НАО «Национальный медицинский университет имени Төрегелді Шарманова»

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы

на соискание академической степени доктора PhD
по образовательной программе: 8D10102 – «Медицина»

Тема**: «Оценка особенностей клинико-иммунологического статуса и микробиома полости рта у больных анкилозирующим спондилитом»**

УДК 579.61+578.7:616.721-002.77

МПК A61K 39/395; A61P19/02

Научный консультант: PhD, ассоц.профессор
кафедры внутренних болезней№2
Мейрамова Ә.М.

Научный консультант: PhD, Associate Professor
at Nazarbayev University
School of Medicine Kunz J.

Зарубежный консультант: PhD, Maccabi Healthcare Services,
Ashkelon, Israel Zueva E.E.

Исполнитель: Абуова А.С.

Астана, 2026 г

Утверждено на заседании кафедры внутренних болезней №2

Протокол № 12А от «23» июня 2025 года

Зав. кафедрой _____ д.м.н., профессор Айнабекова Б.А.

Актуальность

Анкилозирующий спондилит (АС) – хроническое, прогрессирующее воспалительное ревматическое заболевание, преимущественно поражающее осевой скелет с частым вовлечением в патологический процесс энтезисов и периферических суставов, а также других органов и систем.

Выявлено, что в мире частота анкилозирующего спондилита составляет 0.1–0.5% [Ward M.M. et al., 2019]. АС преимущественно выявляется у лиц мужского пола и поражает осевой скелет и илеосакральные сочленения [Garcia-Montoya L. et al., 2022]. Заболевание чаще всего дебютирует до 45 лет, когда пациенты находятся в наиболее трудоспособном возрасте, приводя к инвалидизации и значительному снижению качества жизни [Hwang M.C. et al., 2021].

Этиология и патогенез анкилозирующего спондилита на современном этапе являются достаточно изученными. К основным факторам риска возникновения АС относят генетическую предрасположенность, инфекционные агенты и травматические воздействия [Voruganti A. et al., 2020]. В настоящее время в дополнение к этим трем факторам в этиологии АС также стали рассматривать состояние микробиома кишечника, связь которого с аутоиммунной патологии является объектом пристального внимания исследователей в данное время [Wang Y. et al., 2022].

Немаловажное место в иммунопатогенезе АС занимает дисбаланс врождённого и адаптивного иммунного ответа с активацией оси IL-23/IL-17, повышенной продукцией TNF-α, IL-6, IL-17 и IL-22, что поддерживает хроническое воспаление в энтезисах и способствует патологической остеопролиферации. Накапливаются данные о том, что эти цитокиновые сдвиги тесно сопряжены с микробными сигналами слизистых барьеров [Chen T. et al., 2024] .

Согласном данным Tavasolian F. et al в патогенезе АС большую роль играет связь между микробиомом и иммунными клетками, что может быть использовано в качестве нового подхода к диагностике и терапии заболевания.

По данным систематического обзора 29 исследований по изменению микробиома кишечника у пациентов с АС, выполненным Wang L. et al в 2022 году у пациентов с анкилозирующим спондилитом выявлено достоверные различия состава микробиома кишечника по сравнению со здоровыми лицами. Эти данные также подтверждаются результатами мета-анализа 92 исследований микробиома кишечника пациентов при ревматических заболеваниях, в котором наибольшее различие в состоянии микробиома кишечника отмечено именно у больных с диагнозом анкилозирующий спондилит, в частности согласно показателям β-разнообразия [Wang Y. et al., 2022].

