

АННОТАЦИЯ

**диссертационной работы Мусакуловой Айнуры Муратбаевны на тему
«Иммунологические и генетические особенности эндокринной
офтальмопатии» на соискание степени доктора философии PhD по
образовательной программе 8D10103 – «Медицина»**

Актуальность исследования

Эндокринная офтальмопатия (ЭОП) – это заболевание, затрагивающее все структуры и ткани орбиты, связанное с дисфункцией щитовидной железы и имеющее аутоиммунную природу. Заболеваемость ЭОП составляет 16 случаев на 100 000 женщин и 2,9 случаев на 100 000 мужчин в год. Офтальмопатия встречается примерно у 50% пациентов с болезнью Грейвса, в то время как у остальных пациентов ЭОП не развивается (Smith T.J., 2016 г.). Большинство случаев (80%) ЭОП связано с БГ, 10% - с аутоиммунным тиреоидитом (АИТ) у эутиреоидных или гипотиреоидных пациентов, и еще 10% - при нормальных уровнях тиреоидных гормонов и тиреотропного гормона (ТТГ) без аутоиммунной патологии в анамнезе (Дедов И.И., 2015 г.). Многочисленные исследования показывают, что активированные В- и Т-лимфоциты играют ключевую роль в патогенезе ЭОП и других аутоиммунных заболеваний, инициируя каскад аутоиммунных реакций (Pan Y., 2021 г.; Negi S., 2023 г.). Однако из-за многофакторной этиологии, патогенез ЭОП остается недостаточно изученным.

Интерлейкин 17 (IL-17) является ключевым цитокином, в основном вырабатываемым Т-хелперами 17 (Th17). В нормальной физиологии человека данный цитокин играет защитную роль от бактериальных и грибковых инфекций, однако гиперпродукция этого белка может привести к иммунопатологическим заболеваниям. В патогенезе аутоиммунных патологий, под влиянием разных цитокинов, Т-супрессоры и Th1 клетки преобразовываются в клетки Th1-Th17 и Treg-Th17, которые функционируют как Th-17, синтезируя белок IL-17, тем самым усугубляя аутоиммунный процесс (Jiang M., 2022 г.). Далее синтезированный IL-17, связываясь с рецепторами, активирует транскрипционные факторы (NF-κB, Act-1), стимулирующие транскрипцию мРНК провоспалительных цитокинов. (Lu Y., 2022 г.; Таскина Е.С., 2019 г.).

Интерлейкин-38 (IL-38), член семейства интерлейкинов-1 с противовоспалительными свойствами, является важным цитокином, влияющим на аутоиммунное воспаление. IL-38, связываясь с рецепторами IL-36R, IL-1R1 и IL-1RAPL1, ингибирует связывание агонистических лигандов и последующие сигнальные пути, оказывая противовоспалительное действие на PBMC, TNP-1, Mφ и ДК. Он также подавляет активацию и функцию Th1 и Th17, стимулируя расширение Treg (Mora, J., 2016; Yuan, X.L., 2016). Однако роль IL-38 в развитии аутоиммунных заболеваний и его количественное выражение при ЭОП изучены недостаточно.

В современной медицине хорошо изучаются точечные мутации в генах кодирующих основных белков, для выявления маркеров и прогноза течения тяжелых форм различных патологических процессов. По данным GWAS,

полиморфизм в генах ИЛ-17 и ИЛ-38 фенотипический проявляют ассоциаций с клиникой различных заболеваний (Cai T. 2022 г.; Monnet, D., 2012г.; Rahman, P., 2006 г.; Sims A.M., 2008г.; Xu H. 2016 г.; Yamamoto-Furusho J.K., 2011 г.; Gao, Y., 2015г.). Однако, исследований при ЭОП, связанные с полиморфизмом в генетических структурах этих белков очень мало (ИЛ-17), и даже отсутствуют мировой литературе (ИЛ-38). Следовательно, исследование уровней цитокинов ИЛ-38 и ИЛ-17 в различных биологических жидкостях и тканях при орбитопатии, а также их связь с клинической активностью и тяжестью ЭОП, может предоставить новую информацию о механизмах заболевания и открыть пути для новых терапевтических подходов. Наконец, изучение ассоциаций генетических полиморфизмов с ЭОП может способствовать выявлению генетических маркеров риска развития тяжелых форм заболевания, что важно для ранней диагностики и индивидуализации подходов к лечению.

В совокупности вышесказанного нами была сформулирована цель и задачи исследования, которые подчеркивают актуальность и необходимость данного исследования для улучшения понимания иммуногенетической регуляции ЭОП.

Цель исследования

Установить иммунологические и генетические особенности эндокринной офтальмопатии и разработать прогностическую модель клинического течения.

Задачи исследования

1. Изучить клинические проявления эндокринной офтальмопатии с учетом половозрастных особенностей, стадии активности и тяжести заболевания.
2. Определить уровни IL-17 и IL-38 в биологических средах и тканях (сыворотка, слеза, клетчатка) в зависимости от активности и тяжести эндокринной офтальмопатии.
3. Обосновать роль IL-17 и IL-38 в патогенезе эндокринной офтальмопатии посредством иммуногистохимического анализа их экспрессии в жировой ткани орбиты.
4. Изучить влияние генетических полиморфизмов, кодирующих IL-17 и IL-38 и установить их ассоциацию с активностью и тяжестью эндокринной офтальмопатии.
5. Разработать прогностические модели клинического течения эндокринной офтальмопатии на основе генетических и иммунологических ее особенностей.

