

**"МАРАТ ОСПАНОВ АТЫНДАҒЫ БАТЫС ҚАЗАҚСТАН
МЕДИЦИНАЛЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ"
КОММЕРЦИЯЛЫҚ ЕМЕС АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМ"**

**PhD Докторлық диссертация
АННОТАЦИЯСЫ**

**Қазақстан Республикасындағы Дюшенн миодистрофиясының
клиникалық-генетикалық сипаттамалары
мамандығы «6D110100 – Медицина»**

УМУРЗАКОВА АЙНУР ОНТАЛАПОВНА

Ғылыми консультанттары:
PhD, қауым. профессор Аяганов Д.Н.
д.м.н., профессор Нургалиева Р.Е.
Шет мемлекеттегі консультант: MD, PhD,
профессор M.Krawczynski
Познань медициналық ғылымдар университеті

Ақтөбе, 2025

АННОТАЦИЯ

Умурзакова Айнур Онталаповна 6D110100"Медицина" мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылған «Қазақстан Республикасындағы Дюшенн миодистрофиясының клиникалық – генетикалық сипаттамалары» тақырыбында

Ғылыми консультанттары: PhD, қауым. профессор Аяганов Д.Н.

д.м.н., профессор Нургалиева Р.Е.

Шет мемлекеттегі консультант: MD, PhD,

профессор M.Krawczynski

Познань медициналық ғылымдар университеті

Зерттеудің өзектілігі

Қазіргі уақытта жүйке-бұлшықет аурулары заманауи медицинаның өзекті мәселелерінің бірі болып табылады. Бұл олардың санының ұлғаю үрдісімен байланысты (Venugopal және т.б., 2023). Тұқым қуалайтын жүйке-бұлшықет ауруларының ең кең таралған түрі - Дюшенн миодистрофиясы (ДМД), ол жаңа туған ұл балалардың әр 3500/6000 жағдайына бір рет тіркеледі (Shuaiwei және т.б., 2024). Әлемнің көптеген елдерінде бұл аурудың кең таралуы туралы деректер жиналғанымен, Қазақстанда бұл аурудың нақты таралу жиілігін анықтау мүмкін емес, өйткені ресми тіркеу жүргізілмейді.

Дюшенн миодистрофиясы — ауыр тұқым қуалайтын жүйке-бұлшықет ауруы, ол Х-хромосомамен байланысқан рецессивті типпен тұқым қуалайды және үдемелі ағыммен сипатталады. Аурудың негізінде дистрофин ақуызын кодтайтын гендегі мутациялар жатыр (DMD; locus Хр21.2). Бұлшықеттегі дистрофиннің негізгі функциясы — сарколеммаға механикалық беріктік беру (Childs А.М. және т.б., 2024). Дистрофин ақуызы жүрек бұлшықеттерінде де және аз мөлшерде бас миында кездеседі (Zhou Y. және т.б., 2024). Бұл геннің ұзындығы 2,2 миллион нуклеотидтік жұпты құрайды, құрамында 79 экзон және 78 интрон бар (Aldharee H., 2024).

Ауру көбінесе ұл балаларға әсер етеді. Шамамен 2/3 жағдайда ұл бала зақымдалған гені бар Х-хромосоманы фенотиптік тұрғыдан сау тасымалдаушы анасынан алады. Қалған жағдайларда ауру кездейсоқ de novo мутациясының салдарынан ананың және әкенің жыныс жасушаларында пайда болады (Min және т.б., 2019).

Қазіргі уақытта дүниежүзінің түрлі популяцияларындағы делециялық спектрлер туралы кең көлемді деректер жиналған, сондай-ақ кейбір популяциялық айырмашылықтар да анықталған (Kong және т.б., 2019). Соңғы деректерге сәйкес, ДМД-дағы мутациялар түрлі сипатқа ие - делециялар, дупликациялар, нүктелік мутациялар болуы мүмкін. Мутациялардың сипаты, соның ішінде нонсенс-мутациялар, миссенс-мутациялар және сплайсинг сайтындағы мутациялар әртүрлі популяцияларда әрқалай таралған. Нүктелік

мутацияларды зерттеу дистрофин ақуызының функционалдық талдауын, сондай-ақ мутация локализациясы мен клиникалық белгілер арасындағы корреляцияны анықтауға мүмкіндік береді (M. Neri және т.б., 2020; Shuyu және т.б., 2018).

Гендегі мутацияның нақты орналасуын және олардың ұзындығын зерттеу молекулалық деңгейдегі механизмдерді анықтауға бірегей мүмкіндік береді. Өртүрлі мутациялардың генетикалық кодтың трансляция оқу рамакасына әсерін бағалау аурудың клиникалық көріністерімен корреляцияны талдауға жол ашады (Hart C.C. және т.б., 2024).

Бүгінгі күнге дейін Дюшенн миодистрофиясына тек симптоматикалық ем қолданылып келді. Патогенезге бағытталған емдеу тәжірибесі өте шектеулі және тек белгілі бір мутация топтарымен шектелген. *DMD* генінің мутацияларын анықтау өзекті болып отыр, себебі бұл ауруды диагностикалауға, нақты генетикалық кеңес беруге және ерте пренаталдық диагностика жүргізуге мүмкіндік береді.

Соңғы 3-5 жылда осы патологияны емдеуге арналған патогенетикалық терапия әдістері қолданылуда. Бұл емді дәл таңдау үшін генетикалық материалдағы өзгерістердің сипаты туралы жаңа білім қажет (Min және т.б., 2019; D. Mias-Lusquin және т.б., 2020).

