

BOLALAR VA O‘SMIRLARDA IRSIY HAMDA METABOLIK KASALLIKLARNI TASHXISLASHDA ZAMONAVIY LABORATOR TEXNOLOGIYALAR: LC-MS/MS, MASS-SPEKTROMETRIYA VA KLINIK ALGORITMLAR

Ergasheva S.M., Aripov A.N., Axundjanova L.L., O‘rinboyev I.R., Ibragimova Sh.D.

RESPUBLIKA IXTISOSLASHTIRILGAN
PEDIATRIYA ILMIY-AMALIY TIBBIYOT MARKAZI,
MIRZO ULUG‘BEK NOMIDAGI
O‘ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI (TOSHKENT), O‘ZBEKISTON

Ergasheva Saboxatxon Muxiddin qizi - Saboxat.medical21@gmail.com
+998946907467
ORCID https://orcid.org/0009-0004-3958-4506
Aripov Abdumalik Nigmatovich - amalik8@mail.ru
+998909992001
Axundjanova Lola Lazizovna - Akhundjanovalola@gmail.com
+998909550922
O‘rinboyev Islom Rahimjon o‘g‘li islamurinbayev@gmail.com
+998949309323
ORCID https://orcid.org/0009-0009-7349-5757
Ibragivova Shodiya-Bonu Doniyer qizi-Shodiya1298@gmail.com
+998971775110

ANNOTATSIYA

Kirish: Bolalar va o‘smirlarda irsiy hamda metabolik kasalliklar ko‘pincha klinik polimorfizm, bosqichma-bosqich rivojlanish va umumiy pediatrik simptomlar ortiga yashirinishi bilan tavsiflanadi. Shu bois laborator diagnostika klinik qaror qabul qilishning markaziy bo‘g‘iniga aylanmoqda.

Maqsad: Pediatrik amaliyotda LC-MS/MS, mass-spektrometriya, real vaqtli PCR, NGS va bosqichma-bosqich klinik algoritmlarning o‘rnini tizimli tahlil qilish. Material va usullar: maqola zamonaviy adabiyotlar, konsensus hujjatlari va molekulyar diagnostika bo‘yicha tadqiqotlar tahliliga asoslandi.

Natijalar va muhokama: LC-MS/MS metabolik markerlarni ko‘p komponentli va yuqori sezgirlikda aniqlash imkonini beradi; real vaqtli PCR maqsadli translokatsiyalar va variantlarni tez aniqlashda foydalidir; WES/WGS/NGS esa murakkab, noma’lum yoki genetik jihatdan geterogen holatlarda diagnostik qamrovni kengaytiradi. Fenotiplash, biokimyoviy skrining, maqsadli genetik testlar va keng ko‘lamli sekvenslashni bosqichma-bosqich birlashtirish diagnostik samaradorlikni oshiradi.

Xulosa: Pediatriyada erta tashxis qo‘yish uchun laborator texnologiyalar alohida emas, balki yagona klinik algoritm tarkibida qo‘llanilishi kerak. Ushbu yondashuv davolashni erta boshlash, nojo‘ya asoratlarni kamaytirish va individual tibbiyot tamoyillarini tatbiq etishga xizmat qiladi.

Kalit so‘zlar: pediatriya, irsiy kasalliklar, metabolik kasalliklar, LC-MS/MS, mass-spektrometriya, real vaqtli PCR, NGS, klinik algoritm.

СОВРЕМЕННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ: LC-MS/MS, МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ И КЛИНИЧЕСКИЕ АЛГОРИТМЫ

Эргашева С.М., Арипов А.Н., Ахунджанова Л.Л., Уринбоев И.Р., Ибрагимова Ш.Д.

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР ПЕДИАТРИИ, НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ УЗБЕКИСТАНА ИМЕНИ МИРЗО УЛУГБЕКА (ТАШКЕНТ), УЗБЕКИСТАН

Эргашева Сабохатхон Мухиддин кизи — Saboxat.medical21@gmail.com, +998946907467
ORCID: https://orcid.org/0009-0004-3958-4506
Арипов Абдумалик Нигматович — amalik8@mail.ru
+998909992001
Ахунджанова Лола Лазизовна — Akhundjanovalola@gmail.com
+998909550922
Уринбоев Ислом Рахимжон угли — islamurinbayev@gmail.com
+998949309323
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-7349-5757
Ибрагимова Шодия-Бону Дониёр кизи — Shodiya1298@gmail.com
+998971775110

АННОТАЦИЯ

Введение: Наследственные и метаболические заболевания у детей и подростков часто характеризуются клиническим полиморфизмом и неспецифическими симптомами, что затрудняет своевременную диагностику.

Цель: Системно проанализировать значение LC-MS/MS, масс-спектрометрии, ПЦР в реальном времени, NGS и пошаговых клинических алгоритмов в педиатрической практике. Материалы и методы: статья основана на анализе современных публикаций, консенсусных документов и исследований по молекулярной диагностике.

Результаты и обсуждение: LC-MS/MS обеспечивает высокочувствительное многокомпонентное выявление метаболических маркеров; ПЦР в реальном времени эффективна для быстрого обнаружения целевых транслокаций и вариантов; WES/WGS/NGS расширяют диагностические возможности при генетически гетерогенных и неясных состояниях. Пошаговая интеграция фенотипирования, биохимического скрининга и генетического тестирования повышает диагностическую результативность.

Заключение: Современные лабораторные технологии должны использоваться как единая интегрированная система, обеспечивающая раннюю диагностику и персонифицированный подход в педиатрии.

Ключевые слова: педиатрия, наследственные заболевания, метаболические заболевания, LC-MS/MS, масс-спектрометрия, ПЦР в реальном времени, NGS, клинический алгоритм.

MODERN LABORATORY TECHNOLOGIES IN THE DIAGNOSIS OF HEREDITARY AND METABOLIC DISEASES IN CHILDREN AND ADOLESCENTS: LC-MS/MS, MASS SPECTROMETRY AND CLINICAL ALGORITHMS

Ergasheva S.M., Aripov A.N., Akhundjanova L.L., Urinboev I.R., Ibragimova Sh.D.

