

"Астана медицина университеті"КЕАҚ

УДК: 616.72-002.77:579.61:616-078

Аннотация

8D10102 – "МЕДИЦИНА"мамандығы бойынша
PhD философия докторы академиялық дәрежесін алу үшін
диссертациялық жұмыс

**"Ревматоидты артриті бар науқастардағы клиникалық ағымының
ерекшеліктері және микробиоценоз жағдайы"**

Ғылыми кеңесші:	М. Ғ. д., профессор Айнабекова Б. А.
Ғылыми кеңесші:	М. Ғ. д., профессор Кушугулова А. Р.
Шетелдік кеңесші:	М. Ғ. д. Zueva Y.E. (Ashkelon: Ariel University, medical faculty, Israel)
Орындаушы:	Исильбаева А. А.

Астана 2022

Зерттеу өзектілігі.

Ревматоидты артрит (РА)- белгісіз этиологиядағы аутоиммундық ауру, буындардың зақымдалуымен, сондай-ақ артикуляциялық емес көріністердің дамуымен сипатталады. РА жиілігі әлемдік популяцияда 1% құрайды [Smolen et al., 2016]. Ауру көбінесе 25-60 жас аралығындағы әйелдер арасында 3-5 есе жиі дамиды [Sokka et al., 2009; Favalli et al., 2018], әйелдердің ерлерге қатынасы 3:1 [Sokka et al., 2009]. Уақытылы диагностика мен емдеу болмаған жағдайда, бұл ауру 40-70% жағдайда еңбекке қабілетті жаста мүгедектікке әкеледі [Cross et al., 2010; Dadoun et al., 2013].

Бүгінгі таңда РА дамуындағы эндогендік және экзогендік факторлардың рөлі дәлелденді. Генетикалық бейімділік-бұл экзогендік триггерлермен ең көп әрекеттесетін маңызды эндогендік фактор [Firestein et al., 2017; Viatte et al., 2017]. Соңғы онжылдықтарда жалпы геномдық қауымдастықтарды (GWAS) зерттеу РА-ға генетикалық бейімділікті терең зерттеуге мүмкіндік берді. РА HLA және HLA емес гендердің дамуындағы ең маңызды патогенетикалық анықталды [Stahl et al., 2010; Plant et al., 2010, Okada et al., 2014...]. HLA DRB гендері РА - ға генетикалық бейімділіктің 1/3 бөлігін қамтамасыз етеді [Tobon et al., 2010]. Қазақстанда Kuranov және басқалар. Астана тұрғындары мен РА пациенттері арасында HLA-DRB1, DQB1 және DQA1 гендерінің аллельдерін зерттеді [Kuranov et al., 2014]. HLA емес гендердің 100-ден астам локусының рөлі Okada және соавторлардың кең ауқымды зерттеуінде ұсынылды, олардың РА дамуындағы негізгі рөлін дәлелдеді [Okada et al., 2014]. Еуропалық популяциядағы PTPN22 гені және РА ең күшті бірлестіктер анықталды [Perricone et al., 2011], азиялық популяциядағы PADI4 [Wax et al., 2011]. Әртүрлі популяциялардағы РА гендерінің бұрын анықталған бірлі-жарым нуклеотидті полиморфизмдерін растауға бағытталған бүгінгі таңдағы зерттеулер әртүрлі этностық топтардағы осы ауруға генетикалық бейімділіктегі елеулі айырмашылықтарды көрсетті [Yamamoto et al., 2015; Vanos-hernandez et al., 2017; Allam et al., 2020...], бұл өз кезегінде осы бағыттағы қосымша зерттеулердің алғышарты болып табылады.