Экзондарды өткізіп жіберу немесе оқу рамакасын қалпына келтіретін дәрілік препараттарды қолдану секілді жаңа терапия әдістерін енгізу үшін мутация сипатын анықтау аса маңызды (Greigess және т.б., 2020). Қазақстанда ДМД таралуын, диагностикасы мен емін зерттеу неврология мен медициналық генетиканың және практикалық денсаулық сақтаудың дамуы үшін басымдыққа ие.

Зерттеу мақсаты

DMD геніндегі мутация түрлерін талдау негізінде Дюшенн миодистрофиясының клиникалық ерекшеліктері мен терапияның клиникалық ағымға әсерін зерттеу.

Зерттеу міндеттері

1. Қазақстан Республикасындағы Дюшенн миодистрофиясының кездесу жиілігі мен қуалауын зерттеу.
2. Дюшенн миодистрофиясы кезіндегі *DMD* генінің мутация спектрін талдау.
3. Мутация түрлері мен терапияны ескере отырып, Дюшенн миодистрофиясының клиникалық ағымының ерекшеліктерін анықтау.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

- Қазақстанда алғаш рет Дюшенн миодистрофиясының (тасымалдаушылық) кездесу мен тұқым қуалау жиілігі зерттелді;
- *DMD* генінің әртүрлі мутация түрлері және олардың функционалдық сипаттамалары талданды.
- *DMD* генінің мутациялық спектрін зерттеу негізінде «генотип-фенотип»

арасындағы корреляциялық талдау жүргізілді

Теориялық және практикалық маңыздылығы:

Осы ғылыми жұмыстың нәтижелері Ұлттық тіркелімге толықтырулар енгізу үшін және Дюшенн миодистрофиясын диагностикалаумен емдеудің клиникалық хаттамаларына толықтырулар енгізуге негіз бола алады.

Бұл зерттеу нәтижелері дәрігерлерге Дюшенн миодистрофиясы кезінде жүру бұзылуымен және креатинфосфокиназа (КФК) деңгейінің жоғарылауымен көрінетін ұл балаларда MLPA әдісімен біріншілік генетикалық диагностикалауды уақытылы бастауға мүмкіндік береді, ал нәтиже теріс болған жағдайда – *DMD* генді секвенирлеуді жүргізуге мүмкіндік береді.

Генетикалық кодты оқу трансляциялық рамкасының жағдайын бағалау аурудың үдеуін болжауға көмектеседі, бұл глюкокортикостероид (ГКС) терапиясын уақытылы бастау үшін негізгі критерий болып табылады.

Диссертациялық жұмыстың нәтижелері Марат Оспанов атындағы БҚМУ-нің психиатрия және наркология курсымен неврология кафедрасының оқу процесіне, сондай-ақ практикалық денсаулық сақтау жүйесіне енгізілді.

Қорғалуға ұсынылатын негізгі тұжырымдар

1. Зерттелген аймақтардағы ер балалар саны (5 жасқа дейінгі) – 350 991. Біздің тарапымыздан клиникалық-генетикалық әдіспен 106 ДМД жағдайы алғаш рет анықталды, бұл 3311 ұл балаға шаққандағы 1 жағдайды құрайды. 64,4% жағдайда ауру балаларға генетикалық мутация аналары арқылы берілсе, 35,6% жағдайда мутация кездейсоқ (*de novo*) болған.

2. *DMD* геніндегі мутациялар спектрі талданған кезде делециялық түрі басым болды – 59,3% (95%СИ:51,9-68,9), дупликациялар мен нүктелік мутацияларға қарағанда жиі кездеседі. Делециялардың 81,5%-ы ұзын болып табылды (95% СИ:77,4–86,1). Мутациялар, негізінен, геннің жоғары функционалды актинмен байланысатын бөлігінде шоғырланған – 60,4%; (95%СИ:51,5-70,1) бұл жерде барлық типтегі мутациялар анықталған. Ал орталық бөлікте – көбінесе делециялар, дистрогликанды протеин кешенінің (ДГК) байланысуына жауапты аймақта – нүктелік мутациялар тіркелді ($p=0,015$). Генетикалық кодты оқу трансляция рамкасының бұзылуы 82,4% жағдайда байқалды (95%СИ:72,3-92,1), олардың көпшілігі актинмен байланысатын аймақта 76,4% (95%СИ: 66,5-85,9) орналасқан.

3. Оқу рамкасының жағдайы клиникалық сипаттамаларға әсер етті: бұзылған кезінде ауру ерте басталды (орташа – $2,95 \pm 0,25$ жас), төмен балл NSAA бойынша $15 \pm 5,6$, 6MWT тесті бойынша $292,4 \pm 11,3$ м., бір жылдан соң $285,8 \pm 3,12$ м. дейін төмендеді. Амбулаторлық қабілетті жоғалту үшін оқу рамкасының бұзылуының қауіп факторы ША 12,36 (95% СИ: 2,51–22,18), бұл жағдайда өздігінен жүрудің ұзақтығы – $3,9 \pm 0,26$ жыл құрады.

