



RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Jūlija Zepa

ORCID 0000-0003-3848-797X

Kandidātģēnu polimorfismu saistība ar ankilozējošo spondilītu un tā klīnisko gaitu

Promocijas darba kopsavilkums zinātniskā doktora grāda
“zinātnes doktors (*Ph.D.*)” iegūšanai

Nozare – klīniskā medicīna

Apakšnozare – reimatoloģija

Rīga, 2020

Promocijas darbs izstrādāts Rīgas Stradiņa universitātē, VSIA Paula Stradiņa KUS, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā.

Promocijas darba vadītāji:

Dr. habil. med. profesore **Daina Andersone**,
Latvijas Universitāte, Medicīnas fakultāte

Dr. med. profesors **Aivars Lejnieks**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Zinātniskā konsultante:

Dr. med. **Liene Ņikitina-Zaķe**,
Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. med. profesore **Valda Staņēviča**,
Rīgas Stradiņa universitāte, MF Pediatrijas katedra, Latvija

Dr. habil. med. profesore **Ingrīda Rumba-Rozenfelde**,
Latvijas Universitāte, Medicīnas fakultāte

Dr. med. profesore **Irena Butrimiene**,
Viļņas Universitāte, Medicīnas fakultāte, Lietuva

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2020. gada 4. septembrī plkst. 15.00
Rīgas Stradiņa universitātes Klīniskās medicīnas promocijas padomes atklātā
sēdē Rīgā, Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU tīmekļa vietnē:
<https://www.rsu.lv/promocijas-darbi>

Promocijas padomes sekretāre:
Dr. med. docente **Viktorija Ķēniņa**

Satura rādītājs

Ievads.....	7
1. Materiāls un metodes	13
1.1. Iekļautās personas, iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji.....	13
1.1.1. Ankilozējošā spondilīta pacientu un kontroles grupas demogrāfiskais raksturojums.....	14
1.1.2. Pētījumā izmantotais bioloģiskais materiāls	14
1.2. Lietotās klīniskās, laboratoriskās un radioloģiskās izmeklēšanas metodes	15
1.3. Darbā izvēlētie ankilozējošā spondilīta biomarkēri.....	17
1.4. Ģenētiskā polimorfisma noteikšana	18
1.5. Datu statistiskā analīze	19
2. Rezultāti	21
2.1. Ankilozējošā spondilīta pacientu raksturojums	21
2.2. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismi	24
2.3. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība ar slimību	24
2.4. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība ar slimības ārpusmugurkaula izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu	28
2.5. Multilokusu haplotipu saistība ar ankilozējošo spondilītu un tā ārpusmugurkaula izpausmēm	34
2.5.1. Haplotipi viena gēna ietvaros.....	35
2.5.2. Haplotipi starp TNF saimes signālu ceļa proteīnu gēniem.....	36
2.5.3. Haplotipi starp gēniem, kas kodē proteīnus TNF α , T limfocītu un dendrītisko šūnu mijiedarbības signālu ceļā.....	37
2.5.4. Haplotipi starp saistītajiem SNPs	40
2.6. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība ar slimības biomarkēriem	43
2.6.1. Pirmo simptomu parādīšanās vecums	43
2.6.2. Mugurkaula strukturālā bojājuma (mSASSS) novērtējums	44
2.6.3. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība un iespējamā ietekme uz TNF α inhibitoru terapijas efektivitāti.....	46
3. Diskusija	50
Secinājumi	66
Rekomendācijas.....	69
Literatūras saraksts	71
Publikācijas un ziņojumi par pētījuma tēmu.....	78
Pateicības.....	80

Darbā lietoto saīsinājumu skaidrojums

A	adenīns
AS	ankilozējošais spondilīts
ASAS	Spondiloartrītu novērtējuma starptautiskā biedrība (angļu val. – <i>Assessment of SpondyloArthritis international Society</i>)
ASDAS	ankilozējošā spondilīta slimības aktivitātes skala (angļu val. – <i>Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score</i>)
BASDAI	Bātas ankilozējošā spondilīta slimības aktivitātes indekss (angļu val. – <i>Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index</i>)
BASFI	Bātas ankilozējošā spondilīta funkcionālais indekss (angļu val. – <i>Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index</i>)
BASMI	Bātas ankilozējošā spondilīta metroloģiskais indekss (angļu val. – <i>Bath Ankylosing Spondylitis Metrological Index</i>)
bSMARM	bioloģiskais slimību modificējošais antireimatisks medikaments
C	citozīns
CD40	diferenciācijas klasteris 40 (angļu val. – <i>cluster of differentiation 40</i>)
CI	ticamības intervāls (angļu val. – <i>confidence interval</i>)
CRP	C reaktīvais proteīns
dbSNP	viena nukleotīda polimorfisma datu bāze (angļu val. – <i>data base of single nucleotide polymorphism</i>)
DNS	dezoksiribonukleīnskābe
ERAP1	endoplazmatiskā tīkla aminopeptidāze 1 (angļu val. – <i>endoplasmic reticulum aminopeptidase 1</i>)
EULAR	Eiropas līga pret reimatismu (angļu val. – <i>European League against Rheumatism</i>)
G	guanīns
GWAS	genoma mēroga asociācijas pētījums (angļu val. – <i>genome wide association study</i>)

HLA	cilvēka leukocītu antigēns (angļu val. – <i>human leukocyte antigen</i>)
IFN	interferons
IL	interleikīns
IL23R	interleikīna 23 receptors
IRF5	interferonu regulējošais faktors 5 (angļu val. – <i>interferon regulatory factor 5</i>)
IZS	iekaisīga zarnu slimība
K α	Kronbaha alfa (angļu val. – <i>Cronbach's alpha</i>)
KUS	klīniskā universitātēs slimnīca
MAF	retās alēles biežums (angļu val. – <i>minor allele frequency</i>)
MHC	galvenais audu saderības komplekss (angļu val. – <i>major histocompatibility complex</i>)
mSASSS	modificēta Stokas ankilozējošā spondilīta spinālā skala (angļu val. – <i>modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score</i>)
NCBI dbSNP	Biotehnoloģiju nacionālā centra viena nukleotīda polimorfisma datubāze (angļu val. – <i>National Center for Biotechnology Single Nucleotide Polymorphism database</i>)
NSPIL	nesteroīdais pretiekaisuma līdzeklis
OR	izredžu attiecība (angļu val. – <i>odds ratio</i>)
OR _A	izredžu attiecība adaptīvajā modelī (angļu val. – <i>adaptive model</i>)
OR _M	izredžu attiecība multiplikatīvajā modelī (angļu val. – <i>multiplicative model</i>)
p	statistiskā ticamība jeb nozīmīgums
PCR	polimerāzes ķēdes reakcija (angļu val. – <i>polymerase chain reaction</i>)
PTPN22	olbaltuma tirozīnfosfatāzes ne-receptora tips 22 (limfocīds) (angļu val. – <i>protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22 (lymphoid)</i>)
RA	reimatoīdais artrīts

RTG	rentgenogramma
SMARM	slimību modificējošais antireimatisks medikaments
SNP	viena nukleotīda polimorfisms (angļu val. – <i>single nucleotide polymorphism</i>)
SpA	spondiloartrīts
SSV	sistēmas sarkanā vilkēde
T	timīns
TGF β	transformējošais augšanas faktors β (angļu val. – <i>transforming growth factor β</i>)
TNF	audzēja nekrozes faktors (angļu val. – <i>tumor necrosis factor</i>)
TNFA	audzēja nekrozes faktors A (angļu val. – <i>tumor necrosis factor A</i>)
UTR	netranslējamais rajons (angļu val. – <i>untranslated region</i>)

Ievads¹

Zinātniskā darba aktualitāte

Ankilozējošais spondilīts (AS) ir sistēmiskā, hroniskā, ar imūnsistēmu saistītā iekaisuma artrīta – spondiloartrīta (SpA) forma, kas galvenokārt skar sakroileālās locītavas, aksiālo skeletu ar vai bez ārpusmugurkaula izpausmēm (kā, piemēram, perifērs artrīts, uveīts, daktilīts utt.), radot iekaisumu un entēžu, locītavu, kaulu un iesaistīto iekšējo orgānu strukturālo bojājumu (*de Winter et al.*, 2016). Klīniski visnozīmīgākais simptoms ir iekaisuma muguras sāpes, kas izpaužas galvenokārt naktī un agri no rīta, kam seko ikdienas aktivitāšu veikšanu traucējošs rīta stīvums. Iekaisuma sekas ir strukturāls bojājums: agresīva un ilgstoša slimība rada sakroileālo locītavu ankilozi un “bambusam” līdzīgas izmaiņas mugurkaulā (kaulu tiltiņu veidošanās sindesmofītu savienošanās un saišu pārkaulošanās rezultātā), kas izraisa ievērojamu mugurkaula kustīguma samazināšanos un tam sekojošu invalidizāciju.

AS pirmo klīnisko simptomu izpausmi parasti novēro 20 līdz 30 gadu vecumā (*Rudwaleit, Haibel et al.*, 2009). Pamatojoties uz Eiropas reģiona epidemioloģisko pētījumu datiem, AS prevalence ir no 0,2 % līdz 1,2 % (*Sieper et al.*, 2006). Precīzu datu par AS pacientu skaitu Latvijā nav.

Aptuveni 30 % AS pacientu var attīstīties uveīts, 3–10 % iekaisīga zarnu slimība (IZS), 10 % pacientu – psoriāze (*de Winter et al.*, 2016). Daļai AS pacientu var būt skarta sirds-asinsvadu sistēma, plaušas un nieres (*Elewaut, Matucci-Cerinic*, 2009). Vairāku epidemioloģisko pētījumu dati apliecina, ka augstāka ārpuslocītavu izpausmju incidence ir nekontrolētā sistēmiskā iekaisuma sekas (*el Maghraoui*, 2011).

¹ Tekstā gēna nosaukums ir slīprakstā (piemēram, *HLA-B*27*), gēna kodētā proteīna nosaukums – parastā rakstā (piemēram, *HLA-B27*).

AS negatīvi ietekmē dzīves kvalitāti, kas ir saistīta ar slimības aktivitāti un tās izraisītiem ikdienas aktivitāšu veikšanas funkcionāliem traucējumiem (López-Medina et al., 2017). Būtiski, ka šobrīd vēl joprojām AS diagnoze tiek noteikta ar 8–10 gadu aizkavēšanos, kas liecina par jaunu diagnostisko testu nepieciešamību (Costantino et al., 2018).

Ņemot vērā slimības epidemioloģiskos datus, ir būtisks jautājums par ekonomiskiem aspektiem – ar slimību saistītām tiešajām un netiešajām izmaksām (Malinowski, Kawalec, 2015). Šajā gadījumā savlaicīga diagnostika un mērķtiecīga efektīva terapija ievērojami samazinātu netiešās izmaksas, kas saistītas ar darbspēju traucējumiem vai zudumu.

Šī gadsimta sākumā AS terapijas iespējas ir progresējušas no simptomu mazināšanas līdz patoģenētiskai terapijai, lietojot slimību modificējošos antireimatiskos medikamentus (SMARM), jo sevišķi audzēja nekrozes faktora alfa (*tumor necrosis factor alpha*; TNF α) inhibitorus. Agrīna un efektīva AS terapija, mazinot slimības aktivitāti (iekaisumu), novērš locītavu, kaulu strukturālā bojājuma progresiju (Baraliakos et al., 2014; Molnar et al., 2018). Tomēr terapijas rezultātā remisija attīstās ne visiem pacientiem. Piemēram, līdz pat 40 % pacientu, kuri lieto TNF α inhibitorus, nav efektīva terapija vai ir terapijas nepanesība, kā arī ar laiku daļai pacientu var attīstīties terapijas efektivitātes mazināšanās (Braun et al., 2017). Kā zināms, daļa medikamentu (vairāk nekā ceturtdaļa), kas tiek iekļauti klīniskajos pētījumos, netiek reģistrēti efektivitātes trūkuma dēļ (Nelson et al., 2015). Ģenētisko pētījumu atbalstītā zāļu izstrāde palīdz novērst ārstēšanas neefektivitātes risku. Nākamais AS ārstēšanas līmenis ir izārstēšana un, kas ir vēl svarīgāk, slimības attīstības novēršana. Viens no veidiem, kā sasniegt šos slimības pārvaldīšanas mērķus, ir slimības ģenētiskās bāzes izziņāšana un izpratne.

AS slimības gaita var būt dažāda – tikai aksiālā forma, aksiālā un perifērā forma, aksiālā forma ar ārpusmugurkaula izpausmēm un strauju progresiju u. tml. Klīniskajā praksē šobrīd nav viennozīmīgu marķieru, kas var paredzēt

slimības izpausmes attīstību konkrētam indivīdam ar AS. Arī šī jautājuma izzināšanā ir būtiska AS ģenētiskā bāze, kas veidota, analizējot AS un tā klīnisko izpausmju patoģenēzē iesaistītos kandidātģēnus un to kodētos proteīnus.

Genoma mēroga asociācijas pētījumi (*genome wide association study*; GWAS) liecina par pleiotropijas plašumu starp dažādām slimībām – kur viens variants var ietekmēt vairāku slimību attīstības risku; reizēm šis efekts var būt pretējs, t. i., veicinot vienas slimības attīstību, bet tajā pašā laikā pasargājot no citas slimības izpausmes riska (Brown, Wordsworth, 2018). Zināšanas par slimības ģenētisko bāzi ir būtisks drošuma aspekts mērķtiecīgai zāļu izstrādei.

Ģēnu polimorfisms atšķiras starp dažādām populācijām un reģioniem, un vienas populācijas ģenētiskā karte dažādos reģionos nav pilnīgi identiska, tādējādi daļēji izskaidrojot AS prevalences atšķirības starp ģeogrāfiskiem reģioniem un variācijas starp valstīm (Brown, Wordsworth, 2018). Tas pamato veikto pētījumu rezultātu iespējamās atšķirības un liecina par nepieciešamību veikt ģeogrāfiski mērķtiecīgus pētījumus, īpaši analizējot mazas populācijas.

Saskaņā ar SpA mūsdienu klasifikāciju AS ietilpst aksiālā SpA grupā. Aksiālā SpA grupa ietver neradiogrāfisko aksiālo SpA un radiogrāfisko aksiālo SpA – atšķirība starp šīm grupām pamatojas uz strukturālā bojājuma attiecīgi neesību vai esību sakroileālo locītavu rentgenattēlos (Rudwaleit, van der Heijde *et al.*, 2009). Pētījumu dati par to, vai šie stāvokļi ir vienas slimības divi posmi, vai tās ir dažādas slimības, ir pretrunīgi (Mease *et al.*, 2018; Proft, Poddubnyy, 2018; Robinson *et al.*, 2013). Tādēļ jo sevišķi ir būtiska salīdzinoši homogēnās modificētajiem Ņujorkas kritērijiem (van der Linden *et al.*, 1984) atbilstošās AS pacientu grupas klīniskā un ģenētiskā analīze, kas perspektīvā ļautu identificēt tos pacientus ar iekaisuma muguras sāpēm, kuriem nākotnē neattīstīsies AS. Slimības attīstības riska izpratne ļautu objektīvi novērtēt ieguvuma un riska attiecību, izvēloties nogaidošo taktiku vai terapijas uzsākšanu un tās veidu.

Pamatojoties uz ģimeņu un dvīņu pētījumu datiem, AS ir bieži pārmantojama slimība ar vairāk nekā 90 % risku ģenētiski noteiktai attīstībai

(Brown, 2008). Dati par cilvēka leikocītu antigēnu B27 (*human leukocyte antigen B27*; *HLA-B*27*), vienu no galvenā audu saderības kompleksa (*major histocompatibility complex*; MHC) gēniem, ir būtiski, bet nav pietiekami, lai pilnībā izskaidrotu AS ģenētisko epidemioloģiju (Brown *et al.*, 2000). Tikai nelielai daļai indivīdu ar pozitīvu HLA-B27 vispārējā populācijā attīstās AS, norādot, ka pastāv citi riska faktori, un apstiprinot to, ka AS nav monogēnā slimība. Šobrīd ir identificēti 115 ne-MHC lokusi, saistīti ar 28 % slimības ģenētisko variāciju (Brown, Wordsworth, 2018). Starp šiem pēdējo gadu desmitos identificētajiem ne HLA gēniem ir gēni, kas kodē proteīnus, iesaistītus interferona vai TNF α signālu veidošanā un transkripcijā, IL-23/IL-17 kaskādes norisē vai CD8⁺ limfocītu diferencēšanā, kā arī būtiski antigēna prezentēšanai, ietverot gļotādas imunitātes faktoros, M1-aminopeptidāzes (Brown, Wordsworth, 2018; Ruyssen-Witrand *et al.*, 2019). Minētie faktori ir nozīmīgas AS patoģenēzes sastāvdaļas (Pederson, Maksymowych, 2018). Ņemot vērā, ka AS ir poligēna slimība, tās patoģenēzes katra atsevišķa posma analīze perspektīvā ļaus izveidot pilnīgāku priekšstatu par slimības norises un iespējamās drošas terapijas aspektiem personalizētās medicīnas ietvaros.

AS ģenētisko aspektu izzināšanā ir divi būtiski izaicinājumi: ģenētisko variantu jeb polimorfismu identificēšana, kas nosaka iedzimtības līdž šim neatklāto lielāko daļu, un funkcionālo mehānismu noteikšana, kas pamato šīs ģenētiskās asociācijas (Li, Brown, 2017). Līdz ar to ir aktuāli vairāki virzieni AS ģenētiskajos pētījumos: izzināt, kuri gēni ir saistīti ar slimību; noteikt ar slimību asociēto gēnu polimorfismu saistību ar slimības fenotipisko izpausmju variantiem; analizēt šo gēnu polimorfismu saistību ar vienlaicīgu vairāku citu slimību attīstības risku; analizēt citu slimību asociēto gēnu polimorfismus saistībā ar AS attīstības risku.

Izvērtējot publikācijas par AS patoģenēzes un ģenētiskajiem aspektiem un veidojot pētījumu par AS ģenētisko profilu, ne *HLA* kandidātģēnu izvēli ciešā saistībā ar patoģenēzes norisēm noteicām, pamatojoties uz vairākiem aspektiem:

- zināma saistība ar AS, kas ir pierādīta plašākos pētījumos (*ERAP1*, *IL23R*) (*Li, Brown, 2017; WTCCC et al., 2007*);
- saistība ar AS nav tik viennozīmīgi noteikta dažādās populācijās (piemēram, *TNFA* (*Manolova et al., 2014*), *IL10* (*Xia et al., 2018*), *TGFβ1* (*Jaakkola et al., 2004*));
- gēnu kodētā proteīna iespējama līdzdalība iekaisuma vai osteoproliferācijas norisē AS gadījumā, analizējot tos gēnus, kas līdz šim nav plaši novērtēti saistībā ar AS (piemēram, *CD40* (*Croft, Siegel, 2017*), *TGFβ1* (*Jaakkola et al., 2004*), *PTPN22* (*Sode et al., 2018*));
- gēnu kodētā proteīna iespējamā saistība ar fenotipiskām AS ārpusmugurkaula izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu (piemēram, *IL10* (*Chu et al., 2012*), *IRF5* (*Márquez et al., 2013*));
- gēnu saistība ar citām reimatiskām slimībām, piemēram, reimatoīdo artrītu (RA) (*PTPN22* (*Criswell et al., 2005; Tizaoui et al., 2019*)), *CD40* (*Peters et al., 2009*)), IZS (*IRF5* (*Gathungu et al., 2012*)), sistēmas sklerozi (*TGFβ1* (*Zhang et al., 2013*)), lai veidotu priekšstatu par viena gēna iespējamu nozīmi vairāku slimību attīstībā un prognozētu terapijas drošuma un efektivitātes aspektus.

Nemot vērā AS slimības epidemioloģiskos, klīniskos datus, slimības norises variantus un mūsdienu personalizētās medicīnas pieejas tendences, ir ļoti būtiski savlaicīgi diagnosticēt slimību, kā arī mērķtiecīgi un efektīvi to ārstēt. Ģenētiskie pētījumi ir svarīgi, lai noteiktu slimības attīstības risku, paredzētu tās gaitu un tādējādi novērstu neatgriezeniskā bojājuma iespēju. Lai veicinātu AS pacienta pilnvērtīgas aprūpes pieejas izveidošanu, tika veikts pētījums par AS dažu ģenētisko aspektu noteikšanu un to saistību ar klīniskajām izpausmēm, t. sk. biežākajām ārpusmugurkaula izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu.

Zinātniskā darba hipotēze

Kandidātgēnu polimorfismi ir saistīti ar ankilozējošo spondilītu un tā klīniskajām izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu, audzēja nekrozes faktora α inhibitoru terapijas efektivitāti.

Zinātniskā darba mērķis

Noteikt kandidātgēnu polimorfismu un to dažādu kombināciju haplotipu saistību un šīs saistības nozīmīgumu ar ankilozējošo spondilītu, tā klīnisko gaitu un audzēja nekrozes faktora α inhibitoru terapijas efektivitāti.

Zinātniskā darba uzdevumi

1. Atlasīt ankilozējošā spondilīta pacientus pēc oriģināli izstrādātās anketas un klīniski raksturot ankilozējošā spondilīta pacientu profilu, kā arī slimības klīniskās izpausmes – uveītu un perifēro artrītu.
2. Noteikt kandidātgēnu polimorfismu saistību ar ankilozējošo spondilītu, salīdzinot alēļu un genotipu biežumu pacientu un kontroles grupās.
3. Noteikt kandidātgēnu polimorfismu dažādu kombināciju haplotipu saistību ar ankilozējošo spondilītu, salīdzinot pacientu un kontroles grupas.
4. Noteikt kandidātgēnu polimorfismu alēļu un genotipu saistību ar ankilozējošā spondilīta klīniskajām izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu .
5. Noteikt kandidātgēnu polimorfismu haplotipu saistību ar ankilozējošā spondilīta klīniskajām izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu .
6. Noteikt kandidātgēnu alēļu un/vai genotipu saistību ar darbā izvēlētajiem ankilozējošā spondilīta biomarkieriem (pirmo slimības simptomu parādīšanās vecumu, mugurkaula kakla un jostas daļas rentgenoloģisko izmaiņu novērtējumu, audzēja nekrozes faktora α inhibitoru lietošanas efektivitātes novērtējumu terapijas pirmajā gadā) atbilstoši oriģināli izstrādātās anketas parametriem.

1. Materiāls un metodes

1.1. Iekļautās personas, iekļaušanas un izslēgšanas kritēriji

Prospektīvā pētījumā iekļauti pacienti, kuri ārstējušies VSIA Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas (KUS) Reimatoloģijas centra diennakts un dienas stacionārā laika posmā no 2011. gada līdz 2013. gadam.

Iekļaušanas kritēriji ietvēra AS diagnozi, noteiktu atbilstoši 1984. gada modificētajiem Ņujorkas AS kritērijiem (*van der Linden et al.*, 1984). Pētījumā iekļauti pacienti, kuriem slimības pirmie klīniskie simptomi parādījās pēc 18 gadu vecuma.

Izslēgšanas kritēriji ietvēra cita veida hronisku vai autoimūno iekaisuma artrītu (piemēram, psoriātisko artrītu), sistēmas sarkano vilkēdi, psoriāzi, multiplo sklerozi, iekaisīgu zarnu slimību (IZS), 1. tipa cukura diabētu, tireotoksikozi, akūtu vai hronisku infekciju, depresiju vai citas psihiskās slimības (psihiatra diagnosticētas vai ārstētas), centrālās nervu sistēmas traucējumus, atkarību no alkohola vai citām vielām.

Kontroles grupa izveidota, izmantojot datus no Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrā. Šajā grupā iekļauti potenciāli veseli indivīdi bez zināmām hroniskām iekaisuma slimībām, saskaņoti ar pētāmo grupu pēc vecuma un dzīvesvietas.