REPUBLICAN SPECIALIZED
SCIENTIFICAL PRACTICAL MEDICAL CENTER OF PEDIATRICS,
NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN
NAMED AFTER MIRZO ULUGBEK (TASHKENT), UZBEKISTAN

Ergasheva Saboxatxon Muxiddin qizi — Saboxat.medical21@gmail.com
+998946907467
ORCID: https://orcid.org/0009-0004-3958-4506
Aripov Abdumalik Nigmatovich — amalik8@mail.ru
+998909992001
Akhundjanova Lola Lazizovna — Akhundjanovalola@gmail.com
+998909550922
Urinboev Islom Rahimjon o'g'li — islamurinbayev@gmail.com
+998949309323
ORCID: https://orcid.org/0009-0009-7349-5757
Ibragimova Shodiya-Bonu Doniyer qizi — Shodiya1298@gmail.com
+998971775110

ABSTRACT

Introduction: Hereditary and metabolic disorders in children and adolescents are often masked by clinical heterogeneity and non-specific symptoms.

Objective: To analyze the role of LC-MS/MS, mass spectrometry, real-time PCR, NGS and stepwise clinical algorithms in pediatric diagnostics.

Materials and methods: This review is based on recent studies, consensus documents and molecular diagnostic reports.

Results and discussion: LC-MS/MS enables highly sensitive multi-analyte detection of metabolic markers; real-time PCR is useful for rapid identification of target translocations and variants; WES/WGS/NGS expand diagnostic yield in genetically heterogeneous and unclear cases. A stepwise integration of phenotyping, biochemical screening and molecular testing improves diagnostic efficiency and rational resource use.

Conclusion: Modern laboratory technologies should be embedded into a unified clinical algorithm to support early diagnosis, timely treatment and precision medicine in pediatric care.

Keywords: pediatrics, hereditary diseases, metabolic diseases, LC-MS/MS, mass spectrometry, real-time PCR, NGS, clinical algorithm.

Kirish

Bolalar va o'smirlarda irsiy hamda metabolik kasalliklar sog'liqni saqlash tizimida murakkab diagnostik muammo hisoblanadi. Ularning ko'p qismi fenotipik xilma-xillik, yashirin boshlanish, yoshga qarab o'zgarib boruvchi klinik manzara hamda umumiy pediatrik simptomlar bilan kechadi. Neonatal davrda ovqatlanishning buzilishi, qusish, letargiya, gipotoniya, kardiomiyopatiya yoki gipoglikemiya ustun bo'lsa, keyingi yosh davrlarida o'sishdan qolish, intellektual rivojlanishdagi kechikish, mushak zaifligi, jigar va taloq kattalashuvi, suyak tizimidagi o'zgarishlar, nevrologik disfunktsiya yoki takrorlanuvchi metabolik dekompensatsiya kuzatilishi mumkin. Shu sababli erta tashxis faqat bitta testga emas, balki klinik kuzatuv, skrining va molekulyar verifikatsiyani o'z ichiga olgan tizimli yondashuvga asoslanishi kerak.

So'nggi yillarda laborator diagnostika an'anaviy biokimyoviy tahlillardan yuqori aniqlikdagi ko'p platformali tizimlarga o'tdi. Real vaqtli PCR, multipleks PCR, floresan asosidagi usullar, quruq qon tomchisiga asoslangan skrining, suyuqlik xromatografiyasi bilan bog'langan tandem mass-spektrometriya, shuningdek NGS, WES va WGS kabi genetik texnologiyalar pediatrik amaliyotga faol kirib kelmoqda. Zamonaviy yondashuvning asosiy g'oyasi shundan iboratki, klinik fenotip qanchalik murakkab bo'lmasin, laboratoriya ushbu fenotipni molekulyar yoki metabolik darajada aniqlashtirishi, bemorni xavf guruhiga ajratishi va keyingi tekshiruv strategiyasini belgilashi kerak.

Ushbu maqolada irsiy va metabolik kasalliklarni aniqlashda LC-MS/MS, mass-spektrometriya, real vaqtli PCR va kengroq molekulyar-genetik texnologiyalarning o‘rni pediatrik nuqtai nazardan tahlil qilinadi. Shuningdek, cheklangan va o‘rta resursli laboratoriyalar sharoitida ham qo‘llash mumkin bo‘lgan bosqichma-bosqich klinik algoritm taklif qilinadi.

Tadqiqot maqsadi

Bolalar va o‘smirlarda irsiy hamda metabolik kasalliklarni tashxislashda zamonaviy laborator texnologiyalarning diagnostik imkoniyatlarini tahlil qilish, LC-MS/MS va real vaqtli PCRning amaliy o‘rnini ko‘rsatish, shuningdek fenotiplash, metabolik skrining va genetik verifikatsiyani birlashtiruvchi bosqichma-bosqich klinik algoritmni asoslash.

Materiallar va usullar

Maqola tahliliy sharh ko‘rinishida tayyorlandi. Mavzu bo‘yicha yuklangan adabiyotlar, konsensus hujjatlari va molekulyar diagnostika bo‘yicha zamonaviy maqolalar tanlab o‘rganildi.

Tahlil doirasiga quyidagi yo‘nalishlar kiritildi: 1) pediatrik bemorlarda genetik tekshiruvlarni bosqichma-bosqich qo‘llash; 2) real vaqtli multipleks PCRning maqsadli markerlarni tez aniqlashdagi roli; 3) LC-MS/MSning metabolik profilni ko‘p komponentli baholashdagi afzalliklari; 4) NGS, WES va WGSning murakkab genetik holatlarda diagnostik qamrovni kengaytirish imkoniyati; 5) multi-omics va integratsiyalashgan ma’lumotlardan foydalanishning istiqbollari.

Adabiyotlarni saralashda pediatrik relevanti, molekulyar yoki metabolik metodologiyaning aniqligi, klinik amaliyotga mosligi, diagnostik samaradorlik, resurs talabchanligi va individual tibbiyotga qo‘shadigan hissasi mezon sifatida olindi. Mavzular klinik fenotiplash, biokimyoviy skrining, maqsadli molekulyar test, keng ko‘lamli sekvenslash va klinik qaror qabul qilish algoritmi nuqtai nazaridan sintez qilindi.