Научная новизна исследования

1. Выявлена взаимосвязь между IL-17 и IL-38 с активностью и тяжестью ЭОП, что подтверждает их роль в патогенезе заболевания ($p=0,01$). (Свидетельство о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемое авторским правом № 43609 от 06.03.2024 г.). При этом IL-38 выступает как потенциальный биомаркер для определения активности ЭОП.
2. Корреляционная связь уровней IL-17 и IL-38 с аутоиммунным процессом при эндокринной офтальмопатии была обоснована иммуногистохимическим анализом ($p=0,001$). (Свидетельство о внесении

сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемое авторским правом № 43185 от 16.02.2024 г.).

3. Впервые установлены ассоциации полиморфизма rs7570267(IL-38) с активностью ($p=0,02$) и тяжестью ($p=0,008$) аутоиммунного процесса при ЭОП.

4. Впервые выявлены ассоциации полиморфизма гена rs3811058/IL-38 с развитием ЭОП ($p=0,02$, OR(CI) -2.7 (1.2; 6.4)) у пациентов европеоидной этнической группы, что подтверждает влияние генетического фактора на развитие данного заболевания.

5. Впервые разработаны модели прогнозирования клинического течения по активности и тяжести эндокринной офтальмопатии (свидетельство о внесении в госреестр прав на объекты, охраняемые авторским правом № 44256 от 01.04.2024).

Практическая значимость диссертационной работы

1. Определение концентрации IL-17 и IL-38 в тканях орбиты способствует повышению эффективности дифференциальной диагностики и лечения атипичных форм ЭОП

2. Выявление IL-38 как потенциального биомаркера активности ЭОП открывает путь для разработки новых диагностических инструментов, которые могут упростить и уточнить процесс мониторинга и оценки тяжести заболевания.

3. Исследование взаимосвязи между цитокинами и клиническими проявлениями ЭОП может привести к разработке новых таргетных терапевтических подходов, направленных на коррекцию дисбаланса в иммунной системе.

4. Определение связи между генетическими полиморфизмами и ЭОП обеспечит основу для персонализированного подхода в лечении и возможности для генетического консультирования пациентов с риском развития ЭОП.

5. Разработка моделей клинического течения эндокринной офтальмопатии помогает прогнозировать исход заболевания и сформировать тактику лечения у пациентов с ЭОП, что способствует предотвращению осложнений офтальмопатии.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Клиническое течение эндокринной офтальмопатии сопровождается активацией аутоиммунного ответа, включающего изменение концентрации ИЛ-17 и ИЛ-38. Увеличение уровня IL-17 и снижение IL-38 в биологических средах и тканях (кровь, слеза, клетчатка) являются количественными маркерами активности и предиктором тяжелого течения эндокринной офтальмопатии.

2. Генетические вариации rs7570267 (IL-38) являются риском развития более тяжелого проявления эндокринной офтальмопатии, что подтверждает роль генетических факторов в патогенезе заболевания. Полиморфизм rs3811058 (IL-38) ассоциирован с развитием эндокринной офтальмопатии у пациентов европеоидной этнической группы с дисфункцией щитовидной железы.

3. Прогностические модели клинического течения эндокринной офтальмопатии позволяют выявлять пациентов с активной формой и тяжелым

течением заболевания, обеспечивая своевременное начало лечения и предотвращая осложнения со стороны органа зрения.

Выводы

1. Выявлены особенности клинических проявлений ЭОП, в частности, преобладание: гипертиреозной патологии щитовидной железы (78,8%), лиц женского пола (70%), чаще в возрасте 25-57 лет (60%), с признаками синдрома сухого глаза (95%), отеком периорбитальных тканей (90%), увеличением глазодвигательных мышц (63%), выраженным экзофтальмом и умеренной тяжестью (60%), ретракцией век (57%), активной формой (56%), повышением ВГД (52%), ограничением подвижности глазных яблок (51%).

2. Уровень ИЛ-17 в крови, слезе и клетчатке у пациентов с активной ЭОП был значительно выше ($13,77 \pm 5,65$, $37,21 \pm 8,84$ и $24,34 \pm 6,87$ соответственно) по сравнению с неактивной ЭОП ($3,93 \pm 0,94$, $20,52 \pm 5,21$ и $16,81 \pm 6,97$ соответственно) ($p=0,01$). В отличие от этого, уровень ИЛ-38 в сыворотке, слезе и клетчатке при активной ЭОП был значительно ниже ($8,97 \pm 6,31$, $12,55 \pm 6,32$ и $9,23 \pm 6,78$ соответственно) по сравнению с неактивной формой ЭОП ($17,45 \pm 7,92$, $24,13 \pm 7,55$ и $20,18 \pm 5,23$ соответственно) ($p=0,01$).

Содержание ИЛ-17 повышалось в зависимости от тяжести ЭОП: от $6,4 \pm 0,6$ (легкая степень) до $8,9 \pm 0,9$ (умеренная), достигая максимума при тяжелой степени ($15,1 \pm 7,2$), что в 2,5 раза выше, чем ИЛ-38 ($6,2 \pm 0,6$).

3. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование орбитальной жировой ткани подтверждает увеличение ИЛ-17 и уменьшение ИЛ-38 у пациентов с ЭОП ($p \leq 0,05$). При этом отмечается умеренная корреляция ИЛ-17 ($r = 0,3$, $p=0,14$) и ИЛ-38 ($r = -0,433$, $p = 0,030$) с клинической активностью ЭОП, что указывает на их ключевую роль в модуляции воспалительного ответа как основного звена патогенеза ЭОП.