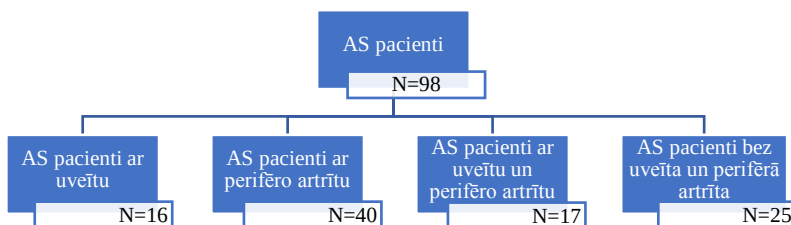
Retrospektīvi laika posmā līdz 2019. gada martam pētījumā iekļautajiem AS pacientiem novērtēta TNF α inhibitoru terapijas pirmā gada efektivitāte.

Pētījumu apstiprināja Rīgas Stradiņa universitātes Ētikas komiteja. Veselu indivīdu ģenētisko datu iekļaušana pētījumā veikta, pamatojoties uz Centrālās medicīnas ētikas komitejas piekrišanu. Pirms iekļaušanas visi indivīdi parakstīja informētās piekrišanas formu.

1.1.1. Ankilozējošā spondilīta pacientu un kontroles grupas demogrāfiskais raksturojums

Pētījumā iekļauti 98 AS pacienti, no tiem 90 (91,84 %) vīrieši un astoņas (8,16 %) sievietes vidējā vecumā $39,28 \pm 15,69$ (diapazonā 20–60) gadi. Kontroles grupā analizēti 154 Latvijas populācijas veselu indivīdu dati, no tiem 128 (83,12 %) vīrieši un 26 (16,88 %) sievietes. Kontroles grupā vidējais vecums bija $40,17 \pm 9,44$ gadi (intervālā no 14 līdz 80).

Pētījumā analizējām visu pacientu grupu kopumā, kā arī atkarībā no uveīta un/vai perifērā artrīta esības, iedalot AS pacientus četrās apakšgrupās (sk. 1.1. att.).



1.1. attēls. Ankilozējošā spondilīta (AS) pacientu iedalījums atkarībā no uveīta un/vai perifērā artrīta datiem

1.1.2. Pētījumā izmantotais bioloģiskais materiāls

Klīniskās analīzes veiktas VSIA Paula Stradiņa KUS Biokīmijas laboratorijā. AS pacientiem tika noteikts CRP līmenis asinīs, kas tika uzskatīts par paaugstinātu, ja tas pārsniedza 5 mg/L. Dezoksiribonukleīnskābes (DNS) izdalīšana no asins paraugiem ģenētisko polimorfismu noteikšanai veikta Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra laboratorijā.

1.2. Lietotās klīniskās, laboratoriskās un radioloģiskās izmeklēšanas metodes

Anamnēzes aspekti

Katrs AS pacients atbildēja uz jautājumiem, kas ietverti pētījumam izveidotajā datu anketā. Jautājumos tika ietverta informācija par vecumu slimības pirmo simptomu parādīšanās laikā, slimības ilgumu, pacienta slimības aktivitātes novērtējumu un slimības izraisīto sāpju novērtējumu pēdējās nedēļas laikā (0–10, kur 0 – nav izpausmes, 10 – izteikta izpausme), acu simptomātiku (uveītu) un ārpusmugurkaula locītavu iesaisti (t. i., perifēro artrītu), pielietoto terapiju, izvērtējot pacienta sniegto informāciju un medicīniskās dokumentācijas datus, t. sk. par blakusslimībām, ģimenes anamnēzi, pielietoto terapiju. Slimības ilgums definēts saskaņā ar 2006. gadā izstrādāto koncepciju (*Davis et al.*, 2006).

Pētījumā iekļaušanas laikā uveīta esība noteikta, pamatojoties uz acu ārsta slēdzienu. Tā esība anamnēzē noteikta, izmantojot medicīnisko dokumentāciju.

Fizikālā izmeklēšana

AS pacientiem klīniskās izmeklēšanas laikā novērtēts mugurkaula kustīgums, izmantojot BASMI (Bātas ankilozejošā spondilīta metroloģiskais indekss, *Bath Ankylosing Spondylitis Metrological Index*) (*Jenkinson et al.*, 1994), un 44 perifērās locītavas, lai noteiktu sāpes un sinovītu palpācijas laikā (*Zochling, Braun*, 2005). BASMI aprēķināts pēc trīs punktu novērtēšanas metodes. Gūžu locītavu iesaiste tika klasificēta kā aksiālās slimības izpausme (*Zochling, Braun*, 2005).

AS funkcionālo spēju novērtējums

AS pacienti aizpildīja latviešu un krievu valodā validēto funkcionālo spēju pašnovērtējuma anketu – BASFI (Bātas ankilozejošā spondilīta funkcionālais indekss, *Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index*), kas sastāv no desmit jautājumiem (*Calin et al.*, 1994). Katrs jautājums tika novērtēts pēc desmit ballu sistēmas: 0 – nav traucējumu, 10 – nespēja veikt jautājumā minēto

darbību. Visu atbilžu summa, kas dalīta ar desmit, liecina par funkcionālo spēju traucējumu izteiktību.

Lai pārbaudītu, vai anketas jautājumus varēja apvienot funkcionālo spēju pašnovērtējuma analīzei konkrētā pacientu grupā, tika noteikta Kronbaha alfa ($K\alpha$; *Cronbach's alpha*) vērtība. BASFI anketas jautājumu $K\alpha$ bija 0,96, kas liecina, ka šajā pacientu grupā varēja izmantot visus desmit jautājumus funkcionālo spēju pašnovērtējumā.

AS aktivitātes un terapijas efektivitātes ar bSMARM noteikšana

BASDAI (Bātas ankilozējošā spondilīta slimības aktivitātes indekss, *Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*) ir sešu jautājumu anketa, ko aizpilda pacients, novērtējot nespēku, muguras sāpes, perifēro locītavu sāpes, entēžu sāpes un rīta stīvumu (tā ilgumu un intensitāti) no 0 līdz 10 (0 – nav sūdzību, 10 – izteiktas sūdzības) par pēdējo nedēļu (*Garrett et al.*, 1994). BASDAI rezultāta aprēķins pēc noteiktas formulas ļauj konstatēt, vai slimība ir aktīva ($BASDAI \geq 4$) vai neaktīva ($BASDAI < 4$). Anketa ir validēta latviešu un krievu valodā. Lai pārbaudītu, vai anketas jautājumus varēja apvienot slimības aktivitātes analīzei konkrētā pacientu grupā, tika noteikta $K\alpha$ vērtība. BASDAI anketas jautājumu $K\alpha$ bija 0,87, kas liecina, ka analizētajā pacientu grupā varēja izmantot visus sešus jautājumus slimības aktivitātes novērtējumā.

Otrs slimības aktivitātes novērtējuma indekss ir ASDAS (ankilozējošā spondilīta slimības aktivitātes skala, *Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*). Tas ietver piecus rādītājus: muguras sāpju novērtējumu (BASDAI 2. jautājums), pacienta slimības aktivitātes novērtējumu (0–10), perifēro locītavu sāpju/pietūkuma novērtējumu (BASDAI 3. jautājums), rīta stīvuma ilgumu (BASDAI 6. jautājums) un CRP (mg/L) (*Lukas et al.*, 2009). Pēc formulas aprēķinot indeksu, tiek noteikta AS aktivitātes pakāpe (*Machado et al.*, 2018).

Analizējot pacientu grupu ($n = 55$), kas lietoja TNF α inhibitorus, terapijas efektivitātes noteikšanai izmantotas ASAS-EULAR rekomendācijas

par BASDAI novērtējumu dinamikā: šī indeksa uzlabošanās jeb mazināšanās par divām un vairāk vienībām (0–10), to aprēķinot pēc vismaz 12 nedēļām no terapijas uzsākšanas, uzskatāma par terapijas efektu (*van der Heijde et al.*, 2017). TNF α inhibitoru lietošanas efektivitāte novērtēta terapijas pirmo 12 mēnešu periodā, ik pa trim līdz sešiem mēnešiem aprēķinot BASDAI. Ģenētisko aspektu turpmākā analīze veikta, iedalot pacientus divās grupās: terapijas efektivitātes (BASDAI < 4 vai BASDAI mazināšanās par divām vienībām no izejas datiem bez pasliktināšanās gada laikā) un terapijas neefektivitātes grupā (BASDAI mazināšanās mazāk nekā par divām vienībām no izejas datiem novērtējuma perioda beigās).

Radioloģiskie izmeklējumi

Pētījumā AS pacientiem (n = 90) VSIA Paula Stradiņa KUS Radioloģijas institūtā veikta mugurkaula kakla un jostas daļas RTG ar turpmāku sertificēta radiologa analīzi saskaņā ar mSASSS metodi (*Creemers et al.*, 2005; *Wanders et al.*, 2004).

Lai pārliecinātos par mSASSS vērtējuma atbilstību, pēc nejaušības principa izvēlēti 18 AS pacientu RTG dati, ko novērtēja otrs neatkarīgs sertificēts radiologs. Radiologu mSASSS saskaņotības mērs bija 0,94, Pīrsona korelācijas koeficients – 0,94. Iegūtie rezultāti liecināja, ka pirmā radiologa sniegtie vērtējumi bija precīzi un atbilstoši mSASSS metodes noteikumiem.

1.3. Darbā izvēlētie ankilozējošā spondilīta biomarkieri

Pamatojoties uz zinātnisko publikāciju datiem un klīniskā darba aktuālajiem jautājumiem, turpmākai papildus analīzei izvēlējamies AS raksturojošos biomarkierus: 1) pirmo klīnisko simptomu parādīšanās vecumu; 2) mugurkaula strukturālā bojājuma vērtējumu (mSASSS), analizētu atkarībā no slimības ilguma; 3) terapijas pirmā gada ar TNF α inhibitoriem efektivitātes

novērtējumu (BASDAI < 4 vai BASDAI mazināšanās par divām vienībām no izejas datiem bez pasliktināšanās gada laikā); 4) slimības pāreju neaktīvā (BASDAI < 4) formā terapijas pirmā gada laikā ar TNF α inhibitoriem; 5) BASDAI izmaiņu tendences terapijas pirmā gada laikā ar TNF α inhibitoriem.

1.4. Ģenētiskā polimorfisma noteikšana

Pacientiem tika paņemts perifēro asiņu paraugs un iegūta fenotipiskā informācija atbilstoši Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes protokoliem (Rovite *et al.*, 2018). Lai veiktu ģenētisko analīzi, no Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes iegūta genomiskā DNS, kas tālāk izmantota izvēlēto ģenētisko polimorfismu noteikšanai.

Lai noteiktu bialēliskos polimorfismus *IRF5* rs10954213, rs2004640, rs3757385, *CD40* rs4810485, *ERAP1* rs10050860, rs30187, rs26653, *IL23R* rs10889677, rs11209026, rs2201841, *PTPN22* rs2476601 un *TGF β 1* rs1800469, rs1800470, veikta Reāla laika polimerāzes ķēdes reakcija (PCR, *polymerase chain reaction*), izmantojot komerciāli pieejamus *TaqMan* reaģentu komplektus *TaqMan Assays* (*Thermo Fisher Scientific*, ASV) individuāli katram SNP.

No Valsts iedzīvotāju genoma datubāzes indivīdiem iegūtā DNS tika atšķaidīta līdz 7 ng/ μ l, reakcijai tika izmantoti 28 ng genomiskās DNS. Reakcijas maisījums vienai reakcijai: H₂O – 5 μ l; *TaqMan Universal PCR Master Mix* – 4,75 μ l; *TaqMan* zonde 0,25 μ l; genomiskā DNS 4 μ l. Sagatavoto reakcijas maisījumu ievietoja Reālā laika PCR sistēmā ViiA 7 (*Applied Biosystems*, ASV), kur notika amplifikācija un genotipēšana atbilstoši ražotāja instrukcijām.

IL10 rs1800896 un *TNFA* rs1800629 analīzei tika veikta abu DNS ķēžu Sangera sekvenēšana. PCR oligonukleotīdu sekvences bija sekojošas: *IL10* 5'-TTCCCCAGGTAGAGCAACAC-3' un 5'-ATCCTCAAAGTTCCCAAGCA-3' (685 bp); *TNFA*: 5'-ACAGGCCTCAGGACTCAACA-3' un

5'-GCACCTTCTGTCTCGGTTTC-3' (364 bp). Sekvenēšanas reakcijai izmantoti tie paši nukleotīdi, kas polimerāzes ķēdes reakcijai. Polimorfisms nosaukts, analizējot elektroforogrammas.

1.5. Datu statistiskā analīze

Visas analīzes veiktas, izmantojot statistikas programmu *IBM SPSS Statistics*, versija 23.0 (*IBM Corp., Armonk, N.Y., USA*, 2015).

Datu analīzes etapi un pielietotās statistiskās metodes:

- gadījumu un kontroles grupas datu normālā sadalījuma pārbaude, izmantojot Šapiro–Vilka (*Shapiro–Wilk*) vai Kolmogorova–Smirnova (*Kolmogorov–Smirnov*) testus;
- vidējo lielumu salīdzinājums: parametrisko datu metode T tests vai vienfaktora dispersija (ANOVA), vai neparametrisko datu metode Manna–Vitnija (*Mann–Whitney*), vai Kruskala–Volisa (*Kruskal–Wallis*) tests;
- saistības stipruma noteikšana starp nomināliem un skaitliskiem datiem, izmantojot η (eta), vai starp diviem skaitliskiem parametriem, izmantojot Pīrsona (*Pearson's*) r vai Spīrmena (*Spearman's*) ρ testu;
- likumsakarību noteikšana, izmantojot regresijas analīzi;
- saskaņotības mēra (*measure of agreement*) un Kappa koeficienta noteikšana, salīdzinot divu sertificēto radiologu mSASSS vērtību sakritību. Pacientu skaits, ko RTG analizēja otrs sertificēts radiologs (mSASSS), noteikts atbilstoši vadlīnijām par nepieciešamo paraugu skaitu, veicot Kappa koeficienta aprēķinus (*Bujang, Baharum*, 2017a; *Bujang, Baharum*, 2017b; *Temel, Erdogan*, 2017). mSASSS vērtība ir skaitlisks lielums, tādēļ Kappa koeficients ir līdzvērtīgs Pīrsona korelācijas koeficientam. Lai pirmā radiologa vērtējumus varētu uzskatīt par atbilstošiem un precīziem, saskaņotības mēram būtu jābūt vismaz 0,80 (80 %) un Kappa koeficientam – vismaz 0,80 (*McHugh*, 2012);

- BASFI un BASDAI anketu Kronbaha alfa ($K\alpha$, *Cronbach's alpha*) noteikšana, izmantojot uzticamības analīzi (*reliability analysis*);
- polimorfismu esības līdzsvarā pēc Hārdija–Veinberga vienādojuma (*Hardy–Weinberg equilibrium*) noteikšana pirms SNP atlases un polimorfismu statistiskās analīzes, izmantojot heterozigotitātes indeksu;
- SNPs haplotipu kombināciju veidošana papildus alēļu un genotipu datiem, izmantojot DNASp versiju 6.11.01 (*Rozas et al.*, 2017);
- statistiski nozīmīgas atšķirības esības noteikšana, analizējot saistību starp diviem analizētajiem nominālajiem rādītājiem, izmantojot χ^2 kritērija jeb Pīrsona (*Pearson's*) χ^2 metodi vai Fišera (*Fisher's*) eksakto testu;
- saistības starp nomināliem datiem noteikšana, izmantojot Krāmiera V (*Cramer's V*) rādītāju;
- polimorfisma (alēles, genotipa, haplotipa) ietekmes uz saslimšanas iespējamību (klīnisko saistību), izmantojot izredžu attiecību (*odds ratio*, OR) un indeksa ticamības intervālu (*confidence interval*; CI) 95 % gadījumos, noteikšana. OR noteikšanai izmantota statistikas programma PAST (*Paleontological Statistics*, ver. 3.12; *Hammer et al.*, 2001). OR aprēķinos izmantoti adaptīvais (*additive*) un multiplikatīvais (*multiplicative*) modeļi. Ja OR vērtība ir 1, tad konkrētā lokusa alēle (genotips) nepalielina slimības iespējamību. Ja $OR > 1$, tad iespējamība saslimt palielinās; ja $OR < 1$, tad tā samazinās. Ja $OR > 2$, tad iespējamība saslimt ir ļoti augsta; ja $OR > 3$, tad tā ir klīniski nozīmīga. OR vērtība, mazāka par 1, liecina par aizsargājošo alēli (genotipu) (*Uthoff et al.*, 2002).

Analizējot atšķirības starp grupām vai saistību starp parametriem, p vērtība, kas mazāka par 0,05 ($5,00 \times 10^{-2}$), uzskatīta par statistiski nozīmīgu.

2. Rezultāti

2.1. Ankilozējošā spondilīta pacientu raksturojums

Visas AS pacientu grupas analīze

Pētījumā analizēti 98 AS pacientu demogrāfiskie un klīniskie dati. Vidējais slimības ilgums bija $13,79 \pm 8,29$ gadi. Pirmo slimības simptomu parādīšanās vecums bija vidēji $26,33 \pm 6,82$ gadi. Lielākajai daļai pacientu novērota aktīva slimība, analizējot aktivitātes novērtējuma vidējos parametrus: CRP $16,42 \pm 21,20$ mg/L, BASDAI $4,72 \pm 2,26$, ASDAS_{CRP} $3,01 \pm 1,38$. Nespēka un muguras sāpju novērtējums bija vidēji virs pieci – attiecīgi $5,34 \pm 2,50$ un $5,55 \pm 2,94$. Ārpusmugurkaula locītavu un vispārējais slimības aktivitātes vērtējums vidēji bija zem pieci – attiecīgi $3,41 \pm 2,89$ un $4,94 \pm 2,30$. BASFI un BASMI vidējie rezultāti uzrādīja šo aktivitāšu veikšanas traucējumus – attiecīgi $3,72 \pm 2,69$ un $3,89 \pm 2,60$. Izvērtējot AS ārpusmugurkaula izpausmes, uveīts anamnēzē un/vai pētījumā iekļaušanas laikā novērots 33 (33,67 %), savukārt perifērs artrīts – 57 (58,16 %) pacientiem.

Analizējot medikamentu grupas, kas izmantotas AS pacientu terapijā, konstatējām, ka NSPIL kopumā lietoja 73 (74,49 %) pacienti, 25 (25,51 %) pacienti NSPIL nelietoja vispār. Desmit (10,20 %) pacienti lietoja glikokortikoīdu. Analizējot sSMARM lietošanu, četri (4,08 %) pacienti lietoja metotreksātu un 34 (34,69 %) pacienti lietoja sulfasalazīnu. Pētījumā iekļaušanas periodā laika posmā no 2011. gada līdz 2013. gadam bSMARM (TNF α inhibitorus) lietoja 18 (18,37 %) pacienti. Laika periodā no 2011. gada līdz 2019. gada martam, analizējot pētījumā iekļauto AS pacientu bSMARM (TNF α inhibitoru) terapijas aspektus, šos medikamentus kopumā lietoja 55 (56,12 %) pacienti.

AS pacienti ar uveītu

Sadalot pacientus pēc uveīta esības anamnēzē un/vai iekļaušanas laika pētījumā, tika izveidotas divas grupas ar 33 (33,67 %) un 65 (66,33 %) pacientiem. Savstarpēji abas grupas tika salīdzinātas pēc darbā izvēlētajiem parametriem. Statistiski nozīmīga atšķirība konstatēta tikai diviem slimību raksturojošiem parametriem - slimības ilgumam un slimības aktivitātei, to novērtējot ar ASDAS_{CRP}. Analizējot pārējos parametrus, statistiski ticama atšķirība netika noteikta.

AS pacientiem ar uveītu vidējais slimības ilgums bija izteikti augstāks ($17,00 \pm 7,93$ gadi), salīdzinot ar pacientiem bez uveīta ($12,15 \pm 8,04$ gadi) ($p = 5,61 \times 10^{-3}$; $\eta = 0,28$).

AS pacientiem ar uveītu biežāk bija zema vai vidēja slimības aktivitāte, grupā bez uveīta – augsta slimības aktivitāte. Šīs atšķirības bija statistiski nozīmīgas ($p = 9,84 \times 10^{-3}$; $V = 0,34$).

AS pacienti ar perifēro artrītu

Sadalot pacientus pēc perifērā artrīta esības anamnēzē un/vai iekļaušanas laikā pētījumā, tika izveidotas divas grupas ar 57 (58,16 %) un 41 (41,84 %) pacientiem. Savstarpēji abas grupas tika salīdzinātas pēc vairākiem parametriem. Statistiski nozīmīga atšķirība konstatēta diviem slimību raksturojošiem parametriem – CRP un locītavu sāpju pašnovērtējumam. Analizējot pārējos parametrus, pētījuma ietvaros neieguvām statistiski ticamu atšķirību.

AS pacientiem ar perifēro artrītu vidējā CRP vērtība bija statistiski ticami augstāka, salīdzinot ar pacientiem bez perifērā artrīta (21,86 vs. 8,85 mg/L; $p = 3,66 \times 10^{-3}$; $\eta = 0,30$). Arī locītavu sāpju pašnovērtējums pacientiem ar perifēro artrītu bija statistiski ticami augstāks, salīdzinot ar pacientiem bez perifērā artrīta (4,54 vs. 1,83; $p = 3,26 \times 10^{-6}$; $\eta = 0,47$).

AS pacienti ar uveītu un/vai perifēro artrītu

Sadalot AS pacientus četrās apakšgrupās pēc ārpusmugurkaula izpausmju (uveīta un/vai perifērā artrīta) esības vai neesības, konstatējām, ka četriem grupu

raksturojošajiem parametriem, t. i., slimības ilgumam, CRP, ASDAS_{CRP} un locītavu sāpju pašnovērtējumam, bija statistiski nozīmīga atšķirība.

Vislielākais slimības ilgums (vidēji $18,00 \pm 8,94$ gadi) bija pacientiem ar abām izpausmēm, bet vismazākais (vidēji $11,92 \pm 8,38$ gadi) - grupā bez abām izpausmēm ($p = 4,60 \times 10^{-2}$; $\eta = 0,29$).

Visaugstāko CRP vidējo vērtību konstatējām AS pacientu grupā tikai ar perifēro artrītu ($24,32 \pm 27,95$ mg/L). Vismazāko CRP vidējo vērtību noteicām pacientu grupā tikai ar uveītu ($5,91 \pm 6,76$ mg/L). Pacientu grupā ar uveītu un perifēro artrītu tā bija $16,08 \pm 15,04$ mg/L. AS pacientu grupā bez ārpusmugurkaula izpausmēm, t. i., uveīta un perifērā artrīta, CRP vidējā vērtība bija $10,74 \pm 12,51$ mg/L. Savstarpēji salīdzinot četru pacientu apakšgrupu vidējās CRP vērtības, ieguvām statistiski ticamu atšķirību ($p = 1,57 \times 10^{-2}$; $\eta = 0,34$).

Līdzīgi arī augsta slimības aktivitāte, aprēķināta pēc ASDAS_{CRP}, visbiežāk konstatēta pacientu grupā tikai ar perifēro artrītu (57,50 %), un visretāk tā bija noteikta pacientu grupā tikai ar uveītu (6,25 %), savukārt neaktīvas un zemas aktivitātes slimības apakšgrupās pēc ASDAS_{CRP} vislielāko īpatsvaru veidoja AS pacienti ar uveītu un bez perifērā artrīta izpausmēm (25,00 % abās aktivitātes novērtējuma grupās) ($p = 2,20 \times 10^{-3}$; $V = 0,26$).

Analizējot locītavu vizuālās sāpju skalas vidējo novērtējumu četrās pacientu grupās, vislielāko vērtību konstatējām AS pacientu grupā ar abām izpausmēm, vismazāko vidējo vērtējumu noteicām pacientu grupā tikai ar uveītu (4,76 vs. 1,31; $p = 4,29 \times 10^{-5}$; $\eta = 0,48$).

Salīdzinot pārējos parametrus četru AS apakšgrupu analīzē, statistiski ticama atšķirība netika iegūta.