1-Jadval.

Zamonaviy laborator usullarning qisqacha taqqoslanishi

Usul	Asosiy qo‘llanish	Afzalliklari	Cheklovlari
Real vaqtli PCR	Maqsadli variant, translokatsiya yoki gen ekspressiyasi	Tez, sezgir, arzonroq, maqsadli verifikatsiya uchun qulay	Faqat oldindan ma’lum nishonlar bo‘yicha ishlaydi
Multipleks PCR	Bir nechta markerlarni bitta reaksiya ichida aniqlash	Biomaterial va reagentni tejaydi, laborator ish oqimini soddalashtiradi	Primer dizayni va validatsiyasi murakkabroq
LC-MS/MS	Metabolik profil, ko‘p komponentli skrining, dori va metabolitlarni aniqlash	Yuqori sezgirlik, yuqori spetsifiklik, ko‘p analitli tahlil	Asbob, servis va interpretatsiya talabi yuqor
WES/WGS/NGS	Genetik geterogen, noaniq yoki murakkab holatlar	Diagnostik qamrov keng, yangi variantlarni aniqlaydi	Bioinformatika, xarajat va variant interpretatsiyasi murakkab

Natijalar va ularning muhokamasi

1. Irsiy va metabolik kasalliklarda erta tashxislashning klinik ahamiyati

Pediatrik amaliyotda erta tashxis faqat diagnozni tezroq qo‘yish masalasi emas. U bemorning prognoziga, davolashni boshlash vaqtiga, asoratlar profilaktikasiga, oilaviy genetik maslahatga va hatto sog‘lom tug‘ruqlar rejasiga ta’sir qiladi. Ayrim fermentopatiyalarda ovqatlanish korreksiyasi yoki substrat cheklovchi parhez kechikkan taqdirda qaytmas nevrologik oqibatlar yuzaga kelishi mumkin.

Lizosomal, peroksisomal yoki mitoxondrial kasalliklar esa dastlab umumiy pediatrik kasalliklarga o‘xshash belgilar bilan kechadi. Shu sababli klinik shubha uyg‘otadigan “qizil bayroqlar”ni erta tanish alohida ahamiyatga ega: regressiv rivojlanish, sababsiz gipotoniya, takroriy asidoz, tutqanoq, ko‘p a’zoli zararlanish, dismorfik belgilar, giperammonemiya, unexplained hepatomegaliya, kardio- va miopatiyalar, hamda oilaviy anamnezdagi o‘xshash holatlar.

Konsensus hujjatlarida ham pediatrik diagnostika tizimli bo‘lishi, klinik, biokimyoviy, tasviriy va genetik domenlarni birlashtirishi qayd etilgan.

Ayniqsa, genetik sababdan shubhalanganda tarix, fizik ko‘rik, laborator va radiologik ma’lumotlar asosida maqsadli genetik tekshiruvga o‘tish tavsiya etiladi. Demak, zamonaviy laboratoriya texnologiyalari alohida testlar yig‘indisi emas, balki klinik algoritmning tarkibiy qismidir.

2. Real vaqtli PCR va multipleks PCRning diagnostik o‘rni

Real vaqtli PCR pediatrik molekulyar diagnostikaning eng tez, sezgir va amaliy platformalaridan biridir. Bu usul ma’lum genetik nishon, translokatsiya, nuqtaviy mutatsiya yoki ekspressiya o‘zgarishini qisqa muddatda aniqlash imkonini beradi. Ayniqsa, gematologik kasalliklar, tug‘ma infeksiyalarni differensial tashxislash, farmakogenetik markerlar, ayrim irsiy sindromlar va maqsadli skrining uchun ushbu texnologiya laboratoriya amaliyotida yetakchi o‘rin tutadi.

Yuklangan maqolalardan birida o‘tkir limfoblastik leykozda ETV6–RUNX1, TCF3–PBX1, KMT2A–AFF1 va BCR–ABL1 translokatsiyalarini bir vaqtda aniqlash uchun SYBR Green asosidagi multipleks real vaqtli PCR usuli ishlab chiqilgan. Ushbu yondashuv bir master-miks ichida bir nechta markerlarni aniqlash, biomaterial sarfini kamaytirish, reaktsiyalar sonini qisqartirish va natijani tez olish imkonini bergan. Tadqiqotda barcha maqsadlar uchun amplifikatsiya samaradorligi maqbul 90–110% diapazonda bo‘lgan, spetsifiklik esa 100% darajada tasdiqlangan. Demak, real vaqtli PCR nafaqat sifat jihatdan, balki iqtisodiy jihatdan ham resurs cheklangan laboratoriyalar uchun mos yondashuvdir.

Pediatriyada real vaqtli PCRning afzalligi shundan iboratki, u klinik shubhani tez verifikatsiya qiladi. Masalan, ma’lum translokatsiya yoki deletsiya kutilayotgan holatda uzoq davom etadigan keng ko‘lamli tekshiruvlardan oldin aniq molekulyar javob olinadi. Shu bilan birga, ushbu usul asosan oldindan ma’lum nishonlarga asoslanadi. Genetik heterogenlik yuqori bo‘lgan kasalliklarda yoki yangi variantlar kutilganda uning diagnostik qamrovi cheklanishi mumkin. Shunday holatlarda real vaqtli PCR kengroq sekvenslash platformalariga yo‘naltiruvchi “birinchi chiziq” testi sifatida qaraladi.

3. LC-MS/MS va mass-spektrometriyaning metabolik diagnostikadagi o‘rni

Suyuqlik xromatografiyasi bilan tandem mass-spektrometriya bog‘langan LC-MS/MS bugungi kunda tug‘ma metabolik kasalliklar skriningi va laborator tasdig‘ida eng muhim platformalardan biridir. Ushbu tizim bir vaqtning o‘zida ko‘plab metabolitlarni yuqori sezgirlik va yuqori spetsifiklikda o‘lchash imkonini beradi. Quruq qon tomchisi, plazma, siydik yoki boshqa biologik namunalar asosida aminokislotalar, asil-karnitinlar, organik kislotalar, lizosomal substratlar yoki dori metabolitlari tahlil qilinadi. Natijada klinik simptomlar to‘liq shakllanishidan oldin metabolik disbalans aniqlanishi mumkin.

