficiency of antiviral α -interferon therapy, which is part of the international standard protocol (Daminov T.O.; Musabaev EI.; Blum H.E.; Moradpour D.; Ivashkin VT.; Jacobson IM; Shakhgildyan IV)¹. Along with this, the increase of the incidence worldwide determines the relevance of research in this direction.

55

Several authors showed that the cell resistance to the toxic effects is caused by metabolic processes in the cell level (Glushkov, SI, 2006; Geyvandova NI, 2008)². One of the main components of cell metabolism is the glutathione system, the degree of suppression which determines the development of cell hypoxia and cell death (October ON., 2007; Kulinskiy VI, 2009)³.

However, studies on the integrated study of immune cell responses, triggered by hepatitis C virus, and interrelated nitrooxidergic processes and lipid peroxidation, activity of glutathione system, the relationship of these processes in the development of SE AVT, have not been conducted.

Connection of the theme of dissertation with scientific-research works of higher educational institution, where was carried out dissertation. The dissertation work is carried out in accordance with the plan of scientific research works of the Tashkent pediatric medical institute, state registration № 01980006703 «Improving the diagnosis, treatment and prevation methods of congenital and acquired disease».

The aim of the research work is determine mechanisms of metabolic adaptation and to optimize therapeutic approaches at CVHC.

The tasks of research work:

to analyze clinical manifestations of CVHC in group of the studied patients in interrelation with the molecular-biological characteristics of HCV, the level of cytolysis and duration of disease;

to study parameters of cellular immunity, cytokine regulation and interferonogenesis in the patients with CVHC in connection with the molecular biological characteristics of HCV, the level of cytolysis and clinical intoxication syndrome;

to define the state of prooxidant and antioxidant systems, levels hypoxia and energetic balance of the cells in the patients with CVHC in relation to the molecular-biological characteristics of HCV, the level of cytolysis and clinical intoxication syndrome;

¹Daminov TO. Evaluation of interferon status in children with hepatitis C // *Pediatrics*. - 2002. - №2. - S. 110-112; Musabaev EI, Yuldashev KH, Sharapov MB, Mustafayev EM. Status incidence of viral hepatitis in Uzbekistan // *Central Asian Medical Journal*. - 2003. - T. 9. App.3. - P. 69-73; Blum HE. Hepatitis C: Current status of the problem // *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, kolloproktologii*. - Moscow, 2005. - №1. - S.20-25; Moradpour D., Penin F., Rice C. Replication of hepatitis C virus // *Nat.Rev.Microbiol*. 2007; 5; 453-463; Ivashkin VT. The immune system and liver damage in chronic hepatitis B and C // *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, kolloproktologii*. - Moscow, 2009. - №6. - S.4-9; Jacobson IM, Cacoub P, Dal Maso L, et al. Manifestations of chronic hepatitis C virus infection beyond the liver // *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010; 8: 1017- 29. Shakhgildyan IV, Ershov ON, Mikhailov MI. and others. The modern characterization of acute and chronic hepatitis C in Russia: Proceedings of the International Symposium. - Brest, 2011. - S. 184-186;

² Glushkov SI, Violation of the glutathione system and their role in the pathogenesis of acute intoxication by xenobiotics with different mechanisms of toxic action. Author. diss. ... Dr. med. Sciences. SPb., 2006; Geyvandova NI, Yagoda AV, Gudkovsky DA, Kostornaya IV. Serum phospholipids, indicators of lipid peroxidation and antioxidant protection as additional non-invasive markers of chronic hepatitis C activity // *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, kolloproktologii*. - 2008. - №6. - S. 38-42.

³Kulinskiy VI, Leonova ZA, Kolesnichenko LS, Malov IV, Danilov YA. Glutathione system in erythrocytes and plasma in viral hepatitis // *Biomedical Chemistry*. - 2007. - T.53. - №1. - P. 91-98; Oktyabrsky ON, Smirnova TV. Redox regulation of cellular functions // *Biochemistry*. - 2007. - №72 (2). - S. 132-145; Wynn A. Cellular and molecular mechanism of fibrosis // *J.Pathol*. 2008; 21 (4); 199-210.

56

on the basis of results of the performed researches to formulate the scheme of pathogenesis of the changes of metabolic adaptation at prolonged HCV – infection;

in view of features of changes of metabolic adaptation to develop methods of increase of efficiency of the pathogenic therapy and correction of SE AVT at CVHC.

The object of the study were 196 patients with HCV, the control group - 20 healthy subjects.

The subject of the research work venous blood and serum, for performance of immunobiological, biochemical researches.

Methods of the research work. In our thesis research we used the common clinical, biochemical, immunological, molecular-biological, instrumental and statistical methods of research.

Scientific novelty of the research work is as follows:

it has been found out that the development of pro- and antioxidant systems imbalance (biochemical manifestation of the pathological process) in chronic HCV-infection outstrips the appearance of clinical symptoms of the disease;

it has been revealed that the long asymptomatic persistence of the virus in HCV is due to the individual characteristics of the cell metabolic adaptation of the organism;

for the first time, the development stages of metabolic adaptation in chronic HCV-infection have been characterised, and method of differential therapeutic approach in chronic HCV-infection with regards to glutathione deficiency degree and the state of the energy metabolism of cells have been also developed;

for the first time, a method of assessing the state of the cellular metabolic adaptation in chronic HCV-infection based on the activity of glutathione peroxidase and ATP has been developed.

Practical results of the work:

a method of individually-oriented correction of pathogenetic and antiviral therapy, taking into account the activity of glutathione peroxidase and ATP is proposed;

a method of individually-oriented correction of pathogenetic therapy for viral resistance to the AVT is proposed;

a need to correct the side effects of antiviral therapy, taking into account the state of the cell metabolic adaptation is identified.

The reliability of the results is confirmed by the fact that all figures of clinical, biochemical, immunological, molecular-biological and instrumental researches are processed with use of modern statistical methods.

The scientific and practical significance of the research results. These research results received from the dissertation conducted reveal the mechanisms of forming pathological process in the liver with chronic HCV infection.

The results of these studies formed the basis for the proposed method of correction of pathogenetic and antiviral interferon-alpha therapy for chronic hepatitis C, which helps to improve the metabolism of hepatocytes, to reduce the

57

risk of sclerosis of the liver parenchyma and the incidence of side effects of antiviral interferon-alpha therapy. The proposed method for estimating the degree of suppression of the antioxidant system and the energy balance of the cell, is available for general practitioners and can be used to determine HCV treatment programs not only in stationary but also in outpatient conditions.

Implementation of the research results. Based on studies in the direction of - Chronic hepatitis C: metabolic adaptation, pathogenetic bases of efficiency, the results obtained in the form of practical recommendations «Optimization of pathogenetic therapy of chronic hepatitis C», introduced in public health practice, including practical work of Research Institute of Epidemiology, Microbiology, infectious diseases, infectious city hospital №5 (Certificate №8N-d/29 dated 10.04.2015, the Ministry of health). These findings make it possible to optimize the pathogenetic and antiviral therapy, reduce the period of temporary disability and hospital stay by 1.6 times.