4. Генетические вариации в гене rs7570267 (IL38) статистически значимо связаны с активностью ($OR = 0.47$, $p=0,002$) и тяжестью ($X^2=13,9$ $p=0,008$) эндокринной офтальмопатии, что подтверждает влияние генетических факторов на клинические проявления офтальмопатии.

5. Разработаны прогностические модели клинического течения по активности и тяжести ЭОП, на основе дерева решений с учетом иммунологических, генетических и клинических параметров. Чувствительность модели активности составляет 95,7%, модели тяжести - 75%, общая точность прогнозирования – 80%.

Апробация результатов диссертации

Основные положения и результаты диссертации были представлены на следующих мероприятиях

- Международная конференция «Традиции и инновации в офтальмологии» к 90-летию КазНИИ ГБ, 22-23.09.2023, Алматы. Доклад: «Особенности ИЛ-17 в патогенезе эндокринной офтальмопатии».

- Конференция с международным участием «Стратегические проблемы современной офтальмологии РК. Пути их решения», 31.05.2024, Алматы. Доклад: «Иммунологические особенности эндокринной офтальмопатии».

- Заседание Научного Комитета по направлению «Хирургические заболевания» НАО «КазНМУ» им. С. Д. Асфендиярова, №6, от 03.05.2024, Алматы.

- Заседание Ученого совета НАО «Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова», №10, от 28.03.2024 г.

- Заседание Научного совета по специальности 8D1010103 - «Медицина» Казахстанского медицинского университета «Высшая школа общественного здравоохранения», №2, от 20.02.2025 г.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, включая: 2 статьи в журналах базы данных Scopus (CiteScore 2.8 в Scopus, процентиль 59% в Int Ophthalmol., 2023-2024); 3 в журналах, входящих в Перечень изданий, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования МНВО РК; и 3 авторских свидетельства о внесении сведений в государственный реестр прав на объекты, охраняемые авторским правом.

Внедрение результатов в практику

Результаты исследования внедрены в практику Казахского научно-исследовательского института глазных болезней (№135, 18.03.2025 г.), Института эндокринологии (№2, 03.03.2025 г.), Алматинской областной многопрофильной клинической больницы, а также в учебный процесс факультета медицины и здравоохранения Казахского национального университета имени аль-Фараби.

Личный вклад докторанта

Автор активно участвовала во всех этапах исследования: от постановки цели и задач до теоретической и практической реализации. Практическая часть включала в себя сбор материала, включая беседы с пациентами для получения информированного согласия, сбор анамнеза, проведение инструментальных исследований, интерпретацию данных, а также выполнение иммунологических, иммуногистохимических и генетических исследований. Автор также провела литературный обзор по теме исследования, создала базу данных, провела статистическую обработку данных, проинтерпретировала результаты и разработала прогностическую модель.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста без учета приложений и состоит из списка сокращений и обозначений, введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, включающего выводы, практические рекомендации и список литературы. Работа иллюстрирована 26 рисунками, 23 таблицами. Библиографический указатель включает 177 источников.

**Мусакулова Айнура Муратбаевнаның "Эндокринді офтальмопатияның
иммунологиялық және генетикалық ерекшеліктері" тақырыбында
8D10103 – "Медицина" білім беру бағдарламасы бойынша философия PhD
дәрежесін алуға арналған диссертациялық жұмысына
АҢДАТПАСЫ**

Зерттеудің өзектілігі

Эндокриндік офтальмопатия (ЭОП) - қалқанша безінің дисфункциясымен байланысты және аутоиммундық сипатқа ие, орбитаның барлық құрылымдары мен тіндеріне әсер ететін ауру. ЭОП жиілігі жылына 100 000 әйелге шаққанда 16 жағдайды және 100 000 ер адамға 2,9 жағдайды құрайды. Офтальмопатия Грейвс ауруы (ГА) бар науқастардың шамамен 50% -ында кездеседі, ал қалған науқастарда ЭОП дамымайды (Smith T.J., 2016). ЭОП жағдайларының көпшілігі (80%) ГА-мен, 10% - эутиреоидты немесе гипотиреозды науқастарда аутоиммунды тиреоидитпен (АИТ) және тағы 10% -да аутоиммундық патологиясы жоқ қалқанша безінің гормондары мен қалқанша безді ынталандыратын гормонның (TSH) қалыпты деңгейімен байланысты (Дедов И.И., 2015). Көптеген зерттеулер белсендірілген В және Т лимфоциттерінің аутоиммунды реакциялар каскадын бастайтын ЭОП және басқа аутоиммунды аурулардың патогенезінде шешуші рөл атқаратынын көрсетеді (Пан Ю., 2021; Неги С., 2023). Дегенмен, оның көп факторлы этиологиясына байланысты ЭОП патогенезі әлі де аз зерттелген.

Интерлейкин 17 (IL-17) - негізінен Т-хелпер 17 (Th17) жасушалары өндіретін негізгі цитокин. Қалыпты адам физиологиясында бұл цитокин бактериялық және саңырауқұлақ инфекцияларына қарсы қорғаныс рөлін атқарады, бірақ бұл ақуыздың гиперпродукциясы иммунопатологиялық ауруларға әкелуі мүмкін. Аутоиммунды патологиялардың патогенезінде әртүрлі цитокиндердің әсерінен Т-супрессорлар мен Th1 жасушалары Th1-Th17 және Treg-Th17 жасушаларына айналады, олар Th-17 қызметін атқарады, IL-17 ақуызын синтездейді, осылайша аутоиммундық процесті күшейтеді (Цзян М., 2022). Әрі қарай, синтезделген ИЛ-17 рецепторлармен байланысып, қабынуға қарсы цитокиндердің мРНК транскрипциясын ынталандыратын транскрипция факторларын (NF-κB, Акт-1) белсендіреді (Лу Ю., 2022; Таскина Е.С., 2019).