ГКС терапиясын қабылдайтын амбулаторлы балаларда бір жыл ішінде 6MWT көрсеткіштері $317,4 \pm 12,57$ метрден $348,1 \pm 9,65$ дейін, ал

қабылдамайтындарда $319,8 \pm 13,07$ -ден $324,4 \pm 8,23$ метрге дейін жақсарды. Амбулаторлы емес балаларда "жатып тұрған күйден көтерілу" тестінің уақыты бір жыл ішінде ГКС терапиясын қабылдайтындарда $12 \pm 2,45$ секундтан $17 \pm 2,18$ секундқа дейін, ал қабылдамайтындарда $13 \pm 3,54$ сек. $24 \pm 3,68$ сек дейін ұзарды. Аталурен (Трансларна) препаратымен емделу аясында 6MWT тест көрсеткіші 12 ай ішінде $327,4 \pm 2,57$ -ден $349,1 \pm 2,65$ метрге дейін жақсарды.

Жұмыстың апробациясы. Зерттеу нәтижелері келесі жерлерде баяндалды:

1. IX Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Медицинаның өзекті мәселелері», Баку, Әзербайжан, 6–8 мамыр 2020 ж. Баяндама: «Қазақстанның Батыс аймағындағы Дюшенн миодистрофиясының клинико-генетикалық алдын ала нәтижелері».

2. Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «XXIV Университеттік неврологиялық оқулар. «Бүгінгі неврология»», Уфа, Башқұртстан, 29–31 қазан 2020 ж. Баяндама: «Дюшенн миодистрофиясы бар науқастардағы когнитивті бұзылыстар».

3. LXI Халықаралық жас ғалымдар ғылыми конференциясы «Ғылым: Кеше, Бүгін, Ертең», Ақтөбе, Қазақстан, 27.04.2023 ж. Баяндама: «Duchenne Muscular Dystrophy. Discription of clinical case».

4. Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Жас зерттеуші: заманауи педиатрия және балалар хирургиясының сын-тегеуріндерімен даму болашағы», Алматы, 2022 ж. Баяндама: «Қазақстанның Батыс аймағындағы Дюшенн миодистрофиясының клиникалық-генетикалық ерекшеліктері».

5. LXII Халықаралық жас ғалымдар ғылыми конференциясы «Ғылым: Кеше, Бүгін, Ертең», Ақтөбе, Қазақстан, 27.04.2023 ж. Баяндама: «Дюшенн миодистрофиясының патогенетикалық терапиясы».

6. X Annual International Scientific-Practical Conference «Medicine Pressing Questions» және «Satellite Forum on Public Health and Healthcare Politics», Баку, Әзербайжан, 27–28.04.2023 ж. Баяндама: «Қазақстанның Батыс аймағындағы Дюшенн миодистрофиясының клиникалық ерекшеліктері».

Диссертация тақырыбы бойынша жарияланымдар: диссертация тақырыбы бойынша 8 ғылыми жұмыс, Scopus ақпараттық дерекқорына енгізілген журналдардағы 3 ғылыми мақала, Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған журналдардағы 2 мақала, халықаралық конференциялар жинақтарында 3 тезис жарияланды.

1. Umurzakova A, Ayaganov D, Mannapova A, Dzhumasheva B, Dzhakysbayeva A. Preliminary results of a genetic study of children with Duchenne myodystrophy in the Aktobe region. Achieves of Razi Institute 2023, Vol.78 No.3, p.949-954;

2. Ainur Umurzakova, Dinmukhamed Ayaganov, Roza Nurgalieva. Results of genetic study of children with Duchenne myodystrophy in Kazakhstan. Journal of

Neurosciences in Rural Practice 2023, Vol. 14 Issue 2, p. 389-390;

3. Ainur Umurzakova, Dinmukhamed Ayaganov, Roza Nurgalieva, Kamalzhan Nadyrov, Sarkyt Kozhantayeva, Gulnara Sakhipova, Aniya Seypenova, Akzhunus Mannapova, Azat Chinaliyev, Ainur Donayeva. Revealing finding from genetic study of children affected by Duchenne myodystrophy in Kazakhstan. Bangladesh journal of medical science 2025 Vol. 24 No. 01, p. 279-284.

4. Umurzakova A., Ayaganov D. Clinical and genetic characteristics of Duchenne myodystrophy. «Астана Медицина Журналы», 2020, 4 шығарылым (106), 82–87 б.

5. Умурзакова А.О., Аяганов Д.Н., Джумагалиева М.Б. Дюшенн прогрессирлеуші бұлшықет дистрофиясы бар науқастарды жүргізуде мультидисциплинарлық топтың рөлі. «Фармация Казахстана» журналы, 2022 шығарылым 3(242), 96–100

6. D. Ayaganov, A. Umurzakova, A. Mannapova. Analysis of the spectrum of mutations in Duchenne muscular dystrophy. Recent advances in rare disease. June 20-22.2019. Bogota. Colombia, p.59;

7. Umurzakova A.O, Ayaganov D.N., Jumagaliyeva M.B. Duchenne Muscular Dystrophy. Discription of clinical case. «LXII жасғалымдар Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы: «Ғылым: Кеше, Бүгін, Ертең»тезистержинағы, 27.04.2023 ж. Ақтөбе, Қазақстан, 47-48 б;

8. Умурзакова А.О., Аяганов Д. Н., Нургалиева Қазақстанның батыс өңіріндегі Дюшенн миодистрофиясының клиникалық ерекшеліктері «The IX Annual International Scientific – Practical Conference “Medicine Pressing Questions» тезистержинағы 27-28 мамыр 2023 Баку, Әзірбайжан, 22-23 б;

Зерттеу нәтижелерін енгізу

Практикалық денсаулық сақтауға енгізудің 3 актісі және оқу процесіне енгізудің 1 актісі алынды:

1. «Дюшенн миодистрофиясы бар пациенттерге және олардың отбасыларына аурудың қайталануының генетикалық тәуекелін бағалау (генетикалық болжам), диагностика және алдын алу тәсілдерін анықтау, жиналған және талданған медициналық-генетикалық ақпараттың мағынасын түсіндіру үшін медициналық-генетикалық кеңес беру» Ақтөбе қаласының отбасын жоспарлау орталығы және 06.04.2021 ж. №134 БМСК жағдайында.