Approbation of the research results. The results of the dissertation study on international and republican levels were reported and discussed on 7 scientific practical conferences: in particular on the Third Congress of the Euroasian Society on Infectious Diseases (Ekaterinburg, 2014), at scientific - practical conferences

«The Modern problems of immunopharmacology, biotechnology and cytokine regulation» (St.-Petersburg, 2014) and «Urgent questions of the infectious pathology» (Kazan, 2014), «Urgent problems of hepatology and HIV-infection» (Andijan, 2012), «Urgent problems of gastroenterology» (Andijan, 2013), «Urgent problems of HIV-infection and virus hepatitis» (Andijan, 2014), «Immunology is interdisciplinary problem» (Tashkent, 2014), at scientific - methodical sessions of faculty Epidemiology of infectious diseases TashPMI (Tashkent, 2013, 2014), at joint session of faculties Epidemiology of infectious diseases and Children's infectious diseases, microbiology, virology, immunology TashPMI (Tashkent, 2015), at the session of the scientific seminar at the Scientific council of TMA (Tashkent, 2016).

Publication of the research results. According to thesis topic published of recommended scientific editions for publication of basic scientific results os doctoral dissertations by Supreme attestation commission of the Republic of Uzbekistan 8 scientific articles and 2 international journals. A total of 28 scientific papers.

The structure and volume of the thesis. The dissertation consist of the introduction, seven chapters, a conclusion, references and appendices. The size of the research is 200 pages.

THE MAIN CONTENT OF THE RESEARCH PAPER

In the introduction of the dissertation, the topicality and relevance of the research and substantiated, the aim and objectives of the research, its object and subject are formulated, its conformity with the priorities of development of science and technology of the Republic of Uzbekistan is shown, the scientific novelty and practical results of the study are described, the theoretical and practical significance of the obtained results are revealed, a list of introducing the research results into practice, published works and information on the structure of the dissertation are provided.

The first chapter of the dissertation titled «**Comparative analysis of some aspects of the pathogenesis, clinic HCV and modern methods of treatment**» the analysis of literature data are given by results of study of etio-pathogenetical aspects of clinical variants and outcomes of CVHC, role of oxidant and antioxidant systems, state of energetic balance of the cell in the progressing of chronic diffusive liver diseases as well as there are elucidated aspects of the current therapy of CVHC. Results of the analysis performed showed significance, purpose and tasks of research.

In the second chapter of the dissertation «**Characteristic features of clinical material and research methods**» presents the materials and methods of research are described. 196 patients with CVHC, men -73, women -123. The diagnosis and the clinical forms of CVHC were established according to the Order of MH RUz №5 of 05.01.2012 on the basis of the clinical-laboratory data and identification in the blood serum of Anti-HCV (ELISA) and RNA-HCV (PCR). All patients underwent common clinical and biochemical researches. The contents of total bilirubin and its fractions were defined by the unified method of Endrasik and Kleggorn (Delektorskaya L.N., 1967). The research of activity of transaminases (AST and ALT) was made by the unified method of Rightman and Frenkel (Menshikov V.V., Delektorskaya L.N., 1987). Thymole probe was defined by Xuergo and Popper (Kolb V.G., Kamishnikov B.C., 1976).

Virus loading and genotype of virus C was defined by PCR method in real time Rotor Gene (Corbet Research, Australia) with use of sets "Ribocorb--amplifens" (Russia). The markers of immunocompetent cells (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+, CD38+, CD95+) were measured with use of monoclonal antibodies (JS Company "Sorbent", Podolsk, Moscow province). The functional state of B - system of immunity estimated by definition of serum immunoglobulins of the main classes IgG, A, M by the standard method of radial immunodiffusion in gel by I. Mancini with use of sets of monospecific serums against IgG, A, M. Definition of circulating immune complexes of various sizes (CIC) were defined by spectrophotometric methods. The neutrophil phagocytary activity was measured by method of Maiyanskiy A.N. et al (1993). Definition of a level of production of cytokines IL-1 β , IL-8, TNF- α , IL-4, interferons –alpha and gamma was performed with use of test-kits "Cyrokin" and "Protein countour" (St.-Petersburg) based on sandwich-method of hard-phase IFA. The researches on study of immune status of the observable patients were carried out in laboratory of

59

cytokines of the Scientific Research Institute of Immunology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan (director, MD, professor Aripova T.U.). In the patients there was defined a level of nitric oxide (NO) by the sum of its metabolites of nitrites and nitrates (Golikov P.P., 2004), activity of endothelial (eNOS) (Sumbaev V.V., Yasinskaya I.M., 2000) and inducible NO-synthase (iNOS) (Vavilova T.P., Petrovich Yu.A., 1991), level of peroxynitrite (ONOO) (Kooy N.W. et al., 1994 in modification of Azimov R.K., Komarin A.S., 2005). The state of prooxidant system was studied by contents as of primary product of lipid peroxidation – diene ketones and conjugates (Gavrilova V.B. et al, 1984), so as secondary – malondialdehyde (MDA) (Andreeva L.I. et al., 1988). The state of antioxidant defense was determined by parameters of activity superoxide dismutase (SOD), catalase. Activity SOD was defined by method Mhitryan V.G. et al (1978), catalase activity - by a method of Koralik M.A. et al (1988). Similarly, activity of the system of antioxidant defense was determined by spectrophotometric method on the radial spectrophotometer VIS-2100 (LND, China) and were evaluated by parameters of the content change in the erythrocytes of total (GS), oxidized (GSSG), reduced (GSH) glutathione (V.G. Chernishev, 1983) and, also by speed of activation of glutathione-dependent

enzymes of glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR) and glutathionetransferase (GT) (Vlasova S.N., et al. 1990).

Definition of the contents 2,3 diphosphoglycerate (2,3 DPG) and ATP in the erythrocytes were performed by method of Vinogradova M.L. (1980). The level of middle molecules (MM) in plasma were determined by Malakhov M.Ya. (1995). The special biochemical researches were carried out in the laboratory of blood substitute of the Scientific Research Institute of Hematology and blood transfusion (Head of laboratory Ph.D. Shevchenko L.I.). The ultrasonic researches were spent on the device PHILIPS HD6 with convex sensor C5-2 with frequency 3,5 mHz. The linear speed of blood flow was measured in cm/sec.

The statistical analysis of the received data was performed through the computer integrated system of processing "Statistica" with use of the standard criteria (Lakin G.F., 1990).

Depending on a kind of received therapy the studied patients were divided into groups: basic therapy - 30 patients, basic therapy + Glutathione and Sorbitol - 40 patients, antiviral therapy - 65 patients, antiviral therapy + Glutathione and Sorbitol - 37 patients.