Қабынуға қарсы қасиеттері бар интерлейкин-1 отбасының мүшесі Интерлейкин-38 (ИЛ-38) аутоиммунды қабынуға әсер ететін маңызды цитокин болып табылады. IL-38 IL-36R, IL-1R1 және IL-1RAPL1 рецепторларымен байланысу арқылы PBMCs, THP-1, Мф және DCs қабынуға қарсы әсерлер көрсете отырып, агонистік лигандтардың байланысуын және кейінгі сигналдық жолдарды тежейді. Ол сондай-ақ Трегтің кеңеюін ынталандыратын Th1 және Th17 белсендіруін және қызметін басады (Mora, J., 2016; Yuan, X.L., 2016). Дегенмен, аутоиммунды аурулардың дамуындағы ИЛ-38 рөлі және оның ЭОП-дағы сандық көрінісі жеткілікті түрде зерттелмеген.

Заманауи медицинада маңызды ақуыздарды кодтайтын гендердің нүктелік мутациялары маркерлерді анықтау және әртүрлі патологиялық процестердің ауыр формаларының ағымын болжау үшін жақсы зерттелген.

GWAS деректеріне сәйкес, IL-17 және IL-38 гендеріндегі полиморфизмдер әртүрлі аурулардың клиникалық көрінісімен фенотиптік ассоциацияларды көрсетеді (Cai T. 2022; Monnet, D., 2012; Rahman, P., 2006; Sims A.M., Xu J.K., 2011; Гао, Ю., 2015). Дегенмен, бұл белоктордың генетикалық құрылымдарындағы полиморфизммен байланысты ЭОП бойынша зерттеулер өте аз (IL-17) және олар тіпті әлемдік әдебиетте де жоқ (IL-38). Сондықтан орбитопатиядағы әртүрлі биологиялық сұйықтықтар мен тіндердегі ИЛ-38 және ИЛ-17 цитокиндерінің деңгейін зерттеу, сондай-ақ олардың клиникалық белсенділікпен және ЭОП ауырлығымен байланысы аурудың даму механизмдері туралы жаңа ақпарат беріп, жаңа терапиялық тәсілдерге жол ашуы мүмкін. Ақырында, генетикалық полиморфизмдердің ЭОП-мен байланыстарын зерттеу аурудың ауыр түрлерінің даму қаупінің генетикалық маркерлерін анықтауға көмектесуі мүмкін, бұл ерте диагностикалау және емдеу тәсілдерін дараландыру үшін маңызды.

Жоғарыда айтылғандарды ескере отырып, біз зерттеудің мақсаты мен міндеттерін тұжырымдадық, олар ЭОП-ның иммуногенетикалық реттелуін түсінуді жақсарту үшін осы зерттеудің өзектілігі мен қажеттілігін атап өтті.

Зерттеудің мақсаты

Эндокринді офтальмопатияның иммунологиялық және генетикалық сипаттамаларын анықтау және клиникалық ағымының болжамдық моделін жасау.

Зерттеу мақсаттары:

1. Эндокриндік офтальмопатияның клиникалық көріністерін жас, жыныс, белсенділік кезеңі және ауырлық дәрежесіне байланысты зерттеу.
2. Эндокриндік офтальмопатияның белсенділігі мен ауырлығына байланысты биологиялық материалдардағы (сарысу, жас, клетчатка) ИЛ-17 және ИЛ-38 деңгейлерін анықтау.
3. Орбиталық май тініндегі ИЛ-17 және ИЛ-38 экспрессиясын иммуногистохимиялық талдау арқылы эндокриндік офтальмопатия патогенезіндегі рөлін негіздеу.
4. ИЛ-17 және ИЛ-38 кодтайтын генетикалық полиморфизмдердің әсерін және олардың эндокриндік офтальмопатияның белсенділігі мен ауырлығымен байланысын зерттеу.
5. Эндокриндік офтальмопатияның генетикалық және иммунологиялық ерекшеліктеріне негізделе отырып, клиникалық ағымының болжамдық үлгілерін жасау.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

1. ИЛ-17 мен ИЛ-38 арасында ЭОП белсенділігі мен ауырлығымен байланысы анықталды, бұл олардың аурудың патогенезіндегі рөлін растайды ($p=0,01$). (Авторлық құқықпен қорғалатын объектілерге құқықтардың мемлекеттік тізіліміне мәліметтерді енгізу туралы 06.03.2024 жылғы №43609 куәлік). Бұл жағдайда ИЛ-38 ЭОП белсенділігін анықтау үшін потенциалды биомаркер ретінде әрекет етеді.
2. ИЛ-17 және ИЛ-38 деңгейлері мен эндокринді офтальмопатиядағы аутоиммундық процесс арасындағы корреляция иммуногистохимиялық талдау арқылы дәлелденді ($p=0,001$). (Авторлық құқықпен қорғалатын объектілерге

құқықтардың мемлекеттік тізіліміне мәліметтерді енгізу туралы 16.02.2024 жылғы № 43185 куәлік).