LC-MS/MSning asosiy afzalliklari — ko‘p komponentlilik, past konsentratsiyalarni aniqlash, yuqori analitik selektivlik va qisqa vaqt ichida ko‘p ma’lumot olish imkoniyatidir. Bu, ayniqsa, klinik belgilari bir-biriga o‘xshash bo‘lgan irsiy metabolik kasalliklarda muhim. Masalan, gipotoniya, qusish, gipoglikemiya yoki tutqanoq bilan kelgan chaqaloqda birlamchi umumiy biokimyoviy tahlillar etiologiyani ko‘rsatmasligi mumkin, biroq LC-MS/MS asosidagi metabolik profil muhim yo‘nalish beradi. Shu asosda bemor maqsadli genetik testga yoki kengroq panel tekshiruviga yuboriladi.

Yuklangan ilmiy ishlar LC-MS/MSning ko‘p komponentli tahlil, kimyoviy tarkibni aniqlash, ma’lumotlar bazasi bilan moslashtirish va yuqori aniqlikdagi strukturaviy interpretatsiyadagi ustunliklarini ko‘rsatadi. Garchi maqolalardan biri dori birikmalari va o‘simlik komponentlari tahliliga bag‘ishlangan bo‘lsa-da, undagi metodologik yondashuv — yuqori aniqlikdagi ionlash, ikki qutbli tahlil, gradient xromatografiya va keyingi bioinformatik qayta ishlash — pediatrik metabolik diagnostikaga ham metodik asos beradi.

Shu bilan birga, LC-MS/MSni joriy etish laboratoriya tayyorgarligi, metodni validatsiya qilish, ichki va tashqi sifat nazorati, standartlar, matriks effektlari va natijalarni klinik interpretatsiya qilishni talab qiladi.

Bundan tashqari, ayrim usullar toksik organik erituvchilardan foydalanishi mumkin, bu esa yashil analitik kimyo mezonlari nuqtai nazaridan optimallashtirish zaruratini yuzaga keltiradi. Demak, LC-MS/MS faqat “kuchli asbob” emas, balki sifat menejmenti, bioxavfsizlik va barqaror metodologiya bilan birga ishlashi kerak.

4. NGS, WES, WGS va kengaytirilgan genetik qamrov

Agar klinik manzara irsiy kasallikdan kuchli shubha uyg‘otsa, ammo maqsadli PCR yoki alohida biokimyoviy testlar etiologiyani aniq ko‘rsatmasa, keyingi bosqichda NGS oilasidagi texnologiyalar qo‘llaniladi. WES oqsil kodlovchi ekzonlarni qamrab olib, ko‘plab Mendel tipidagi kasalliklarda yuqori diagnostik foyda beradi. WGS esa kodlovchi va kodlamaydigan hududlarni ham tahlil qilib, strukturaviy o‘zgarishlar, CNVlar va murakkab rearranjementlarni aniqlash imkoniyatini kengaytiradi. NGS pediatrik ALL bo‘yicha tadqiqotlarda ham genetik landshaftni chuqur ochib, qaytalanuvchi mutatsiyalar, subklonlar va terapiya rezistentligi bilan bog‘liq o‘zgarishlarni aniqlashga yordam bergan.

Konsensus hujjatlarida genetik testlar, xususan WES, ma’lum klinik holatlarda diagnostik natijadorlikni sezilarli oshirishi qayd etiladi. Ba’zi fenotipik guruhlarda to‘g‘ri saralangan bemorlarning salmoqli qismida molekulyar tashxisga erishish mumkin. Bu holat pediatrik kasalliklarni “nomuayyan sindrom” darajasida qoldirmasdan, aniq genetik sabab bilan bog‘lashga imkon beradi. Bunday yondashuv davolashni individual rejalash, genetik maslahat berish va oiladagi boshqa xavf guruhlarini aniqlashga xizmat qiladi.

Ammo keng ko‘lamli sekvenslashning ham kamchiliklari mavjud: ma’lumot hajmining kattaligi, bioinformatik tahlil talabi, variantlarni interpretatsiya qilish murakkabligi, tasodifiy topilmalar, xarajat va infratuzilma masalalari. Shu sababli WES yoki WGS har bir bemorga birinchi bosqichda emas, balki maqsadli klinik saralashdan keyin qo‘llanishi maqsadga muvofiqdir. Ideal yondashuv — PCR va biokimyoviy skrining bilan boshlab, klinik zaruratga qarab NGSga o‘tishdir.

5. Multi-omics yondashuvlari va integratsiyalashgan interpretatsiya

So‘nggi davrda genomika, transkriptomika, proteomika, metabolomika va epigenomikani birlashtiruvchi multi-omics yondashuvlari irsiy kasalliklar patogenezini chuqurroq tushuntirish imkonini bermoqda. Bitta test har doim ham klinik fenotipni to‘liq izohlab bera olmaydi; masalan, gen darajasidagi variantning funksional ta’siri transkriptomik yoki metabolomik darajada turlicha namoyon bo‘lishi mumkin. Integratsiyalashgan yondashuv esa kasallik yo‘llari, biomarkerlar, patogen mexanizmlar va individual javob profillarini aniqlashga yordam beradi.

Pediatrik amaliyot nuqtai nazaridan multi-omics darhol barcha markazlarda qo‘llanadigan standart emas. Biroq u murakkab, noaniq, ko‘p tizimli va ilgari tashxislanmagan holatlarda istiqbolli yo‘nalish hisoblanadi. Ayniqsa, LC-MS/MS bilan olingan metabolik iz, WES natijalari va klinik fenotipni birlashtirish ko‘plab “diagnostik odyssey” holatlarida foydali bo‘lishi mumkin. Shunday qilib, hozirgi vazifa barcha markazlarni bir zumda multi-omicsga o‘tkazish emas, balki mavjud platformalarni integratsiya qilish va keyingi bosqichda ma’lumotlarni birlashtirish madaniyatini shakllantirishdir.