The third chapter of the dissertation titled «**The clinical picture of the surveyed patients with HCV**» the clinical progressing of CVHC in the studied group of the patients has been analyzed. The clinical observations have shown, that all patients had the complaints to weakness. Thus the majority of them (74.0 %) noted periodic weakness and only at 26.0 % of the patients the weakness had constant character. Other, most constant symptoms marked by patients, were absence of vivacity after night dream – 82.1 %, weight and pains in the right hypochondrium (82.1 %), swelling of a stomach after plentiful food (82.1 %). More than half of patients complained of dream disorders (69.9 %), constipations

60

(67.8 %), headache (60.2 %), fast fatigue after usual physical loading (60.2 %). The results of the clinical analysis have allowed to group symptoms in intoxication and dyspeptic syndromes. The frequency of registration of the symptoms of intoxication syndrome has made 64 %, and dyspeptic - 36 %. Expressed cytolysis was not a characteristic symptom for the surveyed patients. Almost at half of patients - 95 (48.5 %) individuals the level of ALT did not exceed parameters of 1.5-2 norms. The low degree of cytolysis - parameters ALT at a level 2-3 norms - was registered in 54 (27.6 %) patients. The moderate degree of cytolysis - increase of a level of ALT in limits from 3 up to 5 norms - was observed in 47 (23.9 %) patients. It is necessary to note, that the expressed level of cytolysis, exceeding 5 norms, was not registered at any patient. For the surveyed patients the expressed hyperbilirubinemia was not characteristic. It is interesting to note, that the reliable interrelation between the levels of bilirubin and its fractions and the levels of cytolysis and parameters of thymole probe was not revealed ($p > 0.05$). The frequency of occurrence of clinical symptoms of disease was not connected with genotypes of a virus C, with virus loading, intensity of the cytolysis of hepatocytes ($p > 0.05$). With increase of duration of disease the intensity and frequency of the occurrence of the symptoms of intoxication syndrome increased too, as well as weight and pains in the right hypochondrium after the use of plentiful food (p

<0.05). Taking into account the leading role of intoxication syndrome in the clinical manifestation of CVHC in group of the studied patients and for ordering in subsequent results of laboratory examinations, the intensity of the intoxication syndrome was relatively divided by number of registered symptoms into three stages: an mild stage - presence 1-3 symptoms, moderate - 4-6 symptoms, expressed - 7-10 clinical symptoms of intoxication.

The fourth chapter of the dissertation «**The analysis of immuno-cell and immunoregulatory indicators in the studied group of patients with HCV**» presented results of the analysis of the main parameters of cellular and humoral immunity, proinflammatory and anti-inflammatory cytokines, including IFN- α , IFN-gamma and anti-IFN- α in comparison with similar parameters of the healthy persons. In the studied group of the patients (fig. 1) there is noted reliable in relation to the group of healthy people the decrease of quantity of leucocytes and lymphocytes. The reliable reduction of the regulatory index in relation to control (1.06 ± 0.07 and 1.7 ± 0.07 , respectively) occurs at the expense of decrease of the contents CD4 + (27.6 ± 0.58 % and 35.3 ± 1.2 %, respectively) and increase of CD8+ (26.0 ± 1.13 % and 20.7 ± 0.61 %, respectively). Increase of lymphocytes with receptors CD95 +, activating processes of cellular apoptosis (24.8 ± 1.21 % and 17.9 ± 0.8 %, respectively). In group of the studied patients with CVHC there is observed reliably in relation to control increase of levels of ingredients of humoral immunity IgA (159.1 ± 6.0 mg% and 108.0 ± 9.7 mg%, respectively), IgM (119.0 ± 5.84 mg % and 84.5 ± 5.1 mg %, respectively), and also CIC both large, and small. The parameters FAN are also higher than the control, but in group of the studied patients these changes have no reliability (fig. 1).

61

		Lymphocytes, CD3+, %			
FAN, %		55,0	35,0		
CIC		15,0			
small., c.u.		%		CD4+, %	
CIC	*	*		*	% IRI
large.,		-5,0	*	*	(CD4/C
c.u.				*	D8)
CD95+,			*		
%	*				
		CD38+,	*		CD8+,
		%			%
		CD16+,			
		CD25+, %		CD20+, %	
		Healthy, n=12			
		Patients of CVHC, n=67			

Fig. 1. Immunologic parameters of the patients with CVHC The note: * -

($p < 0,05$) reliability of differences from group of healthy persons

At the studied patients there are observed heterogenous changes in group of proinflammatory cytokines. So, reliable in relation to control reduction of the levels of IL-1 β (2.4 ± 0.15 pg/ml and 4.32 ± 0.35 pg/ml, respectively) and IL- 8 (10.8 ± 0.42 pg/ml and 32.2 ± 1.9 pg/ml, respectively) is accompanied by increase of a level of TNF- α (8.9 ± 0.41 pg/ml at the control 5.8 ± 0.27 pg/ml, $p < 0.05$). The level of proinflammatory IL-4 2 times prevailed control parameters (4.1 ± 0.16 pg/ml and 2.35 ± 0.17 pg/ml, respectively).

It is necessary to note the reliable decrease ($p < 0.01$) of the parameters of IFN- α in the patients with CVHC at the reliable increase ($p < 0.01$) of the e level of IFN- γ , that emphasizes special feature of interferonogenesis in this contingent of patients (fig. 2).

The carried out analysis of interrelation of immunological parameters with genotype of virus, viral loading, intensity of hepatocyte cytolysis and clinical these parameters.

syndrome of intoxication has not established reliability ($p > 0.05$) of distinctions of

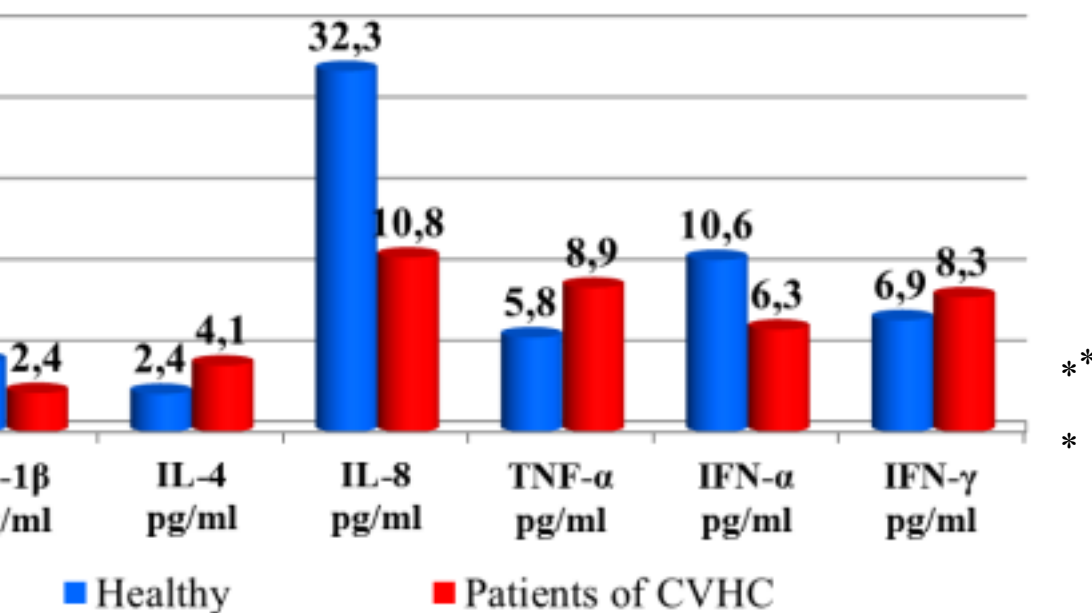


Fig. 2. Parameters of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with CVHC