3. Алғаш рет rs7570267(IL-38) полиморфизмінің ЭОП-дағы аутоиммундық процестің белсенділігімен ($p=0,02$) және ауырлық дәрежесімен ($p=0,008$) байланыстары анықталды.

4. Еуропеоидты этникалық тобының пациенттерінде алғаш рет rs3811058/IL-38 гендік полиморфизмінің ЭОП дамуымен ассоциациялары ($p=0,02$, OR(CI) -2,7 (1,2; 6,4)) анықталды, бұл генетикалық фактордың осы аурудың дамуына әсерін растайды.

5. Алғаш рет эндокринді офтальмопатияның белсенділігі мен ауырлық дәрежесіне негізделген клиникалық ағымды болжауға арналған модельдер әзірленді (авторлық құқықпен қорғалатын объектілерге құқықтардың мемлекеттік тізіліміне енгізу туралы 01.04.2024 жылғы № 44256 куәлік).

Диссертацияның практикалық маңыздылығы:

1. Орбиталық тіндердегі ИЛ-17 және ИЛ-38 концентрациясын анықтау ЭОП атипиялық түрлерін дифференциалды диагностикалауды және емдеу тиімділігін арттырады.

2. ИЛ-38-ді ЭОП белсенділігінің негізгі биомаркері ретінде анықтау аурудың ауырлығын бақылау және бағалау процесін жеңілдететін және нақтылайтын жаңа диагностикалық құралдарды әзірлеуге жол ашады.

3. Цитокиндер мен ЭОП клиникасының арасындағы байланыстарды зерттеу иммундық теңгерімсіздікті түзетуге бағытталған мақсатты терапия әдістерін жасауға септігін тигізеді.

4. Генетикалық полиморфизмдер мен ЭОП арасындағы байланыс емдеуге дербестендірілген көзқарас пен ЭОП қаупі бар науқастарға генетикалық кеңес беруге негіз қалайды.

5. ЭОП клиникалық ағымының үлгілері ауру нәтижесін болжауға және асқынулардың алдын алуға арналған емдеу тактикасын тұжырымдауға көмектеседі.

Қорғауға ұсынылған негізгі ережелер

1. Эндокриндік офтальмопатияның клиникалық ағымы ИЛ-17 және ИЛ-38 концентрациясының өзгеруін қоса алғанда, аутоиммундық жауаптың белсендірілуімен бірге жүреді. ИЛ-17 деңгейінің жоғарылауы (қан, жас, май тіні) және ИЛ-38 деңгейінің төмендеуі белсенділіктің сандық белгілері және ауыр эндокриндік офтальмопатияның болжаушысы болып табылады.

2. rs7570267 (IL-38) генетикалық вариациялары эндокриндік офтальмопатияның неғұрлым ауыр көріністерінің даму қаупі болып табылады, бұл аурудың патогенезіндегі генетикалық факторлардың рөлін растайды. Полиморфизм rs3811058 (IL-38) қалқанша безінің дисфункциясы бар еуропеоидтық этникалық тобының пациенттерінде эндокриндік офтальмопатияның дамуымен байланысты.

3. Эндокриндік офтальмопатияның клиникалық ағымының болжамдық үлгілері аурудың белсенді түрі мен ауыр ағымы бар науқастарды анықтауға, емдеуді уақтылы бастауды қамтамасыз етуге және көру органындағы асқынулардың алдын алуға мүмкіндік береді.

Қорытындылар:

1. ЭОП-тың клиникалық көріністерінің ерекшеліктері анықталды, атап айтқанда: қалқанша безінің гипертиреоздық патологиясы (78,8%), әйелдерде (70%), көбінесе 25-57 жаста (60%), құрғақ көз синдромының белгілерімен (95%), бұлшықет тіндерінің ісінуі (95%), ауыр экзофтальм және орташа ауырлық дәрежесі (60%), қабақтың тартылуы (57%), белсенді түрі (56%), көз ішілік қысымның жоғарылауы (52%), көз алмасының қозғалысының шектелуі (51%).

2. Белсенді ЭОП бар науқастардың қанындағы, көз жасындағы және май тіндеріндегі ИЛ-17 деңгейі ($13,77 \pm 5,65$, $37,21 \pm 8,84$ және $24,34 \pm 6,87$ сәйкесінше) белсенді емес ЭОП-пен салыстырғанда жоғары (тиісінше $3,93 \pm 0,94$, $20,52 \pm 6,87$ және $8,97 \pm 6,31$). Керісінше, белсенді емес түрімен салыстырғанда (сәйкесінше $12,55 \pm 6,32$, $9,23 \pm 6,31$ және $6,2 \pm 0,6$) белсенді ЭОП кезіндегі сарысудағы, көз жасы мен тіндердегі ИЛ-38 деңгейі төмен (тиісінше, $17,45 \pm 7,92$, $24,513 \pm 2,13$ және $15,1 \pm 7,2$).

ИЛ-17 деңгейі ЭОП ауырлығына байланысты өсті: $6,4 \pm 0,6$ -дан (жеңіл) $8,9 \pm 0,9$ -ға (орташа), ауыр жағдайларда максимумға жетеді ($15,1 \pm 7,2$), бұл ИЛ-38-ден ($6,2 \pm 0,6$) 2,5 есе жоғары көрсеткіш.