Кишечник, однако, не единственный слизистый барьер, вовлечённый в иммунопатогенез АС. Ротовая полость представляет собой ещё один важный резервуар микробиоты, способный влиять на системное воспаление и цитокиновый ответ. На сегодняшний день изучение микробиома ротовой

полости выявили значимые биомаркеры разивтия таких заболеваний как ревматоидный артрит, сердечно-сосудистые заболевания, болезнь Альцгеймера, колоректальный рак и др [Rajasekaran J. et al., 2024]. В то время известны только 4 публикации по исследованию микробиома ротовой полости у пациентов с АС: Bisanz J. et al (Австралия, 17 больных), Lv L. et al (Китай, 37 больных), Gill T. et al (США, 14 больных), Stoll M. et al (США, 5 пациентов). Но нами не обнаружено подобных исследований на территории Центрально-азиатского региона, что свидетельствует об актуальности данной темы.

Таким образом исследования в данном направлении имеет несомненный научный и практический интерес, так как позволят получить объективную информацию о характере иммунопатологических нарушений при АС и могут стать важным инструментом для ранней диагностики, оценки активности, тяжести течения, прогноза болезни и эффективности проводимой терапии.

Цель исследования: оценить влияние состояния микробиома ротовой полости на клиническое течение и иммунологический профиль пациентов с анкилозирующим спондилитом.

Задачи исследования:

1. Проанализировать особенности клинического течения анкилозирующего спондилита в зависимости от HLA B27 статуса и пола пациентов.
2. Оценить состояние иммунологического профиля и взаимосвязь иммунологических медиаторов с клинико-анамнестическими показателями у больных исследуемой группы.
3. Изучить состояние микробиома полости рта у больных с анкилозирующим спондилитом.
4. Изучить связь иммунологического профиля пациентов с АС с клинико-лабораторными показателями и составом микробиома ротовой полости
5. Проанализировать клинические, иммунологические и микробиомные особенности у исследуемых пациентов в зависимости от проводимой терапии.
6. Разработать прогностические модели возможных осложнений анкилозирующего спондилита у исследуемых пациентов

Материалы исследования:

В исследование были включены 140 человек: 70 пациентов с верифицированным диагнозом анкилозирующий спондилит и контрольная группа здоровых лиц в количестве 70 человек.

Дизайн исследования: Обсервационное аналитическое одномоментное поперечное исследование.

Методы исследования:

1. Общеклинические методы: сбор жалоб, анамнеза заболевания и жизни, объективное обследование по органам и системам.

2. Проводилась оценка функциональных нарушений позвоночника и суставов с помощью индексов BASFI (the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index), BASMI (Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index).
3. Оценка степени активности заболевания с помощью калькулятора BASDAI, (Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index), ASDAS (Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score)
4. Оценка качества жизни с помощью опросников SF-36 (Short Form-36 Health Survey) и ASAS HI (ASAS Health Index).
5. Общеклинические лабораторные методы исследования: общий анализ крови, биохимический анализ крови (АЛТ, АСТ, креатинин, общий белок, СРБ).
6. Иммунологическое исследование: определение цитокинов и хемокинов sCD40L, EGF, Eotoxin, FGF2, FLT3L, Fractalkine, G-CSF, GM-CSF, GROa, IFNa2, IFNy, IL1a, IL1b, IL1RA, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL12(p40), IL12(p70), IL13, IL15, IL17A. IL17/IL25, IL17F, IL18, IL22, IL27, IP10, MCP1, MCP3, M-CSF, MDC, MIG, MIP1a, MIP1b, PDGF-AA, PDGF-AB/BB, TGFa, TNFa, TNFb, VEGF-A.
7. Молекулярно-генетическое исследование: определение HLA B27.
8. Микробиологическое исследование микробиома полости рта методом методом 16s секвенирования.
9. Статистический метод обработки полученных данных.

Критерии включения для основной группы исследования:
- возраст 18-62 года
- установленный диагноз АС согласно критериям модифицированным Нью-Йоркским критериям и критериям ASAS
- наличие информированного согласия

Критерии исключения:
-возраст младше 18 и старше 62
-недостаточное количество критериев для постановки диагноза АС
-тяжелые сопутствующие соматические заболевания и /или психические заболевания
- беременность или лактация
- прием антибиотиков, пробиотиков за последние 6 месяцев до забора материала исследования
- воспалительные заболевания ротовой полости

Научная новизна

Впервые изучено состояние микробиома полости рта пациентов с анкилозирующим спондилитом в Центрально-азиатском регионе.