6. Bosqichma-bosqich klinik algoritm

Pediatrik bemorda irsiy yoki metabolik kasallikdan shubha uyg‘otadigan holatlarda quyidagi algoritm taklif etiladi.

Birinchi bosqich — klinik fenotiplash. Oilaviy anamnez, qarindoshlararo nikoh, perinatal tarix, regressiv rivojlanish, o‘sish ko‘rsatkichlari, antropometriya, dismorfik belgilar, nevrologik va ko‘p a’zoli simptomlar baholanadi.

Ikkinchi bosqich — bazaviy laborator skrining. Umumiy qon va siydik tahlili, jigar va buyrak ko‘rsatkichlari, laktat, ammiak, glyukoza, kislota-ishqor holati, kreatin kinaza va boshqa maqsadli umumiy testlar bajariladi.

Uchinchi bosqich — maqsadli metabolik testlar. Klinik shubha metabolik kasallikka yaqin bo‘lsa, quruq qon tomchisi yoki plazma asosida LC-MS/MS, organik kislotalar yoki boshqa metabolik panellar qo‘llanadi.

To‘rtinchi bosqich — maqsadli molekulyar tasdiq. Agar ma’lum translokatsiya, deletsiya, mutatsiya yoki sindrom kutilayotgan bo‘lsa, real vaqtli PCR, multipleks PCR yoki boshqa maqsadli testlar bajariladi.

Beshinchi bosqich — kengaytirilgan genetik tekshiruv. Oldingi bosqichlar etiologiyani to‘liq izohlamasa, klinik fenotip va metabolik izlar asosida NGS paneli, WES yoki WGS tavsiya etiladi.

Oltinchi bosqich — integratsiyalashgan interpretatsiya. Klinik genetik, laborator diagnost, pediatr va zarur mutaxassislar natijalarni birgalikda baholab, davolash, monitoring va oilaviy maslahat strategiyasini ishlab chiqadi.

Mazkur algoritmning afzalligi shundaki, u diagnostik resurslarni oqilona taqsimlaydi, ortiqcha testlarni kamaytiradi, natijalarning klinik ahamiyatini oshiradi va individual yondashuvni ta’minlaydi.

7. Amaliy cheklovlar va laborator tashkiliy masalalar

Zamonaviy texnologiyalarni joriy etishda bir nechta muammo saqlanib qolmoqda. Birinchidan, yuqori texnologik usullar uchun asbob-uskunalar, servis, kalibratorlar, standartlar va sarf materiallari qimmat bo‘lishi mumkin. Ikkinchidan, natijalarni to‘g‘ri talqin qilish uchun laboratoriya xodimlarining metodik tayyorgarligi va klinik fikrlashi birgalikda rivojlangan bo‘lishi zarur. Uchinchidan, har bir metodning klinik o‘rni aniq bo‘lmasa, “ortiqcha diagnostika” yoki aksincha, kerakli bosqichni o‘tkazib yuborish xavfi paydo bo‘ladi. To‘rtinchidan, ma’lumotlar boshqaruvi, bioinformatika, sifat nazorati va etik masalalar — ayniqsa, genetik tasodifiy topilmalar va oilaviy maslahat masalalari — amaliyotda muhim o‘rin tutadi. Shu sababli samarali model albatta ko‘p tarmoqli bo‘lishi kerak: pediatr, klinik genetik, laboratoriya shifokori, bioinformatik va zarur hollarda dietolog, nevrolog yoki endokrinolog birgalikda ishlashi lozim. Ayniqsa, pediatrik markazlarda diagnostik algoritmni standartlashtirish, laborator testlar ketma-ketligini lokal protokollarga kiritish va ma’lumotlar almashinuvini yo‘lga qo‘yish katta samara beradi.

8. Analitik validatsiya, sifat nazorati va natijalarni interpretatsiya qilish

Pediatrik laborator diagnostikada zamonaviy asbobning mavjudligi yetarli emas; u bilan birga metodning validatsiyasi ham talab qilinadi.

Real vaqtli PCR uchun primer va zondlarning spesifikligi, amplifikatsiya samaradorligi, ichki nazorat, no-template control va melting curve tahlili muhim. Multipleks formatda esa primerlar o‘rtasidagi o‘zaro ta’sir, fluoreshensiya signali yoki erish harorati bo‘yicha farqlanish, shuningdek repeatability va reproducibility ko‘rsatkichlari alohida baholanadi. Yuklangan maqolada aynan shunday yondashuv qo‘llanib, musbat namuna uchun sigmoidal amplifikatsiya, mos erish harorati, gel-elektroforez bilan tasdiq va ichki nazoratning muvaffaqiyatli ishlashi majburiy mezon sifatida qo‘llangan.

LC-MS/MS uchun ham sifat nazorati bir necha qatlamdan iborat: namunani tayyorlash sifati, ichki standartlar, matriks effekti, linearlik, LOD/LOQ, tashish va saqlash sharoitlari, inter-run va intra-run variatsiyalar. Pediatrik skrining dasturlarida ayniqsa quruq qon tomchisi bilan ishlaganda preanalitik bosqich muhim: tomchi hajmi, qog‘ozning impregnatsiyasi, quritish va tashish sharoiti natijaga sezilarli ta’sir ko‘rsatishi mumkin. Demak, klinik algoritmning laborator qismi faqat tahlil bosqichidan iborat emas; preanalitik va postanalitik boshqaruv ham tashxis sifatini belgilaydi.

Interpretatsiya ham doim klinik kontekstdan ajratib bo‘lmaydi. Masalan, metabolik markerning engil oshishi ayrim dori vositalari, parhez, parenteral oziqlantirish yoki interkurrent infeksiya fonida kuzatilishi mumkin. Xuddi shuningdek, genetik variant topilishi uning darhol patogen ekanini anglatmaydi; ACMG tamoyillari, segregatsiya, fenotip mosligi va ehtimol funksional dalillar talab etiladi. Shu sababli zamonaviy laboratoriya xulosasi “marker topildi/topilmadi” bilan cheklanmasdan, klinik-relevanti va keyingi tavsiyalarni ham o‘z ichiga olishi kerak.