2.2. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismi

Kopumā tika analizēti 15 SNPs, kas ir lokalizēti astoņos ģēnos. AS kandidātģēni lokalizēti 1., 5., 6, 7., 19. un 20. hromosomā.

Kandidātģēnu polimorfismi atrodas dažādās ģēnu pozīcijās: seši SNPs – eksonā, četri SNPs – intronā, pa diviem SNPs – pirms ģēna un 3'UTR (3' netranslējamais rajons, *three prime untranslated region*), viens SNP – 5'UTR.

Salīdzinot Eiropas populācijas 1000 genoma pētījumā (*1000 Genomes Project*) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJEB6930>) un mūsu pētījuma kontroles grupas analizēto SNPs reto alēļu izplatību (MAF, *minor allele frequency*), diviem SNPs ir izteikta atšķirība: kontroles grupā *IRF5* rs2004640 G alēle un *TGFβ1* rs1800469 T alēle ir biežās alēles, salīdzinot ar Eiropas MAF. *PTPN22* rs2476601 gadījumā retās alēles biežums kontroles grupā atšķiras tikai pašā biežumā - Eiropā MAF ir 0,094, bet mūsu pētījuma kontroles grupā – 0,227; *TNFA* rs1800629 gadījumā – Eiropā MAF ir 0,134, mūsu pētījuma kontroles grupā – 0,247. Pārējo SNPs MAF ir līdzīga Eiropas populācijas datiem.

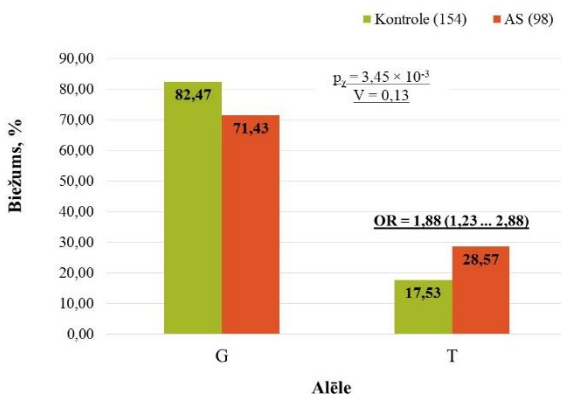
2.3. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība ar slimību

Analizējot visu lokusu ģenētisko līdzsvaru, konstatējām, ka līdzsvarā nav to lokusu, kuriem bija tikai divi genotipi: *IRF5* rs2004640, *IL23R* rs11209026, *PTPN22* rs2476601, *TNFA* rs1800629 un *TGFβ1* rs1800469. AS pacientu un kontroles grupās minēto SNPs gadījumos netika konstatēta heterozigotā forma. Vienīgais lokuss, kurā vienā no grupām genotipu sadalījums nebija līdzsvarā, bet bija visi trīs genotipi, bija *ERAP1* rs30187 (analīzē bija vairāk heterozigotā genotipa (GA) nekā biežās alēles homozigotā genotipa (GG) paraugu).

Alēļu sadalījums

Analizējot visu 15 SNPs alēļu sadalījumu AS pacientu un kontroles grupās, konstatējām, ka statistiski nozīmīga atšķirība novērojama *CD40* rs4810485, *TNFA* rs1800629 un *PTPN22* rs2476601. Pārējiem SNPs statistiski ticamu atšķirību, salīdzinot gadījumu un kontroles grupas, nekonstatējām.

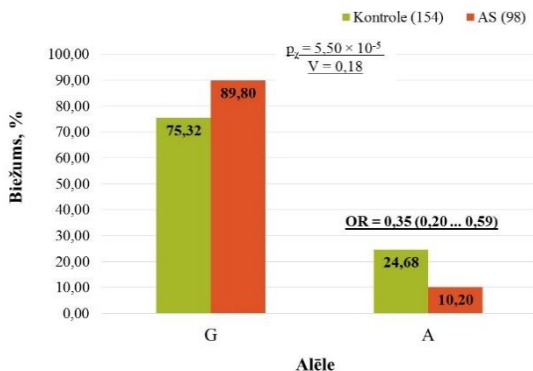
CD40 rs4810485 variācijas gadījumā abās grupās retā alēle bija T, bet konkrētā alēle gadījumu grupā bija sastopama par 11 % biežāk (28,57 vs. 17,53 %; $p = 3,45 \times 10^{-3}$; $V = 0,13$). Saistība starp AS un alēļu sadalījumu bija vāja. Konkrētai alēlei bija novērojama riska alēles tendence, bet risks nebija klīniski nozīmīgs (OR = 1,88 [1,23 ... 2,88]) (sk. 2.1. att.).



2.1. attēls. *CD40* rs4810485 variācijas alēļu sadalījums kontroles un ankilozējošā spondilīta (AS) grupās

Stabiņi – alēles biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība retajai alēlei.

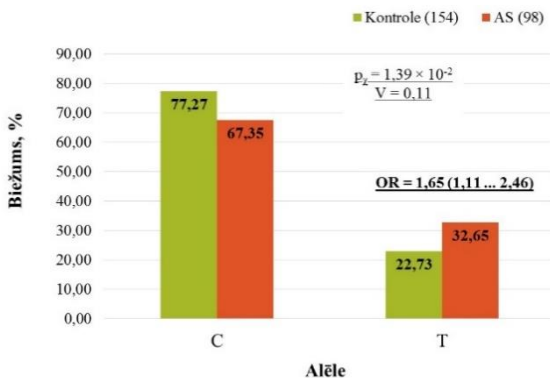
TNFA rs1800629 variācijas gadījumā abās grupās retā alēle bija A. AS grupā bija sastopama par 14 % retāk (10,20 vs. 24,68 %; $p = 5,50 \times 10^{-5}$; $V = 0,18$) (sk. 2.2. att.). A alēlei bija novērojama aizsargājošās alēles tendence, kas samazināja AS risku (OR = 0,35 [0,20 ... 0,59]).



2.2. attēls. *TNFA* rs1800629 variācijas alēļu sadalījums kontroles un ankilozejošā spondilīta (AS) grupās

Stabiņi – alēles biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība retajai alēlei.

PTPN22 rs2476601 gadījumā abās grupās retā alēle bija *T*, bet konkrētā alēle gadījumu grupā bija sastopama par 10 % biežāk (32,65 vs. 22,73 %; $p = 1,39 \times 10^{-2}$; $V = 0,11$) (sk. 2.3. att.). Konkrētai alēlei bija novērojama riska alēles tendence, bet tas nebija klīniski nozīmīgs ($OR = 1,65 [1,11 \dots 2,46]$).



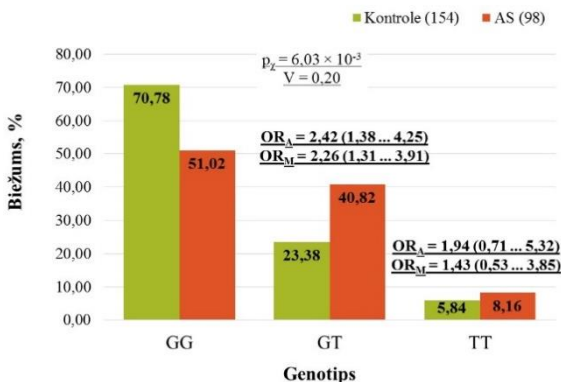
2.3. attēls. *PTPN22* rs2476601 variācijas alēļu sadalījums kontroles un ankilozejošā spondilīta (AS) grupās

Stabiņi – alēles biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība retajai alēlei.

Genotipu sadalījums

Statistiski nozīmīga atšķirība starp AS un kontroles grupu genotipu sadalījumā saglabājās tikai diviem SNPs: *CD40* rs4810485 un *TNFA* rs1800629.

CD40 rs4810485 gadījumā biežākais genotips bija GG (sk. 2.4. att.). Visu trīs genotipu sadalījums kontroles un AS grupās bija atšķirīgs ($p = 6,03 \times 10^{-3}$; $V = 0,20$), un starp AS un genotipiem konstatēta vidēja statistiski nozīmīga saistība. No visiem trim genotipiem pēc adaptīvā un multiplikatīvā modeļa diviem genotipiem bija riska genotipu pazīmes. *GT* genotipa gadījumā OR bija 2,42 [1,38 ... 4,25] adaptīvā modelī un 2,26 [1,31 ... 3,91] multiplikatīvā modelī. Abos gadījumos bija redzams augsts, bet ne klīniski nozīmīgs riska līmenis. Turklāt ir jāatzīmē, ka *GG* formai bija izteikti augsts aizsargājošā genotipa līmenis multiplikatīvā modelī ($OR = 0,43$ [0,25 ... 0,73]).

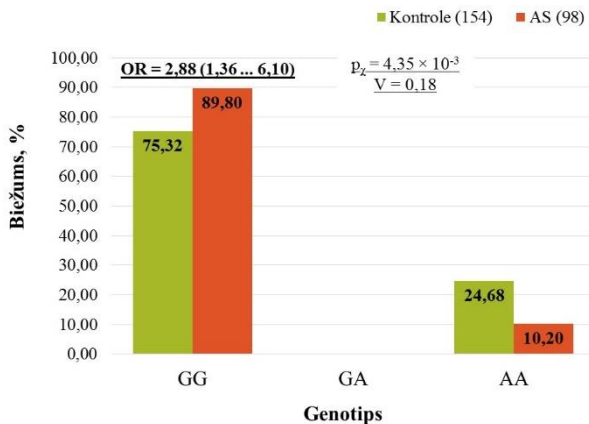


2.4. attēls. *CD40* rs4810485 variācijas genotipu sadalījums kontroles un ankilozejošā spondilīta (AS) grupās

Stabiņi – genotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska genotipam.

TNFA rs1800629 gadījumā abās grupās konstatēti tikai divi genotipi: abu alēļu homozigotās formas. No konstatētajiem genotipiem retais *AA* genotips bija aizsargājošs genotips ($OR = 0,35$ [0,16 ... 0,73]) (sk. 2.5. att.). Kontroles grupā

šis genotips bija konstatēts 24,68 %, bet AS grupā divas reizes retāk – 10,20 % ($p = 4,35 \times 10^{-3}$; $V = 0,18$). GG genotips bija riska forma ($OR_M = 2,88$ [1,36 ... 6,10]).



2.5. attēls. *TNFA* rs1800629 variācijas genotipu sadalījums kontroles un ankilozējošā spondilīta (AS) grupās

Stabiņi – genotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska genotipam.

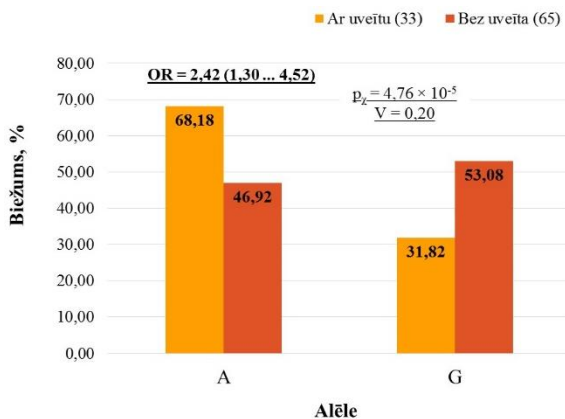
2.4. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība ar slimības ārpusmugurkaula izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu

Visi AS pacientu paraugi tika sadalīti mazākas grupās pēc uveīta vai perifērā artrīta esības. Uveīts konstatēts 33 (33,67 %) pacientiem, perifērais artrīts – 57 (58,16 %) pacientiem.

Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība ar uveītu

Analizējot visu 15 SNPs alēļu sadalījumu pēc uveīta esības, konstatējām, ka statistiski nozīmīga atšķirība novērojama *IL10* rs1800896 (sk. 2.6. att.), kuram nebija saistības ar visu slimību kopumā.

IL10 rs1800896 gadījumā retā alēle bija *G*. Grupā ar uveītu konkrētā alēle bija sastopama par 21 % retāk (31,82 vs. 53,08 %; $p = 4,76 \times 10^{-5}$; $V = 0,20$). *G* alēle bija no uveīta aizsargājošā alēle ($OR = 0,41$ [0,22 ... 0,47]). Savukārt *A* alēle bija riska forma uveīta attīstībai ($OR = 2.42$ [1.30 ... 4.52]).

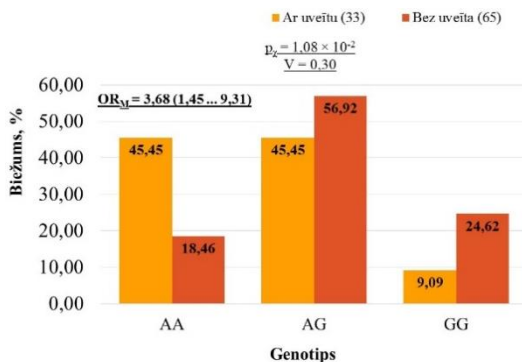


2.6. attēls. *IL10* rs1800896 variācijas alēļu sadalījums ankilozējošā spondilīta apakšgrupās ar uveītu un bez uveīta

Stabiņi – alēles biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska alēlei.

Genotipu sadalījumā statistiski nozīmīga atšķirība starp grupām ar uveītu un bez uveīta novērota divos gadījumos: saglabājās *IL10* rs1800896 gadījumā un no jauna parādījās *IRF5* rs3757385 gadījumā. Abos lokusus konstatēti trīs genotipi.

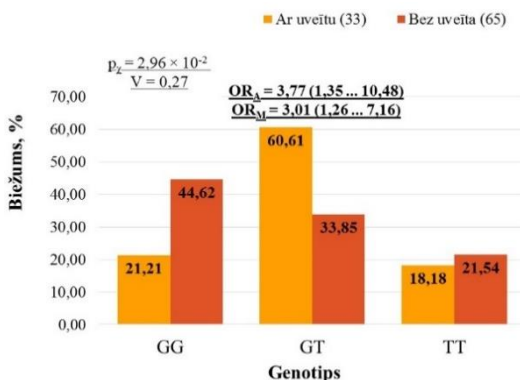
IL10 rs1800896 gadījumā (sk. 2.7. att.) abās grupās konstatējām heterozigoto genotipu ar līdzīgu sastopamības biežumu, bet abiem homozigotiem genotipiem sadalījums bija izteikti atšķirīgs ($p = 1,08 \times 10^{-2}$; $V = 0,30$). Retās alēles homozigotais genotips (*GG*) bija no uveīta aizsargājošais genotips ar klīnisku nozīmi: OR 0,15 [0,04 ... 0,64] adaptīvā modelī un 0,31 [0,08 ... 1,14] multiplikatīvā modelī. Turklāt multiplikatīvā modelī biežās alēles homozigotā genotipa (*AA*) riska līmenis bija klīniski nozīmīgs – OR 3,68 [1,45 ... 9,31].



2.7. attēls. ***IL10* rs1800896 variācijas genotipu sadalījums ankilozejošā spondilīta apakšgrupās ar un bez uveīta**

Stabiņi – genotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska genotipam.

IRF5 rs3757385 (sk. 2.8. att.) līdzīga frekvence abās grupās novērota *TT* genotipam, pārējiem diviem genotipiem bija pretēji sadalījumi ($p = 2,96 \times 10^{-2}$; $V = 0,27$). Biežākie genotipi bija atšķirīgi: *GT* bija uveīta riska genotips ($OR_A = 3,77 [1,35 \dots 10,48]$), *GG* – kā aizsargājošā forma ($OR_M = 0,33 [0,13 \dots 0,88]$).

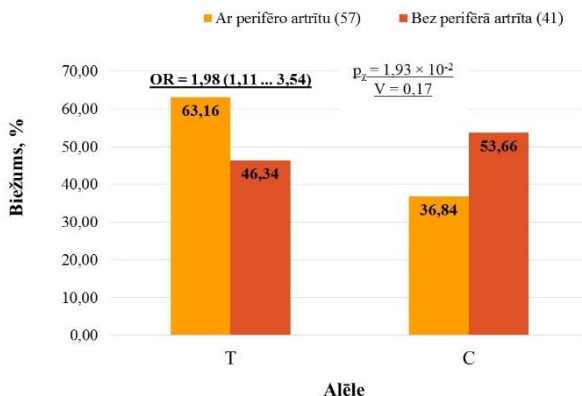


2.8. attēls. ***IRF5* rs3757385 variācijas genotipu sadalījums ankilozejošā spondilīta apakšgrupās ar un bez uveīta**

Stabiņi – genotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska genotipam.

AS kandidātģēnu polimorfismu saistība ar perifēro artrītu

Analizējot visu SNP alēļu sadalījumu pēc perifērā artrīta esības, konstatējām, ka statistiski nozīmīga atšķirība novērojama *TGFβ1* rs1800469.



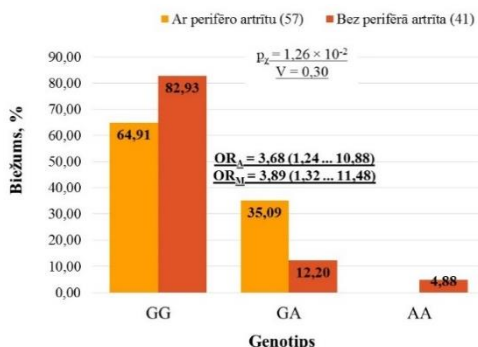
2.9. attēls. *TGFβ1* rs1800469 variācijas alēļu sadalījums ankilozējošā spondilīta apakšgrupās ar un bez perifērā artrīta

Stabiņi – alēles biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska alēlei.

TGFβ1 rs1800469 gadījumā retā alēle bija C, ja analizēja kontroles un AS grupas, kas atšķīrās no AS apakšgrupu analīzes pacientiem ar perifēro artrītu un bez perifērā artrīta ($p = 1,93 \times 10^{-2}$; $V = 0,17$) (sk. 2.9. att.). Tādējādi kontroles grupas biežākā alēle T bija riska alēle AS pacientiem perifērā artrīta attīstībai (OR = 1,98 [1,11 ... 3,54]), savukārt retā alēle C bija ar aizsargājošu efektu (OR = 0,50 [0,28 ... 0,90]).

Genotipu sadalījumā statistiski nozīmīga atšķirība starp AS grupām ar un bez perifērā artrīta novērota *ERAP1* rs10050860 gadījumā (sk. 2.10. att.). Šajā gadījumā retās alēles homozigota forma (AA) netika konstatēta pacientiem ar perifēro artrītu, bet bija atrodama diviem (4,88 %) pacientiem bez šīs pazīmes ($p = 1,26 \times 10^{-2}$; $V = 0,30$). Tādējādi šo genotipu (AA) varējām uzskatīt (OR aprēķināt tiešā veidā nevarējām, jo vienā no grupām nebija konstatēts minētais

genotips) par aizsargājošo formu ($OR_A = 0,48 [0,38 \dots 0,61]$; $OR_M = 0,41 [0,32 \dots 0,52]$), bet kā riska genotipu, turklāt ar klīnisku nozīmi, varējām atzīmēt heterozigoto formu (GA) ar $OR_A = 3,68 [1,24 \dots 10,88]$ un $OR_M = 3,89 [1,32 \dots 11,48]$. Biežās alēles homozigotu (GG) arī varējām uzskatīt par aizsargājošu genotipu ar $OR_M = 0,38 [0,14 \dots 1,01]$.

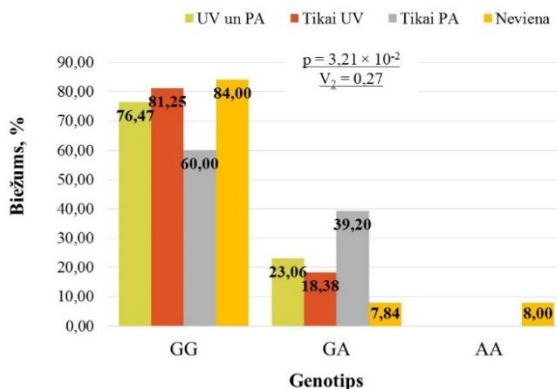


2.10. attēls. *ERAP1* rs10050860 variācijas genotipu sadalījums ankilozējošā spondilīta apakšgrupās ar un bez perifērā artrīta

Stabiņi – genotipa biežums grupā. p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska genotipam.

AS kandidātģēnu polimorfismu saistība ar uveītu un perifēro artrītu

Analizējot visu SNPs alēļu un genotipu sadalījumu pēc abu izpausmju esības, konstatējām, ka statistiski nozīmīga atšķirība novērojama *ERAP1* rs10050860, kuram nebija saistības ar visu slimību kopumā, bet bija statistiski nozīmīga saistība perifērā artrīta gadījumā. Alēļu statistiski nozīmīga atšķirība starp četrām apakšgrupām, iedalot pacientus pēc uveīta un/vai perifērā artrīta esības, netika novērota, bet konstatēta genotipu atšķirība ($p = 3,21 \times 10^{-2}$; $V_2 = 0,27$) (sk. 2.11. att.). Saskaņā ar rezultātiem AA genotipu konstatējām tikai pacientiem bez abām izpausmēm. Pārējās trīs grupās tā netika konstatēta. Turklāt GA genotips pacientiem tikai ar perifēru artrītu bija konstatēts ievērojami biežāk, salīdzinot ar pārējo apakšgrupu AS pacientiem (t. sk. vairāk kā piecas reizes, salīdzinot ar apakšgrupu bez uveīta un perifērā artrīta (39,20 vs. 7,84 %)).



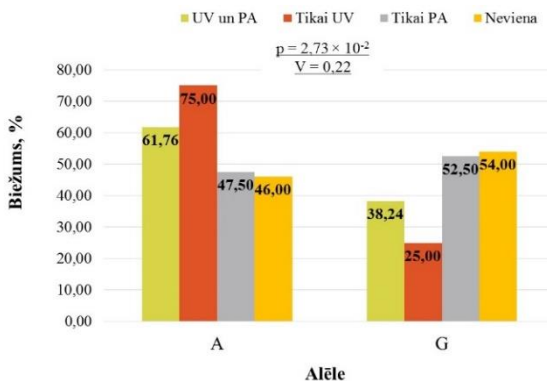
2.11. attēls. ***ERAP1* rs10050860 variācijas genotipu sadalījums ankilozējošā spondilīta apakšgrupās ar uveītu (UV) un/vai perifēru artrītu (PA)**

Stabiņi – genotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients.

Nosakot katra genotipa OR, kā references lielums tika pieņemta biežās alēles homozigotā forma. AS apakšgrupas analizētas, tās iedalot pēc uveīta un/vai perifērā artrīta esības un katru apakšgrupu atsevišķi salīdzinot ar apakšgrupu bez abām izpausmēm. Iegūtie rezultāti norādīja, ka GA genotips AS pacientiem palielināja iespēju iegūt kādu no ārpusmugurkaula izpausmēm – uveīta un perifērā artrīta gadījumā OR_M 3,54 [0,57 ... 22,03]; tikai uveīta gadījumā – OR_M 2,65 [0,39 ... 18,00]; tikai perifērā artrīta gadījumā – OR_M 7,67 [1,58 ... 37,12]. Tādējādi iegūtie rezultāti apstiprināja iepriekš noteiktos datus, ka *ERAP1* rs10050860 GA genotips bija īpaši izteikta riska forma perifērā artrīta izpausmei pacientiem ar AS.

Otrs lokuss, kurā konstatējām statistiski nozīmīgas atšķirības starp četrām pacientu apakšgrupām, bija *IL10* rs1800896 alēļu sadalījumā (sk. 2.12. att.). Pacientu apakšgrupās tikai ar perifēro artrītu vai bez abām izpausmēm alēļu sadalījums bija līdzīgs kontroles un kopīgajā pacientu grupās, savukārt pārējās divās pacientu apakšgrupās – ar uveītu un ar abām izpausmēm G alēli novērojām

retāk. Kontroles un kopīgajā pacientu grupā vidēji *G* alēle bija ar sastopamību 46,01 %, bet pacientiem ar uveītu un perifēro artrītu – 38,24 %, pacientu grupā tikai ar uveītu – 25,00 %. Iegūtās atšķirības bija statistiski nozīmīgas ($p = 2,73 \times 10^{-2}$; $V = 0,22$). Tādējādi šie rezultāti vēlreiz apliecināja *IL10* rs1800896 *G* alēles saistību ar uveītu pacientiem ar AS.