РА генінің белсенуіне әкелетін триггерлерді зерттеуге бағытталған зерттеулер де өзекті. Микробиоценоз-аутоиммунды аурулардың патогенезінде, соның ішінде РА-да маңызды орын алатын жетекші факторлардың бірі [Gevers et al., 2012]. Микробтық қауымдастықтардың ДНҚ тізбегін талдау негізінде алынған (16s РНҚ реттілігі) деректер ауыз қуысы мен ішек микробиоценозы аутоиммунды аурулардың пайда болуына әсер ететін маңызды фактор екенін көрсетті [Lynch et al., 2016; Nikitakis et al., 2017; Maeda et al., 2017]. Өздеріңіз білетіндей, асқазан-ішек жолдары жалпы адамның ең үлкен микробиоценозын қамтиды [Costello et al., 2012]. Адамның иммундық жүйесіне әсер ететін микробтық популяциясы бар басқа аймақтардың бірі ретінде ауыз қуысы болып саналады, оның құрамында бактериялардың 700-ден астам түрі бар, олардың түрлерінің әртүрлілігі ішек жолынан іс жүзінде ерекшеленбейді [Nikitakis et al., 2017]. Циклдік цитруллинделген пептидке (АЦЦП) және ревматоидты факторға (РФ) антиденелер РА дебютінен бұрын ауыздың шырышты қабығында пайда болады [Demoguelle et al., 2014],

Porphyromonas gingivalis, PADI4 генін білдіретін және осылайша АЦЩП синтезіне жауап беретін пептидиларгининдеиминазу ақуызын (PAD) шығаратын, РА дамуымен байланысты ауыз қуысының негізгі патогендік бактериясы болып саналады [Eduardo et al., 2019], ал ішек жалпы иммунитет , сондай-ақ аутоиммундық реттеуде маңызды рөл атқарады, [Follicular et al., 2016], осы салалардағы микробиоценозды зерттеу үлкен ғылыми қызығушылыққа ие.

РА микробиомалық маркерлерін зерттеуге арналған қолда бар зерттеулердің деректері өте қайшылықты. Сонымен, бірқатар зерттеулер *Prevotella copri*-ді РА дамуымен байланысты ішек микробтарының ең көрнекті өкілі ретінде ұсынды [Scher et al., 2013]. Тышқандардағы зерттеулер көрсеткендей, *Prevotella histicola* РА даму қаупін азайтады [Marietta et al., 2016]. Бұл өз кезегінде бір тұқымға жататын бактериялардың әр түрлі түрлері РА кезінде аутоиммундылыққа әртүрлі әсер етуі мүмкін екенін көрсетеді. Сонымен қатар, көптеген зерттеулер әртүрлі популяциялардағы РА-мен ауыратын науқастарда микробиоценоздағы айырмашылықтарды көрсетті. Бүгінгі таңда еуропалық және Азиялық популяциядағы РА жанындағы ауыз қуысы мен ішек микробиомасына көптеген зерттеулер бар [Wolff et al., 2014; Kishikawa et al., 2019; Jeong et al., 2019...], айта кету керек, Азиялық популяция негізінен Жапония мен Қытайда жүргізілген зерттеулермен ұсынылған [Jeong et al., 2019; Kishikawa et al., 2019]. Ауыз қуысы мен ішектің микробиоценозына арналған бірлескен жұмыстардың саны шектеулі, негізінен бұл жұмыстар әдеби шолулар түрінде ұсынылған [Lorenzo et al., 2019; Prodan et al., 2019]. Ресейде Гульнева М. Ю. және соавт. Жүйулі қызыл жегі, склеродермия және жүйелік васкулиттері бар науқастарда ішек микробиоценозына зерттеу жүргізді [Гульнева және соавт., 2007]. Осылайша, Орталық Азия елдерінде, оның ішінде Қазақстанда РА бар пациенттерде ауыз қуысы мен ішектің микробиоценозына жарияланған зерттеулер жоқ.