9. Yashil analitik kimyo va barqaror laboratoriya amaliyoti

Zamonaviy laboratoriyalarda samaradorlik bilan bir qatorda ekologik xavfsizlik masalasi ham dolzarb. Xromatografik va mass-spektrometrik usullar ko‘pincha organik erituvchilar, murakkab sarf materiallari va energiya talab qiluvchi asbob-uskunalardan foydalanadi.

Yuklangan tadqiqotlarda HPLC va LC-MS asosidagi ko‘plab usullar yashil analitik kimyo mezonlari nuqtai nazaridan baholangan va ko‘plab protokollarda hali ham haqiqiy “yashil” erituvchilar to‘liq joriy etilmagani qayd etilgan. Bu pediatrik laboratoriyalar uchun ham muhim xulosa: keng qamrovli diagnostika barqaror metodologiya bilan uyg‘unlashishi zarur.

Barqaror laboratoriya amaliyoti bir necha yo‘nalishda rivojlanadi. Birinchisi — erituvchi sarfini kamaytirish, miniaturizatsiya va avtomatlashtirish. Ikkinchisi — analiz vaqtini qisqartirish va chiqindi hajmini kamaytirish. Uchinchisi — validatsiya mezonlarini saqlagan holda xavfsizroq reagentlarni tanlash. To‘rtinchisi — standart operatsion protseduralarni shunday optimallashtirish kerakki, metod sezgirligi pasaymasdan laboratoriya yuklamasi va sarf xarajatlari kamayib borsin. Pediatrik skrining dasturlarida namuna soni ko‘p bo‘lishi mumkinligi sababli bu masala ayniqsa amaliy ahamiyatga ega.

Shuningdek, PCR asosidagi diagnostika ham yashil laboratoriya yondashuvlaridan xoli emas. Reaksiya hajmini qisqartirish, multiplekslash, elektron hujjatlashtirish, qayta ishlanadigan yordamchi materiallardan foydalanish va asboblar ish rejimini optimallashtirish resurs tejamkorligini oshiradi. Demak, “zamonaviy laboratoriya texnologiyasi” tushunchasi endilikda faqat yuqori sezgirlik yoki yuqori tezlikni emas, balki xavfsizlik, iqtisodiylik va ekologik mas’uliyatni ham anglatadi.

10. Etik masalalar, ma’lumotlar boshqaruvi va klinik aloqasi

Genetik va metabolik diagnostika rivojlangani sari etik masalalar ham keskinlashib bormoqda. Keng ko‘lamli sekvenslash tasodifiy topilmalarni aniqlashi mumkin; ular asosiy klinik savolga aloqador bo‘lmasa ham, bemor va oila uchun katta ahamiyat kasb etadi. Shu bilan birga, voyaga yetmagan bemorlarda ma’lumotni kimga, qachon va qanday hajmda yetkazish masalasi ham nihoyatda nozik. Pediatrik amaliyotda ota-ona roziligi, bemorning manfaatlari, kelajakdagi reproduktiv ahamiyat va psixologik yuklama doimo hisobga olinishi lozim.

Ma’lumotlar boshqaruvi ham zamonaviy laboratoriyaning asosiy tarkibiy qismiga aylandi. LC-MS/MS, NGS va boshqa platformalar katta hajmdagi xom ma’lumot hosil qiladi. Ularni saqlash, qayta ishlash, arxivlash, qayta ko‘rib chiqish va klinik tizimlarga integratsiya qilish uchun standartlashtirilgan raqamli infratuzilma kerak. Bu nafaqat sifat menejmenti uchun, balki natijani qayta talqin qilish va uzoq muddatli kuzatuv uchun ham muhim. Ayniqsa, yangi bilimlar paydo bo‘lganda ilgari “noma’lum ahamiyatli” deb baholangan variantlar qayta tasniflanishi mumkin.

Klinik aloqa masalasi ham e’tibordan chetda qolmasligi zarur. Laboratoriya xulosasi sodda, amaliy va klinik qaror qabul qilishga mos bo‘lishi kerak. Pediatr, neonatolog, nevrolog yoki endokrinolog laborator tilda emas, klinik tavsiya formatida ma’lumot olishni xohlaydi. Shu bois laboratoriya hisobotlarida aniqlangan marker, ehtimol etiologiya, tavsiya etiladigan qo‘shimcha tekshiruv va zarur hollarda genetik maslahat bo‘yicha yo‘nalish birga berilishi maqsadga muvofiqdir.

11. O‘zbekiston sharoitida amaliy tatbiq istiqbollari

Milliy sharoitda pediatrik irsiy va metabolik kasalliklar diagnostikasini takomillashtirish uchun bosqichli model eng maqbul yo‘nalish bo‘lib ko‘rinadi. Birlamchi va ikkilamchi bo‘g‘inda klinik “qizil bayroqlar”ni erta tanish va maqsadli laborator yo‘llanmalarni standartlashtirish kerak. Respublika va mintaqaviy markazlarda esa LC-MS/MS, real vaqtli PCR va zarur hollarda NGS/WES platformalariga tayanadigan referens laboratoriya modeli shakllantirilishi mumkin. Bunday tizim barcha hududlarda qimmat uskunani takroran xarid qilishdan ko‘ra, resurslarni markazlashtirish imkonini beradi.

Ikkinchi muhim yo‘nalish — laboratoriya mutaxassislarini klinik jihatdan tayyorlashdir. Zamonaviy diagnostikada shifokor-laborant, pediatr va klinik genetik o‘rtasidagi chegaralar nisbatan yaqinlashadi, chunki natijani to‘g‘ri talqin qilish uchun klinik kontekst zarur. Shu bois malaka oshirish dasturlarida PCR, LC-MS/MS, NGS, bioinformatika, genetik maslahat va sifat menejmenti masalalari integratsiyalashgan tarzda o‘qitilishi lozim.