2.12. attēls. *IL10* rs1800896 variācijas alēļu sadalījums ankilozējošā spondilīta apakšgrupās ar uveītu (UV) un/vai perifēru artrītu (PA)

Stabiņi - alēles biežums grupā, p_x - atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V - Krāmēra V saistības koeficients

2.5. Multilokusu haplotipu saistība ar ankilozējošo spondilītu un tā ārpusmugurkaula izpausmēm

Haplotipu kombinācijas gan pacientu, gan kontroles paraugiem veidotas pēc trīs principiem: 1) viena gēna ietvaros, ja analizēti vismaz trīs SNPs; 2) kopīga signālu ceļa proteīna gēni; 3) kombinācijas no SNPs, kuriem konstatēta saistība ar AS vai tā ārpusmugurkaula izpausmēm. Pirmajā grupā izdalījām haplotipus, analizējot *ERAP1*, *IL23R* un *IRF5* gēnus. Otrajā grupā noteicām haplotipus, tos veidojot starp TNF saimes signālu ceļa proteīnu gēniem (*TNFA* un *CD40*), kā arī starp gēniem, kas kodē proteīnus TNF α , T limfocītu un dendrītisko šūnu mijiedarbības signālu ceļā (*IL10*, *TGF β 1*, *IRF5* un *PTPN22*).

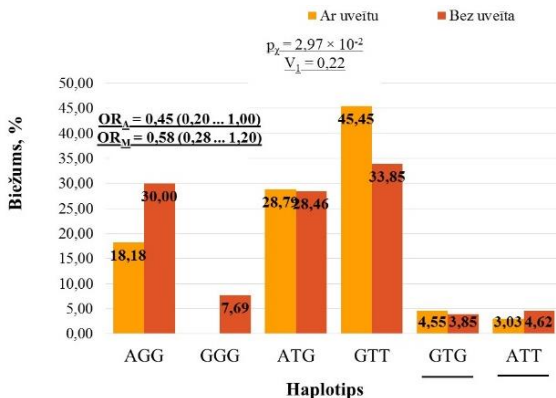
Trešajā grupā par slimību kopumā tika analizēti haplotipi, kas veidoti no *TNFA* rs1800629, *CD40* rs4810485 un *PTPN22* rs2476601; uveīta gadījumā – no *IRF5* rs3757385 un *IL10* rs1800896; perifērā artrīta gadījumā – no *ERAP1* rs10050860 un *TGFβ1* rs1800469; uveīta un/vai perifēra artrīta gadījumā – no *IRF5* rs3757385, *ERAP1* rs10050860, *IL10* rs1800896 un *TGFβ1* rs1800469.

Izveidotajiem haplotipiem analizējām saistību tikai ar AS vai tā ārpusmugurkaula noteiktām izpausmēm atkarībā no SNPs asociācijas.

2.5.1. Haplotipi viena gēna ietvaros

Salīdzinot individuāli *ERAP1*, *IL23R* un *IRF5* gēnu trīs SNPs haplotipu sadali AS un kontroles grupās, nekonstatējām statistiski ticamu saistību starp gēna haplotipiem un slimību. Analizējot šos haplotipus saistībā ar ārpusmugurkaula izpausmēm (gan ar katru atsevišķi, gan kopā), nekonstatējām statistiski ticamu atšķirību starp grupām *ERAP1* un *IL23R* gēnu gadījumā.

Trešā gēna *IRF5* individuālās analīzes gadījumā noteicām statistiski ticamu saistību starp haplotipu sadali un uveīta esību ($p = 2,97 \times 10^{-2}$; $V_1 = 0,22$). Analizējot šos datus (sk. 2.13. att.), konstatējām, ka, pirmkārt, biežākais haplotips *GTT* (rs10954213/ rs2004640/ rs3757385) bija veidots no SNPs retajām alēlēm. Biežāko alēļu haplotipa *AGG* sastopamība bija ap 20,00 % AS un kontroles grupās, bet *GTT* attiecīgi 37,76 % un 38,31 %. Otrkārt, haplotips *GGG* bija sastopams tikai pacientiem bez uveīta (7,69 %). Iegūtie dati norādīja, ka konkrētais haplotips bija no uveīta aizsargājošā forma. Vēl viens aizsargājošais haplotips bija *AGG*, ko novēroja 18,18 % pacientiem ar uveītu un 30,00 % bez uveīta (OR_M 0,58 [0,28 ... 1,20]; OR_A 0,45 [0,20 ... 1,00]). Treškārt, par uveīta riska haplotipu konstatējām biežāk sastopamo haplotipu *GTT*, kas konstatēts 45,45 % pacientiem ar uveītu un 33,85 % pacientiem bez uveīta (OR_M 1,84 [1,01 ... 3,35]).



2.13. attēls. ***IRF5* variāciju (rs10954213/ rs2004640/ rs3757385) haplotipu sadalījums ankilozējošā spondilīta apakšgrupās ar un bez uveīta**
 Stabiņi – haplotipa biežums grupā, pasvītroti retie haplotipi, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība aizsargājošam haplotipam.

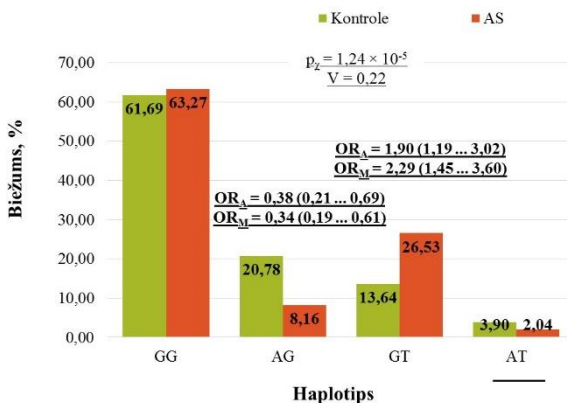
Analizējot *IRF5* haplotipus pacientiem ar vai bez perifērā artrīta, kā arī salīdzinot visas četras AS apakšgrupas, netika konstatēta statistiski ticama atšķirība.

2.5.2. Haplotipi starp TNF saimes signālu ceļa proteīnu gēniem

Haplotipu, kas veidoti starp TNF saimes signālu ceļa proteīnu gēnu *TNFA* un *CD40* polimorfismiem, sadalījumā starp AS pacientu un kontroles grupas paraugiem konstatējām statistiski ticamu atšķirību ($p = 1,24 \times 10^{-5}$ ($V = 0,22$)) (sk. 2.14. att.). Datu analīzē noteicām, ka haplotips no abu lokusu biežajām alēlēm *GG* (*TNFA* rs1800629 un *CD40* rs4810485) bija arī biežākais haplotips gan pacientu, gan kontroles grupās. Abās grupās sastopamība bija līdzīga: 63,27 vs. 61,69 %. Pēc haplotipu frekvencēm un izredžu attiecības analīzes varējām secināt, ka haplotips *AG* bija no slimības aizsargājošs

($OR_M = 0,34 [0,19 \dots 0,61]$; $OR_A = 0,38 [0,21 \dots 0,69]$), bet haplotips *GT* – riska haplotips ($OR_M = 2,29 [1,45 \dots 3,60]$; $OR_A = 1,90 [1,19 \dots 3,02]$).

Analizējot iepriekšminēto haplotipu sadalījumu apakšgrupās, kas veidotas pēc uveīta un/vai perifērā artrīta esības, netika konstatētas statistiski nozīmīgas atšķirības ($p > 0,05$).



2.14. attēls. ***TNFA* rs1800629 un *CD40* rs4810485 variāciju haplotipu sadalījums kontroles un ankilozējošā spondilīta (AS) pacientu grupās**

Stabiņi – haplotipa biežums grupā, pasvītroti retie haplotipi, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība.

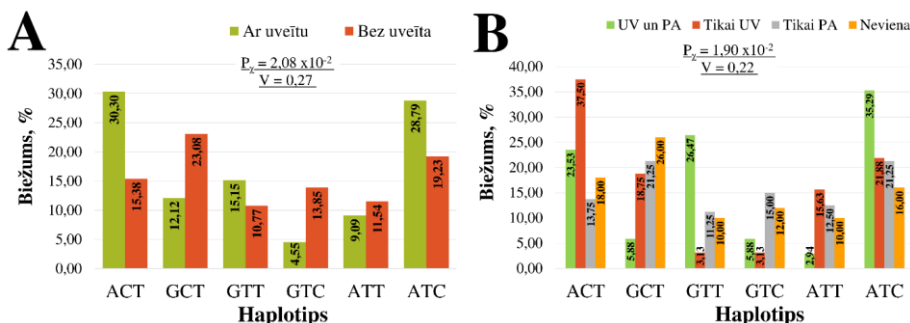
2.5.3. Haplotipi starp gēniem, kas kodē proteīnus *TNFA*,

T limfocītu un dendrītisko šūnu mijiedarbības signālu ceļā

Analizējot polimorfismus, lokalizētus gēnos vai saistītus ar gēniem, kas kodē proteīnus *TNFA*, T limfocītu un dendrītisko šūnu mijiedarbības signālu ceļā - *IL10*, *TGFβ1*, *IRF5* un *PTPN22*, teorētiski bija iespējami 128 haplotipi, bet datu apstrādes rezultātā ieguvām 63 haplotipus. Atlasot retos haplotipus (sastopamība mazāk par 5,00 %), atlika pieci (5) haplotipi, kas aptvēra 25,51 % un 36,04 % no paraugiem. Tā kā tas bija mazāk nekā viena trešdaļa no pacientu paraugiem, tad

nolēmām mainīt haplotipos ietvertos lokusus. Ņemot vērā, ka *IL10* un *TGFβ1* gēnu proteīniem ir kopīgs signālu ceļš, veidojām haplotipu kombinācijas starp šo gēnu polimorfismiem. Turklāt *IL10* SNP bija saistīts ar uveītu, bet *TGFβ1* rs1800469 alēles bija saistītas ar perifēro artrītu.

Apskatot *IL10* rs1800896 un *TGFβ1* rs1800469 un rs1800470 SNPs veidoto haplotipu sadali AS un kontroles grupās, konstatējām iespējamus astoņus haplotipus, no kuriem divi bija reti sastopami. Biežāk sastopamais haplotips AS grupā bija ATC (*IL10* rs1800896/ *TGFβ1* rs1800469 / *TGFβ1* rs1800470) ar biežajām alēlēm divos lokusos, bet kontroles grupā – ACT. Kopējais biežāk sastopamais haplotips, ko izmantojām kā references haplotipu, bija ACT, kas pacientiem bija sastopams 20,41 %, bet kontroles grupā – 24,03 %. Salīdzinot haplotipu sadalījumu, statistiski ticamu atšķirību nekonstatējām.



2.15. attēls. *IL10* (rs1800896) un *TGFβ1* (rs1800469 un rs1800470) variāciju haplotipu (bez retajām formām) sadalījums ankilozejošā spondilīta apakšgrupās (A daļa) ar un bez uveīta (UV) un (B daļa) ar uveītu un/vai perifēro artrītu (PA)

Stabiņi – haplotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients.

Analizējot iepriekšminēto haplotipu sadalījumu AS perifērā artrīta un uveīta apakšgrupās, sadalījums vairs nebija tik līdzīgs. Statistiski ticama atšķirība konstatēta, gan analizējot uveīta divas grupas (sk. 2.15. att. A daļā): pacientu grupu ar uveītu pret pacientu grupu bez uveīta ($p = 2,08 \times 10^{-2}$ ($V = 0,27$) bez

retajiem haplotipiem vai $p = 1,29 \times 10^{-2}$ ($V = 0,30$) ar retajiem haplotipiem), gan analizējot četras grupas (sk. 2.15. att. B daļā): pacientu grupu tikai ar uveītu, grupu tikai ar perifēro artrītu, grupu ar abām izpausmēm un grupu bez abām izpausmēm ($p = 1,90 \times 10^{-2}$ ($V = 0,22$) bez retajiem haplotipiem vai $p = 2,18 \times 10^{-2}$ ($V = 0,25$) ar retajiem haplotipiem).

Apskatot haplotipu sastopamību AS ārpusmugurkaula izpausmju apakšgrupās, konstatējām, ka trīs haplotipi no četriem ar *IL10* SNP pozīcijā reto alēli *G* bija izteikti retāk sastopami pacientiem ar uveītu nekā pacientiem bez uveīta. Haplotipi *GCC* un *GTC* nebija vai bija ļoti reti sastopami pacientiem ar uveītu, bet *GCT* pacientu grupā tikai ar uveītu bija vairāk nekā trīs reizes biežāk nekā pacientiem ar uveītu un perifēro artrītu. Tādējādi haplotipi *GCC* un *GTC* aizsargā no uveīta izpausmes pacientus ar AS kopumā, bet *GCT* – no perifērā artrīta aizsargājošā forma AS pacientiem ar uveītu ($OR_M = 0,27$ [0,05 ... 1,45]).

Analizējot šos trīs haplotipus saistībā tikai ar uveītu, noteicām, ka visi trīs bija no uveīta aizsargājošās formas ar OR robežās no 0,17 līdz 0,46.

Ceturta haplotipa ar *G* alēli *IL10* rs1800896 pozīcijā jeb *GTT* gadījumā bija atšķirīga situācija: pacientiem ar uveītu un perifēro artrītu sastopamība bija izteikti lielāka nekā pārējās trīs grupās – 26,47 % pret pacientiem ar tikai uveītu 3,13 % ($OR_M = 11,16$ [1,32 ... 94,11]); pacientiem tikai ar perifēro artrītu 11,25 % ($OR_M = 2,84$ [1,01 ... 7,96]); pacientiem bez abām izpausmēm 10,00 % ($OR_M = 3,24$ [0,98 ... 10,73]). Tādējādi ieguvām norādes, ka konkrētais haplotips bija riska forma AS pacientiem gan abu izpausmju attīstībā, gan otrās izpausmes attīstībā pacientiem ar uveīta vai perifērā artrīta izejas datiem.

Haplotips *GTT* saistībā tikai ar uveītu nebija ar izteikti augstu OR vērtību, norādot, ka nozīme bija tieši abu izpausmju gadījumā.

Otrs riska haplotips ārpusmugurkaula izpausmju gadījumā bija *ACT*, kas pacientiem ar uveītu bija sastopams divas reizes biežāk nekā pacientiem bez uveīta (30,30 vs. 15,38 %), kalpojot par riska formu uveīta attīstībai AS pacientiem ($OR_M = 2,39$ [1,18 ... 4,86]). Analizējot četras apakšgrupas (sk. 2.15.

att. B daļā), konstatējām, ka haplotipa frekvences atšķirība starp pacientiem tikai ar uveītu vai tikai perifēro artrītu un pacientiem ar uveītu un perifēro artrītu bija 10–12 %, bet ar pretējām tendencēm. OR perifērā artrīta attīstībai pacientiem ar uveītu bija 0,51 [0,18 ... 1,49] un uveīta attīstībai pacientiem ar perifēro artrītu bija 1,93 [0,70 ... 5,33]. Tātad konkrētais haplotips samazināja iespēju veidoties perifērajam artrītam pacientiem ar uveītu un palielināja uveīta iespējamību perifērā artrīta pacientiem.

2.5.4. Haplotipi starp saistītajiem SNPs

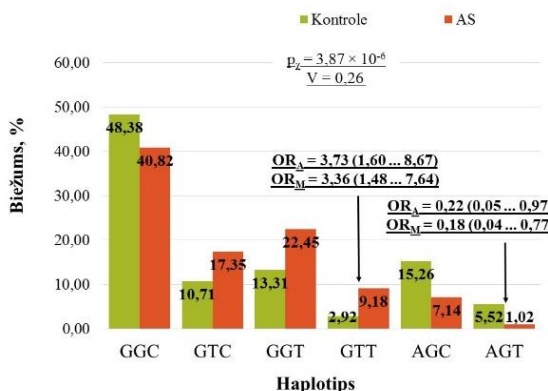
Saistību ar slimību kopumā konstatējām trim SNPs: *TNFA* rs1800629 ar riska alēli *G*, *CD40* rs4810485 ar riska alēli *T* un *PTPN22* rs2476601 ar riska alēli *T*. Tātad, balstoties uz individuālu SNP asociācijas analīzes rezultātiem, haplotipam *GTT* (*TNFA* rs1800629, *CD40* rs4810485, *PTPN22* rs2476601) būtu jābūt ar augstu riska pakāpi AS attīstībai.

Analizējot datus, konstatējām, ka kontroles grupā atrasti visi astoņi iespējamie haplotipi, savukārt AS grupā tikai septiņi. Izvērtējot abas grupas, par retiem haplotipiem varējām uzskatīt tikai divus. Abās grupās haplotips *GGC* bija biežākā konstatētā forma ar frekvencēm 40,82 % gadījuma un 48,38 % kontroles grupās (sk. 3.16. att.). Kontroles un AS pacientu grupās sešu statistiski analizēto haplotipu sadalījums bija statistiski ticami atšķirīgs ar $p = 3,87 \times 10^{-6}$.

Analizējot haplotipu sadalījumu (sk. 2.16. att.) un OR testa rezultātu, konstatējām, ka trīs haplotipu formas bija no AS aizsargājošas un trīs formas bija riska haplotipi. Visaugstākā riska pakāpe bija iepriekš paredzētajam haplotipam *GTT*, kurā bija visu trīs lokusu riska alēles un kurš tika konstatēts 9,18 % AS pacientu, bet kontroles grupā tikai 2,92 %. Konkrētais haplotips palielina iespēju saslimt ar AS vairāk kā 3,5 reizes ($OR_A = 3,73$ [1,60 ... 8,67] un $OR_M = 3,36$ [1,48 ... 7,64]). Pārējie divi haplotipi, kuriem bija konstatēts

paaugstināts risks, bet ne ar klīnisku nozīmi OR, bija *GTC* (17,35 vs. 10,71 %) un *GGT* (22,45 vs. 13,31 %). Pēc haplotipu lokusu analīzes ieguvām datus, ka visu trīs risku formu gadījumā *TNFA* rs1800629 lokusā bija riska alēle *G*.

Apskatot no slimības aizsargājošos haplotipus *GGC*, *AGC* un *AGT*, konstatējām, ka *CD40* rs4810485 lokusā visos trīs gadījumos bija aizsargājošā alēle *G*. Ar visaugstāko aizsargājošo līmeni bija haplotips *AGT*, kurš samazināja iespējamību saslimt aptuveni 4,5–5,6 reizes ($OR_A = 0,22$ [0,05 ... 0,97], $OR_M = 0,18$ [0,04 ... 0,77]). Pārējo divu haplotipu gadījumā OR bija no 0,43 līdz 0,74.

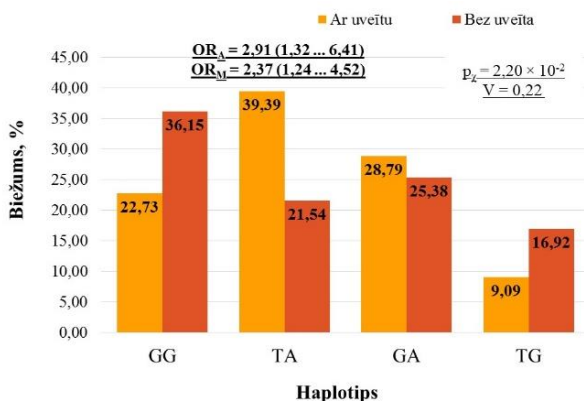


2.16. attēls. *TNFA* rs1800629, *CD40* rs4810485, *PTPN22* rs2476601 variāciju haplotipu (bez retajām formām) sadalījums kontroles un ankilozējošā spondilīta (AS) pacientu grupās

Stabiņi – haplotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība.

Ar uveītu statistiski ticama saistība tika konstatēta divu SNPs gadījumos: *IRF5* rs3757385 ar iespējamu (saistība tikai genotipu līmenī) riska alēli *T* un *IL10* rs1800896 ar riska alēli *A*. Analizējot konstatējām visus četrus iespējamus haplotipus, no kuriem biežāk sastopamais haplotips atšķīrās AS grupās ar uveītu un bez uveīta (sk. 2.17. att.): AS grupā ar uveītu biežākais haplotips bija *TA*, bet grupā bez uveīta – *GG* ($p = 2,20 \times 10^{-2}$). Haplotips *TA* bija ar augstu, bet ne

klīniski nozīmīgu OR ($OR_A = 2,91 [1,32 \dots 6,41]$, $OR_M = 2,37 [1,24 \dots 4,52]$). Otrs riska haplotips bija GA. Visaugstākais aizsargājošais efekts bija GG haplotipam ($OR_M = 0,52 [0,26 \dots 1,02]$).



2.17. attēls. *IRF5* rs3757385 un *IL10* rs1800896 variāciju haplotipu (bez retajām formām) sadalījums ankilozējošā spondilīta pacientu apakšgrupās ar un bez uveīta

Stabiņi – haplotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmiera V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība riska haplotipam.

Ar perifēro artrītu statistiski ticamu saistību konstatējām divu SNP gadījumos: *ERAP1* rs10050860 ar riska genotipu GA (abi homozigotie genotipi bija ar aizsargājošu efektu) un *TGFβ1* rs1800469 ar riska alēli T. Analizējot šo divu SNP haplotipu sadali AS grupā ar un bez perifērā artrīta, ieguvām datus, ka frekvenču atšķirības starp grupām nebija statistiski nozīmīgas ($p = 0,07$). Tas varētu būt skaidrojams ar to, ka *ERAP1* rs10050860 gadījumā nozīme bija genotipu, nevis alēļu līmenī, turklāt tieši GA genotips bija riska forma.

Apvienojot uveīta un perifērā artrīta grupu saistīto SNPs lokusus vienotā haplotipā, izmantojām *IRF5* rs3757385, *ERAP1* rs10050860, *IL10* rs1800896 un *TGFβ1* rs1800469 analīzes datus par saistību ar AS uveītu un/vai perifēro artrītu. Analizējot biežo haplotipu sadali četrās AS pacientu grupās, konstatējām, ka

frekvenču atšķirība nebija statistiski nozīmīga ($p = 0,16$). Tātad visi četri lokusi kopumā nebija saistāmi ar uveītu un/vai perifēro artrītu.

2.6. Ankilozējošā spondilīta kandidātģēnu polimorfismu saistība ar slimības biomarkšiem

Pētījumā analizējām atlasīto kandidātģēnu polimorfismu alēļu un/vai genotipu saistību ar slimības novērtējuma biomarkšiem, kurus izvēlējāmies, pamatojoties uz zinātnisko publikāciju datiem un klīniskā darba aktuālajiem jautājumiem: pirmo simptomu parādīšanās vecumu, mugurkaula strukturālā bojājuma vērtējumu, noteiktu pēc mSASSS, kā arī bSMARM (TNF α inhibitoru) terapijas pirmā gada efektivitātes novērtējumu (BASDAI), t. i., terapijas efektivitāti (BASDAI < 4 vai BASDAI mazināšanās par divām vienībām no izejas datiem bez pasliktināšanās gada laikā), slimības pāreju neaktīvā formā (BASDAI < 4) un slimības aktivitātes (BASDAI) vērtējuma izmaiņu tendences.

2.6.1. Pirmo simptomu parādīšanās vecums

Pētījuma ietvaros analizējām, vai izvēlētie kandidātģēnu polimorfismi ietekmē pirmo simptomu parādīšanās vecumu. Vidējais pirmo simptomu parādīšanās vecums 98 AS pacientiem bija $26,33 \pm 6,82$ (CI 95 % 24,96 ... 27,69) gadi ar intervālu no 18 līdz 45 gadiem. Veicot salīdzinājumu starp genotipiem par pirmo simptomu parādīšanās vecumu, konstatējām, ka neviens no 15 SNPs statistiski ticami neietekmēja ($p > 0,05$) AS pirmo simptomu parādīšanās vecumu.