2. Дюшенн миодистрофиясы бар балаларды алғашқы тексеру кезінде БМСК жағдайында функционалдық бағалау үшін «6MWT» тестін, «Vignos шкаласын», «Говерс симптомы үшін уақыт» қолдану 06.04.2021 ж. №135

3. «Жүйке-бұлшықет ауруларын диагностикалау мен емдеудің заманауи стратегиялары» оқу-әдістемелік жұмысы бойынша енгізу актісі алынды. 29.10.2021 ж. №1

4. Аурудың прогрессия деңгейін талдау үшін Дюшенн прогрессивті бұлшықет дистрофиясы бар емделушілерде Brooke, P. J. Vignos шкалалары арқылы жоғарғы және төменгі аяқтың функцияларын бағалау. 03.11.2022 ж. №

265. ШЖҚ «№5 Қалалық емхана"» ККМ

Диссертациялық зерттеу Марат Оспанов атындағы Батыс Қазақстан медицина университеті КЕАҚ «Қазақстан Республикасындағы Дюшенн миодистрофиясының генетикалық сипаттамасы» 17.06.2021 ж. №0119РТБИ0240 грантының шеңберінде орындалды.

Автордың жеке үлесі. Автор материалдарды жинау үшін Қазақстанның 9 өңіріне баруды жүзеге асырды. Бастапқы тексеру, іріктеуді қалыптастыру, жеке тіркеу карталарын толтыру автор тарпынан жүргізілді. Шетелдік ғылыми тағылымдама аясында молекулалық-генетикалық талдау және ғылыми менеджмент саласындағы білім жетілдірілді. Автор генетикалық талдаулардың нәтижелерін және мәліметтер базасын егізінде патогенділікті болжауды және оны түсіндіруді талдады. Негізгі ережелер мен қорытындылар тұжырымдады.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертация қосымшаларды есептемегенде 99 беттен тұрады, 3 тараудан, қорытынды мен тұжырымнан, практикалық ұсыныстардан, әдебиеттер тізімінен, қосымшалардан тұрады, 22 кестемен 20 суреттен құралған. Пайдаланылған дереккөздер тізімінде орыс және ағылшын тілдерінде 155 атау бар.

2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

Осы зерттеу Қазақстанның түрлі өңірлеріне: Ақтөбе облысы, Батыс Қазақстан облысы, Маңғыстау облысы, Атырау облысы, Қарағанды облысы, Ақмола облысы, Қостанай облысы, Астана қаласы және Петропавловск қалаларына барып жүргізілді.

Пациенттерді тексеру, медициналық-генетикалық тасымал жүргізу үшін қан алу осы аймақтардың емдеу мекемелерінде жүргізілді. Зерттеуде Дюшенн миодистрофиясына күдікті науқастар даналынған ДНҚ үлгілері қолданылды. Баладағы мутацияны генетикалық әдіспен тексергеннен кейін, тұқымқуалаушылық нұсқасын анықтау үшін аналарынан қан алынды.

Қосукритерийлері:

- ер балалар;
- MRC $\leq$ 2 шкаласы бойынша бұлшықет әлсіздігі;
- жүріспен мүсіннің кез келген бұзылуы;
- отбасында ДМД бар балалардың болуы.

Алып тастау критерийлері:

- генетикалық верификацияланған басқа жүйке-бұлшықет аурулары;
- ОЖЖ органикалық зақымдануы (орталық паралич).

Диссертациялық жұмыстың мақсаттары мен міндеттеріне сәйкес пациенттердің таңдауы мен зерттеу әдістерін анықтайтын зерттеу дизайны жасалды.

Зерттеу біріктірілген, Дюшенн миодистрофиясының пайда болу жиілігін, аурудың тұқымқуалаушылық мәселелерін (мутацияны тасымалдаушы аналарды тексеру), мутациялардың сипаттамаларына байланысты клиникалық ерекшеліктерді және стандартты негізгі глюкокортикостероидты (ГКС) және

нонсенс мутация кезіндегі Аталурен (Трансларна) препаратымен жүргізілетін таргеттік терапияны зерделеуді қамтиды. Бірінші және екінші тапсырмаларды жобалау - бір мезгілде-көлденең зерттеу; үшінші тапсырма – проспективті когорттық зерттеу болып табылады. Үшінші тапсырма бастапқы тексеру кезінде және аурудың дамуын бағалау үшін 12 айдан кейін ДМД бар балалардың функционалдық мәртебесін сипаттайды.

Клиникалық сипаттама аурудың дебют жасының, амбулаторлық мүмкіндікті жоғалту жасын, функционалдық жағдайын анықтауға негізделді, олардың нәтижелері мутациялармен және олардың гендегі орналасуымен байланыстырыла отырып, трансляциялық оқу рамкасына әсер етуіне сәйкес сипатталды, сондай-ақ ГКС терапиясы мен Аталурен (Трансларна) препаратымен таргеттік терапияның клиникалық нәтижелерге әсері бағаланды.