The note: * - ($p < 0,05$) reliability of differences from group of healthy persons

The fifth chapter of dissertation «**The state of prooxidant and antioxidant systems in the studied group of patients**» is devoted to the results of study of the state of prooxidant and antioxidant systems in the patients with CVHC. In general group of the surveyed patients the level of main metabolite of nitrooxidergic process – NO_x (nitric oxide) is not reliably differ from parameters of healthy persons (19.4 ± 0.37 и 17.9 ± 0.88 mcmol/l, respectively, $p > 0.05$). Thus there is noted reliable increase in relation to parameters of healthy control iNOS (0.73 ± 0.01 and 0.28 ± 0.01 mcmol/min/ml, respectively, $p < 0.01$). Increase of the level of peroxynitrite (ONOO) has become of increasing interest, being produced from NO and free radicals (0.67 ± 0.01 and 0.12 ± 0.01 , respectively, $p < 0.01$). At the analysis of the state of lipid peroxidation (LP) in group of the studied patients it was established increase of intensity of the reactions of LP (Table 1).

In the patients with CVHC there was found reliable increase ($p < 0.05$) in relation to parameters of healthy persons as of primary products of LP – dien ketone, dien conjugates so as of secondary product – malon dialdehyde (MDA). One of the laboratory markers of endogenous intoxication appeared to be middle molecules (MM).

Table 1

Parameters of prooxidant and antioxidant system in the groups of patients with CVHC with various stage of intoxication, n=196 (M $\pm$ m)

Biochemical parameters	Healthy subjects (n=20)	General group of patients (n=196)	Groups of patients with various stage of intoxication		
			Group I mild (n=49)	Group II moderate (n=74)	Group III expressed (n=73)
NO _x , mmol / l	17,9 $\pm 0,88$	19,4 $\pm 0,37$	18,7 $\pm 0,49$	19,9 $\pm 0,76$	20,3 $\pm 0,80$
eNOS, mol / min / ml	14,6 $\pm 0,73$	7,33 $\pm 0,17^*$	7,15 $\pm 0,25$	7,60 $\pm 0,29^*$	7,37 $\pm 0,39^*$
iNOS, mol / min / ml	0,28 $\pm 0,01$	0,73 $\pm 0,01^*$	0,70 $\pm 0,02^*$	0,75 $\pm 0,03^*$	0,76 $\pm 0,03^*$
ONOO, mmol / l	0,12 $\pm 0,01$	0,67 $\pm 0,01^*$	0,65 $\pm 0,02^*$	0,67 $\pm 0,02^*$	0,70 $\pm 0,03^*$
Dien ketones, rel.un/ml	0.32 ± 0.02	0.64 $\pm 0.01^*$	0.64 $\pm 0.02^*$	0.62 $\pm 0.02^*$	0.66 $\pm 0.02^*$

Dien conjugates, rel.un/ml	1.07 ±0.06	1.79 ±0.03*	1.66 ±0.05*●	1.76 ±0.06*#	1.91 ±0.06*#§
MDA, nmol/ml	2.50 ±0.13	3.61 ±0.07*	3.62 ±0.15*	3.49 ±0.11*	3.73 ±0.11*
MM, un/e	9.79 ±0.09	14.02 ±0.28*	11.9 ±0.35*●	14.86 ±0.49*#	14.6 ±0.45*#
Catalase, mcat/ml	22.8 ±1.04	50.1 ±0.96*	52.4 ±1.82*	50.1 ±1.50*	48.6 ±1.65*
SOD, mkg./ml	36.1 ±1.52	38.6 ±0.84	40.8 ±1.52*	38.6 ±1.34	37.0 ±1.47
GS, mcmol/ml.er.	45.3 ± 2.12	23.7 ±0.45*	28.2 ±0.75*●	24.7 ±0.61*#	19.7 ±0.66*#§
GSH, mcmol/ml.er.	43.2 ±2.14	22.2 ±0.45*	26.5 ±0.75*●	23.2 ±0.65*#	18.4 ±0.64*#§
GSSG, mcmol/ml.er.	2.15 ±0.15	1.51 ±0.04*	1.71 ±0.06*●	1.53 ±0.06*#	1.34 ±0.06*#§
GR, mcmol/NADFH/ min /Hb	2.84 ±0.13	2.14 ±0.04*	3.25 ±0.12*●	2.52 ±0.06*#	1.19 ±0.05*#§
GP, mcmol/GSSG/ min/Hb	583.5 ±28.3	332.3 ±6.17*	464.0 ±5.5*●	350.5 ±3.4*#	225.3 ±5.0*#§
GT, mcmol/ GSH/min/Hb	2.44 ±0.11	1.35 ±0.03*	1.54 ±0.05*●	1.36 ±0.04*#	1.22 ±0.04*#§
G-6-PDG, mcmol/ NADF/min/Hb	5.5 ±0.27	4.39 ±0.08*	5.01 ±0.21●	4.41 ±0.12*#	3.94 ±0.10*#§

Note: * - presence of reliable differences from parameters of healthy people;
- presence of reliable differences from group I;
§ - presence of reliable differences from group II ;
● - presence of reliable differences from parameters of the general group of patients.

The results of study of the level MM in the blood plasma of the patients with CVHC showed that this parameters 1,5 times exceeds the parameters of healthy people. The results of investigation of the levels of glutathione antiperoxide defense showed that in the patients with CVHC there is observed reliable stress failure of homeostatic function of the glutathione system. In the studied patients there is registered marked reduction of the recovered glutathione (GSH) practically in 2 times. Additionally to the reduction of glutathione levels in the studied patients there is noted suppression of the activity of glutathione dependent

enzymes. Activity of glutathione peroxidase (GP) reduces in relation to the parameters of the healthy persons in 1,8 times.

The reliable changes in relation to parameters of the healthy persons, but in smaller expression are also observed in activity of glutathione reductase (GR). The molecule NADPH is necessary for restoration of the oxidized form of glutathione, donor of hydrogen for which is G-6-FDG (Severin E.S., 2005; Gavriluk L.A. et al., 2010; Aripov O.A., 2010). It is established, that the activity of G-6-FDG reliably reduced in relation to healthy group. The researches performed have shown absence of reliably interrelation ($p > 0.05$) between changes in parameters of prooxidant and antioxidant systems and cytolysis intensity, and viral loading and genotype of virus C. The further researches have shown presence of interrelation of the investigated parameters of prooxidant and antioxidant systems with intensity of intoxication syndrome.