2.6.2. Mugurkaula strukturālā bojājuma (mSASSS) novērtējums

Pacientu vidējais mSASSS bija $23,41 \pm 21,32$ (CI 95 % 18,95 ... 27,88) ar intervālu no 0 līdz 35. mSASSS konkrētā laikā bija atkarīgs no slimības ilguma. Pacientu vidējais slimības ilgums bija $13,79 \pm 8,29$ (CI 95 % 12,12 ... 15,45) gadi ar intervālu no 1 līdz 35 gadiem. Papildus noteicām, ka mSASSS bija vidēji cieša ($\rho = 0,49$) korelācija ar BASFI ($p = 9,98 \times 10^{-7}$) un cieša ($\rho = 0,77$) ar BASMI ($p = 6,23 \times 10^{-19}$).

Analīzes rezultātā konstatējām, ka konkrētā pacientu grupā starp radioloģiskā novērtējuma datiem (mSASSS) un slimības ilgumu bija statistiski ticama ($p_r = 9,00 \times 10^{-6}$) vidēji cieša ($\rho = 0,45$) korelācija. Veicot vienkāršo lineāro regresiju, noteicām, ka 15,21 % ($R^2 = 0,15$) no mSASSS vērtības pamatoja slimības ilgums ar vienādojumu: $mSASSS = 9,12 + 1,04 \times SI$, kur SI - slimības ilgums ($p = 1,45 \times 10^{-4}$). Tādējādi konstatējām, ka šajā pacientu grupā, slimības ilgumam palielinoties par vienu gadu, mSASSS palielinājās par 1,04 punktiem.

Tomēr regresijas analīze pierādīja, ka pastāvēja vēl kāds lielums, kas ietekmēja mSASSS. Mēs pieņemām, ka viens no šādiem lielumiem varēja būt ģenētiskais faktors. Lai noteiktu iespējamo genotipu ietekmi, veicot analīzi, mēs ņēmām vērā divus aspektus: 1) slimības ilgumu, 2) mSASSS mainīgumu laika periodā. Līdz ar to, lai noteiktu, vai genotips arī ietekmē mSASSS, tika izmantota multifaktoru regresija. Par genotipa ietekmi varējām spriest, ja: 1) regresijas modelis – $mSASSS = B + SI \times x_1 + Genotips \times x_2$, kur x_1 un x_2 ir regresijas koeficienti – bija statistiski ticams; 2) genotipa p jeb individuālā faktora statistiskā ticamība bija mazāka par 0,05.

Papildus, zinot slimības ilguma ietekmes lielumu uz mSASSS (15,21 % jeb 0,15), bija iespēja provizoriski aprēķināt genotipa ietekmi.

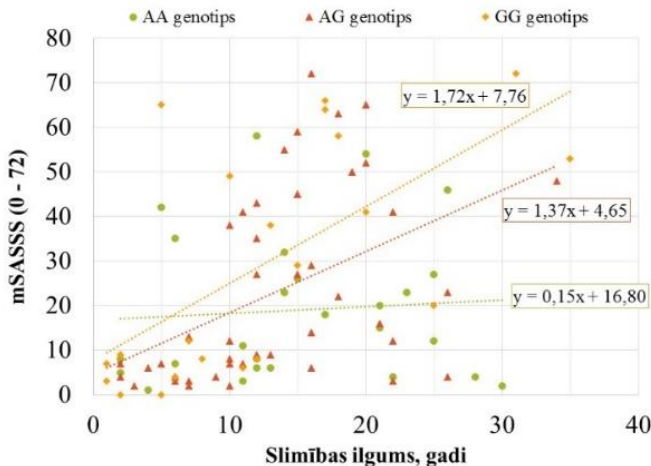
Gadījumos, kad tika konstatēta statistiski ticama kandidātgēnu SNPs genotipu ietekme uz mSASSS, tika veikta neparametrisko rādītāju analīze, lai noteiktu mSASSS atšķirību starp genotipiem pacientiem ar slimības ilgumu līdz 15 gadiem (ieskaitot) un pacientiem ar slimības ilgumu virs 15 gadiem.

Visu kandidātgēnu polimorfismu datu apstrādē, izmantojot regresijas analīzes metodi, konstatējām statistiski ticamu regresijas vienādojumu un tikai vienā gadījumā – *IRF5* rs10954213 statistiski nozīmīgu ietekmi uz mSASSS ($p = 2,28 \times 10^{-2}$). Šajā gadījumā izskaidrojamā mSASSS daļa palielinājās līdz 20,14 %, t. i., par 4,93 %, ko varējām uzskatīt par genotipa izskaidrojošo daļu. Konkrētā regresijas modeļa galējais vienādojums bija $mSASSS = -4,75 + 1,11 \times SI + 6,59 \times \text{Genotips}$, kur genotipu vērtība bija 1, 2 un 3 attiecīgi genotipiem AA, AG, GG (AA biežākais genotips). Tādējādi varējām secināt, ka retās G alēles homozigotā genotipa gadījumā mSASSS bija augstāks.

Visus pacientus iedalot pēc *IRF5* rs10954213 genotipiem (sk. 2.18. att.), ieguvām datus, ka retās alēles genotipa GG gadījumā slimības ilguma ietekme uz mSASSS bija izteikti augstāka nekā biežās alēles genotipa AA gadījumā (R^2 bija 40,49 % pret 0,56 %; AG genotipa gadījumā $R^2 = 20,66$ %).

Biežās alēles genotipa AA gadījumā regresijas modelis nebija statistiski ticams, bet pārējo divu genotipu gadījumā tika iegūti statistiski ticami dati ($p < 0,02$). Retās alēles genotipa GG gadījumā katrs nākamais slimības gads 40,49 % gadījumos palielināja mSASSS rādītāju par 1,72 punktiem, bet genotipa AG gadījumā – par 1,37 punktiem. Biežās alēles homozigotā genotipa gadījumā šis palielinājums būtu tikai 0,15 punkti, ja regresijas modelis būtu bijis nozīmīgs.

Sadalot pacientus pēc slimības ilguma un nosakot mSASSS lielumu atkarībā no *IRF5* rs10954213 genotipa, noteicām, ka pacientiem ar slimības ilgumu līdz 15 gadiem (ieskaitot) mSASSS rādītājs (analizēts pēc mediānas) statistiski ticami neatšķīrās starp grupām ($p = 0,95$). Pacientiem ar slimības periodu virs 15 gadiem mSASSS bija statistiski atšķirīgs ($p = 1,53 \times 10^{-2}$). Gan mSASSS mediāna, gan vidējais lielums bija lielāks pacientiem ar GG genotipu.



2.18. attēls. Slimības ilguma ietekme (lineārās regresijas analīze) uz mSASSS rādītāju ankilozejošā spondilīta pacientiem ar dažādiem *IRF5* rs10954213 genotipiem

Tātad, analizējot *IRF5* rs10954213, varējām secināt, ka retā alēle (gan homozigotā, gan heterozigotā genotipā) bija riska forma izteiktākam mSASSS palielinājumam līdz ar slimības perioda paildzināšanos par katru gadu.

2.6.3. Ankilozejošā spondilīta kandidātgēnu polimorfismu saistība un iespējamā ietekme uz TNF α inhibitoru terapijas efektivitāti

No 98 AS grupas izdalīta pacientu apakšgrupa, kuri lietoja kādu no TNF α inhibitoriem iekļaušanas laikā pētījumā vai uzsāka šo terapiju laika posmā līdz 2019. gada martam. Kopumā tika atlasīti 54 (55,10 %) pacienti. Šiem pacientiem novērtējām terapijas ar TNF α inhibitoru efektivitāti tās lietošanas pirmajā gadā, analizējot BASDAI un tā izmaiņas dinamikā.

Pacienti tika iedalīti divās grupās pēc terapijas efektivitātes: pozitīva (BASDAI < 4 vai BASDAI mazināšanās par divām vienībām no izejas datiem bez pasliktināšanās gada laikā) un negatīva (BASDAI mazināšanās mazāk nekā par divām vienībām no izejas datiem novērtējuma perioda beigās), kā arī pēc slimības aktivitātes gadu pēc medikamentu lietošanas: aktīva slimība (BASDAI ≥ 4) vai neaktīva slimība (BASDAI < 4). Attiecīgi starp izveidotajām grupām noteicām kandidātgēnu polimorfismu alēļu un genotipu sadalījumu.

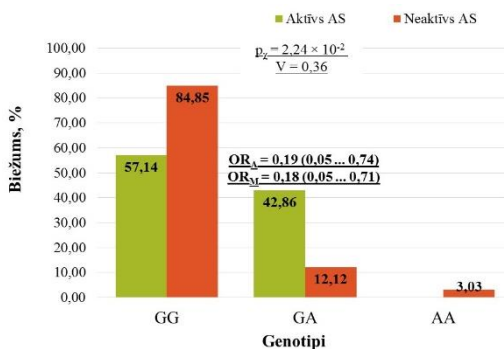
Starp TNF α inhibitoru pirmā gada terapijas lietotājiem 41 (75,93 %) pacientam bija vērojama terapijas efektivitāte, 13 (24,07 %) - definētais terapijas efekts netika novērots. Slimības aktivitāte pēc gada ilgas terapijas saglabājās 21 (38,89 %) pacientam, neaktīva slimība novērota 33 (61,11 %) pacientiem.

Pēc iegūto datu apstrādes konstatējām, ka analizētie kandidātgēnu SNPs statistiski ticami nebija saistīti ar TNF α inhibitoru definēto terapijas efektivitāti.

Analizējot alēļu un genotipu sadalījumu grupās atkarībā no BASDAI pēc TNF α inhibitoru gada terapijas, konstatējām, ka trīs gēnu *TNFA* rs1800629, *ERAP1* rs10050860 un *IL10* rs1800896 sadalījums alēļu vai genotipu līmenī bija statistiski ticami saistīts ar slimības aktivitāti.

TNFA rs1800629 gadījumā nevienam no pacientiem ar aktīvu slimību pēc gada ilgas terapijas netika konstatēta retā alēlē A, bet pacientiem ar neaktīvu slimību šī alēle tika konstatēta 9,09 % ($p = 4,44 \times 10^{-2}$ ($V = 0,19$)). OR nebija iespējams aprēķināt, jo kādā grupā nebija sastopama viena no alēlēm.

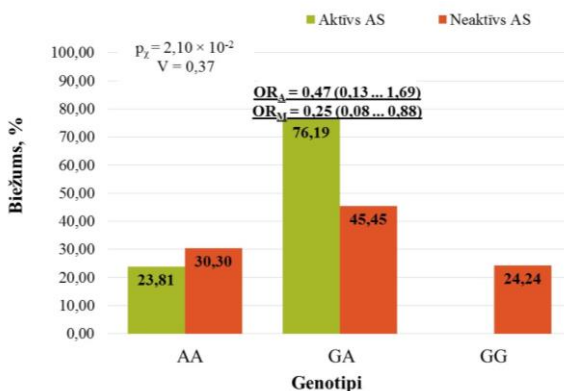
ERAP1 rs10050860 GG genotipu pacientiem ar neaktīvu slimības formu konstatējām 84,85 % gadījumos, bet pacientiem ar aktīvu slimības formu - 57,14 % ($p = 2,24 \times 10^{-2}$ ($V = 0,36$); sk. 2.19. att.). Šis genotips veicināja slimības pāreju neaktīvā formā TNF α inhibitoru terapijas pirmajā gadā ($OR_M = 4,20$ [1,16 ... 15,19]. GA genotips bija slimības aktivitātes uzturēšanu veicinošā forma ($OR_A = 0,19$ [0,05 ... 0,74]; $OR_M = 0,18$ [0,05 ... 0,71]).



2.19. attēls. **ERAP1 rs10050860** variācijas genotipu sadale ankilozejošā spondilīta (AS) pacientiem atkarībā no slimības aktivitātes pēc terapijas pirmā gada ar TNF α inhibitoriem

Stabiņi – genotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība.

IL10 rs1800896 saistību konstatējām genotipu sadalē ($p = 2,10 \times 10^{-2}$ ($V = 0,37$); sk. 2.20. att.). *GA* genotips veicināja slimības uzturēšanu aktīvā formā uz terapijas fona ($OR_A = 0,47 [0,13 \dots 1,69]$; $OR_M = 0,25 [0,08 \dots 0,88]$).

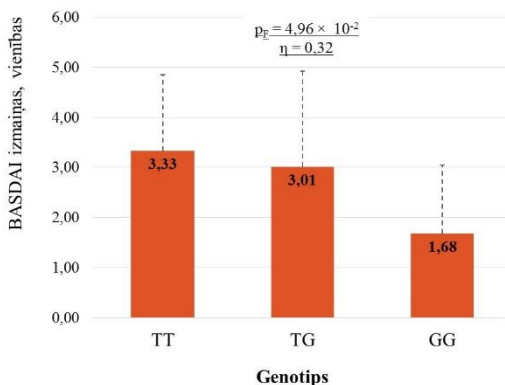


2.20. attēls. **IL10 rs1800896** variācijas genotipu sadale ankilozejošā spondilīta pacientiem atkarībā no slimības aktivitātes pēc terapijas pirmā gada ar TNF α inhibitoriem

Stabiņi – genotipa biežums grupā, p_x – atšķirību pēc kontingences tabulas statistiskā ticamība, V – Krāmēra V saistības koeficients, OR – izredžu attiecība.

Papildus konkrētās terapijas rezultātām analizējām genotipa ietekmi uz BASDAI izmaiņām pēc divpadsmit bSMARM terapijas mēnešiem, salīdzinot ar izejas datiem. Vidēji BASDAI pacientiem izmainījās par $2,87 \pm 1,77$ vienībām (par $0,48 \pm 0,31$ decimāldaļām) no sākotnējās vērtības (BASDAI 12. mēnesī / BASDAI pirms TNF α inhibitora terapijas uzsākšanas) ar intervālu no $-2,20$ līdz $6,40$ vienības jeb $-0,41$ līdz $0,96$ decimāldaļas.

Analizējot rezultātus par BASDAI izmaiņām, konstatējām, ka *IRF5* gēna rs3757385 (sk. 2.21. att.) retās alēles homozigotā genotipa *TT* pacientiem vidējā BASDAI izmaiņas 12 mēnešos bija statistiski nozīmīgi augstākas nekā pārējo divu genotipu gadījumā: $3,33 \pm 1,52$ vienības pret $1,68 \pm 1,37$ un $3,01 \pm 1,91$ vienības *GG* un *TG* genotipiem, attiecīgi ($p = 4,96 \times 10^{-2}$; $\eta = 0,32$). Apvienojot grupā genotipus ar reto alēli (*TG* un *TT*), ieguvām vidējo lielumu $3,14 \pm 1,75$ (44 pacienti) un, salīdzinot pret *GG* grupu, ieguvām datus ar izteiktāku statistisku atšķirību ($p = 1,69 \times 10^{-2}$), nemainoties koeficientam eta. Tādējādi noteicām, ka *IRF5* rs3757385 *T* alēle palielināja BASDAI izmaiņas 12 mēnešu griezumā.



2.21. attēls. BASDAI izmaiņas pēc pirmā terapijas gada ar TNF α inhibitoriem ankilozējošā spondilīta pacientiem atkarībā no *IRF5* rs3757385 variācijas genotipa

Stabiņš ar nogriezni – vidējais rādītājs ar standartnovirzi, p_F – ANOVA testa ticamība, η – eta saistības koeficients.

3. Diskusija

Pētījuma dati raksturo AS grupu, norādot par slimības ietekmes būtisku nozīmi dzīves kvalitātes veidošanā – augsta slimības aktivitāte lielākajai daļai pacientu ($\text{BASDAI} \geq 4$ ir 65,31 % pacientu; $\text{ASDAS}_{\text{CRP}} \geq 1,3$ ir 82,65 %) ar ikdienas aktivitāšu veikšanas traucējumiem ($\text{BASFI } 3,72 \pm 2,69$) un mugurkaula kustību ierobežojumiem ($\text{BASMI } 3,89 \pm 2,60$). Visi simptomi izpaužas relatīvi jauniem darbaspējīga vecuma cilvēkiem: pirmo simptomu parādīšanās vecums vidēji $26,33 \pm 6,82$ gadi. Pētījumā noteiktais pirmo simptomu parādīšanās vecums atbilst zinātnisko publikāciju datiem – 80 % AS pacientu pirmie simptomi izpaužas pirms 30 gadu vecuma (*Feldtkeller et al.*, 2000). Analizējot slimības izraisīto rīta stīvuma, muguras sāpju un nespēka izteiktību (0–10), šo pašnovērtējumu vidējie lielumi bija virs pieci (attiecīgi $5,46 \pm 3,16$, $5,55 \pm 2,94$ un $5,34 \pm 2,50$). Saskaņā ar zinātnisko publikāciju datiem sāpes, stīvums un nespēks ir visbiežākie AS pacientu ziņotie simptomi (*Schneeberger et al.*, 2014).

Raksturojot AS pacientu profilu, ir jāņem vērā, ka Reimatoģijas centra uzraudzībā nokļūst lielākoties pacienti ar aktīvu un progresējošu slimības gaitu.

AS pacientu grupā lielākā daļa pacientu bija vīrieši (91,84 %). Kaut gan šobrīd tiek uzskatīts, ka vīriešiem slimība sastopama tikai nedaudz biežāk nekā sievietēm (2:1), mūsu pētījuma pacientu sastāvs vairāk atbilst iepriekšējo gadu desmitu datiem, kur sastopamība bija 10:1 (*Rusman et al.*, 2018; *Taurog et al.*, 2016). Viens no izskaidrojumiem ir fakts, ka sievietēm strukturālās sakroileālo locītavu izmaiņas, vizualizējamas radiogrāfiski, attīstās vēlāk nekā vīriešiem, tādēļ sievietēm AS diagnoze netiek noteikta savlaicīgi (*Rusman et al.*, 2018).

Pētījumā vairāk nekā pusei pacientu novēroja perifēru artrītu (58,16 %) un aptuveni vienai trešdaļai pacientu uveītu (33,67 %), kas saskan ar publikāciju datiem par AS ārpusmugurkaula izpausmju biežumu (*de Winter et al.*, 2016).

Analizējot AS pacientu ar uveītu profilu, konstatējām, ka grupā ar uveītu bija ilgāka slimības norise, salīdzinot ar grupu bez uveīta (17 vs. 12 gadi).

Zinātnisko publikāciju dati liecina, ka SpA uveīta prevalence lineāri pieaug līdz ar slimības ilgumu pirmajos divdesmit slimības gados, tad tā sasniedz plato līmeni, tādējādi norādot, ka pēc divdesmit slimības gadiem tā attīstības turpmākais risks ir ļoti zems (*Zeboulon et al.*, 2008). Tas ir būtiski, domājot par iespējamo uveīta attīstības risku pacientiem ar AS pēc iekļaušanas pētījumā. Savukārt vienā no pēdējo gadu publikācijām, kur apkopoti Beļģijas aksiālā SpA kohortas dati, norādīts, ka akūta priekšējā uveīta risks palielinās par 30 % pēc katriem desmit slimības gadiem, to skaidrojot ar iespējamo kumulatīvā iekaisuma iedarbību (*Varkas et al.*, 2018).

Pētījumā pacientiem ar uveītu konstatēta zemāka slimības aktivitāte (ASDAS_{CRP}), salīdzinot ar pacientiem bez uveīta. Iespējams, to izskaidro uveīta spilgta klīniskā aina, kas liek pacientiem neatliekamā kārtā vērsties pēc medicīniskās palīdzības paasinājuma gadījumā un pievērst lielāku uzmanību slimības terapijai. Publikācijās ir norādes, ka AS pacientiem ar uveītu ir augstāka slimības aktivitāte (BASDAI) un izteiktāki funkcionālie traucējumi (BASFI) (*Raffaener et al.*, 2014).

Pacientiem ar perifēro artrītu konstatēts augstāks CRP līmenis salīdzinājumā ar pacientiem bez perifērā artrīta (21,86 vs. 8,85 mg/L). CRP ir prognostiskais faktors AS strukturālā bojājuma progresijai, analizējot galvenokārt mugurkaulā norītošās izmaiņas (*Braun et al.*, 2016). Jāatzīmē, ka atsevišķos pētījumos konstatēts, ka pacientiem ar perifēro artrītu ir mazākas strukturālas mugurkaula izmaiņas, salīdzinot ar pacientiem bez perifērā artrīta (*Kim et al.*, 2014). Šie rezultāti liecina par nepieciešamību vērtēt CRP strukturālā bojājuma prognostisko nozīmi atkarībā no slimības fenotipa. Otra statistiski ticama atšķirība, salīdzinot pacientus ar un bez perifērā artrīta, iegūta, vērtējot locītavu sāpju pašnovērtējuma lielumu, kas bija augstāks pacientiem ar perifēro artrītu (4,54 vs. 1,83). Šajā gadījumā ir būtiski ņemt vērā, ka locītavu sāpes rada gan iekaisums, gan iekaisuma radītās strukturālās izmaiņas – deformācijas neatkarīgi no iekaisuma esības vērtējuma laikā, kas daļēji izskaidro, kāpēc

pacienti ar perifēro artrītu un bez perifērā artrīta nav atšķirības AS aktivitātes vērtējumos.

Analizējot pacientu apakšgrupas ar uveītu un bez uveīta un pacientu apakšgrupas ar perifēro artrīta un bez šīs izpausmes, nenoteicām saistību starp uveīta un perifērā artrīta sastopamību. Dienvidkorejas SpA reģistra datu analīzē aprakstīta korelācija starp uveītu un gūžas locītavas iesaisti (*Kook et al.*, 2019). Veicot pētījumu datu salīdzinājumus, ir būtiski ņemt vērā, kā tiek klasificēta šīs lokalizācijas artrīta esība – kā aksiālās vai perifērās AS formas izpausme.

Pētījumā mēs nekonstatējām mugurkaula strukturālā bojājuma (mSASSS) statistiski ticamu atšķirību, pacientus iedalot atkarībā no uveīta vai perifērā artrīta esības. Līdzīgi dati iegūti Dienvidkorejas SpA reģistra datu analīzē, kur netika konstatēta saistība starp AS uveīta esību un mSASSS progresiju piecu gadu novērtējumā (*Kook et al.*, 2019). Savukārt šī reģistra dati liecina, ka AS pacientiem ar perifēro artrītu ir zemāks mSASSS, salīdzinot ar pacientiem bez perifērā artrīta 2,7 gadus ilgā novērojumā (*Kim et al.*, 2014), kas ir pretrunā ar mūsu pētījuma datiem.

Sadalot pacientus četrās grupās atkarībā no perifērā artrīta un/vai uveīta esības, ieguvām datus par statistiski nozīmīgu atšķirību četriem parametriem: slimības ilgumam, aktivitātes vērtējumam pēc CRP un ASDAS_{CRP} un locītavu sāpju pašnovērtējumam, kur visaugstākie vidējie rezultāti bija grupā ar uveītu un perifēro artrītu, bet viszemākie rādītāji grupā ar uveītu. Šie pētījuma rezultāti apliecina kumulatīva iekaisuma nozīmi slimības norisē, kā arī tā strukturāli radīto izmaiņu ietekmi, vērtējot sāpju līmeni perifērā artrīta gadījumā.

Šobrīd turpinās daudzpusīgi dažādu AS populāciju ģenētiskie pētījumi, t. sk. ne HLA kandidātģēnu noteikšana (*Brown et al.*, 2016; *Schiotis et al.*, 2013). Tomēr arī šo pētījumu rezultāti nesniedz pilnīgu atbildi par AS etiopatogēnēzi, tādējādi aktualizējot nepieciešamību turpināt tās izzināšanu.

Saistībā ar AS un ģenētisko aspektu novērtējumu, mūsu pētījumā, analizējot astoņu ģēnu polimorfismu alēles, genotipus un to haplotipus,

izvirzījām **trīs būtiskus jautājumus** par: 1) kandidātgēnu polimorfismu saistību ar pašu slimību; 2) kandidātgēnu polimorfismu saistību ar dažādām fenotipiskām izpausmēm, t. sk. uveīta un/vai perifērā artrīta kā biežāko ārpusmugurkaula izpausmju attīstības risku; 3) kandidātgēnu polimorfismu izmantošanas iespēju biomarkķieru lomā terapijas (TNF α inhibitoru) efektivitātes prognozēšanā un mugurkaula strukturālā bojājuma progresijas (tās ātruma) noteikšanā.