Глюкокортикостероидты терапия клиникалық хаттамаға сәйкес ДМД негізгі стандартты базалық емі болып табылады. Преднизолон немесе Дефлазакорт қолданылады. ГКС терапиясы әдетте 4 жастан басталады, алайда қажет болған жағдайда консилиум шешімімен ерте жастан да бастауға болады. Преднизолонның дозасы 0,75 мг/кг, Дефлазакорттың дозасы – амбулаторлы балалар үшін 0,9 мг/кг. Амбулаторлы емес балалар үшін бұл мөлшердің жартысы және қажет болған жағдайда одан да аз дозада тағайындалады. ГКС препараты күнделікті пероральды түрде бір рет, сүтпен бірге қабылданады.

Аталурен (Трансларна) препараты тек нонсенс мутациясы бар амбулаторлы балаларда ғана, 2 жастан бастап, нұсқаулыққа сәйкес қолданылады. Препарат 125, 250 және 1000 мг саше түрінде қолжетімді. Ұсынылатын тәуліктік доза: таңертең 10 мг/кг, түсте 10 мг/кг, кешке 10 мг/кг (тәуліктік жалпы доза 40 мг/кг болатындай етіп). Дайындалатын суспензия ішуге арналған, сұйық немесе жартылай қатты тағаммен алдын ала араластырылады

Үздіксіз дәйекті іріктеу қолданылды. Альфа-қате бойынша түзетілген 5% және бета-шегі 20% (қуаты 80%), болжамдық күш 0,95-ке қол жеткізу үшін іріктеу критерийлеріне және ҚР статистикалық деректеріне сәйкес репрезентативті таңдау көлемі 64 баланы құрауы тиіс. Бұлшықет әлсіздігі бар 269 бала қаралды, олардың ішінен қосу критерийлеріне сәйкес келгені 127 бала, олар үшін генетикалық талдау жүргізілді және 106 балада ДМД диагнозы расталды. Тұқым қуалайтын нұсқаны анықтау үшін ірі мутациялары бар 75 баланың 45 анасына мутацияны тасымалдау бойынша генетикалық верификация жүргізілді.

Диагнозды верификациялау халықаралық ұсынымдар мен стандарттарға, сондай-ақ ҚР ДСМ РДРО клиникалық хаттамасына сәйкес 19.04.2019 ж. №63 хаттамаға сәйкес жүргізілді.

Жұмыста Дүниежүзілік медициналық қауымдастықтың Хельсинки декларациясының принциптері сақталды (World Medical Association of Helsinki, 1964, 2013 жылдың қазан айында 64-ші ВМА Бас Ассамблеясында

жаңартылды, Форталеа, Бразилия).

Зерттеу жүргізуге рұқсат "М. Оспанов атындағы БҚМУ" КЕАҚ жанындағы Биоэтика жөніндегі жергілікті комиссиядан №24 хаттамамен 17.06.2019 ж., №4 отырысында алынды.

Клиникалық зерттеулер. Пациенттердің клиникалық жай-күйін сипаттау үшін келесі функционалдық шкалалар қолданылды: бұлшықет күшін бағалау мақсатында — MRC шкаласы (Medical Research Council Paralysis Scale, 1976); қозғалыс қабілеттерін бағалау үшін — P.J. Vignos шкаласы (1963 ж.) және NSAA шкаласы (North Star Ambulatory Assessment) қолданылды.

Сонымен қатар, уақытқа негізделген функционалдық тесттер жүргізілді: 6 минуттық жүру тесті (6MWT) және «жатқанкүйден тұру» тесті.

Генетикалық зерттеулер. Биологиялық материал ретінде қандағы ДНҚ қолданылды. Қан үлгілері ЭДТА бар пробиркаға жиналып, барлық талаптарды сақтай отырып, Астана қаласындағы “University Medical Center” Корпоративтік қоры – Ана мен бала ұлттық ғылыми орталығының генетикалық зертханасына жеткізілді.

ДНҚ үлгілері өндіруші компанияның дайын жинақтарын қолдана отырып, стандартты Фенол-хлороформ әдісімен бөлініп алынды.

Генетикалық талдау жүргізу. ДНҚ-ны қандағы үлгіден бөліп алғаннан кейін MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) талдауы өндіруші нұсқаулығына сәйкес (MRC-Holland, Амстердам, Нидерланд) жүргізілді. Материал ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, АҚШ) генетикалық анализаторында өңделді.

NGS (Next Generation Sequencing) – келесі буындағы секвенирлеу талдауы Германиядағы Centogene зертханасында жүргізілді. Бұл әдіс MLPA талдауымен анықталмайтын нүктелік мутацияларды және бір нуклеотидті ауыстырылымдарды анықтауға мүмкіндік береді. NGS (келесі буындағы секвенирлеу) әдісі арнайы дайындалған, бір тізбекті ДНҚ кітапханаларының фрагменттерін жаппай параллельді секвенирлеу принципіне негізделген. Біздің зерттеуімізде бұл әдіс Германиядағы Centogene зертханасында жүргізілді. Секвенирлеу нәтижелерін талдауға және қаржылай қолдауды «Пи-Ти-Си Терапьютикс Казахстан» компаниясы демеушілік көрсетті.