Впервые в мире изучены особенности микробиома ротовой полости у пациентов с АС в зависимости от пола, HLA B27 статуса и клинического течения заболевания.

Впервые в мире проведено исследование взаимосвязи

иммунологического профиля и микробиома ротовой полости у исследуемых больных с анкилозирующим спондилитом.

Практическая значимость полученных результатов.

Полученные данные дополнили знания о фенотипических особенностях анкилозирующего спондилита и роли иммунологических маркеров в этиопатогенезе АС (авторское свидетельство №43489 от 05.03.24г). Результаты исследования выявили новые микробиомные маркеры анкилозирующего спондилита и связанные с ними метаболические пути, были зарегистрированы в международной базе данных NCBI Sequence Read Archive (SRA) под номером доступа BioProject PRJNA1358013. Полученные результаты по прогнозированию течения АС с учетом микробиомных и иммунологических маркеров позволили рассчитать вероятности исхода у исследуемых больных (авторское свидетельство №43485 от 05.03.24г).

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. У пациентов с анкилозирующим спондилитом с положительным HLA B27 статусом и у пациентов мужского пола вне зависимости от статуса HLA B27 клиническое течение заболевания характеризовалось ранним дебютом, проявлениями сакроилеита 4 стадии и НФС 3 стадии. При исследовании иммунного статуса пациентов с анкилозирующим спондилитом с HLA-B27-положительным статусом отмечается достоверное увеличение уровня цитокина IL-17A, в HLA-B27-негативной группе - фактора GM-CSF, у мужчин (вне зависимости от статуса HLA B27) - достоверное увеличение факторов EGF и M-CSF.
2. Межвыборочное разнообразие микробиома полости рта у больных с анкилозирующим спондилитом достоверно отличается по индексу unweighted UniFrac и характеризуется повышением количества Actinobacteria больше чем в 2 раза на всех таксономических уровнях вплоть до видового. Микробиом HLA-B27 положительных пациентов, как мужского так и женского пола, также характеризуется достоверным обогащением бактерий рода Stomatobaculum и Neisseria oralis, у больных мужского пола отмечается статистически значимое увеличение обилия бактерии порядков Propionibacteriales и Absconditabacteriales (SR1), а у больных женского пола - бактерий родов Rothia и Actinobacillus (LEfSe, LDA > 2,0, $p < 0,05$).
3. У пациентов с анкилозирующим спондилитом, принимающих синтетические базисные противовоспалительные препараты, отмечается значимое увеличение относительной численности бактерий вида Oribacterium sinus и Kingella sp. и повышение провоспалительных маркеров G-CSF и IL-17F. У пациентов, получающих генно-инженерную биологическую терапию наблюдается достоверное увеличение бактерий порядка Coriobacteriales и повышение цитокина IL-5.

ВЫВОДЫ:

1. У пациентов с анкилозирующим спондилитом с положительным HLA B27 и пациентов мужского пола (вне зависимости от статуса HLA B27) клиническое течение характеризовалось ранним дебютом, проявлениями сакроилеита 4 стадии и НФС 3 стадии.
2. У исследуемых пациентов были достоверно выше следующие провоспалительные иммуномедиаторы: уровень IL-17A был в 2,46 раза выше по сравнению с пациентами с отрицательным HLA-B27-статусом (2,95 против 1,2 соответственно; U = 144; Z = −2,004; p = 0,045), в HLA-B27-негативной группе - фактор GM-CSF был в 9,31 раза выше по сравнению с HLA-B27-положительной группой (24,2 против 2,6 соответственно; U = 180; Z = −2,236; p = 0,025, У мужчин независимо от HLA-B27-статуса уровень EGF был в 3,76 раза выше по сравнению с группой сравнения (109 [Q1–Q3: 38–148] против 29 [Q1–Q3: 6,5–55]), а уровень M-CSF — в 2,77 раза выше (61 [Q1–Q3: 26–98] против 22 [Q1–Q3: 9–49]).
3. При исследовании корреляционных взаимосвязей: хемокин MIG имел положительную корреляцию слабой силы с возрастом дебюта у HLA-B27-положительных пациентов (r = 0,381, p = 0,010) и отрицательную корреляционную связь высокой силы у HLA-B27-отрицательных (r = -0,781, p = 0,013). У больных женского пола были выявлены положительные корреляции высокой силы провоспалительных хемокинов MIP1a и цитокинов IFNy, IP10 с длительностью заболевания (r = 0,605, p = 0,037, r = 0,599, p = 0,040 и r = 0,577, p = 0,049 соответственно).
4. При сравнении микробиома ротовой полости по β-разнообразию выявлено достоверное различие с контрольной группой по индексу unweighted UniFrac (PERMANOVA: F = 7,61, p = 0,001; ANOSIM R = 0,24, p = 0,001). У пациентов с анкилозирующим спондилитом Actinobacteria была достоверно выше на всех таксономических уровнях вплоть до вида (медианная доля в основной группе была больше 2 раза чем в контрольной 9,46 % (Q1-Q3: 5,37–14,27) и 4,67 % (Q1-Q3: 2,92–9,68) с положительной корреляционной взаимосвязью очень высокой силы с метаболизмом инозитолфосфатов (ko00562).
5. Особенности микробиомного разнообразия у HLA-B27 положительных пациентов показало достоверное увеличение числа бактерий рода Stomatobaculum (5,00 % (Q1–Q3: 1,00–12,00) против 1,00 % (Q1–Q3: 0,00–2,00) у HLA-B27-отрицательных), в том числе вида Stomatobaculum longum (2,00 % (Q1–Q3: 0,00–6,00) против 0,00 % (Q1–Q3: 0,00–0,00)), а также Neisseria oralis (22,00 % (Q1–Q3: 4,00–44,00) против 2,00 % (Q1–Q3: 0,00–18,00)) (LDA > 2, p < 0,05). У мужчин наблюдалась достоверно больше численность бактерии порядков Propionibacteriales и (4,00 % (Q1–Q3: 2,00–8,00) против 2,00 % (Q1–Q3: 1,00–4,00) у женщин) и Absconditabacteriales (SR1) (1,00 % (Q1–Q3: 0,00–5,00) против 0,00 % (Q1–Q3: 0,00–1,00)), семейств Propionibacteriaceae (4,00 % (Q1–Q3: 2,00–8,00) против 2,00 % (Q1–Q3: 1,00–4,00)) и Porphyromonadaceae (53,00 % (Q1–Q3: 26,00–160,00)

против 27,00 % (Q1–Q3: 10,00–75,00)), а также рода Porphyromonas (53,00 % (Q1–Q3: 26,00–160,00) против 27,00 % (Q1–Q3: 10,00–75,00)). У женщин была выше относительная численность родов Rothia (212,00 % (Q1–Q3: 66,00–464,00) против 106,00 % (Q1–Q3: 49,00–224,00)) и Actinobacillus (10,00 % (Q1–Q3: 1,00–90,00) против 0,00 % (Q1–Q3: 0,00–1,00)).