3. Орбиталық май тінін гистологиялық және иммуногистохимиялық зерттеу ЭОП бар науқастарда ИЛ-17 деңгейінің жоғарылағанын және ИЛ-38 деңгейінің төмендегенін көрсетті ($p \leq 0,05$). ЭОП клиникалық белсенділігімен ИЛ-17 ($r = 0,3$, $p = 0,14$) және ИЛ-38 ($r = -0,433$, $p = 0,030$) арасындағы корреляция анықталды, бұл осы цитокиндердің ЭОП патогенезінде қабыну реакциясын модуляциялауда маңызды рөл атқаратынын дәлелдейді.

4. rs7570267 (IL38) геніндегі генетикалық вариациялар эндокриндік офтальмопатияның белсенділігімен ($OR = 0,47$, $p = 0,002$) және ауырлығымен ($X^2 = 13,9$, $p = 0,008$) статистикалық тұрғыдан байланысты, бұл генетикалық факторлардың ауруға әсерін көрсетеді.

5. Иммунологиялық, генетикалық және клиникалық параметрлерді ескере отырып, шешім ағашы арқылы ЭОП белсенділігі мен ауырлығына болжамдық клиникалық модельдер жасалды. Белсенділік үлгісінің сезімталдығы 95,7%, ауырлық үлгісінің 75%, ал жалпы болжам дәлдігі 80% құрайды.

Жұмысты апробациялау

Жұмыстың негізгі ережелері баяндалып, талқыланды:

- Қазақ көз аурулары ғылыми-зерттеу институтының 90 жылдығына арналған «Офтальмологиядағы дәстүрлер мен инновациялар» халықаралық конференциясы, 22-23.09.2023, Алматы. Баяндама: «Эндокриндік офтальмопатия патогенезіндегі ИЛ-17 ерекшеліктері».

- Қазақстан Республикасының қазіргі офтальмологиясының стратегиялық мәселелері. Оларды шешу жолдары» халықаралық қатысуымен конференция, 31.05.2024, Алматы. Баяндама: «Эндокринді офтальмопатияның иммунологиялық ерекшеліктері».

- С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ Ұлттық медицина университетінің «Хирургиялық аурулар» бағыты бойынша Ғылыми комитетінің отырысы, №6, 03.05.2024 ж., Алматы қ.

- С.Д.Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университетінің Ғылыми кеңесінің отырысы, № 10, 2024 жылғы 28 наурыз.

- «ҚДСЖМ» Қазақстандық медицина университетінің 8D1010103 – «Медицина» мамандығы бойынша Ғылыми кеңесінің отырысы № 2, 20.02.2024 ж.

Жарияланымдар

Диссертация тақырыбы бойынша 8 ғылыми мақала жарияланған, оның ішінде: Scopus журналдарында 2 мақала (Scopus-та CiteScore 2.8, 59% процентиль Int Ophthalmol, 2023-2024); 3 мақала Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және жоғары білім беру сапасын қамтамасыз ету комитеті ұсынған жарияланымдар тізіміне енгізілген журналдарда; және авторлық құқықпен қорғалатын объектілерге құқықтардың мемлекеттік тізіліміне мәліметтерді енгізу туралы 3 авторлық куәлік.

Нәтижелерді тәжірибеге енгізу

Зерттеу нәтижелері Қазақ көз аурулары ҒЗИ (№135, 18.03.2025 ж.), Эндокринология институты (№2, 03.03.2025 ж.), Алматы облыстық көпсалалы клиникалық ауруханасының тәжірибесіне және Өл-Фараби атындағы ҚазҰУ «Медицина және денсаулық сақтау факультетінің» оқу процесіне енгізілді.

Диссертанттың жеке үлесі

Автор зерттеудің барлық кезеңдеріне, атап айтқанда, мақсат қоюдан бастап теориялық және практикалық нәтижелерге қол жеткізуге дейін белсенді қатысты. Практикалық бөлімге материал жинау (ақпараттандырылған келісім алу үшін пациенттермен сұхбаттасу, анамнез жинау, аспаптық зерттеулер жүргізу, деректерді талдау), сондай-ақ иммунологиялық, иммуногистохимиялық және генетикалық зерттеулер кіреді. Сонымен қатар, автор әдебиеттерге шолу жасады, мәліметтер базасын құрды, статистикалық талдау жүргізді, нәтижелерді түсіндірді және болжамдық модель жасады.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы

Диссертация қосымшаларды есептемегенде, машинамен басылған 115 беттен тұрады және қысқартулар тізімінен, кіріспеден, әдебиеттер шолуынан, материалдар мен әдістердің сипаттамасынан, автордың зерттеу нәтижелерінен, қорытындыдан, тұжырымдардан, практикалық ұсыныстардан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады. Жұмыс 26 сурет және 23 кесте арқылы көрсетілген. Библиографияда 177 дереккөз бар.

ABSTRACT

of the dissertation work of Mussakulova Ainura Muratbaevna on the topic «Immunological and genetic features of thyroid-associated ophthalmopathy», submitted for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) in the educational program 8D10103 – "Medicine"

Relevance of the research

Thyroid associated ophthalmopathy (TAO) is a disease affecting all structures and tissues of the orbit, associated with thyroid dysfunction and of autoimmune nature. The incidence of TAO is 16 cases per 100,000 women and 2.9 cases per 100,000 men per year. Ophthalmopathy occurs in approximately 50% of patients with Graves' disease, while TAO does not develop in the remaining patients (Smith T.J., 2016). Most cases (80%) of TAO are associated with GD, 10% with autoimmune thyroiditis (AIT) in euthyroid or hypothyroid patients, and another 10% with normal levels of thyroid hormones and thyroid-stimulating hormone (TSH) without autoimmune pathology in the history (Dedov I.I., 2015). Numerous studies show that activated B- and T-lymphocytes play a key role in the pathogenesis of TAO and other autoimmune diseases, initiating a cascade of autoimmune reactions (Pan Y., 2021; Negi S., 2023). However, due to the multifactorial etiology, the pathogenesis of TAO remains poorly understood.