So, the activity of iNOS and ONOO, being reliably reduced in relation to general group of the patients in group of the patients with an mild degree of intoxication, raised with deterioration of state of health of the patients and increase of number of their complaints (0.68 ± 0.02 mcmol, 0.71 ± 0.02 mcmol, 0.78 ± 0.02 mcmol and 0.56 ± 0.02 mcmol/l, 0.72 ± 0.02 mcmol/l, 0.70 ± 0.02 mcmol/l, respectively, $p < 0.05$). The interrelation of intensity of reaction of LP with clinical syndrome of intoxication was reliably ($p < 0.05$) expressed only in changes of parameters of dien conjugates. The lowest parameters of activity of glutathione and glutathione dependent enzymes and G-6-FDG are registered at the patients with expressed intoxication syndrome. The dynamics of change of GR activity has become of interest. At least intensity of the intoxication syndrome the burst of enzyme activity is registered with reliable meaning of increase of the level both in relation to general group of the patients, and in relation to parameters of the healthy persons. In the further at growing intoxication there is noted reduction of parameters of the activity of GR with the lowest level of activity in the patients of III group having the most number of complaints. So in the patients with CVHC there is observed reliable decrease in glutathione activity, glutathione dependent enzymes and G-6-FDG (Table 1). The investigations performed showed that from three glutathione dependent enzymes – GR, GP, GT, the more consistent in its interrelation with intensity of the clinical symptoms of intoxication appeared to be enzyme GP. Taking into account the above mentioned we performed analysis of the stage of reduction in relation to control parameters of GP in the general group of patients with CVHC and relatively there was isolated 3 stages of glutathione insufficient: compensated – reduction to 30% from control, subcompensated -

65

reduction from 30% to 50% and decompensated – reduction of parameters GP above 50% from the control.

Table 2

Interrelation between glutathione insufficiency and stages of intoxication syndrome in the studied patients with CVHC

Degree of glutathione	Groups of patients with various degree of intoxication
-----------------------	--

insufficiency	Group I mild (n=49)	Group II moderate (n=74)	Group III expressed (n=73)
Compensation	(40)81.6±6.9%*	-	-
Subcompensation	(9)18.4±6.9%* ²	(55)74.3±6.2%* ¹	-
Decompensation	-	(19)25.6±6.2%* ³	(73)100% ²

Note: *- p<0,05 reliability of differences between stages of glutathione insufficiency

^{1,2,3} - p<0,05 reliability of differences between appropriate groups.

Thus, according to the data presented in table 2 it is visible that in the patients with CVHC clinical manifestation of intoxication syndrome by the stage of intensity “delays” from the stage of reduction of GP level.

The sixth chapter of dissertation «**The state of energy supply and cell hypoxia in patients with HCV**» was devoted to the results of study of the stage of energy supplying and cellular hypoxia in the patients with CVHC. The investigations showed reliable (p <0.05) reduction of the contents of erythrocytary ATP and increase 2.3 DFG (table 3).

It was established that parameters ATP and 2.3 DFG have no reliable interrelation with viral genotype, viral loading and intensity of hepatocyte cytolysis. In this case there is noted reliable interrelation between parameters of cellular hypoxia – reduction of the level ATP and increase of parameters 2.3 DFG with intensity of intoxication syndrome.

Table 3

Parameters ATP and 2,3 DFG in the groups of patients with different stage of intoxication

Biochemi cal parameters	Healthy subjects (n=20)	General group of patients (n=128)	Group of patients with various degree of intoxication		
			Group I mild (n=32)	Group II moderate (n=48)	Group III expressed (n=48)
ATP, mg/100 ml	19.6±0.26	4.8±0.15*	7.4±0.28*	4.4±0.17* ¹	3.5±0.13* ²
2,3 DFG, mcmol/ml	5.61±0.19	10.4±0.19*	8.9±0.32*	10.4±0.28* ¹	11.5±0.30* ²

Note: * - p<0,05 presence of reliability of differences from healthy people;

^{1,2,3} - p<0,05 reliability of differences between appropriate groups.

The carried out correlation analysis in group of the studied patients has revealed negative dependence between levels of GR and parameters of the leading representative of intercellular immune regulation - TNF- α (-0.28), parameters of intensity of nitrooxidergic of processes - ONOO- (-0.16) and lipid peroxidation - dien conjugates (-0.16) and laboratory marker of endointoxication - MM (-0.18) both in general group, and in groups with a various degree of intoxication, and also at presence of direct correlation between parameters of ATP with parameters GP and negative correlation with parameters 2.3 DFG (-0.17).

On the basis of results of the carried out researches it is possible to formulate the scheme of the processes of metabolic adaptation to prolonged HCV-infection (Fig. 3). The virus starts mechanisms of self-preservation by suppression of interferonogenesis, development of disbalance Th1/Th2 of chains of immune response with formation of immunocompetent processes and cytokine dysregulation¹.

The started processes induce production ROS by Kupfer cells, ITO, endothelial cells, phagocytes. The increase of a level ROS results to initiation of reactions of LP¹. In reply to increase of concentration of LP - DK, MDA, the cellular mechanisms of adaptation are formed as activation of system of glutathione, in which key enzyme ROS is GP. The enzyme-donor for GP is GSH. Thus the unique enzyme ensuring bioregeneration of GSH from GSSG, are GR and G-6-FDG². Revealed in this work in a number of patients the reliable increase in GR on the basis of reduction of the level of total and restored glutathione, on our opinion, characterize the adaptive tension of this complex system, directed to the preservation of the membrane integrity in chronic oxidative stress.

Inactivation of the free radicals O₂ prevents swelling of the mitochondria. This, in turn, allows saving activity of the enzymes of the respiratory system in the Krebs circle. In this case for additional production of ATP the processes of anaerobic glycolysis is activates². These processes provide under the conditions of the oxidative stress prevention of the development of energodeficit and preservation of cells and may be considered as compensatory stage of glutathione insufficiency.

The prolonged prooxidant loading being by the leading part in the pathogenesis of CVHC, results in gradual exhaustion of reserves of restoration of glutathione and decrease of activity GR. The decrease of inactivation of free radicals O₂ results to swelling of mitochondria and decrease of enzymatic activity of a respiratory circuit, that is accompanied by energodeficit of the cell.

Thus, the cell fills energodeficit from the additionally activated anaerobic glycolysis. The impairment of metabolism in the cell results in development of hypoxia, that is confirmed by increase in the level of 2.3 DFG in the studied group of patients.

¹Lebedev VV, Bondarenko IN, Avdeeva MG, Strikhanov KS, Shubich MG The clinical significance of nitric oxide level in the differential diagnosis of acute and chronic viral liver toxicity // Infectious diseases. - 2010. - T. 8. - №1. - S. 19-24.

²Severin ES Biochemistry / E.S.Severin. - M.: GEOTAR - Media, 2005 - S.622-623.