Жұмыста ақпараттық әдістер қолданылды, оның ішінде NCBI, OMIM, GenBank, UMD Treat, UCSC Genome Browser, ClinVar мәліметтер базалары және патогендік қасиеттерді болжау үшін Polyphen, SIFT, Mutation Taster, Align-GVGD, gnomAD, 1000G, CentoMD базаларының сервистері пайдаланылды.

Деректерді статистикалық өңдеу әдістері. Статистикалық өңдеу StatSoft, Inc. (АҚШ) компаниясының «STATISTICA 10.0» бағдарламалық пакеті көмегімен жүргізілді.

Статистикалық талдау: белгінің бақылаудағы үлестірімі мен теориялық күтілетін қалыпты үлестірім арасындағы айырмашылықтардың болмауы

туралы нөлдік гипотезаны тексеру үшін Колмогоров–Смирнов критерийі қолданылды. Үлгілер арасындағы айырмашылықтарды бағалау келесідей жүргізілді: қалыпты үлестірім жағдайында жұпталған айнымалылар үшін Стьюденттің t-критерийі, ал көп тәуелсіз топтар үшін ANOVA қолданылды. Қалыпты үлестірім болмаған жағдайда және жұпталмаған тәуелсіз жиынтықтар үшін Манн–Уитнидің U-критерийі және Краскел–Уоллис рангтық дисперсиялық талдауы пайдаланылды. Сандық көрсеткіштер орташа арифметикалық мән (M) ± стандартты ауытқу (SD) түрінде, ал сапалық көрсеткіштер пайыз (%) және үлес үшін сенімділік интервалымен (СИ) ұсынылды. Дюшеннмиодистрофиясы бар балаларда амбулаторлы емес жағдайдың даму ықтималдығын анықтау үшін бинарлық логистикалық регрессия әдісі қолданылды, сондай-ақ рецидивсіз тіршілік ету көрсеткіші Каплан–Майер қисығы арқылы бағаланды. Барлық статистикалық талдау рәсімдерінде маңыздылық деңгейі $p \leq 0,05$ ретінде қабылданды.

1-ші міндет: **Қазақстан Республикасында Дюшенн миодистрофиясының (ДМД) кездесу жиілігі мен тұқым қуалауын зерттеу.** Осы мақсатта бірізгілік көлденең зерттеу жүргізілді. ДМД кездесу жиілігін зерттеу үшін елдің өңірлеріне сапарлар ұйымдастырылып, генетикалық талдау жүргізуге арналған қан үлгілері алынды. Тұқым қуалау түрі ауру баладағы (ұл бала) белгілі мутацияны анасының генетикалық верификациясы арқылы анықталды.

2-ші міндет: **Дюшенн миодистрофиясы DMD геніндегі мутациялар спектрін зерттеу.** Бұл бағытта да бірізгілік көлденең зерттеу жүргізілді. Генетикалық зерттеулер нәтижесінде 106 түрлі мутация анықталып, олардың типтері, локализациясы, сондай-ақ генетикалық кодтың трансляциялық оқу рамкасына әсері зерттелді.

3-ші міндет: **ДМД клиникалық ағымының ерекшеліктерін мутация түрі мен қолданылған терапияны ескере отырып анықтау.** Осы мақсатта проспективті когорттық зерттеу жүргізілді. Балалардың функционалдық статусы бастапқы тексеру кезінде және 12 айдан кейін ауру үдеуін бағалау үшін анықталды. Клиникалық сипаттама аурудың басталу жасы, амбулаторлық қозғалу қабілетін жоғалту уақыты, моторлық дағдылар секілді көрсеткіштерді бағалау негізінде құрылды. Бұл үшін функционалдық шкалалар қолданылып, нәтижелер мутация сипаттамаларына және алынған терапияға сәйкес сипатталды. Осы міндет шеңберінде Аталурен (Трансларна) препаратымен таргеттік терапия және ГКС терапиясының клиникалық нәтижелерге әсері бағаланды.

ӨЗ ЗЕРТТЕУЛЕРІМІЗДІҢ НӘТИЖЕЛЕРІ

ДМД-ның кездесу мен тұқым қуалау жиілігі.

Дюшенн миодистрофиясының (ДМД) 106 жағдайы диагностикаланған, бұл 3311 ұл балаға шаққанда 1 жағдайға сәйкес келеді. Ауру балалардың 64,4% жағдайында мутация аналарынан тұқымқуалаушылық жолмен берілсе, ал 35,6%

жағдайда мутация кездейсоқ (de novo) сипатта болған.

DMD геніндегі мутациялардың сипаттамасы. Мутациялардың ішінде делециялық спектр басым болды – 59,3%; (95%СИ:51,9-68,9), бұл дупликациялармен және нүктелік мутациялармен салыстырғанда жоғары. Ұзақ делециялар жалпы делециялар арасында 81,5%-ды құрады (95%СИ:77,4-86,1) Нүктелік мутациялар келесі түрде ұсынылған: нонсенс мутациялар – 14 жағдай (13,2%), микроделециялар – 4 жағдай (3,8%), интрондық мутациялар – 5 жағдай (4,7%), микродупликациялар – 4 жағдай (3,9%), инсерциялар – 2 жағдай (0,9%), миссенс мутация – 1 жағдай (0,9%), құрама мутациялар: нонсенс пен миссенс – 1 жағдай (0,9%), делеция және инсерция – 1 жағдай (0,9%). Нүктелік мутация түрлерінің құрылымын талдау кезінде бауырларының (sibs) мутациясының талдауы алынып тасталды, атап айтқанда мутацияның 2 жағдайы, микроделеция мен интрондық мутацияның 1 жағдайы.