Interleukin 17 (IL-17) is a key cytokine, mainly produced by T-helper 17 (Th17) cells. In normal human physiology, this cytokine plays a protective role against bacterial and fungal infections, but hyperproduction of this protein can lead to immunopathological diseases. In the pathogenesis of autoimmune pathologies, under the influence of various cytokines, T-suppressors and Th1 cells are transformed into Th1-Th17 and Treg-Th17 cells, which function as Th-17, synthesizing IL-17 protein, thereby exacerbating the autoimmune process (Jiang M., 2022). Next, the synthesized IL-17, binding to receptors, activates transcription factors (NF- κ B, Act-1), stimulating the transcription of mRNA of pro-inflammatory cytokines (Lu Y., 2022; Taskina E.S., 2019).

Interleukin-38 (IL-38), a member of the interleukin-1 family with anti-inflammatory properties, is an important cytokine that affects autoimmune inflammation. IL-38, binding to IL-36R, IL-1R1 and IL-1RAPL1 receptors, inhibits the binding of agonistic ligands and subsequent signaling pathways, exerting an anti-inflammatory effect on PBMC, THP-1, M ϕ and DC. It also suppresses the activation and function of Th1 and Th17, stimulating Treg expansion (Mora, J., 2016; Yuan, X.L., 2016). However, the role of IL-38 in the development of autoimmune diseases and its quantitative expression in TAO have not been sufficiently studied.

In modern medicine, point mutations in the genes encoding the main proteins are well studied to identify markers and predict the course of severe forms of various pathological processes. According to GWAS, polymorphism in the IL-17 and IL-38 genes phenotypically manifest associations with the clinic of various diseases (Cai T. 2022; Monnet, D., 2012; Rahman, P., 2006; Sims A.M., 2008; Xu H. 2016; Yamamoto-Furusho J.K., 2011; Gao, Y., 2015). However, there are very few studies in TAO related to polymorphism in the genetic structures of these proteins (IL-17), and there are even none in the world literature (IL-38). Therefore, the study of IL-38

and IL-17 cytokine levels in various biological fluids and tissues in orbitopathy, as well as their relationship with the clinical activity and severity of TAO, can provide new information about the mechanisms of the disease and open avenues for new therapeutic approaches. Finally, the study of associations of genetic polymorphisms with TAO can contribute to the identification of genetic markers of the risk of developing severe forms of the disease, which is important for early diagnosis and individualization of treatment approaches.

In summary, we have formulated the goal and objectives of the study, which emphasize the relevance and necessity of this study to improve understanding of the immunogenetic regulation of TAO.

Purpose of the study

To identify immunological and genetic markers in thyroid-associated ophthalmopathy and develop a prognostic model for its clinical course.

Research objectives

1. Characterize the clinical manifestations of thyroid-associated ophthalmopathy (TAO), considering age, sex, disease activity, and severity.
2. Quantify IL-17 and IL-38 levels in serum, tears, and orbital fat relative to TAO activity and severity.
3. Investigate the pathogenic role of IL-17 and IL-38 in TAO through immunohistochemical analysis of their expression in orbital adipose tissue.
4. Determine the association between genetic polymorphisms of IL-17 and IL-38 and TAO activity and severity.
5. Develop prognostic models for TAO clinical course based on genetic and immunological markers.

Scientific novelty

1. IL-17 and IL-38 correlate with the activity and severity of thyroid-associated ophthalmopathy, confirming their pathogenic role ($p=0.01$). IL-38 is identified as a potential biomarker for disease activity (Certificate No. 43609 dated 03/06/2024).
2. Immunohistochemical analysis supports the correlation between IL-17 and IL-38 levels and the autoimmune process in ophthalmopathy ($p=0.001$) (Certificate No. 43185 dated 02/16/2024).
3. Associations between the rs7570267 (IL-38) polymorphism and both activity ($p=0.02$) and severity ($p=0.008$) of the autoimmune process in TAO were established for the first time.
4. The rs3811058/IL-38 gene polymorphism was, for the first time, associated with TAO development ($p=0.02$, OR(CI) 2.7 (1.2; 6.4)) in Caucasian patients, supporting a genetic influence on the disease.
5. Novel predictive models for the clinical course of thyroid-associated ophthalmopathy, based on activity and severity, were developed (copyright certificate No. 44256, 04/01/2024).

Practical Significance of the Dissertation:

1. Determining the concentration of IL-17 and IL-38 in orbital tissues helps improve the effectiveness of differential diagnosis and treatment of atypical forms of TAO.

2. Identifying IL-38 as a potential biomarker of TAO activity opens the way for the development of new diagnostic tools that can simplify and refine the process of monitoring and assessing the severity of the disease.

3. Studying the relationship between cytokines and clinical manifestations of TAO can lead to the development of new targeted therapeutic approaches aimed at correcting imbalances in the immune system.

4. Determining the relationship between genetic polymorphisms and TAO will provide a basis for a personalized approach to treatment and opportunities for genetic counseling of patients at risk of developing ophthalmopathy.