Disbalance of Th **HCV** -1 и Th-2 lymphocytes

Formation of immunocomplex processes and
tissue autoagression
Suppression of interferonogenesis

Deregulation of cytokines
TNF- α activation

Compensation stage

Glutathione activation

Consumption of GSH in inactivation of O₂ radicals with use of GP
Synthesis activation by Kupfer, ITO cells, phagocytes ROS

Activation of lipid peroxidation

Stage of subcompensation

Reduction in activity of glutathione system

↓GSH and GP

Stage of decompensation

Deep reduction of the activity of glutathione system

↓↓GSH and ↓↓GP

Increase in GSSG level Increase in activity

↑ GSSG ↓GP

↑ GSSG ↓↓ GR

GR

Increase in GSH bioregeneration

Tension of bioregeneration of GSH

↓ G-6-PDG

↓ NADPH ↓↓ G-6-PDG Exhaustion of

Inactivation of free radicals O₂ prevent mitochondria swelling

↑ G-6-PDG ↑ NADPH

Reduction of inactivation of free radicals O₂ and mitochondria swelling
bioregeneration of GSH

Mitochondria destruction митохондрий

↓↓ NADPH

Preservation of enzymatic activity in the respiratory chain (Krebs cycle) and activation of anaerobic glycolysis for ATP production

Preservation of the cell metabolism

Reduction of activity of enzymes from respiratory chain (Krebs cycle) and additional activation of anaerobic glycolysis for production of ATP

Cell hypoxia

↑ 2.3 DPG

Development of cellular energy deficit Cell death

Fig. 3. Scheme of the processes of metabolic adaptation in CVHC

68

This stage can be appreciated as the subcompensated stage of glutathione insufficiency.

The following stage of an opposition of pro- and antioxidant systems is marked exhaustion of reserves of glutathione restoration, progressing decrease of an energy potential of a cell – decrease of a level of ATP and more compensation of 2.3 DPG, characteristic for expressed cell hypoxia. These processes lead to the cell death, persistent inflammation, sclerosis of parenchyma with consequent formation of liver cirrhosis¹. This stage under the right can be called decompensated stage of glutathione insufficiency.

On the basis of the offered scheme of processes of metabolic adaptation in CVHC and determined of the leading role of glutathione insufficiency and energy producing function the search of drugs having capacity of correction of these processes in the patients body has become the natural process.

The seventh chapter of the dissertation «**Improving the efficiency of pathogenetic and antiviral therapy in chronic hepatitis C**» the results of development of pathogenically oriented complex therapy of CVHC are presented.

For correction of disorders in the system of glutathione we used “Gluthion” – preparation of the firm “Welfarm” manufactured in Spain containing GSH. The heterogeneity of the patients according to the stage of glutathione insufficiency allowed isolation of 3 groups: compensated (group I), subcompensated (group II) and decompensated (group III) stage of glutathione insufficiency. In each group we used preparation Gluthion® in dose 600 mg on the physiological solution intravenous by drops during 10 days on the background of desintoxication and symptomatic therapy. On the background of the therapy performed with preparation Gluthion® in dose 600 mg there is noted reliable ($p < 0.05$) increase of parameters GSH in relation to both to parameters before treatment and parameters

after performed basic therapy (38.2 ± 2.83 ; 28.8 ± 2.08 ; 30.8 ± 2.43 mcmol/ml.er., respectively; 36.4 ± 2.69 ; 27.0 ± 1.95 ; 29.1 ± 2.3 , respectively). It is necessary to note, that at the patients of group I by the end of treatment by a preparation Gluthion® in a doze 600 mg the level GR is reliably ($p < 0.05$) raised and thus differed from parameters of the patients who have received base therapy (526.3 ± 37.9 and 466.1 ± 36.7 mcmol/GSSG/min/Hb, respectively). At the analysis of those parameters in the patients with subcompensated and decompensated glutathione insufficiency (the patients of group II and III) there was not found reliability of differences from parameters prior to the beginning treatment. The received results have allowed to make a conclusion about an opportunity to achieve satisfactory correction of balance LP/AOS with preparation Gluthion® 600 mg only in group of the patients with the compensated degree of glutathione insufficiency. By the following stage of our researches was the increase of a dose of a preparation up to 1200 mg per day in the patients of groups II and III of glutathione insufficiency – subcompensated and decompensated.

¹Farias MS, Budni P, Ribeiro CM, Parisotto EB, Santos CE, Dias JF et al. Antioxidant supplementation attenuates oxidative stress in chronic hepatitis C patients//Gastroenterol Hepatol. 2012;35(6):386-94.

The results of the investigations performed showed positive effect of this dose Gluthion® on the correction of balance LP/AOS. Because in group II and III it was noted reliable increase of the parameters of the activity of GSH and GP in relation to group of patients receiving Gluthion® in dose 600 mg/day, that allowed assessment of the parameters of patients from group II as compensated stage of glutathione insufficiency, and parameters in the patients of group III has become to meet subcompensated stage of glutathione insufficiency. However, in spite of reliable increase in activity of glutathione system in the patients receiving Gluthion® in dose 1200 mg/day in parameters G-6-FDG, 2,3 DFG, ATP there was revealed only tendency to increase in their levels. On the basis of this the following step in our investigations there was solution of the question on correction of energetic metabolism of the cells. For solution of this task we chose preparation Sorbitol® (Imuna Pharm, Slovak Republic), devoted for supplying with non protein energy by supporting enzymes of glycolysis and synthesis of macroergic substances.

Sorbitol ® was used in dose 250.0 ml every second day (N 5) on the basis of treatment with Gluthion® 1200 mg in group of patients with subcompensated ($n=13$) and decompensated ($n=14$) stages of glutathione insufficiency. The results of studied performed showed positive effect of the complex therapy with Gluthion+Sorbitol on the parameters GP, G-6-FDG, 2,3 DFG, ATP as in the patients with subcompensated stage, so as in the patients with decompensated stage of glutathione insufficiency. Thus in the patients of group II – subcompensated stage, level ATP on the background of treatment increased from 4.0 ± 0.28 to 15.6 ± 1.13 mg/100 ml ($p < 0.05$). In the patients of group III – decompensated stage, there was noted increase in ATP from 3.1 ± 0.21 to 8.6 ± 0.6 mg/100ml ($p < 0.05$). These changes were accompanied by regression of intoxication symptoms. The following

stage of our researches was the question of temporary persistence of glutathione system in the studied therapeutic groups of patients. The performed clinical laboratory monitoring showed sufficient stability of glutathione system after performed complex treatment in the patients of group I and II, which lasted from 6 to 12 months. In the patients with decompensated stage of glutathione insufficiency the performed complex therapy provided preservation of the increased level of parameters from 2 to 3 months. The recommended prolonged metabolic therapy allowed not only achievement of the reliable ($p < 0.01$) differed parameters of glutathione system (GSH, GP), system of energy supplying and state of hypoxia, but also promoted to achieve reliable increase of the linear blood flow (LBF) in the v.portae system in the patients of the main group in comparison with patients receiving basic therapy (21.9 ± 1.5 ; 18.2 ± 1.2 cm/sec, respectively, $p < 0.05$).