Зерттеудің мақсаты: ревматоидты артритпен ауыратын науқастардағы клиникалық ерекшеліктерін, генетикалық спектрін, микробиоценоздың жағдайы мен болжамды маңыздылығын бағалау

Зерттеу міндеттері:

1. Ревматоидты артриті бар емделушілерде клиникалық ағымының ерекшеліктерін зерттеу
2. Ревматоидты артриті бар науқастарда тамақтану ерекшеліктерін бағалау
3. Ревматоидты артриті бар науқастардағы генетикалық маркерлердің спектрін зерттеу
4. Ревматоидты артриті бар әйелдерде ауыз қуысы мен ішектің микробиоценозының жағдайын зерттеу

5. Ревматоидты артриті бар пациенттерде микробиоценоз өзгерістерімен клиникалық көріністердің ауырлығының өзара байланысын талдау.

6. Ревматоидты артритті емдеу аясында ауыз қуысы мен ішектің микробиоценозының жағдайын зерттеу.

7. Ревматоидты артрит науқастарында клиникалық ағымды болжауды зерттеу.

Зерттеу объектісі:

Зерттеуге ревматоидты артрит диагнозы қойылған 82 әйел пациент және саны 114 әйел жынысты адамдардың бақылау тобы.

Зерттеу дизайны: көлденең бір сатылы зерттеу

Зерттеу әдістері:

• Клиникалық әдістер: шағымдарды жинау, ауру мен өмір анамнезі, органдар мен жүйелер бойынша объективті тексеру;

• FFQ, HAQ сауалнамалары бойынша сауалнама;

• Зертханалық зерттеу әдістері:

• қанның жалпы талдауы;

• жалпы зәр анализі;

• биохимиялық қан анализі;

• ақуыздардың электрофорезі;

• АЦЦП;

• РФ;

• Ro/SSA антиденелері;

• La/SSB антиденелері;

• Биоматериалды сілекей, нәжіс және қан түрінде жинау;

• ДНҚ-ны оқшаулау және күшейту, ДНҚ кітапханаларын дайындау;

• Нақты уақыттағы ПТР;

• 16S рРНК секвенирлеу;

• Статистикалық өңдеу әдісі (IBM SPSS Statistics 26 версия және RStudio версия 1.4.1717.) және алынған деректерді биоинформатикалық талдау.

Ғылыми жаңалық: алғаш рет қазақстандық популяцияда ревматоидты артритпен ауыратын науқастарда ауыз қуысы мен ішектің микробиоценозын кешенді зерттеу жүргізілді.

Қазақстандық таралымда ревматоидты артриті бар пациенттерде HLA-DRB9 және HLA емес гендер генетикалық маркерлері алғаш рет зерттелді, бұл ретте SNP HLA-DRB9 Rs9268839 азиялық таралымда алғаш рет зерттелді.

Алғаш рет Орталық Азия популяциясында ішек микробиомасы көрсеткіштерінің және РА кезіндегі терапияның тиімділігінің қауымдастығы көрсетілді.

Практикалық маңыздылығы:

Қазақстандық популяцияда ревматоидты артриті бар пациенттерде генетикалық маркерлерді зерттеу нәтижелері, әсіресе SNP HLA DRB9 rs9268839 РА этиопатогенезі туралы білімдерін толықтырады және кеңейтеді.

РА-мен ауыратын науқастарда РФ мен АЦЦП статусына, рентгенологиялық сатысына, ФК-на және аурудың белсенділігіне байланысты ауыз қуысы мен ішектің микробиомасындағы таксалардың айтарлықтай айырмашылықтары анықталды, бұл аурудың белсенділігін, қайталануын және микробиомаға бағытталған жаңа терапиялық бағыттардың дамуын болжауға мүмкіндік береді..

Генетикалық және микробиомалық биомаркерлер туралы осы зерттеудің алынған деректері ревматоидты артрит бойынша әлемдік деректер базасын толықтырып, толықтырылатын болады.

Бұл зерттеу РА бар пациенттердің микробиомасының құрылымын анықталған бұзушылықтарды түзету мүмкіндігімен зерттеуге мүмкіндік береді.