5. Developing models of the clinical course of thyroid associated ophthalmopathy helps predict the outcome of the disease and formulate treatment tactics for patients with TAO, which helps prevent complications of ophthalmopathy.

The main provisions submitted for protection

1. Clinical course of thyroid-associated ophthalmopathy is accompanied by activation of autoimmune response, including changes in the concentration of IL-17 and IL-38. An increase in IL-17 level and a decrease in IL-38 in biological fluids and tissues (blood, tears, fat) are quantitative markers of activity and a predictor of severe disease course.

2. The IL-38 polymorphism rs7570267 is a genetic risk factor for severe thyroid-associated ophthalmopathy, supporting a genetic component to the disease's pathogenesis. Furthermore, rs3811058 (IL-38) is associated with the development of thyroid-associated ophthalmopathy in Caucasian patients with thyroid dysfunction.

3. Prognostic models of the clinical course of thyroid-associated ophthalmopathy allow identifying patients with an active form and severe course of the disease, ensuring timely initiation of treatment and preventing complications from the organ of vision.

Results:

1. The features of the clinical manifestations of TAO were revealed, in particular, the prevalence of: hyperthyroid thyroid pathology (78.8%), female gender (70%), more often at the age of 25-57 years (60%), with signs of dry eye syndrome (95%), edema of the periorbital tissues (90%), enlargement of the extraocular muscles (63%), pronounced exophthalmos and moderate severity (60%), eyelid retraction (57%), active form (56%), increased IOP (52%), limitation of eye movement (51%).

2. IL-17 levels in blood, tears, and adipose tissue in patients with active TAO were significantly higher (13.77 ± 5.65 , 37.21 ± 8.84 , and 24.34 ± 6.87 , respectively) compared to inactive TAO (3.93 ± 0.94 , 20.52 ± 5.21 , and 16.81 ± 6.97 , respectively) ($p=0.01$). In contrast, IL-38 levels in serum, tears, and adipose tissue in active TAO were significantly lower (8.97 ± 6.31 , 12.55 ± 6.32 , and 9.23 ± 6.78 , respectively) compared to the inactive form of TAO (17.45 ± 7.92 , 24.13 ± 7.55 , and 20.18 ± 5.23 , respectively) ($p=0.01$).

IL-17 content increased with the severity of TAO: from 6.4 ± 0.6 (mild) to 8.9 ± 0.9 (moderate), reaching a maximum in severe cases (15.1 ± 7.2), which is 2.5 times higher than IL-38 (6.2 ± 0.6).

3. Histological and immunohistochemical examination of orbital adipose tissue confirms an increase in IL-17 and a decrease in IL-38 in patients with TAO

($p \leq 0.05$). Furthermore, there is a moderate correlation between IL-17 ($r = 0.3$, $p = 0.14$) and IL-38 ($r = -0.433$, $p = 0.030$) with the clinical activity of TAO, which indicates their key role in modulating the inflammatory response as the main component of the pathogenesis of TAO.

4. The rs7570267 (IL38) gene polymorphism is significantly associated with both the activity (OR = 0.47, $p = 0.002$) and severity ($X^2 = 13.9$, $p = 0.008$) of thyroid-associated ophthalmopathy, supporting a genetic influence on the disease's clinical presentation.

5. Prognostic models of the clinical course of TAO based on activity and severity have been developed, based on a decision tree taking into account immunological, genetic, and clinical parameters. The sensitivity of the activity model is 95.7%, the severity model is 75%, and the overall prediction accuracy is 80%.

Approbation of the work

- International Conference "Traditions and Innovations in Ophthalmology," Kazakh Research Institute of Eye Diseases, Almaty, September 22-23, 2023: "Features of IL-17 in the pathogenesis of thyroid associated ophthalmopathy."

- International Conference "Strategic problems of modern ophthalmology of the Republic of Kazakhstan," Almaty, May 31, 2024: "Immunological features of thyroid associated ophthalmopathy."

- Scientific Committee on "Surgical Diseases," Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, May 3, 2024.

- Academic Council, Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, March 28, 2024.

- Scientific Council, specialty 8D10103 - "Medicine," Kazakhstan Medical University «KSPH», February 20, 2025.

Publications

The dissertation resulted in 8 publications: 2 articles in Scopus journals (CiteScore 2.8 in Scopus, Int Ophthalmol. percentile 59%, 2023-2024), 3 articles in journals recommended by the Science and Higher Education Quality Assurance Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan, and 3 copyright certificates for database registration.

Implementation of results into practice

Research findings have been implemented at the Kazakh Research Institute of Eye Diseases (No. 135, 03/18/2025), the Institute of Endocrinology (No. 2, 03/03/2025), the Almaty Regional Multidisciplinary Clinical Hospital, and integrated into the curriculum of the Faculty of Medicine and Healthcare at al-Farabi Kazakh National University.

Personal contribution of the dissertation candidate

The author was involved in all aspects of the research, from formulating the research question to practical application. This included data collection (patient interviews for informed consent, anamnesis, instrumental studies), immunological, immunohistochemical, and genetic analyses, literature review, database construction, statistical analysis, result interpretation, and development of a predictive model.

Volume and structure of the dissertation

The dissertation is presented on 115 pages of typewritten text excluding appendices and consists of a list of abbreviations and designations, introduction,

literature review, description of materials and methods, results of own research, conclusion, including findings, practical recommendations and a list of references. The work is illustrated with 26 figures, 23 tables. The bibliographic index includes 177 sources.