Uchinchi yo‘nalish — skrining, klinik ma’lumot va genetik ma’lumotlar o‘rtasida uzviy bog‘lanish yaratishdir. Agar metabolik skrining natijalari tezda klinik algoritmga ulanmasa, erta aniqlashning afzalligi yo‘qoladi. Shuning uchun namunani olishdan tortib, natijani yetkazish va keyingi yo‘llanmaga qadar bo‘lgan muddatlarni qisqartirish, laboratoriya axborot tizimlarini joriy qilish va multidissiplinar konsilium amaliyotini rivojlantirish dolzarb vazifadir.

12. Umumlashtirilgan muhokama

Ko‘rib chiqilgan ma’lumotlar shuni ko‘rsatadiki, pediatrik irsiy va metabolik diagnostikada “eng yaxshi bitta usul” mavjud emas. Har bir platforma o‘z o‘rniga ega: real vaqtli PCR — tez va maqsadli verifikatsiya uchun, LC-MS/MS — metabolik skrining va ko‘p analitli tahlil uchun, WES/WGS/NGS — murakkab genetik holatlar uchun, multi-omics esa kelajakdagi chuqurlashtirilgan interpretatsiya uchun. Samaradorlik aynan shu vositalar bir-biriga to‘g‘ri ulanadigan paytda oshadi. Shu jihatdan klinik algoritm texnologiyaning o‘zidan kam bo‘lmagan darajada muhimdir.

Bundan tashqari, laboratoriya texnologiyalari faqat tashxisni emas, balki monitoring va prognozlashni ham yaxshilaydi. Metabolik markerlar terapiyaga javobni kuzatishda, PCR maqsadli molekulyar nazoratda, NGS esa yangi patogen mexanizmlarni aniqlashda foydali bo‘lishi mumkin. Kelajakda ma’lumotlar integratsiyasi va sun’iy intellekt asosidagi interpretatsiya platformalari ushbu yondashuvlarni yanada kuchaytiradi. Biroq hozirning o‘zida ham klinik fenotiplash va zamonaviy laborator texnologiyalarni to‘g‘ri birlashtirish pediatrik amaliyot uchun katta foyda beradi.

Amaliy tavsiyalar va kelajak istiqbollari.

13. Amaliy tavsiyalar

Pediatrik amaliyotda ushbu maqolada ko‘rib chiqilgan laborator texnologiyalarni muvaffaqiyatli joriy etish uchun bir nechta amaliy qadamlarni tavsiya etish mumkin. Birinchidan, klinik shubha mezonlari aniq yozilgan yo‘llanma shakllari ishlab chiqilishi kerak.

Yo‘llanmada bemorning yoshi, asosiy simptomlari, rivojlanish dinamikasi, oilaviy anamnezi, qarindoshlararo nikoh holati, avvalgi laborator natijalar va shifokorning asosiy taxmini ko‘rsatilsa, laboratoriya tekshiruvni ancha maqsadli rejalashtira oladi. Bu, ayniqsa, qimmat testlar qo‘llanadigan markazlarda muhim.

Ikkinchidan, barcha shubhali holatlarni bir xil darajada tekshirishdan ko‘ra, riskka asoslangan saralash tizimi joriy etilishi maqsadga muvofiq. Masalan, metabolik inqiroz, neonatal dekompensatsiya, regressiv nevrologik simptomlar, kardiomiyopatiya yoki ko‘p tizimli zararlanish bilan kelgan bemorlar birinchi navbatda LC-MS/MS va boshqa metabolik tekshiruvlarga yo‘naltirilishi mumkin. Ma’lum sindrom yoki translokatsiya taxmini bo‘lgan holatlarda esa maqsadli PCR yoki multipleks PCR birinchi qadam bo‘ladi. Noma’lum, murakkab yoki genetik jihatdan heterogen holatlarda kengroq panel, WES yoki WGSga o‘tish maqsadga muvofiq.

Uchinchidan, natijani yetkazish va keyingi klinik harakatni kechiktirmaslik zarur. Laborator natijalar klinik jihatdan “kritik” bo‘lsa, masalan, hayot uchun xavfli metabolik buzilish ehtimoli bo‘lsa, standart yozma javobdan tashqari tezkor og‘zaki yoki elektron xabarnoma tizimi bo‘lishi kerak. Bu intensiv terapiya, parhez korreksiyasi yoki dori vositalarini boshlashni kechiktirmaydi. To‘rtinchidan, tasdiqlovchi va qayta tekshiruvchi bosqichlar protokollashtirilishi lozim: skrining musbat natija berganda qaysi test bilan verifikatsiya qilinadi, qayta namuna qachon olinadi va qaysi mutaxassisga yo‘llanadi — bular oldindan belgilangan bo‘lishi kerak.

Beshinchidan, laboratoriya va klinik bo‘linmalar o‘rtasida muntazam klinik-morfologik yoki klinik-laborator konsiliumlar tashkil etilishi foydali. Bunday yig‘ilishlar noaniq yoki murakkab bemorlarni qayta ko‘rib chiqish, variantlarni klinik kontekstga joylashtirish va davolash monitoringini rejalash imkonini beradi. Oltinchidan, skrining va genetik tekshiruv natijalari bo‘yicha ma’lumotlar bazasi yuritilishi keyingi ilmiy tahlillar, mahalliy epidemiologik ma’lumotlar va sog‘liqni saqlash rejalashtirish uchun muhim resursga aylanadi.

14. Kelajak istiqbollari

Kelajakda pediatrik irsiy va metabolik diagnostika alohida usullarni qo‘llashdan ko‘ra, ko‘p manbali ma’lumotlarni birlashtirish yo‘nalishida rivojlanadi. Klinik fenotip, raqamli antropometriya, biokimyoviy skrining, LC-MS/MS profillari, sekvenslash natijalari va elektron tibbiy yozuvlar yagona tahliliy maydonda birlashsa, diagnostik tezlik va aniqlik yanada oshadi. Sun’iy intellekt va qaror qo‘llab-quvvatlovchi tizimlar klinik “qizil bayroqlar”ni erta belgilash, laborator test ketma-ketligini tanlash va variantlarni prioritetlashtirishga yordam berishi mumkin.