In group of studied patients receiving complex AVT: Altevir® in combination with ribavirin, there were included 65 patients with CVHC. Analysis of the results of clinical observations showed that in all patients AVT was accompanied by development of side-effects (SE). By the character of registered SE the patients were divided into two groups. The first (I) group of 18 patients (27.7 %) – the patients having AVT without SE. The second group (II) consisted of

70

47 patients (72.3 %) with prolonged SE, registered during all antiviral course. The spectrum of clinical manifestations accompanying AVT, was very wide. The influence-like and asthenic syndromes were registered more often (89.5% and 84.2%, respectively). On the second place in relation to prevalence rate there were dyspeptic, psychopathic and arthralgia syndromes (79.2 – 72.9 – 68.7 %, respectively). More than in a half of patients (52.1 %) on the background of therapy performed there was noted reduction in body mass. The more part of patients had very hard course of AVT. 16 patients (24.6 %) refused from its continue in spite of reduction of the viral load. We had to stop administration of preparation for 16 patients on the 12th week (24.6%) due to growing, in spite of performance of correcting therapy, anemia and thrombocytopenia, development of autoimmune thyroiditis. So, 32 patients (49.2 %) of 65 beginning antiviral course, had to stop treatment because of intensity of SE. Analysis of the efficacy of the therapy performed in group of observing patients showed that in 18 patients, that accounted for 27.7 % on the 12-24 weeks of treatment RNA-HCV stopped to be visible in the blood and was not visible during the following 6 months of follow up. To the 12 week of treatment in 11 patients (19.3 %) there was no dynamics in viral load that was appreciated as absence of virological response to therapy performed. On the next stage of research we performed analysis of interrelationship between intensity of SE and efficacy of AVT (table 4).

As it may be seen from data presented in the table, there was no observed reliable difference in the frequency of positive virological response between groups I and II. In this cases all patients who had to stop treatment were in group II. Thus, in the studied group of patients with CVHC the positive virological response to performed AVT was observed in 32.3 % of patients, 18.5 % of patients did not answer to therapy and 49.2 % of patients could not to complete the full course of therapy because of development of SE losing the chance for recovery.

Table 4.

**Interrelationship of AVT efficacy with SE intensity
in the patients with CVHC**

Groups of patients with various stage of SE intensity	Variants of the virulologic response to AVT		Treatment stopping due to SE, n (%)
	Positive, n (%)	Negative, n (%)	
Group I, (n=18)	6 (33.3±11.1%)	12 (66.7±11.1%)	-
Group II, (n = 47)	15 (31.9±5.7%) p>0.05	-	32 (68.1±5.7%)
Totally, (n=65)	21 (32.3±5.8%)	12 (18.5±4.8%)	32(49.2±5.2%)

Note: p - reliability of differences between groups I and II

71

By the following stage of these researches was the study of possible pathogenic relationship of the SE of AVT with an initial condition of prooxidant and antioxidant defense in the patients with CVHC. The researches showed what still prior to the beginning of AVT in group of patients, in whom in the further AVT will be accompanied by SE, the reliably lower levels of parameters GR, GP, GT, G-6-FDG ($p < 0.05$) are initially registered. Taking into account heterogeneity of the patients with CVHC by initial parameters AOS, we in 37 patients prior to the beginning of AVT on individual parameters of glutathione system and ATP performed a course of treatment Glutathion+Sorbitol within 10 days. After a course of treatment the reliable decrease ($p < 0.05$) of the levels of dien ketones and dien conjugates on a background of reliable ($p < 0.05$) decrease of catalase was noted. Simultaneously there is noted reliable increase in relation to parameters before treatment of the levels of GS, GSH, GP and ATP on the background of the reliable reduction ($p < 0.05$) 2,3-DFG. It has allowed making a conclusion about sufficient preparation of the patients to AVT performance.

The comparative analysis of results of AVT performed in the patients with preliminary correction and without correction of the AOS condition (table 5) showed reduction of the frequency of the SE development by 27.6 % and increase in number of patients continuing AVT to the logic end and, consequently, increase in number of patients by 32.6% with positive response to AVT.

Table 5.

Comparative efficiency of AVT and AVT in combination

with pathogenic therapy

Therapeutic groups of patients	Positive response to AVT	Negative response to AVT	Stopping of AVT due to SE
AVT, (n = 65)	21 (32.3±5.8%)	12 (18.5±4.8%)	32(49.2±5.2%)
Pathogenic therapy + AVT, (n = 37)	23 (64.9±1.8%)*	6 (16.2±5.0%)	10(21.6±5.7%)*

Note: *- reliability ($p < 0,05$) distinctions of parameters of compared groups

Thus, the results of the carried out researches allow to conclude that in the pathogenesis of prolonged progressing of infectious-pathological process in CVHC the key role is occupied by the state of activity of glutathione system and energy supply of the cell determine the level of metabolic adaptation and preservation of hepatocytes. The therapeutic correction of the state of glutathione system and energy supplying of the cell allows to increase efficacy of the complex therapy and to reduce frequency of development of SE AVT in CVHC.

CONCLUSIONS

1. CVHC progressing at the subclinical level for a long time. The syndrome of clinical intoxication characterizing by increase in intensity during individually determined period of time is the leading syndrome of chronic hepatitis C.

72

2. Clinical expression of the intoxication syndrome in CVHC has no reliable relationship with viral genotype, viral load and level of hepatocyte cytolysis. 3. At CVHC there is developed disbalance of the system Th1-, Th2- lymphocytes with deregulation of cytokine system, activation of TNF- α , suppression of the IFN-genesis, formation of immunocomplex processes and tissue autoagression.

4. At CVHC there is noted activation of nitrooxidergic and disorder of functional balance of prooxidant and antioxidant systems, reduction of energy balance of the cells appearing as biochemical manifestation before occurring of clinical symptoms of disease.

5. At CVHC the changes in immune system, nitrooxidergic, prooxidant and antioxidant systems are reliably not interconnected to a viral genotype, viral load, level of hepatocyte cytolysis. There has been determined reliable interrelationship of studied systems with intensity of intoxication syndrome.

6. In the pathogenesis of the development of side effects of antiviral alpha interferon therapy the certain place belongs to the reduction of antioxidant defense and level of energy balance of the cells in the patients with CVHC. 7. The inclusion of preparations correcting antioxidant system and energy balance of the

cells into the complex therapy for CVHC allows increase in efficacy of pathogenic and antiviral alpha-interferon therapy and improvement of the quality of life of the patients.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Арипходжаева Г.З. Состояние прооксидантной и антиоксидантной систем при хроническом гепатите С// Журнал Теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2013. - №6. – С. 113-116. (14.00.00; №3)
2. Арипходжаева Г.З., Касымов И.А. Клинико-биохимические и вирусологические аспекты хронического гепатита С// Бюллетень Ассоциации Врачей Узбекистана. – Ташкент, 2014. - №1. – С. 26-29. (14.00.00; №17)
3. Арипходжаева Г.З., Хикматова М. Динамика интерфероногенеза у больных хроническим гепатитом С на фоне противовирусной терапии// Журнал Теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2014. - №2. – С. 41-43. (14.00.00; №3)
4. Aripkhodjayeva G.Z. The state of the antioxidant system in chronic hepatitis C// International Journal of Biomedicine. – New York, 2014. – Vol. 4. – Issue 2. – P. 79-81. Global Impact Factor – 0.543