Atbildot uz **pirmo izvirzīto jautājumu** par kandidātgēnu saistību ar AS, pētījuma rezultātā trijiem no astoņiem gēniem ieguvām datus par statistiski ticamu saistību: *CD40* rs4810485, *TNFA* rs1800629, *PTPN22* rs2476601.

Analizējot TNF saimes signālu ceļu, kā viens no mazāk pētītiem gēniem saistībā ar AS bija izvēlēts **CD40** gēns. Šis gēns ir plaši pētīts dažādu autoimūno, t. sk. reimatisko, slimību gadījumā. Šobrīd *CD40* rs4810485 G/T polimorfisms, kas ietekmē CD40 ekspresiju uz šūnas virsmas, ir viens no plaši analizētajiem polimorfismiem saistībā ar RA un SSV (*Lee et al.*, 2015; *Raychaudhuri et al.*, 2008). Līdz šim nav veikti pētījumi tā asociācijas noteikšanai ar AS. Saskaņā ar *NCBI dbSNP* Eiropas izcelsmes populācijā *CD40* rs4810485 biežākā ir G alēle un GG genotips, kas novērojams arī mūsu pētījuma kontroles grupā.

Pētījumā noteicām *CD40* rs4810485 polimorfisma saistību ar AS: GT, TT genotipi un retā T alēle bija asociēti ar paaugstinātu risku, bet homozigotais GG genotips bija aizsargājoša forma.

Otrs gēns, kas saistīts ar TNF saimes signālu ceļu un pēc mūsu pētījuma datiem ar AS, ir **TNFA**. Šī gēna rs1800629 G/A polimorfisms ietekmē TNF α sintēzi (*Bayley et al.*, 2004). Alēļu sadalījuma analizē AS un kontroles grupā konstatējām, ka retā alēle abās grupās bija A, kas atbilst Eiropas populācijas datiem (*NCBI dbSNP*).

Pēc mūsu pētījuma datiem šī gēna rs1800896 polimorfisma retā alēle A un AA genotips ir aizsargājošās formas. Līdzīgi dati par A alēles aizsargājošo lomu ir atrodami Bulgārijas AS pacientu grupas pētījumā (*Manolova et al.*, 2014).

Analizējot abu TNF saimes gēnu SNPs veidotos haplotipus, konstatējām, ka haplotips *AG*, ko veido *TNFA* rs1800629 retā alēle *A* un *CD40* rs4810485 biežā alēle *G*, ir no slimības aizsargājošs haplotips. Tādējādi mūsu pētījuma dati par abu gēnu iesaisti AS attīstībā apliecina TNF signālu ceļa nozīmi slimības patoģenēzē.

Ir atsevišķu pētījumu rezultāti gan par Ķīnas AS pacientu (*Ma et al.*, 2017; *Sun et al.*, 2013), gan Eiropas izcelsmes AS pacientu datiem (metaanalīzes dati) (*Lee, Song*, 2009), kur netika iegūts apstiprinājums šī polimorfisma saistībai ar AS, kas ir atšķirīgi no mūsu pētījuma rezultātiem. Ir arī publikāciju dati, kas apstiprina mūsu rezultātus par *TNFA* rs1800629 saistību ar AS, piemēram, Bulgārijas (*Manolova et al.*, 2014), Norvēģijas (*Nossent et al.*, 2014), Dānijas (*Sode et al.*, 2018) AS pacientu pētījumu dati.

Kaut gan var pastāvēt analizētā polimorfisma saistība ar slimību, tas neizslēdz atšķirības genotipu sadalījumā. Piemēram, Brazīlijas AS pacientu pētījumā iegūti dati, ka *AA* un *GA* genotipi ir saistīti ar AS un *SpA* kopumā attīstības risku (*Rocha Loures et al.*, 2018), kas ir pretēji mūsu pētījuma rezultātiem, kur *AA* genotipam ir aizsargājošā forma. Turklāt mūsu pētījuma ietvaros ne kontroles, ne AS grupā netika konstatēts heterozigotais genotips. Minētās atšķirības, kas, iespējams, saistāmas ar dažādas izcelsmes populāciju analīzi, pētījumu kritērijiem, paraugu skaita utt., liecina par AS dažādu ģeogrāfisko reģionu ģenētisko aspektu pētījumu aktualitāti.

PTPN22 ir trešais gēns, kas saistīts ar AS, pārstāvējot tā saucamo TNF α , T limfocītu un dendrītisko šūnu signālu mijiedarbības ceļu, kas ir būtisks imūnsistēmas šūnu homeostāzes uzturēšanā. Saskaņā ar mūsu pētījuma datiem *PTPN22* rs2476601 *C/T* polimorfisma retā alēle bija *T*, kas atbilst Eiropas izcelsmes populācijas datiem (*1000 Genomes Project*). Retā *T* alēle AS grupā bija sastopama nedaudz biežāk (32,65 vs. 22,73 %), salīdzinot ar kontroles grupu, tādējādi uzrādot riska alēles tendences, bet bez klīniskā nozīmīguma. Analizējot genotipu sadalījumu, statistiski ticama atšķirība mūsu pētījumā netika iegūta.

Salīdzinot retās *T* alēles frekvenci Eiropas populācijā kopumā un mūsu pētījuma kontroles grupā, ir jāatzīmē, ka kontroles grupā šī alēle sastopama biežāk (vidēji par 13 %) (MAF (*minor allele frequency*; retās alēles sastopamība) Eiropā – 0,094 (*NCBI dbSNP, 1000 Genomes Project*); MAF kontroles grupā – 0,227). Saskaņā ar publikāciju datiem konstatēta *T* alēles sastopamības mazināšanās Eiropas izcelsmes indivīdiem virzienā no Eiropas ziemeļiem uz dienvidiem (*Tizaoui et al.*, 2019). Āfrikas vai Āzijas populācijā šī alēle nav sastopama (*NCBI dbSNP, 1000 Genomes Project*).

Šis gēns tiek plaši pētīts autoimūno un ar autoimunitāti saistīto slimību ietvaros (piemēram, RA, SSV, juvenīlā idiopātiskā artrīta utt.) (*Tizaoui et al.*, 2019). Publikāciju skaits par *PTPN22* rs2476601 polimorfisma saistību ar AS ir ļoti mazs. 2019. gadā publicēts sistemātiskais pārskats, kurā nav apstiprināti dati par tā saistību ar AS (*Tizaoui et al.*, 2019). Savukārt Dānijas AS pacientu dati liecina par *PTPN22* (rs2476601) 1858 C > T (*TT* vai *CT* vs. *CC*) aizsargājošo lomu, to skaidrojot ar iespējamo TNF α līmeņa mazināšanu asinīs (*Sode et al.*, 2018).

Apkopojot datus atbildei uz pirmo izvirzīto jautājumu, mūsu pētījumā saistību ar slimību kopumā konstatējām triju gēnu SNPs: *TNFA* rs1800629 ar riska alēli *G*, *CD40* rs4810485 ar riska alēli *T* un *PTPN22* rs2476601 ar riska alēli *T*. Šo gēnu polimorfismu riska alēļu veidotais haplotips *GTT* palielināja iespējamību saslimt ar AS vairāk kā 3,5 reizes. Kopumā datu analīzē konstatējām, ka trīs haplotipu formas bija riska formas (*GTT*, *GTC*, *GGT*) un trīs formas bija no AS aizsargājošas (*GGC*, *AGC*, *AGT*). Ar visaugstāko aizsargājošo līmeni bija haplotips *AGT*, kas samazināja iespējamību saslimt aptuveni 4,5–5,6 reizes.

Būtiski atzīmēt, ka visu trīs riska formu gadījumā *TNFA* rs1800629 lokusā bija riska alēle *G* un visu trīs no slimības aizsargājošo haplotipu gadījumā *CD40* rs4810485 lokusā bija aizsargājošā alēle *G*, tādējādi apliecinot tieši TNF

saimes proteīnu lomu AS patoģenēzē. Zinātniskajās publikācijās līdz šim nav atrodami dati par *TNFA* un *CD40* gēnu SNPs haplotipu analīzi AS gadījumā.

Mūsu izpētes **otrais jautājums** bija par izvēlēto kandidātģēnu SNPs saistību ar AS biežākajām ārpusmugurkaula izpausmēm – uveītu un perifēro artrītu. Analizējot astoņu kandidātģēnu polimorfismu saistību ar AS uveītu un perifēro artrītu, konstatējām četru gēnu (*IL10*, *TGFβ1*, *IRF5* un *ERAP1*) polimorfismu saistību ar uveītu un/vai perifēro artrītu. Jāatzīmē, ka mūsu pētījumā nevienam no šo gēnu polimorfismiem nebija noteikta saistība ar AS.

IL10 rs1800896 *G/A* polimorfisma retā alēle *G*, kas atbilst retās alēles biežumam Eiropā (*NCBI dbSNP*, *1000 Genomes Project*), bija aizsargājoša no uveīta attīstības: grupā ar uveītu šī alēle bija sastopama par 21 % retāk, salīdzinot ar grupu bez uveīta (31,82 vs. 53,08 %). Minēto saistību novērojām arī genotipu sadalījumā: *GG* genotips bija aizsargājošais no uveīta ar klīnisku nozīmi. *AA* genotipa risks uveīta attīstībai bija klīniski nozīmīgs. Savukārt heterozigotais genotips bija ar līdzīgu sastopamības biežumu AS grupās ar uveītu un bez uveīta.

Vēl viens rezultāts, kas apliecināja *IL10* rs1800896 *G* alēles nozīmi AS uveīta gadījumā, bija četru AS pacientu apakšgrupu (ar uveītu un/vai perifēro artrītu) analīze. Šajā analīzē ieguvām datus, ka alēļu sadalījums visās grupās bija statistiski nozīmīgi atšķirīgs ar visretāko *G* alēles sastopamību tieši uveīta grupā, salīdzinot ar pārējām pacientu grupām un kontroles grupu. Šis polimorfisms ir plaši pētīts citu slimību gadījumā, piemēram, RA gadījumā (*de Paz et al.*, 2010), bet līdz šim nav aprakstīta *IL10* rs1800896 *G/A* polimorfisma saistība ar uveītu AS gadījumā.

Analizējot *IL10* rs1800896 (*G* alēle) un *TGFβ1* rs1800469, rs1800470 haplotipus, ieguvām datus par trīs haplotipiem, kas aizsargā no uveīta attīstības (*GCC*, *GTC* un *GCT*), savukārt ceturtais haplotips *GTT* bija riska forma AS pacientiem gan uveīta, gan perifērā artrīta attīstībā, gan otrās izpausmes attīstībā pacientiem ar uveīta vai perifērā artrīta izejas datiem. Turklāt šis haplotips, to

analizējot tikai saistībā ar uveītu, nebija ar izteikti augstu OR vērtību, tādējādi norādot, ka nozīme bija tieši abu izpausmju gadījumā.

Minētie rezultāti iezīmē divus aspektus: pirmkārt, *IL10* rs180096 G alēles no uveīta aizsargājošo nozīmi, otrkārt, gēnu mijiedarbības nozīmi, tādējādi palielinot vai mazinot katra gēna individuālās riska izpausmes.

Otrs gēns, kuram konstatējām saistību ar AS uveītu, bija ***IRF5***. Analizējot šī gēna triju SNPs (rs10954213, rs2004640, rs3757385) saistību ar AS un tā ārpusmugurkaula izpausmēm, noteicām saistību tikai vienam SNP (rs3757385) genotipa līmenī un tikai ar uveītu. Šajā gadījumā *GT* genotipam bija riska forma ar aprēķināto klīnisko nozīmi. Tikmēr biežās alēles, kas ir biežā alēle arī Eiropas populācijā (*NCBI dbSNP*, *1000 Genomes Project*), homozigotā genotipa (*GG*) aizsargājošā forma bija klīniskā nozīmīguma līmenī.

Pārskatot *NCBI dbSNP* zinātniskās publikācijas līdz 2019. gada vidum par šo SNP, neviena no tām nav saistīta ar AS vai uveītu AS gadījumā. Līdz ar to mūsu pētījumā iegūtie dati ir novitāte AS uveīta izpētē.

Apvienojot visu trīs *IRF5* SNPs datus haplotipu veidošanā (rs10954213 / rs2004640 / rs3757385), konstatējām statistiski ticamu saistību starp haplotipu sadali un uveītu. Par uveīta riska haplotipu varējām uzskatīt biežāk sastopamo haplotipu *GTT*, kas bija veidots no SNPs retajām alēlēm. Savukārt par aizsargājošiem haplotipiem uzskatījām divus: *GGG*, kas bija sastopams tikai pacientiem bez uveīta (7,69 %), un *AGG*, kas bija sastopams 18,18 % pacientu ar uveītu un 30,00 % pacientu bez uveīta. Turklāt arī citu pētījumu dati (piemēram, par sistēmas sklerozi) liecina, ka šo *IRF5* SNPs haplotipu analīze ir informatīvāka, salīdzinot ar individuālā SNP analīzi (*Dieude et al.*, 2010).

Nemot vērā, ka pētījumā ar uveītu statistiski ticama saistība konstatēta divu gēnu divu SNPs gadījumos *IRF5* rs3757385 ar iespējamu (saistība tikai genotipu līmenī) riska alēli *T* un *IL10* rs1800896 ar riska alēli *A*, analizējām šo divu gēnu SNPs haplotipu saistību ar AS uveītu. Veicot datu analīzi, konstatējām, ka haplotips *TA* ar abu lokusu riska alēlēm bija ar augstu, bet ne klīniski nozīmīgu

izredžu attiecību. Savukārt GG haplotips bija aizsargājošā forma ar vislielāko klīnisko nozīmi. Minētie dati liecina, ka uveīta attīstības riska analīzē pacientiem ar AS ir būtiski iekļaut viena gēna vairākus SNPs vai vairāku ar uveītu saistīto gēnu SNPs, veidojot haplotipus.

Analizējot izvēlēto AS kandidātģēnu saistību ar perifēro artrītu, konstatējām saistību diviem gēniem: *TGFβ1* rs1800469 alēļu sadalījumā un *ERAP1* rs10050860 genotipu sadalījumā.

TGFβ1 rs1800469 polimorfismam pētījumā noteikta saistība ar perifēro artrītu AS gadījumā alēļu sadalījumā. Kontroles grupas retā alēle bija C (MAF 0,442), kas ir atšķirīgi no Eiropas populācijas datiem, kur retā alēle ir T (MAF 0,312) (*NCBI dbSNP, 1000 Genomes Project*). Biežā T alēle bija riska forma perifērā artrīta attīstībai AS pacientiem. Līdzīgi dati par alēļu sastopamības biežumu kontroles grupai ir ziņoti par Austrumāzijas populāciju, kur C alēles MAF ir 0,453 (*NCBI dbSNP, 1000 Genomes Project*).

Viens no jautājumiem, analizējot *TGFβ1* lomu AS patoģenēzē, ir šī citokīna iespējamā saistība ar osifikācijas procesu, kas ir AS patoģenēzes sastāvdaļa (*Eftekhari et al., 2018; Jaakkola et al., 2004*). Pārskatot *NCBI dbSNP* (27.07.2019.), kur minētas 173 publikācijas, nav atrodamas zinātniskās publikācijas par *TGFβ1* rs1800469 polimorfismu AS kontekstā. Līdz ar to mūsu pētījuma dati par šī polimorfisma saistību ar AS perifēro artrītu ir novitāte.

ERAP1 ir otrs gēns, kura vienam no SNPs (rs10050860) noteicām saistību ar AS perifēro artrītu genotipu līmenī. Šī polimorfisma alēļu biežuma sadalījums mūsu pētījuma kontroles grupā līdzīgs Eiropas populācijas datiem (*NCBI dbSNP, 1000 Genomes Project*). Pētījumā AS pacientiem ar perifēro artrītu nekonstatējām retās alēles homozigoto formu (AA), to noteicām diviem (4,88 %) pacientiem bez šīs pazīmes. Tādējādi AA genotipu uzskatījām par aizsargājošo formu, bet kā riska genotipu, turklāt ar klīnisku nozīmi, varējām atzīmēt heterozigoto (GA) formu. Biežās alēles homozigoto formu (GG) arī noteicām kā aizsargājošo genotipu. Šajā gadījumā *ERAP1* rs10050860

polimorfisma alēles darbojas pēc nepilnīga dominantā modeļa, kad abas alēles ir vienlīdzīgi svarīgas un ir būtiska to mijiedarbība.

ERAP1 rs10050860 heterozigotā genotipa saistību tieši ar perifēro artrītu apliecina arī SNP visu genotipu sadalījuma pēc abu izpausmju esības analīze: heterozigotā genotipa forma pacientiem tikai ar perifēro artrītu bija ievērojami biežāk konstatēta, salīdzinot ar pārējo apakšgrupu pacientiem, turklāt vairāk kā piecas reizes, salīdzinot ar apakšgrupu bez uveīta un perifērā artrīta (39,20 vs. 7,84 %). Nosakot heterozigotās formas klīnisko nozīmi, vislielākā klīniskā nozīme bija tieši saistībā tikai ar perifēro artrītu un abu ārpusmugurkaula izpausmju gadījumā.

Uzsākot diskusiju par *ERAP1* nozīmi AS kontekstā, ir jāatzīmē, ka šī gēna saistības ar AS atklāšana ir viens no lielākajiem GWAS pētījumu ieguvumiem, to identificējot kā otru gēnu pēc *HLA-B*27* (WTCCC *et al.*, 2007). Tas ir liels solis uz priekšu AS patoģenēzes izzināšanā, aktualizējot aminoskābju lomu AS kontekstā (Kenna, Brown, 2013). Tā polimorfismu (t. sk. rs10050860, rs30187, rs26653) saistību ar AS dažādās populācijās apliecina turpmākie ģenētiskie pētījumi, bet dati ir pretrunīgi (Hanson *et al.*, 2019; Yao *et al.*, 2019).

Ungārijas AS pacientu pētījumā tika noteikta *ERAP1* rs10050860 SNP saistība ar AS, bet saistību ar perifēro artrītu AS gadījumā nekonstatēja (Pazar *et al.*, 2009). Citos mums pieejamos pētījumos NCBI dbSNP šī polimorfisma saistība ar AS perifēro artrītu nav analizēta.

Publikācijās ir norādes par to, ka *ERAP1* saistība ar AS ir vairāk attiecināma uz biežākajiem genotipiem, salīdzinot ar reto haplotipu kombinācijām (Li, Brown, 2017). Pētījumā, izvērtējot visu triju SNPs veidotos haplotipus, nekonstatējām saistību ar AS vai kādu no AS analizētajām ārpusmugurkaula izpausmēm.

Pētījumā, analizējot AS grupu saistībā ar perifēro artrītu, statistiski ticamu saistību konstatējām divu SNPs gadījumos: *TGFB1* rs1800469 ar riska alēli *T* un *ERAP1* rs10050860 ar riska genotipu *GA* (abi homozigotie genotipi bija ar

aizsargājošo efektu). Analizējot konkrēto divu lokusu haplotipu sadali AS pacientiem ar un bez perifērā artrīta, ieguvām datus, ka biežumu atšķirības starp grupām nebija statistiski nozīmīgas. Iespējams, tāpēc, ka *ERAP1* rs10050860 gadījumā saistībai ar AS perifēro artrītu nozīme bija genotipu, nevis alēļu līmenī, turklāt tieši heterozigotā forma (abu alēļu mijiedarbība) bija riska forma.

Apvienojot uveīta un perifērā artrīta grupu saistīto SNPs lokusus vienotā haplotipā, izmantojām *IRF5* rs3757385, *ERAP1* rs10050860, *IL10* rs1800896 un *TGFβ1* rs1800469 analīzes datus par saistību ar AS uveītu un/vai perifēro artrītu. Analizējot biežo haplotipu sadali četrās AS pacientu grupās, konstatējām, ka biežumu atšķirība nebija statistiski nozīmīga. Tātad visi četri lokusi kopumā nebija saistāmi ar uveītu un/vai perifēro artrītu. Minētie dati liecina, ka ģenētisko aspektu izpētē un rezultātu analīzē ir būtisks ne tikai noteikta gēna konkrētā SNP polimorfisms, bet dažādu gēnu SNPs iekļaušana analīzē, tādējādi precizējot viena gēna SNP saistības ar kādu no pazīmēm nozīmi citu gēnu SNPs polimorfismu kontekstā un veidojot precīzākas slimības ģenētiskā riska kartes.

Pētījumu skaits par AS kandidātģēnu polimorfismu saistību ar AS perifēro artrītu vai uveītu ir mazs. Līdzīgi mūsu pētījuma datiem, arī Vācijas AS pacientu izpētē netika iegūti dati par *TNFA* rs1800629 polimorfisma saistību ar perifēro artrītu vai uveītu (*Podubnyy et al.*, 2011). Savukārt Norvēģijas AS pacientu pētījumā *TNFA* rs1800629 A alēles esība genotipā samazināja uveīta risku (*Nossent et al.*, 2014).

Pētījumā analizējām vēl kādu gēnu, kas ir otrs nozīmīgais ne-MHC gēns saistībā ar AS – *IL23R*. Šis gēns, kura saistība ar AS atklāta GWAS rezultātā 2007. gadā, kodē IL-23 receptoru (*IL23R*), tādējādi ietekmējot IL-23/IL-17 signālu ceļu (*Costantino et al.*, 2018; *WTCCC et al.*, 2007). Pētījuma ietvaros analizējām *IL23R* triju SNPs – rs10889677, rs11209026, rs2201841 – saistību ar AS. Pētījumā nekonstatējām šo triju *IL23R* polimorfismu saistību ar AS, kas uzrāda šādu saistību Eiropas izcelsmes populācijās saskaņā ar vairāku zinātnisko publikāciju datiem. Šo nesakritību, iespējams, varam daļēji skaidrot ar

salīdzinoši nelielu pētījumā iekļauto indivīdu skaitu. Vēl viens no izskaidrojumiem ir saistāms ar iespējamām etniskām atšķirībām.

Mūsu pētījuma **trešais izvirzītais jautājums** bija saistīts ar izvēlēto biomarkieru noteikšanu AS gaitas un TNF α inhibitoru terapijas efektivitātes prognozēšanai.

Lai atbildētu uz šo jautājumu, pētījuma ietvaros analizējām piecus aspektus par kandidātgēnu polimorfismu ietekmi uz: 1) pirmo simptomu parādīšanās vecumu; 2) strukturālā bojājuma progresiju, noteiktu pēc mSASSS, atkarībā no slimības ilguma; 3) TNF α inhibitoru lietošanas efektivitāti terapijas pirmā gada laikā; 4) TNF α inhibitoru lietošanas ietekmi uz slimības pāreju neaktīvā formā, vērtējot pēc BASDAI, terapijas pirmā gada laikā; 5) slimības aktivitātes vērtējuma (BASDAI) tendencēm TNF α inhibitoru lietošanas pirmā gada laikā.

Uzsākot diskusiju par šiem pieciem aspektiem, ir jākonstatē, ka pētījumu skaits par tiem (kā galvenajiem jautājumiem, kas būtu minēti publikāciju virsrakstos un/vai pētījuma mērķos) ir salīdzinoši mazs gan AS ģenētisko aspektu kopumā, gan mūsu izvēlēto AS kandidātgēnu kontekstā, tādēļ mūsu pētījuma kandidātgēnu polimorfismu datu salīdzinājumu veicām, analizējot mums pieejamo zinātnisko publikāciju ietvaros pētījumu aprakstu datus.

Pirmo AS simptomu parādīšanās vecums ir viens no riska faktoriem progresējošai slimības gaitai – jo agrīnāks ir pirmo simptomu parādīšanās vecums, jo agresīvāka slimības gaita (*Amor et al.*, 1994; *Pradeep et al.*, 2008). Tomēr ir publikācijas, kas liecina, ka agrīns vecums pats par sevi neietekmē slimības radīto strukturālo bojājumu, kā arī slimības aktivitāti un ārpusmugurkaula izpausmes (*Brophy, Calin*, 2000).