Трансляциялық оқу рамкасының бұзылуы 82,4% (95%СИ: 72,3-92,1) жағдайда байқалды, 91 жағдайдың 14-сінде трансляциялық рамка сақталады, ал 2 талдауда болжау мүмкін емес.

Мутациялардың *DMD* генінің әртүрлі функционалдық құрылымдық аймақтарындағы локализациясы бағаланды. 55 (60,4%; 95%СИ; 51,5-70,1) мутациялар функционалдық белсенділігі жоғары актин-байланыстырушы аймақта, 29 (31,9%; 95%СИ; 23,9-40,1) - геннің орталық (ыстық нүктелер) аймағында, 7 (7,7%; 95%СИ; 1,3-13,4) - дистрогликан-гликопротеин кешенімен (ДГК) байланысушы аймақта ($p<0,05$) орналасқан. Оқу рамкасының ығысуымен жүретін мутациялардың локализациясы: 55 актин-байланыстырушы аймағындағы мутациялардың 42 (76,4% 95%СИ: 66,5-85,9) рамка бұзылған, 29 орталық аймақтағы мутацияның 29-ында (100%), ДГК байланысуына жауапты аймақта 7 жағдайдың 4-інде (57,2%) ығысу болған ($p<0,05$).

ДМД-мен ауыратын балалардың клиникалық сипаттамаларын талдау. Ауру дебютінің орташа жасы $3,7\pm0,09$. Диагноздың қойылу орташа жасы $5,4\pm0,09$, амбулаторлы емес кезеңі басталуының орташа жасы $9,5\pm0,51$ құрады. 71 балада (67%) функционалдық статусы амбулаторлы деңгейде болды, олардың ішінде 7 бала (6,6%) – клиникалыққа дейін сатыда. 28 баланың (26,4%) статусы амбулаторлы емес деп бағаланды.

Аурудың дебют жасы, клиникалық сипаттамалар (шкала нәтижелері бойынша) және мутация сипаттамалары (генетикалық кодтың оқу рамкасының жағдайы, мутациялардың локализациясын бағалау) арасындағы дәлелді айырмашылықтар анықталды ($p<0,05$). Атап айтқанда, оқу рамкасы бұзылған балалар тобында ауру дебютінің орташа жасы – $2,95\pm0,25$ жас, NSAA шкаласы бойынша орташа көрсеткіш – $15\pm5,6$, 6MWT – $292,4\pm11,3$ метр. Ал оқу рамкасы бұзылмаған балалар тобында бұл көрсеткіштер сәйкесінше: дебюттің орташа жасы – $4,77\pm0,5$ жас, NSAA – $25\pm8,7$ балл, 6MWT – $391,6\pm16,2$ метр ($p<0,001$).

ДМД-мен ауыратын балалардың 12 айдан кейінгі клиникалық сипаттамаларын бағалау (катамнез). Осы кезең ішінде, 71 амбулаторлы

баланың 18-і (25,3%) амбулаторлы емес статусқа өтті. Нәтижесінде: амбулаторлы емес балалар саны – 46, амбулаторлы – 53, клиникалыққа дейін сатыдағы балалар – 7 бала болып тіркелді.

53 амбулаторлы баланың ішінен 45 бала ерте амбулаторлы сатыда болды. Олардың ішінде 33 балада оқу рамкасының бұзылуы, ал 12 балада оқу рамкасының сақталуы анықталды. Оқу рамкасының жағдайына байланысты 12 ай ішіндегі 6 минуттық жүру тестінің (6MWT) нәтижелеріне салыстырмалы талдау келесідей нәтижелер көрсетті. Оқу рамкасы бұзылған балаларда: 6MWT көрсеткіші $314,2 \pm 3,17$ метрден $285,8 \pm 3,12$ метрге дейін, ал оқу рамкасы сақталған балаларда: 6MWT көрсеткіші $450,7 \pm 3,09$ метрден $437,5 \pm 3,22$ метрге дейін өзгерген.

Амбулаторлық мүмкіндікті жоғалтуға әсер ететін мутацияның оқу рамкасының жағдайын, науқастың жасы және аурудың дебютінбағалау үшін көпфакторлы логистикалық регрессиялық талдау жүргізілді. Амбулаторлық мүмкіндікті жоғалту тәуекелінің жоғары $12,36$ есе (95% СИ: $2,51-22,184$) көрсеткішпен мутацияның оқу рамкасының бұзылуы факторында тіркелді.

Оқу рамкасының сақталуы мен оның бұзылуының өздігінен жүру ұзақтығына әсерін бағалау үшін Каплан-Майер анализі жүргізілді. Бұл талдау жүру мүмкіндігін сақтау ұзақтығы оқу рамкасы сақталғандарда – $5,3 \pm 0,19$ жыл (95% СИ: $4,93-5,67$), ал бұзылғандарда – $3,9 \pm 0,26$ жыл (95% СИ: $3,38-4,42$) екенін көрсетті.