5. Арипходжаева Г.З., Касымов И.А. Аутоимунные аспекты патогенеза хронического гепатита С// Инфекция, иммунитет, фармакология. – Ташкент, 2014. – №3. – С. 44-50. (14.00.00; №15)
6. Арипходжаева Г.З., Касымов И.А., Нематова Х.А. Оценка показателей медиаторов иммунного ответа у больных хроническим гепатитом С при комбинированной противовирусной терапии// Бюллетень Ассоциации Врачей Узбекистана. – Ташкент, 2014. - №2. – С. 93-96. (14.00.00; №17)
7. Арипходжаева Г.З. Глутатионовая система и интоксикационный синдром при хроническом гепатите С// Эпидемиология и инфекционные болезни. - Москва, 2014. – №4. – С. 39-42. (14.00.00; №152)
8. Арипходжаева Г.З. К вопросу взаимосвязи иммунной регуляции и эффективности альфа-интерфероновой терапии при хроническом гепатите С// Вестник Ташкентской Медицинской Академии. –Ташкент, 2014. - №3. – С. 44-47. (14.00.00; №13)
9. Арипходжаева Г.З. К вопросу повышения эффективности патогенетической терапии хронического вирусного гепатита С // Журнал Теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2015. - №3. – С. 122-125. (14.00.00; №3)
10. Арипходжаева Г.З., Хайрулина А.Х., Рашидова С.А. Показатели липопероксидации, антиоксидантной системы и эндогенной интоксикации при хроническом вирусном гепатите С во взаимосвязи с уровнем цитолиза // Журнал Теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2015. - №5. – С. 119-121. (14.00.00; №3)

74

II бўлим (II часть; II part)

11. Арипходжаева Г.З., Касымов И.А. Активность глутатионзависимых ферментов при хроническом гепатите С// Журнал инфекционной патологии. - Иркутск, 2013. – Том 20. - №1-4. – С. 32-34.
12. Арипходжаева Г.З. Клинико-патогенетические аспекты побочных эффектов альфа-интерфероновой противовирусной терапии хронического вирусного гепатита С// Казанский Медицинский Журнал. – Казань, 2014. - №6. – С. 924-928.
13. Арипходжаева Г.З., Марданова Х.А. Клинико-вирусологические аспекты противовирусной терапии хронического гепатита С // Журнал Евразийский Союз Ученых. Сборник научных трудов IX Международной научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований». – Москва. – 2014. - №9. – С. 10-12.
14. Арипходжаева Г.З., Арипходжаева Ф.А., Дурсунова Ч. Иммуно-вирусологические параллели при хроническом гепатите С// Материалы научно-практической конференции «Новые технологии в диагностике и лечении инфекционных заболеваний». ТашИУВ. – Ташкент, 2011. – С. 61.
15. Арипходжаева Г.З. К вопросу эффективности альфа-интерфероновой

противовирусной терапии при хроническом вирусном гепатите С// Материалы научно-практической конференции молодых ученых «Современные проблемы инфекционных и паразитарных заболеваний». – Ташкент, 2012. – С. 11.

16. Арипходжаева Г.З. Побочные эффекты терапии Альтевином при хроническом вирусном гепатите С// Материалы Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы гепатологии и ВИЧ инфекции». АГМИ. –Андижан, 2012. – С. 54-55.
17. Арипходжаева Г.З., Арипходжаева Ф.А. К вопросу функционального состояния печени при хроническом гепатите С// Материалы Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы гастроэнтерологии». АГМИ. –Андижан, 2013. – С. 419-420.
18. Арипходжаева Г.З. Иммунопатогенез побочных эффектов противовирусной терапии хронического гепатита С// «Материалы VI Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням». Журнал «Инфекционные болезни». – Москва, 2014. – Т. 12. – Приложение 1. – С. 20-21.
19. Арипходжаева Г.З. Иммунная регуляция и эффективность альфа интерфероновой терапии при хроническом гепатите С// Материалы Международного научно-практической конференции «Актуальные проблемы ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов». АГМИ. – Андижан, 2014. – С. 93-94.
20. Арипходжаева Г.З., Касымов И.А., Нематова Х.А. К вопросу взаимосвязи состояния цитокиновой регуляции с эффективностью противовирусной терапии при хроническом гепатите С// Материалы международной научно-практической конференции «Иммунология – междисциплинарные проблемы». Журнал Теоретической и клинической медицины. – Ташкент, 2014. – Т. 2. - №3. – С. 55. (14.00.00; №3)
21. Касымов И.А., Арипходжаева Г.З. Патогенетические аспекты эффективности противовирусной терапии при хроническом гепатите С// Материалы Третьего Конгресса Евроазиатского общества по инфекционным болезням. Журнал Инфектологии. – Екатеринбург, 2014. – Т. 6. - №2. – С. 48.
22. Арипходжаева Г.З. Некоторые аспекты цитокиновой регуляции у больных хроническим гепатитом С на фоне противовирусной терапии// Материалы научно-практической конференции «Современные проблемы иммунофармакологии, биотехнологии и цитокиновой регуляции». Журнал Цитокины и воспаления. – Санкт-Петербург, 2014. – Т. 13. - №1. – С. 86-87.
23. Арипходжаева Г.З., Нематова Х.А., Хикматова М.А. Взаимосвязь цитокиновой регуляции и эффективности противовирусной альфа интерфероновой терапии при хроническом вирусном гепатите С// Материалы Всероссийской научно-практической конференции с зарубежным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии». – Казань, 2014. – С. 109-110.
24. Арипходжаева Г.З., Хайруллина А.Х. Взаимосвязь прооксидантной и антиоксидантной систем с вирусологическими вариантами хронического вирусного гепатита С// Материалы Всероссийской научно-практической

- конференции с зарубежным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии». – Казань, 2014. – С. 110.
25. Арипходжаева Г.З., Марданова Х.А. Аспекты цитокиновой регуляции у больных хроническим вирусным гепатитом С // Материалы II Всероссийской XII Межрегиональной с международным участием научной сессии молодых ученых и студентов «Современные решения актуальных научных проблем в медицине». – Нижний Новгород, 2015. – С. 176.
26. Арипходжаева Г.З., Хикматова М.А. Взаимосвязь интерфероногенеза и эффективности противовирусной терапии при хроническом вирусном гепатите С // Материалы II Всероссийской XII Межрегиональной с международным участием научной сессии молодых ученых и студентов «Современные решения актуальных научных проблем в медицине». – Нижний Новгород, 2015. – С. 177.
27. Касымов И.А., Арипходжаева Г.З., Хикматова М.А. К вопросу патогенеза вариантов ответа на альфа-интерфероновую терапию при хроническом вирусном гепатите С // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Нерешенные вопросы этиотропной терапии актуальных инфекций». – СПб. – 2015. – С. 25 бет.