Зерттеу нәтижелері бойынша дамыған болжамды модель дебют жасына және артикулярлық синдромның симметриясына байланысты кіші және үлкен буындардың деформацияларының даму ықтималдығын есептеуге және СРБ деңгейі мен аурудың ұзақтығына байланысты рентгенологиялық сатының қалыптасуын есептеуге мүмкіндік береді.

Қорғауға шығарылатын негізгі тұжырымдар:

1. Клиникалық және зертханалық мәліметтерге сәйкес, ревматоидты артриттің РФ-позитивті және АЦЦП-позитивті түрі бар пациенттерде аурудың анағұрлым ауыр ағымы болды, ал РА пациенттерінің тамақтануын зерттеуі лактоза, ниацин, алкоголь, полиқанықпаған май қышқылдары мен Е дәрумені бар тағамдарды жеткіліксіз тұтынуды анықтады.

2. Генетикалық маркерлерді зерттеу кезінде HLA-DRB9 rs9268839 бір нуклеотидті полиморфизмі РА даму мүмкіндігін арттыратыны анықталды, RASGRP1 rs8032939 нуклеотид генотиптері РФ-оң және РФ-теріс ауру түрінде, SYNGR1 RS909685 РФ-теріс ауру түрінде басым болды. PADI4 rs2240340a және STAT4 rs11889341 нуклеотидтердің генотиптері АЦЦП-оң және АЦЦП-теріс РА түрінде басым болды, FCRL3 rs2317230 нуклеотиді АЦЦП-оң РА түрінде басым болды.

3. Ауыз қуысы мен ішектің микробиомасындағы таксалар РА-ның әр түрлі формаларында РФ және АЦЦП статусына, рентгенологиялық сатысына, ФК-ға және аурудың белсенділігіне байланысты айтарлықтай ерекшеленді,

сонымен қатар ішек микробиомасының әртүрлілігі РА терапиясының болуы мен түріне байланысты айтарлықтай айырмашылықтарға ие болды, *Prevotella* энтеротипі ревматоидты артриттің даму мүмкіндігін арттырады.

4. Дебюттің жасы мен артикулярлық синдромның симметриясы кіші және үлкен буындардың деформацияларының даму ықтималдығына болжамды әсер етеді, ал СРБ және аурудың ұзақтығы РА рентгенологиялық сатысының қалыптасуына болжамды әсер етеді.

ҚОРЫТЫНДЫЛАР:

1. Ревматоидты артриттің РФ-оң формасы бар РА пациенттерінде рентген сатысы ($\chi^2=9,928$, $df=3$, $p=0,0019$) және деформацияның даму жиілігі ($\chi^2=4,995$, $df=1$, $p=0,025$) сенімді жоғары болды, сонымен қатар аурудың бұл түрі СРБ, альбумин, гамма және бета 2 глобулиндердің DAS 28 бойынша аурудың белсенділігімен әртүрлі күшті тікелей корреляциялық байланыстармен сипатталады. АЦЦП - оң ауру түрі бар пациенттерде деформация жиілігі де жоғары болды ($\chi^2=6,017$, $df=1$, $p=0,014$).

2. РА-мен зерттелген әйелдер құрамында лактоза ($p=0,003$), ниацин ($p=0,006$), алкоголь ($p=0,006$), полиқанқыпаған май қышқылдары ($p=0,004$), Е дәрумені ($p=0,001$) бар өнімдерді аз тұтынған.

3. РА бар зерттелген пациенттерде HLA-DRB9 rs9268839 (ОШ = 3,67 [95% ДИ: 1,58-8,54], $p=0,001$) генінің тасымалдаушылығы едәуір жоғары, бұл ретте РФ-оң ауру түрі бар пациенттерде RASGRP1 rs8032939 нуклеотидінің С/Т генотипі, РФ-терістерде RASGRP1 rs8032939 Т/Т генотипі, және SYNGR1 rs909685 А/Т - Т/Т генотиптері басым болды. АЦЦП-оң нысанда PADI4 rs2240340a және STAT4 rs11889341 нуклеотидтерінің Т/Т генотиптері, FCRL3 rs2317230 G/Т генотипі, АЦЦП-теріс РА түрінде PADI4 rs2240340a және STAT4 rs11889341 нуклеотидтерінің С/Т генотиптері басым болды.