Pētījumā, analizējot genotipu sadalījumu, neviens no 15 SNPs statistiski ticami neietekmēja AS pirmo simptomu parādīšanās vecumu. Tas sasaucas ar Portugāles AS pacientu pētījuma datiem par *IL23R* rs10889677, rs11209026 un *ERAP1* rs30187 polimorfismu saistības trūkumu ar pirmo simptomu vecumu

(Pimentel-Santos *et al.*, 2009). Līdzīgi rezultāti iegūti, analizējot *TGFβ1* rs1800469 polimorfisma nozīmi somu un angļu ģimenēs (Jaakkola *et al.*, 2004) un *TNFA* rs1800629 polimorfismu Norvēģijas (Nossent *et al.*, 2014) un Vācijas pētījumos ar AS pacientiem (Podubnyy *et al.*, 2011).

Savukārt Francijas AS pacientu datu analīzē *IL23R* rs11209026 polimorfisma aizsargājošā A alēle bija retāk sastopama pacientiem ar agrīnu pirmo simptomu parādīšanās vecumu (Kadi *et al.*, 2013). Bulgārijas AS pacientu datu analīzē konstatēja *TNFA* rs1800629 A alēles ietekmi, novēršot agrīnu slimības izpausmi (Manolova *et al.*, 2014). Zinātniskajās publikācijās nav aprakstīti pētījumu dati, kas ietvertu pārējo kandidātgēnu analizēto SNPs saistību ar AS pirmo simptomu parādīšanās vecumu.

Izvērtējot slimības gaitas prognozi pēc strukturālā bojājuma progresijas, vērtējām RTG mugurkaula kakla un jostas daļas izmaiņas (mSASSS) un to saistību ar slimības ilgumu. Analīzes rezultātā ieguvām datus tikai par viena gēna noteikta polimorfisma, t. i., *IRF5* rs10954213, saistību ar strukturālo progresiju atkarībā no slimības ilguma.

IRF5 rs10954213 retā alēle G gan GG, gan GA genotipa ietvaros bija riska forma izteiktākam mSASSS palielinājumam līdz ar katru slimības gadu (GG gadījumā katrs nākamais slimības gads 40,49 % gadījumos palielināja mSASSS par 1,72 punktiem, AG gadījumā – par 1,37 punktiem), salīdzinot ar biežās A alēles ietekmi.

Veiktā pētījuma dati ir pretēji tam, par ko liecina RA pētījumu rezultāti, kur biežā A alēle ir riska forma (Liu *et al.*, 2013). Protams, ir jāņem vērā, ka RA ir patogēnētiski un līdz ar to klīniski atšķirīga slimība, salīdzinot ar AS. Tomēr, iespējams, ka šajā rezultātu atšķirībā atkal tiek aktualizēts jautājums par iekaisuma un strukturālā bojājuma (erozīvā bojājuma ar osteoprolifērāciju) saistību AS patogēnēzē – vai šīs norises ir viena procesa divas secīgas sastāvdaļas vai arī tie ir divi dažādi procesi? Analizējot publikāciju datus, šobrīd nav pētījumu par šī polimorfisma, *IRF5* saistību ar AS vai AS mugurkaula strukturālā

bojājuma progresiju. Publikāciju skaits par AS strukturālās progresijas riska saistību ar ģenētiskiem aspektiem kopumā ir mazs, turklāt tas ir niecīgs par mūsu pētījumā izvēlētajiem kandidātgēniem. Novērtējot šo kandidātgēnu SNPs iespējamo saistību ar strukturālo bojājumu AS vai SpA kontekstā pēc publikāciju datiem, ir jāatzīmē Kadī (*Kadi*) un līdzautoru iegūtie rezultāti, analizējot Francijas SpA pacientiem, t. sk. AS, asociāciju ar *IL23R* rs11209026 (*Kadi et al.*, 2013). Ņemot vērā šī SNP A alēles saistību ar strukturālā bojājuma riska mazinošo efektu un agrīnu vecumu AS izpausmei, Francijas SpA pacientu grupas izpētes autori uzskata, ka šim polimorfismam, iespējams, ir lielāka ietekme uz slimības norises smagumu, nevis tās attīstības risku.

Pētījuma dati sakrīt ar Portugāles AS pacientu ģenētisko aspektu analīzi, kur arī netika noteikta saistība starp *IL23R* rs10889677, rs11209026, *ERAP1* rs30187 polimorfismiem un mSASSS (*Pimentel-Santos et al.*, 2009). Līdzīgi dati par saistības trūkumu starp *TNFA* rs1800629 polimorfismu mSASSS iegūti, analizējot Vācijas AS pacientu datus (*Poddubnyy et al.*, 2011).

Analizējot ģenētisko aspektu saistību ar TNF α inhibitoru terapijas efektiem, nevienam no kandidātgēnu polimorfismiem, t. sk. tiem gēniem, kuriem konstatējām saistību ar AS attīstības risku, nenoteicām ietekmi uz pētījumā definēto terapijas efektivitāti ar TNF α inhibitoriem.

Farmakogenomikas pētījumu skaits par AS patoģenēzē iesaistītajiem gēniem, lai analizētu polimorfismu atšķirības indivīdiem ar dažādu atbildes reakciju uz TNF α inhibitoru terapiju, ir niecīgs. Nesen publicētajā pētījumā par AS pacientiem līdzīgi mūsu pētījuma datiem netika konstatēta *IL10* rs1800896 A/G polimorfisma asociācija ar TNF α inhibitoru efektivitātes paredzēšanu (*Polo Y La Borda et al.*, 2019). Tas ir atšķirīgi no cita AS pētījuma, kur neefektīvas TNF α inhibitoru terapijas gadījumā noteikta riska alēle A (*Schiotis et al.*, 2013).

Pētījumā mēs nenoteicām *TNFA* rs1800629 G/A polimorfisma ietekmi uz TNF α inhibitoru terapijas pirmā gada definēto efektivitāti, kas atšķiras no datiem atsevišķās zinātniskajās publikācijās (*Nossent et al.*, 2014; *Whirl-Carillo et al.*,

2012). Ir publikācijas, kas saskan ar mūsu pētījuma datiem par saistības trūkumu (*Ma et al.*, 2017; *Manolova et al.*, 2014).

Gēnu polimorfismu saistība ar terapijas efektivitāti, kas mūsu skatījumā sastāv no triju apakšjautājumu novērtējuma (neaktīvas slimības jeb remisijas, uzlabošanās un slimības aktivitātes izmaiņu tendencēm), pētījumos parasti netiek analizēta, izdalot šos apakšjautājumus. Klīnista vērtējumā ir būtiska atšķirība starp definēto terapijas efektu, kas paredz noteiktu uzlabošanos jeb BASDAI starpību starp izejas datiem un novērtējumu dinamikā noteiktā laika periodā, un neaktīvu slimību, tādēļ pētījumā analizējām visus trīs aspektus.

TNFA rs1800629 G/A polimorfisms ir viens no trijiem AS kandidātģēniem, kam konstatējām saistību ar slimības pāreju neaktīvā formā terapijas pirmā gada laikā ar TNF α inhibitoriem alēļu līmenī. TNF α inhibitoru terapijas grupā reto A alēli nekonstatējām nevienam pacientam ar aktīvu slimību, to nosakot tikai pacientiem ar neaktīvu slimību. Minētie rezultāti netieši apliecina *TNFA* rs1800629 iespējamo lomu terapijas efektivitātes noteikšanā.

Pārējie divi gēni, kuriem noteicām saistību ar slimības pāreju neaktīvā formā terapijas pirmā gada laikā ar TNF α inhibitoriem, bija *ERAP1* (rs10050860) un *IL10* (rs1800896).

ERAP1 rs10050860 gadījumā saistību noteicām tikai genotipu sadalījumā: GG genotips veicināja slimības pāreju neaktīvā formā pirmajā gadā pēc TNF α inhibitoru terapijas uzsākšanas. Turklāt heterozigotā forma bija slimības aktivitātes uzturēšanu veicinošā forma.

IL10 rs1800896 polimorfismam saistību konstatējām tikai genotipu sadalījumā. Heterozigotais genotips GA ar klīnisku nozīmi veicināja slimības uzturēšanu aktīvā formā uz terapijas fona. Jāatzīmē, ka no vairāk nekā 300 publikācijām, kas minētas *NCBI dbSNP* datubāzē (17.07.2019.) par *IL10* rs1800896 polimorfismu, ir tikai viena publikācija par AS, kur iegūti dati par šī SNP (risks A alēle) kā vienu no prognostiskajiem indikatoriem terapijas ar

TNF α inhibitoriem neefektivitātei, kas vērtēta kā BASDAI uzlabošanās mazāk par 50 %, salīdzinot ar izejas datiem (Schiotis *et al.*, 2013).

Analizējot slimības aktivitātes novērtējuma izmaiņu tendences terapijas pirmajā gadā ar TNF α inhibitoriem, konstatējām nozīmi tikai viena gēna SNP – *IRF5* rs3757385. Šajā gadījumā retās alēles *T* esība genotipā palielināja BASDAI izmaiņas pirmā gada laikā ar TNF α inhibitoriem, veicinot tā vērtējuma samazināšanos. Tātad noteiktais genotips ļauj prognozēt BASDAI iespējamās samazināšanās lielumu, salīdzinot izejas datus pirms TNF α inhibitoru lietošanas uzsākšanas un pēc terapijas pirmā gada. Tas sniedz ieskatu slimības fenotipiskajā izpausmē konkrētam indivīdam, tādējādi prognozējot slimības gaitu.

Jebkuras slimības ģenētiskās kartes veidošana ir ļoti pakāpenisks un sarežģīts process, kas atkarīgs no daudziem faktoriem, t. sk. pētāmās populācijas etniskās piederības un ģeogrāfiskās lokalizācijas. Ģenētiskā riska skalas izveidošana AS gadījumā varētu veicināt agrīnu diagnostiku un mazināt tā novēlotu noteikšanu, kas vēl joprojām visā pasaule ir vidēji astoņi līdz desmit gadi. AS gaita ir ļoti daudzveidīga, tādēļ tās paredzēšana palīdzētu izvēlēties terapijas optimālo stratēģiju. Lai realizētu šo mērķi AS kontekstā, ir nepieciešami vairāku iespējamo patogēnētisko virzienu kandidātģēnu pētījumi, datus analizējot saskaņā ar klīniskās ainas aspektiem.

Mūsu pētījuma ierobežojumi bija saistīti ar salīdzinoši nelielu AS pacientu skaitu, kā arī strukturālā bojājuma novērtējuma trūkumu dinamikā, lai noteiktu precīzāku kandidātģēnu polimorfismu ietekmi. Kaut gan mūsu pētījuma dati par pacientu sadalījumu saistībā ar uveīta un perifērā artrīta sastopamību AS gadījumā atbilst zinātnisko publikāciju datiem, tomēr jāņem vērā, ka uveīts un perifērs artrīts ir AS izpausmes, kas var parādīties dzīves laikā, tādējādi mazinot to pacientu grupu, kam pētījuma ietvaros nebija šīs izmaiņas.

Secinājumi

1. Analizējot oriģināli izstrādātās ankilozējošā spondilīta (AS) anketas datus, ir raksturots AS pacientu profils, kā arī AS klīnisko izpausmju grupas:
 - vidējais AS pacients ir 39 gadus vecs vīrietis ar slimības pirmo simptomu parādīšanos vidēji 26 gadu vecumā, kuram ir aktīva slimība, mugurkaula kustību ierobežojumi, traucēta ikdienas aktivitāšu veikšana ar vidēji izteikta nespēka un muguras sāpju pašnovērtējumu un rentģenoloģiski vizualizējamām strukturālajām izmaiņām mugurkaula kakla un jostas daļā, kas korelē ar funkcionālo spēju un mugurkaula kustīguma novērtējumu;
 - AS pacientu grupā 58,16 % novēro perifēro artrītu un 33,67 % uveītu. Pacienti ar uveītu ir ilgāka slimības norise, salīdzinot ar pacientu grupu bez uveīta. Perifērā artrīta gadījumā ir augstāka slimības aktivitāte. Visaugstākie slimības aktivitātes rādītāji, locītavu sāpju pašnovērtējums, kā arī ilgāka slimības norise konstatēta pacientu grupā ar perifēro artrītu un uveītu.
2. Kandidātģēnu polimorfismi *CD40* rs4810485 ar aizsargājošo alēli *G* un genotipu *GG*, *TNFA* rs1800629 ar aizsargājošo alēli *A* un genotipu *AA* un *PTPN22* rs2476601 ar aizsargājošo alēli *C* ir saistīti ar AS.
3. Kandidātģēnu *TNFA* rs1800896 *G/A*, *CD40* rs4810485 *G/T* un *PTPN22* rs2476601 *C/T* polimorfismu kombināciju haplotipi ir saistīti ar AS:
 - visaugstākais aizsargājošais līmenis noteikts *AGT* haplotipam;
 - visaugstākā riska pakāpe konstatēta *GTT* haplotipam.
4. Četru kandidātģēnu polimorfismi ir saistīti ar AS ārpusmugurkaula izpausmēm - uveītu un/vai perifēro artrītu:
 - uveīta gadījumā: *IL10* rs1800896 ar riska *A* alēli un *AA* genotipu, *IRF5* rs3757385 ar riska *GT* genotipu;

- perifērā artrīta gadījumā: *TGFβ1* rs1800469 ar riska *T* alēli un *ERAP1* rs10050860 ar riska *GA* genotipu.
 - uveīta un perifērā artrīta gadījumā: *ERAP1* rs10050860 ar riska *GA* genotipu un *IL10* rs1800896 ar riska *A* alēli.
5. Vairāku kandidātģēnu polimorfismu kombināciju haplotipi ir saistīti ar AS uveītu un/vai perifēro artrītu.

Uveīta gadījumā saistība ir:

- *IRF5* rs10954213, rs2004640 un rs3757385 polimorfismu kombinācijai ar riska *GTT* haplotipu;
- *IL10* rs1800896, *TGFβ1* rs1800469 un 1800470 polimorfismu kombinācijai ar riska *GTT* un *ACT* haplotipiem;
- *IRF5* rs3757385 un *IL10* rs1800896 polimorfismu kombinācijai ar riska haplotipiem *TA* un *GA*.

Perifērā artrīta gadījumā saistība ir *IL10* rs1800896, *TGFβ1* rs1800469 un 1800470 polimorfismu kombinācijai ar riska *GTT* haplotipu un ar aizsargājošo *ACT* haplotipu uveīta gadījumā.

6. Vairāku kandidātģēnu polimorfismi ir saistīti ar darbā izvēlētajiem AS biomarkieriem (strukturāla bojājuma, noteiktu pēc mSASSS, progresiju atkarībā no slimības ilguma un slimības aktivitātes izmaiņām terapijas pirmā gada laikā ar TNFα inhibitoriem):
- *IRF5* rs10954213 retā *G* alēle gan homozigotā, gan heterozigotā genotipā ir saistīta ar AS mugurkaula strukturāla bojājuma progresiju atkarībā no slimības ilguma;
 - *TNFA* rs1800629 *A* alēle, *ERAP1* rs10050860 *GG* genotips un *IL10* rs1800896 *GA* genotips ir saistīts ar slimības pāreju neaktīvā formā TNFα inhibitoru lietošanas terapijas pirmā gada laikā.

- *IRF5* rs3757385 retās *T* alēles esība genotipā palielina BASDAI izmaiņas pirmā gada laikā ar $\text{TNF}\alpha$ inhibitoriem, veicinot tā vērtējuma samazināšanos.
7. Kandidātgēnu polimorfismu genotipi nav saistīti ar AS pirmo simptomu parādīšanās vecumu.

Pētījumā izvirzītā hipotēze tika apstiprināta: no 15 pētītajiem kandidātgēnu polimorfismiem septiņiem polimorfismiem tika noteikta saistība ar AS un/vai tā klīniskajām izpausmēm (uveītu un/vai perifēro artrītu), un/vai $\text{TNF}\alpha$ inhibitoru terapijas efektivitāti.

Rekomendācijas

Nemot vērā pētījumā iegūtos rezultātus, šobrīd nav iespējams sniegt praktiskās rekomendācijas klīniskajam darbam ar pacientiem, jo ir nepieciešams turpināt pētījumus (skat. turpmāk), lai pārbaudītu kandidātgēnu polimorfismus (t. i., kandidātgēnu polimorfismu saistību ar slimību, tās izpausmēm, slimības biomarķieriem) kā molekulāros marķierus izmantošanai klīniskajā praksē.

Minētās rekomendācijas turpmākiem pētījumiem ir paredzētas molekulāro biologu, ģenētiķu un reimatologu komandas darbam.

1. Pacientiem ar apstiprinātu AS veikt pētījumus šūnu un kandidātgēnu kodēto proteīnu līmenī, lai noteiktu kandidātgēnu polimorfismu (*ERAP1* rs10050860 *G/A*, *CD40* rs4810485 *G/T*, *IL10* rs1800896 *A/G*, *TGFβ1* rs1800469 *C/T*, rs1800470 *T/C*, *IRF5* rs10954213 *A/G*, rs2004640 *T/G*, rs3757385 *G/T*, *PTPN22* rs2476601 *C/T*) nozīmi AS un tā klīnisko izpausmju (uveīta, perifērā artrīta) attīstībā.
2. Pacientiem ar iekaisuma muguras sāpēm bez rentgenoloģiski redzamām strukturālām mugurkaula izmaiņām, t. i., neradiogrāfisko aksiālo SpA, un pacientiem ar apstiprinātu AS diagnozi veikt klīniskās nozīmes pētījumus, lai noteiktu konkrētā kandidātgēna SNP molekulārā marķiera nozīmīgumu saistībā ar AS un tā klīniskajām izpausmēm:
 - pacientiem ar iekaisuma muguras sāpēm bez rentgenoloģiski redzamām strukturālām mugurkaula izmaiņām, t. i., ar neradiogrāfisko aksiālo SpA, noteikt *CD40* rs4810485 *G/T*, *TNFA* rs1800629 *G/A* un *PTPN22* rs2476601 *C/T* polimorfismus AS slimības attīstības riska novērtējumam;
 - pacientiem ar apstiprinātu AS diagnozi noteikt *IRF5* rs3757385 *G/T*, *IL10* rs1800896 *A/G*, *TGFβ1* rs1800469 *C/T*, *ERAP1* rs10050860 *G/A* polimorfismus uveīta un/vai perifērā artrīta attīstībai;

- pacientiem ar apstiprinātu AS diagnozi noteikt *IRF5* rs10954213 A/G polimorfismu agresīvas slimības gaitas riska novērtējumam (t. i., lielāka mugurkaula strukturālā bojājuma riska novērtējumam);
- pacientiem ar apstiprinātu AS diagnozi noteikt *ERAP1* rs10050860 G/A, *TNFA* rs1800629 G/A, *IL10* rs1800896 A/G un *IRF5* rs3757385 G/T polimorfismus TNF α inhibitoru lietošanas efektivitātes novērtējumam.

Literatūras saraksts

1. Amor, B., Santos, R. S., Nahal, R., et al. 1994. Predictive factors for the longterm outcome of spondyloarthropathies. *J Rheumatol.* 21(10), 1883–1887.
2. Baraliakos, X., Haibel, H., Listing, J., et al. 2014. Continuous long-term anti-TNF therapy does not lead to an increase in the rate of new bone formation over 8 years in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 73(4), 710–715.
3. Bayley, J. P., Ottenhoff, T. H. M., Verweij, C. L. 2004. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? *Genes Immun.* 5(5), 315–329.
4. Braun, J., Baraliakos, X., Deodhar, A., et al. 2017. Effect of secukinumab on clinical and radiographic outcomes in ankylosing spondylitis: 2-year results from the randomised phase III MEASURE 1 study. *Ann Rheum Dis.* 76, 1070–1077.
5. Braun, J., Kiltz, U., Heldmann, F., et al. 2015. Emerging drugs for the treatment of axial and peripheral spondyloarthritis. *Expert Opin Emerg Drugs.* 20(1), 1–14.
6. Braun, J., Baraliakos, X., Hermann, K. G. A., et al. 2016. Serum C-reactive Protein Levels Demonstrate Predictive Value for Radiographic and Magnetic Resonance Imaging Outcomes in Patients with Active Ankylosing Spondylitis Treated with Golimumab. *J Rheumatol.* 43(9), 1704–1712.
7. Brophy, S., Calin, A. 2001. Ankylosing spondylitis: interaction between genes, joints, age at onset, and disease expression. *J Rheumatol.* 28(10), 2283–2388.
8. Brown, M. A. 2008. Breakthroughs in genetic studies of ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford).* 47(2), 132–137.
9. Brown, M. A., Kenna, T. J., Wordsworth, B. P. 2016. Genetics of ankylosing spondylitis-insights into pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol.* 12, 81–91.
10. Brown, M. A., Laval, S. H., Brophy, S., et al. 2000. Recurrence risk modelling of the genetic susceptibility to ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 59 (11), 883–886.
11. Brown, M. A., Wordsworth, B. P. 2018. Genetics in ankylosing spondylitis – Current state of the art and translation into clinical outcomes. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 31(6), 763–776.
12. Bujang, M. A., Baharum, N. 2017a. Guidelines of the minimum sample size requirements for Cohen's Kappa. *Epidemiol Biostat Public Health.* 14(2), e12267.
13. Bujang, M. A., Baharum, N. 2017b. A simplified guide to determination of sample size requirements for estimating the value of intraclass correlation coefficient: a review. *Arch Orofasc Sci.* 12(1), 1–11.
14. Calin, A., Garrett, S., Whitelock, H., et al. 1994. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol.* 21(12), 2281–2285.
15. Chu, C. J., Barker, S. E., Dick, A. D., et al. 2012. Gene Therapy for Noninfectious Uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 20(6), 394–405.
16. Costantino, F., Breban, M., Garchon, H. J. 2018. Genetics and Functional Genomics of Spondyloarthritis. *Front Immunol.* 9, 2933. Available at: doi:10.3389/fimmu.2018.02933 [viewed 07.03.2019.].
17. Creemers, M. C., Franssen, M. J., van't Hof, M. A., et al. 2005. Assessment of outcome in ankylosing spondylitis: an extended radiographic scoring system. *Ann Rheum Dis.* 64, 127–129.

18. Criswell, L. A., Pfeiffer, K. A., Lum, R. F., et al. 2005. Analysis of families in the multiple autoimmune disease genetics consortium (MADGC) collection: the PTPN22 620W allele associates with multiple autoimmune phenotypes. *Am J Hum Genet.* 76(4), 561–571.
19. Croft, M., Siegel, R. M. 2017. Beyond TNF: TNF superfamily cytokines as targets for the treatment of rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 13(4), 217–233.
20. Davis, J. C., Dougados, M., Braun, J., et al. 2006. Definition of disease duration in ankylosing spondylitis: reassessing the concept. *Ann Rheum Dis.* 65(11), 1518–1520.
21. de Paz, B., Alperi-Lopez, M., Ballina-Garcia, F. J., et al. 2010. Interleukin 10 and Tumor Necrosis Factor- α Genotypes in Rheumatoid Arthritis – Association with Clinical Response to Glucocorticoids. *J Rheum.* 37(3), 503–511.
22. de Winter, J. J., van Mens, L. J., van der Heijde, D., et al. 2016. Prevalence of peripheral and extra-articular disease in ankylosing spondylitis versus non-radiographic axial spondyloarthritis: a meta-analysis. *Arthritis Res. Ther.* 18, 196. Available at: doi:10.1186/s13075-016-1093-z [viewed 18.10.2018.].
23. Dieude, P., Dawidowicz, K., Guedj, M., et al. 2010. Phenotype-Haplotype Correlation of IRF5 in Systemic Sclerosis: Role of 2 Haplotypes in Disease Severity. *J Rheumatol.* 37(5), 987–992.
24. Eftekhari, H., Hosseini, S. R., Pourreza Baboli, H., et al. 2018. Association of interleukin-6 (rs1800796) but not transforming growth factor beta 1 (rs1800469) with serum calcium levels in osteoporotic patients. *Gene.* 671, 21–27.
25. el Maghraoui, A. 2011. Extra-articular manifestations of ankylosing spondylitis: prevalence, characteristics and therapeutic implications. *Eur J Intern Med.* 22(6), 554–560.
26. Elewaut, D., Matucci-Cerinic, M. 2009. Treatment of ankylosing spondylitis and extra-articular manifestations in everyday rheumatology practice. *Rheumatology (Oxford).* 48(9), 1029–1035.
27. Feldtkeller, E., Bruckel, J., Khan, M. A. 2000. Scientific contributions of ankylosing spondylitis patient advocacy groups. *Curr Opin Rheumatol.* 12(4), 239–247.
28. Fife, M. S., Gutierrez, A., Ogilvie, E. M., et al. 2006. Novel IL10 gene family associations with systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther.* 8(5), R148. Available at: doi:10.1186/ar2041 [viewed 23.07.2019.].
29. Garrett, S., Jenkinson, T., Kennedy, L. G., et al. 1994. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol.* 21, 2286–2291.
30. Gathungu, G., Zhang, C. K., Zhang, W., et al. 2012. A two-marker haplotype in the IRF5 gene is associated with inflammatory bowel disease in a North American cohort. *Genes Immun.* 13(4), 351–355.
31. Goedecke, V., Crane, A. M., Jaakkola, E., et al. 2003. Interleukin 10 polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Genes Immun.* 4(1), 74–76.
32. Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica.* 4(1), 9.
33. Hanson, A. L., Morton, C. J., Parker, M. W., et al. 2018. The genetics, structure and function of the M1 aminopeptidase oxytocinase subfamily and their therapeutic potential in immune-mediated disease. *Hum Immunol.* 80(5), 281–289.