Shu bilan birga, har qanday texnologik yangilik markazida bemor va uning oilasi turishi kerak. Pediatrik genetika va metabolik diagnostikaning maqsadi faqat zamonaviy asbobdan foydalanish emas, balki bola hayot sifatini yaxshilash, asoratlarni kamaytirish, oilaga tushunarli va ishonchli axborot berish hamda davolashni shaxsiylashtirishdir. Shunday yondashuvgina zamonaviy laborator texnologiyalarni haqiqiy klinik qiymatga aylantiradi.

Xulosa

Bolalar va o‘smirlarda irsiy hamda metabolik kasalliklarni erta va aniq tashxislash zamonaviy pediatriyaning muhim vazifalaridan biridir. Ushbu jarayonda real vaqtli PCR maqsadli genetik markerlarni tez aniqlash, LC-MS/MS esa metabolik skrining va ko‘p komponentli tahlilni bajarish uchun markaziy o‘rin tutadi. NGS, WES va WGS kabi texnologiyalar esa murakkab va heterogen holatlarda diagnostik qamrovni sezilarli kengaytiradi.

Eng samarali yondashuv — klinik fenotiplash, bazaviy biokimyo, maqsadli metabolik skrining, molekulyar tasdiq va kengaytirilgan sekvenslashni yagona bosqichma-bosqich algoritmga birlashtirishdir. Bunday model pediatrik amaliyotda tashxis qo‘yish muddatini qisqartiradi, davolashni erta boshlash imkonini beradi, oilaviy genetik maslahat sifatini oshiradi va individual tibbiyot tamoyillarini amaliyotga yaqinlashtiradi. Kelgusida laboratoriya, bioinformatika va multi-omics ma’lumotlar integratsiyasi ushbu yo‘nalishning yanada rivojlanishiga xizmat qiladi.

2-Jadval.

Pediatrik amaliyot uchun tavsiya etiladigan bosqichma-bosqich laborator algoritm

Bosqich	Baholash mazmuni	Laborator qaror
1	Fenotiplash: anamnez, o‘sish, nevrologik va somatik belgilar, oilaviy xavf	Irsiy/metabolik sababdan shubha darajasini aniqlash
2	Bazaviy skrining: CBC, glyukoza, laktat, ammiak, jigar/buyrak ko‘rsatkichlari	Favqulodda metabolik dekompensatsiyani istisno qilish
3	Maqsadli metabolik baholash	LC-MS/MS yoki boshqa metabolik panelni tanlash
4	Maqsadli molekulyar verifikatsiya	Real vaqtli PCR yoki multipleks PCRni qo‘llash
5	Keng qamrovli genetik tekshiruv	NGS paneli, WES yoki WGSga o‘tish
6	Integratsiyalashgan yakuniy talqin	Multidisiplinar xulosa va genetik maslahat

Адабиётлар

1. 1. Yousefi A, Faranoush M, Bashash D. A SYBR Green-Based Multiplex RT-qPCR Assay for the Simultaneous Screening of Prognostically Significant Translocations in Acute Lymphoblastic Leukemia. Int J Cancer Manag. 2026;19(1):e168483.
2. 2. Mameli C, Cianfarani S, De Sanctis L, et al. Towards a shared diagnostic approach for pediatric short stature: a Delphi consensus of the Italian Society of Pediatrics and the Italian Society for Pediatric Endocrinology and Diabetology. Ital J Pediatr. 2026;52:26.
3. 3. Sulthana H, Jays J, Kumar BP, Goudanavar P. Green analytical evaluation of anticancer drug analysis: A multi-tool assessment of HPLC and LC-MS methods. Sci Rep. 2026;16:3803.
4. 4. Yu H, Li F, Yu H, Jiang X, Ma S, Zhang S. Exploring the mechanism of Kemofang in treating idiopathic membranous nephropathy based on LC-MS/MS combined with network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation. Sci Rep. 2026;16:1985.
5. 5. Mohd Nippah NF, Abu N, Ab Mutalib NS, Alias H. Advances in next-generation sequencing for relapsed pediatric acute lymphoblastic leukemia: current insights and future directions. Front Genet. 2024;15:1394523.
6. 6. Duffy Á, Chen R, Stein D, et al. Development of a genetic priority score to predict drug side effects using human genetic evidence. Nat Commun. 2025;16:8713.
7. 7. Rabbani B, Tekin M, Mahdieh N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. J Hum Genet. 2014;59:5–15.
8. 8. Antonarakis SE, et al. The human genome and disease-causing mutations in coding regions: implications for exome analysis. J Hum Genet. 1995.
9. 9. Gałuszka A, Migaszewski Z, Namieśnik J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. Trends Anal Chem. 2013;50:78–84.
10. 10. Pena-Pereira F, Wojnowski W, Tobiszewski M. AGREE—Analytical GREEnness metric approach and software. Anal Chem. 2020;92(14):10076–10082.
11. 11. Rogol AD, Hayden GF. Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents. J Pediatr. 2014;164(5 Suppl):S1–S14.
12. 12. Mortier GR, Cohn DH, Cormier-Daire V, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2019 revision. Am J Med Genet A. 2019;179(12):2393–2419.
13. 13. Oshima K, Zhao J, Pérez-Durán P, et al. Mutational and functional genetics mapping of chemotherapy resistance mechanisms in relapsed acute lymphoblastic leukemia. Nat Cancer. 2020;1(11):1113–1127.
14. 14. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. Nature. 2007;446:758–764.
15. 15. Płotka-Wasylka J. A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green analytical procedure index. Talanta. 2018;181:204–209.
16. 16. Chen X, Du L, Liu M. Development, validation, and application of an UPLC-MS/MS method for vancomycin, norvancomycin, methotrexate, paclitaxel, and imatinib analysis in human plasma. Ann Clin Biochem. 2022;59(4):253–263.
17. 17. Bertier G, Hétu M, Joly Y. Unsolved challenges of clinical whole-exome sequencing: a systematic literature review of end-users' views. BMC Med Genomics. 2016;9:52.