4. Дені сау микробиомамен салыстырғанда РА бар пациенттердің микробиомасында айтарлықтай айырмашылықтар анықталды. РА-мен ауыратын науқастарда микробиомадағы таксалардың РФ мен АЦЦП статусына, рентгенологиялық сатысына, ФК-ға және аурудың белсенділігіне байланысты айтарлықтай айырмашылықтары анықталды. *Prevotella* энтеротипіне жататын адамдардың РА дамуының жоғары мүмкіндігі бар екендігі анықталды (ОШ = 2,056 [95% ДИ: 1,038 - 5,919], $p=0,05$). Ішек микробиомасында отбасы деңгейінде *Bacteroidaceae* ($p\leq 0,003$), *Lachnospiraceae* (g. *Dorea*) ($p\leq 0,00001$), *Ruminococcaceae* ($p\leq 0,00002$) басым болды және *Corynebacteriaceae* тұқымдасының бактериялары ($p\leq 0,01$) азайды.

5. Шеннон ($p\leq 0,021$) және Симпсон ($p\leq 0,002$) индекстері бойынша ауыз қуысы микробиомасының α -алуантүрлілігінің статистикалық маңызды айырмашылықтары анықталды. Ауыз қуысының микробиомасында РА тобында отбасы деңгейінде *Prevotellaceae* ($p\leq 0,0001$) және *Neisseriaceae* ($p\leq 0,00001$), род деңгейінде *Porphyromonas* ($p\leq 0,001$) таксалары басым болды.

6. Ішек микробиомасының көрсеткіштері ауыз қуысының микробиомасынан айырмашылығы терапия тиімділігінің индикаторы болып табылады: Шеннон индексі, $p \leq 0,05$; Симпсон индексі, $p \leq 0,01$ және Bray-Curtis индексі, $p \leq 0,04$. Бұл ретте метотрексат алған топтың ішек микробиомасының құрамын сау бақылау микробиомасымен теңестіруге болады, Bray-Curtis индексі $p \leq 0,01$.

7. Болжамдық модельді есептеу кезінде ұсақ және ірі буындардың деформацияларының даму ықтималдығына дебюттің жасы мен буын синдромының симметриялылығы әсер ететіні анықталды (тесттің сезімталдығы 71,7%, ерекшелігі 70%, диагностикалық дәлдігі 70,8%), ал рентгенологиялық сатының қалыптасуына СРБ деңгейі және аурудың ұзақтығы әсер етеді (I рентгенологиялық сатыны болжау кезінде модельдің сезімталдығы - 71,6%, II сатыны – 29,4%, III сатыны – 37,5% және IV сатыны - 63,6%).

Практикалық ұсыныстар

1. Генетикалық және микробиомалық маркерлер туралы деректер Халықаралық ғылыми-техникалық ақпарат базасында тіркеледі және осылайша РА-ға бейімділік және РА микробиома жайында, атап айтқанда Орталық Азиядағы туралы әлемдік деректерді толықтырады.

2. РА-мен ауыратын науқастарға Е дәрумені, ниацин, полиқаньқпаған май қышқылдары, сүт өнімдері жеткілікті деңгейде тамақтану ұсынылады.

3. Азиялық популяциядағы пациенттерде HLA-DRB9 rs9268839 полиморфизмінің болуы триггерлер болған кезде ревматоидты артриттің дамуын болжауда қолданылуы мүмкін.

4. РА дебютінің жасын және буын синдромының симметриясын ұсынылған шағын және ірі буындардың деформацияларының даму ықтималдығын есептеуді пайдаланған кезде, ал рентгенологиялық сатының қалыптасуында - СРБ деңгейі мен аурудың ұзақтығын ескеру қажет, бұл еңбекке қабілетті жаста мүгедектіктің алдын алуға мүмкіндік береді.