Дюшенни миодистрофиясының терапия түріне байланысты клиникалық сипаттамасы. Глюкокортикостероидты терапияның қозғалыс функцияларына әсері аурудың сатысын ескере отырып, 12 айдан кейінгі бақылау кезіндегі жағдай бойынша бағаланды. Ерте амбулаторлық және амбулаторлық сатыларға сәйкес келетін пациенттер тобы қалыптастырылды. Бағалау сәтінде (12 айдан кейін) ерте амбулаторлық сатыда 45 бала болды, олардың ішінде 13 бала нысаналы таргеттік терапияны қабылдаған және ГКС терапиясының тиімділігіне баға беруге қатыстырылмаған. 32 баланың (орташа жасы $6,14 \pm 0,84$ жас) 25-і (78,1%) гормоналды терапия қабылдаған, ал 7 бала (21,9%) қабылдамаған. 6MWT тестінің көрсеткіштерінің жақсаруы байқалды: ГКС қабылдағандарда $317,4 \pm 12,57$ метрден $348,1 \pm 9,65$ метрге дейін, қабылдамағандарда $319,8 \pm 13,07$ метрден $324,4 \pm 8,23$ метрге дейін артқан. Амбулаторлық сатыдағы 21 ұл баланың орташа жасы - $8,98 \pm 0,94$ жас. Олардың ішінде гормоналды терапияны 12 бала (57,1%) қабылдаған, ал 9 бала (42,9%) қабылдамаған. «Жатқан күйден тұру» тестінің нәтижелері гормоналды терапия қабылдағандарда $12 \pm 2,45$ секундтан $17 \pm 2,18$ секундқа дейін, ал қабылдамағандарда - $13 \pm 3,54$ секундтан $24 \pm 3,68$ секундқа дейін ұзарған (нашарлаған). Аталурен (Трансларна) препаратымен терапияның клиникалық нәтижелерге әсері 13 баланың ерте амбулаторлық

сатысындағы көрсеткіштері арқылы бағаланды. 6MWT тестінің орташа нәтижелері $327,4 \pm 2,57$ метрден $349,1 \pm 2,65$ метрге дейін жақсарған

ҚОРЫТЫНДЫ

Бұл жұмыста Дюшенн миодистрофиясының клиникалық және генетикалық сипаттамалары зерттелді, оған аурудың кездесу жиілігі мен тұқым қуалауы, мутациялар мен қолданылып жатқан терапияларға байланысты клиникалық ерекшеліктердің сипаттамасы кірді.

Осы зерттеудің нәтижелеріне сүйене отырып, келесі **қорытындылар** шығарылды:

1. Қазақстанда Дюшенн миодистрофиясының кездесу жиілігі 3311 ер балаға 1 жағдайды құрады. X-хромосома арқылы берілетін тұқым қуалау жиілігі – 64,4%, жаңа (de novo) мутациялар – 35,6% құрады.

2. Мутациялар спектрінде делециялар басым болды – 59,3% (95%СИ: 51,9-68,9), олардың ішінде ұзақ делециялар – 81,5% (95%СИ:77,4-86,1). Мутациялар көбінесе геннің актин-байланысушы аймағында (60,4%;95%СИ: 51,5-70,1) анықталды және барлық мутация түрлерін қамтыды. Трансляция оқу рамкасының бұзылуы 82,4% (95%СИ:72,3-92,1) жағдайда тіркелді, олардың көбі генніңактин-байланысушы аймағында -76,4% (95%СИ:66,5-85,9) байқалды.

3. Оқу рамкасының бұзылу жағдайындаNSAA және 6MWTшкалалары бойынша көрсеткіштері төмен болды және динамикада нашарлау байқалды, аурудың ерте дебюті $2,95 \pm 0,25$ жасы және амбулаторлық мүмкіндікті жоғалту тәуекелінің артуы тіркелді (OR 12,36; 95% СИ: 2,51–22,18), өздігінен жүру ұзақтығы $3,9 \pm 0,26$ жылды құрады. Стандартты терапия амбулаторлы балаларда 6MWT тесті бойынша жүрген қашықтықты $317,4 \pm 12,57$ метрден $348,1 \pm 9,65$ метрге дейін арттырды, ал амбулаторлы емес балаларда «жатқанкүйден тұру» тесті бойынша 5 секундқатөмендеу байқалды 11 секундқа қарсы (стандартты терапиясын қабылдамайтындарда). Таргетті терапия 6MWT тест көрсеткіштерін 12 ай ішінде $327,4 \pm 2,57$ -ден $349,1 \pm 2,65$ метрге дейінгі әсер етті.

ПРАКТИКАЛЫҚ ҰСЫНЫСТАР

Зерттеу нәтижелері Қазақстанда Дюшенн миодистрофиясы бар науқастардың ұлттық тіркелімін құру мен оны тұрақты түрде жаңартып отыру қажеттігін көрсетеді. Бұл жоғары дәлдіктегі эпидемиологиялық бақылауға және заманауи диагностикалық әдістерге қол жеткізуге мүмкіндік береді.

Мутацияларды секвенирлеу арқылы анықтау – нүктелік мутацияларды ерте анықтау үшін өте маңызды және бұл әдісті елімізде кеңінен енгізу қажет. Генетикалық кодтың трансляциялық оқу рамаcын талдау аурудың болжамын анықтауда сенімді маркер бола алады.

Емдеуді ерте кезеңде бастау - моторлы функцияларды сақтау мен аурудың ағымын жақсартуға оң әсер етеді. Бұл глюкокортикоидты және патогенетикалық терапияларға да қатысты.

Мутация түрін анықтау арқылы пренаталдық диагностика мен отбасылық кеңес беруді қамтамасыз етіп, аурудың жаңа жағдайларын алдын алуға болады.