6. Увеличение обилия Porphyromonadaceae и Saccharimonadaceae сопряжено с повышением концентрации ключевых провоспалительных медиаторов. Увеличение обилия семейства Porphyromonadaceae было сопряжено с повышением концентрации IL-9 ($r = 0,363$; $p = 0,006$), MIP-1α ($r = 0,345$; $p = 0,009$), IL-8 ($r = 0,325$; $p = 0,013$), MIP-1β ($r = 0,290$; $p = 0,029$), EGF ($r = 0,288$; $p = 0,030$), IL-15 ($r = 0,288$; $p = 0,030$), IFN-γ ($r = 0,267$; $p = 0,044$) и IL-17F ($r = 0,266$; $p = 0,045$). Увеличение обилия семейства Saccharimonadaceae коррелировало с повышением IL-9 ($r = 0,394$; $p = 0,002$), IP-10 ($r = 0,321$; $p = 0,015$), IL-8 ($r = 0,277$; $p = 0,037$), IL-6 ($r = 0,272$; $p = 0,041$) и GRO-α ($r = 0,265$; $p = 0,047$).
7. Сравнительный анализ в зависимости от вида получаемой терапии показал, что у пациентов с АС на базисной терапии уровни провоспалительных маркеров G-CSF и IL-17F были выше чем у пациентов, получающих ГИБТ (45 (Q1–Q3: 30–58) против 35 (Q1–Q3: 22–53) и 10,5 (Q1–Q3: 8,8–15,7) против 9,4 (Q1–Q3: 8,4–10,4) соответственно), а у пациентов получающих генно-инженерную биологическую терапию - высокий уровень IL-52,4 (4,37 (Q1–Q3: 1,9–12,0) против 2,4 (Q1–Q3: 0,9–3,0) против).
8. Микробиомный анализ показал, что в группе АС на базисной терапии были выше относительная численность видов Oribacterium sinus (1,8 % (Q1–Q3: 0,4–4,2) против 0,3 % (Q1–Q3: 0,0–0,9) у пациентов на ГИБТ) и Kingella sp. (0,9 % (Q1–Q3: 0,2–2,1) против 0,1 % (Q1–Q3: 0,0–0,4)). У пациентов, получающих генно-инженерную биологическую терапию было достоверно больше бактерий порядка Coriobacteriales (2,4 % (Q1–Q3: 0,8–5,6) против 0,6 % (Q1–Q3: 0,1–1,5) на базисной терапии) ($LDA > 2$, $p \leq 0,05$).
9. Проведенные методы анализа прогнозирования осложнений у пациентов с анкилозирующим спондилитом позволили построить модели вероятности развития сакроилеита и анкилоза поясничного отдела позвоночника с учетом таких факторов как определенные микробные таксоны, цитокины, длительность заболевания, профессиональная вредность и курение.

Апробация работы. Диссертационная работа апробирована на заседании кафедры внутренних болезней №2 НАО «Медицинский университет Астана», протокол №12А от 23 июня 2025 года.

Результаты работы представлены:

1) Национальный форум лабораторной медицины и научно-практическая конференция с международным участием «Современные тренды в лабораторной медицине для клинической практики», Астана, 21-22 сентября 2023г.

Публикации по теме диссертации. Основные результаты исследования опубликованы в восьми изданиях, в том числе в 3 изданиях, рекомендованных Комитет по обеспечению качества в сфере образования и науки РК, 3 (три) в международных научных изданиях, входящих в международную рецензируемую базу данных с квартилем Q1 (93 процентилем), Q3 (41 процентилем, Q3 (37 процентилем), 1 тезис в материалах конференций. Получены 2 авторских свидетельства.

Внедрение результатов исследования в практику здравоохранения. Результаты данного исследования апробированы и внедрены в лечебно-диагностическом центре ГКП на ПХВ ГМБ №2, г.Астана.

Объем и структура работы.

Диссертация состоит из 150 страниц, из введения; обзора литературы; разделы по материалам и методам; основной части, содержащей три раздела из результатов собственных исследований; заключения; выводов; списка использованной литературы, включающей 150 источников:143 источника на английском и 7 источников на русском языке. Текст диссертации иллюстрирован 15 таблицами и 57 рисунками.