34. Jaakkola, E., Crane, M. K., Laiho, K., et al. 2004. The effect of transforming growth factor β 1 gene polymorphisms in ankylosing spondylitis. *Rheumatology*. 43(1), 32–38.
35. Jenkinson, T. R., Mallorie, P. A., Whitelock, H. C., et al. 1994. Defining spinal mobility in ankylosing spondylitis (AS). The Bath AS Metrology Index. *J Rheumatol*. 21, 1694–1698.
36. Kadi, A., Costantino, F., Izac, B., et al. 2013. Brief Report: The IL23R Nonsynonymous Polymorphism rs11209026 Is Associated With Radiographic Sacroiliitis in Spondyloarthritis. *Arthritis Rheum*. 65, 2655–2660.
37. Kenna, T. J., Brown, M. A. 2013. Immunopathogenesis of ankylosing spondylitis. *Int J Clin Rheumatol*. 8(2), 265–274.
38. Kim, T. J., Lee, S., Joo, K. B., et al. 2014. The presence of peripheral arthritis delays spinal radiographic progression in ankylosing spondylitis: Observation Study of the Korean Spondyloarthropathy Registry. *Rheumatology (Oxford)*. 53(8), 1404–1408.
39. Kook, H., Jin, S. H., Lee, S., et al. 2020. Radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis according to uveitis based on the observation study of Korean spondyloarthropathy registry. *Arch Rheumatol*. 35(x), i–vi. Available at: doi:10.5606/ArchRheumatol.2020.7095 [viewed 21.05.2019.].
40. Lee, Y. H., Bae, S. C., Choi, S. J., et al. 2015. Associations between the functional CD40 rs4810485 G/T polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Lupus*. 24(11), 1177–1183.
41. Lee, Y. H., Song, G. G. 2009. Lack of association of TNF-alpha promoter polymorphisms with ankylosing spondylitis: a meta-analysis. *Rheumatology (Oxford)*. 48(11), 1359–1362.
42. Li, Z., Brown, M. A. 2017. Progress of genome-wide association studies of ankylosing spondylitis. *Clin Transl Immunology*. 6(12), e163. Available at: doi:10.1038/cti.2017.49 [viewed 17.04.2019.].
43. Liu, H., An, X., Yang, Y., et al. 2013. Association of rs10954213 polymorphisms and haplotype diversity in interferon regulatory factor 5 with systemic lupus erythematosus: A meta-analysis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 33(1), 15–21.
44. López-Medina, C., Garrido-Castro, J. L., Castro-Jiménez, J., et al. 2018. Evaluation of quality of life in patients with axial spondyloarthritis and its association with disease activity, functionality, mobility, and structural damage. *Clin Rheumatol*. 37(6), 1581–1588.
45. Lukas, C., Landewe, R., Sieper, J., et al. 2009. Development of an ASAS-endorsed disease activity score (ASDAS) in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 68, 18–24.
46. Ma, H. J., Yin, Q. F., Wu, Y., et al. 2017. TNF- α -308 polymorphism determines clinical manifestations and therapeutic response of ankylosing spondylitis in Han Chinese. *Med Clin (Barc)*. 149(12), 517–522.
47. Machado, P. M., Landewé, R., van der Heijde, D. 2018. Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS): 2018 update of the nomenclature for disease activity states. *Ann Rheum Dis*. 77, 1539–1540.

48. Malinowski, K. P., Kawalec, P. 2015. The indirect costs of ankylosing spondylitis: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* 15(2), 285–300.
49. Manolova, I., Ivanova, M., Stoilov, R., et al. 2014. Association of single nucleotide polymorphism at position -308 of the tumor necrosis factor- α gene with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Biotechnol Biotechnol Equip.* 28(6), 1108–1114.
50. Márquez, A., Cénit, M. C., Cordero-Coma, M., et al. 2013. Two functional variants of IRF5 influence the development of macular edema in patients with non-anterior uveitis. *PLoS One.* 8(10), e76777. Available at: doi:10.1371/journal.pone.0076777 [viewed 23.07.2019].
51. Martellosi Cebinelli, G. C., Paiva Trugilo, K., Badaró Garcia, S., et al. 2016. TGF-1 functional polymorphisms: a review. *Eur Cytokine Netw.* 27(4), 81–89.
52. McHugh, M. L. 2012. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Med (Zagreb).* 22(3), 276–282.
53. Mease, P. J., Heijde, D., V., Karki C., et al. 2018. Characterization of Patients With Ankylosing Spondylitis and Nonradiographic Axial Spondyloarthritis in the US-Based Corrona Registry. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 70(11), 1661–1670.
54. Molnar, C., Scherer, A., Baraliakos, X., et al. 2018. TNF blockers inhibit spinal radiographic progression in ankylosing spondylitis by reducing disease activity: results from the Swiss Clinical Quality Management cohort. *Ann Rheum Dis.* 77, 63–69.
55. Nelson, M. R., Tipney, H., Painter, J. L., et al. 2015. The support of human genetic evidence for approved drug indications. *Nat Genet.* 47(8), 856–860.
56. Nossent, J. C., Sagen-Johnsen, S., Bakland, G. 2014. Tumor Necrosis Factor-Promoter -308/238 Polymorphism Association with Less Severe Disease in Ankylosing Spondylitis is Unrelated to Serum TNF- and Does Not Predict TNF Inhibitor Response. *J Rheumatol.* 41(8), 1675–1682.
57. Pazar, B., Safrany, E., Gergely, P., et al. 2009. Association of ARTS1 Gene Polymorphisms with Ankylosing Spondylitis in the Hungarian Population: The rs27044 Variant Is Associated with HLA-B*2705 Subtype in Hungarian Patients with Ankylosing Spondylitis. *J Rheumatol.* 37(2), 379–384.
58. Peters, A. L., Stunz, L. L., Bishop, G. A. 2009. CD40 and Autoimmunity: The Dark Side of a Great Activator. *Semin. Immunol.* 21(5), 293–300.
59. Pimentel-Santos, F. M., Ligeiro, D., Matos, M., et al. 2009. Association of IL23R and ERAP1 genes with ankylosing spondylitis in a Portuguese population. *Clin Exp Rheumatol.* 27(5), 800–806.
60. Poddubnyy, D. A., Marker-Hermann, E., Kaluza-Schilling, W., et al. 2011. Relation of HLA-B27, Tumor Necrosis Factor-Promoter Gene Polymorphisms, and T Cell Cytokine Production in Ankylosing Spondylitis – A Comprehensive Genotype-Phenotype Analysis from an Observational Cohort. *J Rheumatol.* 38(11), 2436–2441.
61. Polo Y La Borda, J., Campos, J., Sanz, J., et al. 2019. Predictive clinical-genetic model of long-term non-response to tumor necrosis factor- α inhibitor therapy in spondyloarthritis. *Int J Rheum Dis.* 22(8), 1529–1537.
62. Pradeep, D. J., Keat, A., Gaffney, K. 2008. Predicting outcome in ankylosing spondylitis. *Rheumatology (Oxford).* 47(7), 942–945.

63. Proft, F., Poddubnyy, D. 2018. Ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis: recent insights and impact of new classification criteria. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 10(5-6), 129–139.
64. Raffener, B., Ometto, F., Bernardi, L., et al. 2014. Inefficacy or paradoxical effect? Uveitis in ankylosing spondylitis treated with etanercept. *Case Rep Med.* 2014, 471319. Available at: doi:10.1155/2014/471319 [viewed 08.03.2019.].
65. Raychaudhuri, S., Remmers, E. F., Lee, A. T., et al. 2008. Common variants at CD40 and other loci confer risk of rheumatoid arthritis. *Nat Genet.* 40(10), 1216–1223.
66. Robinson, P. C., Wordsworth, B. P., Reveille, J. D., et al. 2013. Axial spondyloarthritis: a new disease entity, not necessarily early ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis.* 72, 162–164.
67. Rocha Loures, M. A., Macedo, L. C., Reis, D. M., et al. 2018. Influence of *TNF* and *IL17* Gene Polymorphisms on the Spondyloarthritis Immunopathogenesis, Regardless of HLA-B27, in a Brazilian Population. *Mediators Inflamm.* 2018: 1395823. Available at: doi:10.1155/2018/1395823 [viewed 09.03.2019.].
68. Rovite, V., Wolff-Sagi, Y., Zaharenko, L., et al. 2018. Genome Database of the Latvian Population (LGDB): Design, Goals, and Primary Results. *J Epidemiol.* 28(8), 353–360.
69. Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., et al. 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Data Sets. *Mol Biol Evol.* 34(12), 3299–3302.
70. Rudwaleit, M., Haibel, H., Baraliakos, X., et al. 2009. The Early Disease Stage in Axial Spondyloarthritis: results from the German Spondyloarthritis Inception Cohort. *Arthritis Rheum.* 60, 717–727.
71. Rudwaleit, M., van der Heijde, D., Landewé, R., et al. 2009. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Ann Rheum Dis.* 68, 777–783.
72. Ruyssen-Witrand, A., Luxembourger, C., Cantagrel, A., et al. 2019. Association between IL23R and ERAP1 polymorphisms and sacroiliac or spinal MRI inflammation in spondyloarthritis: DESIR cohort data. *Arthritis Res Ther.* 21(1), 22. Available at: doi:10.1186/s13075-018-1807-5 [viewed 06.07.2019.].
73. Rusman, T., van Vollenhoven, R. F., van der Horst-Bruinsma, I. E. 2018. Gender Differences in Axial Spondyloarthritis: Women Are Not So Lucky. *Curr Rheumatol Rep.* 20(6), 35. Available at: doi:10.1007/s11926-018-0744-2 [viewed 06.03.2019.].
74. Schiotis, R., Sánchez, A., Escudero, A., et al. 2013. Candidate's single-nucleotide polymorphism predictors of treatment nonresponse to the first anti-TNF inhibitor in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int.* 34(6), 793–801.
75. Schneeberger, E. E., Marengo, M. F., Dal Pra, F., et al. 2014. Fatigue assessment and its impact in the quality of life of patients with ankylosing spondylitis. *Clin Rheumatol.* 34(3), 497–501.
76. Sieper, J., Rudwaleit, M., Khan, M. A., et al. 2006. Concepts and epidemiology of spondyloarthritis. *Best Pract. Res Clin Rheumatol.* 20(3), 401–417.

77. Sode, J., Bank, S., Vogel, U., et al. 2018. Genetically determined high activities of the TNF-alpha, IL23/IL17, and NFkB pathways were associated with increased risk of ankylosing spondylitis. *BMC Med Genet.* 19(1), 165. Available at: doi.org/10.1186/s12881-018- 0680-z [viewed 02.03.2019.].
78. Sun, R., Huang, Y., Zhang, H., et al. 2013. MMP-2, TNF- α and NLRP1 polymorphisms in Chinese patients with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Mol Biol Rep.* 40(11), 6303–6308.
79. Taurog, J. D., Chhabra, A., Colbert, R. A. 2016. Ankylosing Spondylitis and Axial Spondyloarthritis. *N Engl J Med.* 374, 2563–2574.
80. Temel, G., Erdogan, S. 2017. Determining the sample size in agreement studies. *Marmara Med J.* 20, 101–112.
81. Thomas, G. T., Willner, D., Robinson, P. C., et al. 2017. Genetic diagnostic profiling in axial spondyloarthritis: a real world study. *Clin Exp Rheumatol.* 35(2), 229–233.
82. Tizaoui, K., Kim, S. H., Jeong, G. H., et al. 2019. Association of PTPN22 1858C/T Polymorphism with Autoimmune Diseases: A Systematic Review and Bayesian Approach. *J Clin Med.* 8(3), 347. Available at: doi:10.3390/jcm8030347 [viewed 02.07.2019.].
83. Uthoff, S. M. S., Hunt, L. E., Grant, B. S., et al. 2002. T-Cell Receptor γ : A Microsatellite Marker for Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol.* 9(1), 88–93.
84. van der Heijde, D., Ramiro, S., Landewé, R., et al. 2017. 2016 update of the ASAS-EULAR management recommendations for axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis.* 76(6), 978–991.
85. van der Linden, S. M., Valkenburg, H. A., Cats, A. 1984. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. *Arthritis Rheum.* 27, 361–368.
86. Varkas, G., Vastesaeger, N., Cypers, H., et al. 2018. Association of Inflammatory Bowel Disease and Acute Anterior Uveitis, but Not Psoriasis, With Disease Duration in Patients With Axial Spondyloarthritis: Results From Two Belgian Nationwide Axial Spondyloarthritis Cohorts. *Arthritis Rheumatol.* 70(10), 1588–1596.
87. Wanders, A. J., Landewe, R. B., Spoorenberg, A., et al. 2004. What is the most appropriate radiologic scoring method for ankylosing spondylitis? A comparison of the available methods based on the Outcome Measures in Rheumatology Clinical Trials filter. *Arthritis Rheum.* 50, 2622–2632.
88. Wellcome Trust Case Control Consortium (WTCCC), Australo-Anglo-American Spondylitis Consortium (TASC), Burton, P. R., et al. 2007. Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants. *Nat Genet.* 39(11), 1329–1337.
89. Whirl-Carrillo, M., McDonagh, E. M., Hebert, J. M., et al. 2012. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther.* 92(4), 414–417.
90. Xia, Y., Liang, Y., Guo, S., et al. 2018. Association between cytokine gene polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a systematic review and meta-analysis. *Postgrad Med J.* 94(1115), 508–516.
91. Yao, Y., Liu, N., Zhou, Z., et al. 2019. Influence of ERAP1 and ERAP2 gene polymorphisms on disease susceptibility in different populations. *Hum Immunol.* 80(5), 325–334.

92. Zeboulon, N., Dougados, M., Gossec, L. 2008. Prevalence and characteristics of uveitis in the spondyloarthropathies: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis.* 67(7), 955–959.
93. Zhang, L., Yan, J., Wang, Y. X., et al. 2013. Association of TGF- β 1 +869C/T promoter polymorphism with susceptibility to autoimmune diseases: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 40(8), 4811–4817.
94. Zochling, J., Braun, J. 2005. Assessment of ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol.* 23(Suppl. 39), S133–S141.

Publikācijas un ziņojumi par pētījuma tēmu

Starptautiski citējamās publikācijas

1. Zepa, J., Bulina, I., Lavrentjevs, V., Vinkalna, I., Nikitina-Zake, L., Andersone, D., Lejnieks, A. 2018. The Impact of Body Mass Index on Disease Progression in Ankylosing Spondylitis, *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. 72(1), 23–28.
2. Zepa, J., Silamikele, L., Bulina, I., Lavrentjevs, V., Trapina, I., Klovins, J., Andersone, D., Lejnieks, A., Nikitina-Zake, L. 2018. CD 40 rs 4810485 T > G polymorphism and susceptibility to ankylosing spondylitis in the Latvian population. *Genetics and Molecular Research*. 17 (3), gmr18081. Available at: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr18081>

Vietēji citējamās publikācijas

1. Zepa, J., Buliņa, I., Sikora, E., Ābelīte, S., Astiča, I., Zepa, L., Nikitina-Zake, L., Andersone, D., Lejnieks, A. 2013. Ankilozējošā spondilīta slimības aktivitātes saistība ar sirds un asinsvadu slimību attīstības riska faktoriem. *RSU Zinātniskie raksti*. 52–59.
2. Buliņa, I., Zepa, J., Jaunalksne, I., Lavrentjevs, V., Astiča, I., Sikora, E., Ābelīte, S., Andersone, D. 2012. Seruma audzēja nekrotizējošā faktora alfa TNFα un tā I tipa receptora TNFαR1 izmaiņas anti-TNF alfa terapijas laikā ankilozējošā spondilīta pacientiem. *Latvijas Universitātes raksti*. 788, 34–46.

Tēzes un ziņojumi starptautiskās konferencēs

1. Zepa, J., Bulina, I., Nikitina-Zake L., Klovins J., Jurka A., Tretjakovs P., Lejnieks A., Andersone D. the 33rd European Workshop for Rheumatology Research: Lack of Association of Serum Interleukin-17 and Interleukin-23 Levels with Disease Activity in Patients with Ankylosing Spondylitis in Latvia. 28.02.2013. – 02.03.2013. Prague, Czech Republic. *Ann Rheum Dis*. 72 (Suppl 1), A78.
2. Zepa, J., Bulina I., Lavrentjevs, V., Kadike, S., Nikitina-Zake, L., Lejnieks, A., Andersone, D. the 34rd European Workshop for Rheumatology Research: Uveitis is not associated with the cardiovascular risk factors in patients with ankylosing spondylitis. 20.02.2014. – 22.02.2014. Lisbon, Portugal. *Ann Rheum Dis*. 73, A38-A39.
3. Zepa, J., Zepa., L., Bulina, I., Sarbantovica, A., Lavrentjevs, V., Sikora, E., Lejnieks, A., Andersone, D., Klovins, J., Nikitina-Zake, L. the 35th Scandinavian Congress of Rheumatology: The Use of the mSASSS Method by Different Specialists. 20.09.2014. – 23.09.2014. Stockholm, Sweden. *Scand J Rheumatol*. 43(Suppl 127), 71.
4. Zepa, J., Zepa, L., Bulina, I., Sarbantovica, A., Lavrentjevs, V., Sikora, E., Lejnieks, A., Andersone, D., Klovins, J., Nikitina-Zake, L. the 35th Scandinavian Congress of Rheumatology: A Number of Autoimmunity-related Gene Polymorphisms are not Associated with Ankylosing Spondylitis in

- Latvian Population. 20.09.2014. – 23.09.2014. Stockholm, Sweden. *Scand J Rheumatol.* 43(Suppl 127), 65–66.
5. Zepa, J., Zepa, L., Bulina, I., Sarbantovica, A., Lavrentjevs, V., Sikora, E., J.Arajs, J., Lejnieks, A., Andersone, D., Klovins, J., Nikitina-Zake, L. MYRACE: Young Rheumatologist Forums: Association of PTPN22 rs2476601 polymorphism and TGFB1 rs 1800470 with ankylosing spondylitis in Latvian population. 26.09.2013. – 28.09.2013. Bad Wiesse, Germany.
 6. Zepa, J., Bulina, I., Lavrentjevs, V., Zepa, L., Priedite, I., Nikitina-Zake, L., Lejnieks, A., Andersone, D. the 9th International Congress on Spondyloarthropathies: Impact of uveitis on characteristics of patients with ankylosing spondylitis. 23.10.2014. – 25.10.2014. Gent, Belgium.

Tēzes un ziņojumi vietējās konferencēs

1. Zepa, J., Buliņa, I., Sikora, E., Ābelīte, S., Astiča, I., Zepa, L., Nikitina-Zaķe, L., Andersone, D., Lejnieks, A. RSU 2013. gada Zinātniskā konference. Stenda referāts: Ankilozējošā spondilīta slimības aktivitātes saistība ar sirds un asinsvadu slimību attīstības riska faktoriem.
2. Zepa, J., Buliņa, I., Kadiķe, S., Priedīte, I., Lavrentjevs, V., Zepa, L., Nikitina-Zaķe, L., Lejnieks, A., Andersone, D. LU 2014. gada Zinātniskā konference. Mutiskais referāts: Mugurkaula rentgenoloģisko izmaiņu saistība ar ķermeņa masas indeksu un vēdera apkārtmēru pacientiem ar ankilozējošo spondilītu.

Citas starptautiski citējamās publikācijas

1. Sivera, F., Ramiro, S., Cikes, N., ..., Zepa, J.,, et al. 2015. Differences and similarities in rheumatology specialty training programmes across European countries. *Ann Rheum Dis.* 74(6), 1183–1187. Available at: doi:10.1136/annrheumdis-2014-206791 (member of the Working Group)
2. Sivera, F., Ramiro, S., Cikes, N., ..., Zepa, J.,, et al. 2016. Rheumatology training experience across Europe: analysis of core competences. *Arthritis Res Ther.* 18(1),213. Available at: doi:10.1186/s13075-016-1114-y (member of the Working Group)
3. Beyer, C., Ramiro, S., Sivera, F., ..., Zepa, J.,, et al. 2016. Educational needs and preferences of young European clinicians and physician researchers working in the field of rheumatology. *RMD Open.* 2(2), e000240. Available at: doi:10.1136/rmdopen-2015-000240 (collaborator)

Pateicības

Medicīnā nav iespējams veikt pētnieciskos darbus vienatnē, tas vienmēr ir komandas darbs.

Vēlos izteikt visdziļāko pateicību par morālo atbalstu un profesionālo palīdzību: darba vadītājiem *Dr. habil. med.* profesorei Dainai Andersonei un *Dr. med.* profesoram Aivaram Lejniekam, promocijas darba zinātniskajai konsultantei *Dr. med.* Lienei Nikitinai-Zaķei, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra direktoram *Dr. med.* profesoram Jānim Kloviņam un biologam Lilai Silamiķelei, konsultantei statistikas jautājumos *Dr. med.* Ilvai Trapiņai, manai kolēģei un dvēseliski tuvam draugam reimatoloģei Initai Buliņai, manam skolotājam reimatologam Vladimiram Lavrentjevam, radioloģei Ilzei Priedītei, radiologam Helmutam Kidikas, laborantei Ivetai Marksai, medicīnas māsām Ludmilai Isajevai un Anželai Kirjanovai, Paula Stradiņa KUS Reimatoloģijas centra un Diagnostiskās radioloģijas institūta kolēģiem.

Sirsnīgs paldies pacientiem un kontroles grupai par piekrišanu piedalīties pētnieciskajā darbā un doto iespēju paplašināt zināšanas reimatoloģijas nozarē.

Izsaku pateicību RSU Doktorantūras nodaļas dekānei *Dr. med.* profesorei Sandrai Lejniecei, pētniecības procesa organizatorei *Dr. med.* Irēnai Rogovskai, promocijas procesa koordinatorei Laurai Stepanovai un Doktorantūras nodaļas darbiniekiem par atbalstu un augstu prasīgumu darba izpildē.

Sirsnīgs paldies manai vidusskolas latviešu valodas skolotājai *Dr. paed.* Beatrisei Garjānei un manas ģimenes draugiem Evijai un Andrim Tārēm par morālo atbalstu un palīdzību.

Vissirsnīgākā pateicība manai ģimenei – vīram Armandam un meitai Paulai Amandai, maniem vecākiem un vecvecākiem, kā arī mana vīra vectēvam *Dr. habil. med.* profesoram Jānim Baltkājam par izpratni, atbalstu un izturību visos promocijas darba tapšanas posmos un ārsta darba gaitās.