5. Зерттеу нәтижелері бойынша метотрексатпен негізгі терапия РА кезінде микробиомаға қатысты өзінің тиімділігін растады.

6. Емдік тиімділігін арттыру үшін РА бар пациенттерге құрамында бифидобактериялар бар препараттармен пробиотикалық терапия курстарын тағайындау қажет.

Жұмыстың апробациясы.

Диссертациялық жұмыс гастроэнтерология, эндокринология және пульмонология курстарымен ішкі аурулар кафедрасының отырысында (2022 жылғы 20 сәуірдегі № 9 хаттама) және кеңейтілген отырыста (2022 жылғы 30 мамырдағы №10А хаттама) апробациядан өтті.

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен диссертацияның ережелері баяндамаларда баяндалды:

- «23rd Asia-Pacific League of Associations for Rheumatology Congress» (APLAR-2021) халықаралық конгресте, (Киото, Япония, 28-31 тамыз, 2021ж.).

- «Current Problems of Biological Safety in the Modern Condition» халықаралық конференциясында (Астана қ. (Нұр-Сұлтан), 22-23 қыркүйек, 2021ж.)

- «Recent Scientific Investigation» XXIX халықаралық мультидисциплинарлы конференциясында (Shawnee, АҚШ, 2022 ж.)

Жарияланымдар.

Диссертация материалдары бойынша 12 баспа жұмысы жарияланды: оның ішінде ККСОН жариялау кезінде ұсынған отандық басылымдарда 2 мақала, Scopus базасындағы CiteScore бойынша 52 процентиль (Q2) бар басылымда 1 мақала және Scopus базасындағы CiteScore бойынша 48 процентиль (Q3) бар басылымда 2 мақала, халықаралық конференцияларында 3 тезис, оның ішінде Scopus базасындағы CiteScore бойынша 49 процентиль (Q3) импакт факторы бар APLAR (23rd Asia-Pacific League Associations for Rheumatology Congress) халықаралық конференция жинағында 1 тезис. 4 авторлық куәлік алынды (2021 жылғы 22 қаңтардағы №14601, №14602б №14603, №14604). Scopus базасында CiteScore бойынша 97 процентиль (Q1) бар баспада микробиоманы зерттеу нәтижелері бойынша жарияланым басып шығаруда.

Жұмыс нәтижелері тар мамандар бөлімшесінде, Астана (Нұр-Сұлтан) қаласының ШЖҚ МКК №12 қалалық емханасында апробацияланды және еңгізілді.

Диссертанттың жеке үлесі

Жұмыс Қазақстан Республикасы Үкіметінің Жоғары ғылыми-техникалық комиссиясы бекіткен "Өмір және денсаулық туралы ғылым" саласындағы ғылымды дамыту бағытына сәйкес орындалды. Диссертант өз бетінше зерттеуге қатысушыларды қабылдады, материал жинады, ревматоидты артриті бар науқастарды клиникалық тексеруден өткізді, зерттеудің барлық қатысушыларына сауалнама жүргізді, сілекей, қан және нәжіс үлгілерінен ДНҚ-ны оқшаулады, ДНҚ кітапханаларын 16srnқ секвенирлеуге дайындау, нақты уақыт режимінде ПЦР өткізді. Диссертант зерттеу нәтижелерін өз бетінше талдап, жинақтады, деректерге статистикалық өңдеу жүргізді, ғылыми жетекші мен кеңесшілердің жетекшілігімен мақалалар жазды, мақалаларды ағылшын тіліне аударды.

Диссертациясының құрылымы мен көлемі.

Диссертациялық жұмыс кіріспеден, 3 тараудан, жалпы қорытындыдан, пайдаланылған әдебиеттер тізімінен, қосымшадан тұрады. Жұмыс баспа мәтінінің 172 бетінде баяндалған, 53 кесте, 66 суреті бар. Пайдаланылған әдебиеттер тізімінде 306 атау бар.