**АҢДАТПА**

«8D05104 – Генетика» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациялық жұмыстың

**ТАКЕНОВ НУРЛАН КАЙРАТУЛЫ**

**«Қазақстандағы туберкулез қоздырғышы *Mycobacterium tuberculosis* генотиптерін зерттеу» тақырыбында**

**Диссертациялық зерттеудің жалпы сипаттамасы.** Диссертациялық жұмыс Қазақстандағы туберкулез қоздырғышы *Mycobacterium tuberculosis*-тің генетикалық құрылымы мен филогенетикалық әртүрлілігін кешенді зерттеуге арналған. Зерттеуде дәріге төзімділіктің молекулалық механизмдерін және инфекцияның таралу заңдылықтарын анықтау үшін толық геномды секвенирлеу (WGS) және популяциялық генетика әдістері қолданылды.

**Зерттеудің өзектілігі.** Туберкулез (ТБ) жаһандық ауқымдағы елеулі қауіп болып қала береді: Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы (ДДСҰ) жыл сайын 10 миллионнан астам жаңа жағдайды тіркейді, олардың шамамен 390 мыңы дәріге төзімді формаларға тиесілі. Көптеген дәріге төзімді туберкулез (КДТ-ТБ) ерекше қауіп төндіреді, себебі ол емнің тиімділігін айтарлықтай төмендетеді. Қазақстан жүктемесі жоғары елдер қатарына жатады: 2024 жылы КДТ-ТБ үлесі алғаш анықталған науқастар арасында шамамен 27%-ды, ал бұрын ем қабылдағандар арасында 44%-ды құрады. Бұл көрсеткіштер төзімділіктің жетекші механизмін нақты анықтауды талап етеді: ол бастапқы берілуден (трансмиссивті) туындаған ба, әлде емдеу барысында дамыған ба (жүре пайда болған). Бұл жолдарды ажырату инфекциялық бақылау шаралары мен емдеу схемаларын түзету үшін аса маңызды.

Берілу жолдарын қайта құру қоздырғыштың генетикалық құрылымын терең талдамай мүмкін емес. Эпидемиялық үдеріс көбіне нақты филогенетикалық линиялардың басымдығымен, атап айтқанда жоғары трансмиссивтілікпен және резистенттілікке бейімділікпен сипатталатын Beijing генотипімен анықталады. Қазақстанда L2 (East Asian) және L4 (Euro-American) линиялары басым, алайда олардың сублинияларының генетикалық әртүрлілігі мен КДТ-ТБ айналымына қосатын үлесі әлі де аз зерттелген.

Дәстүрлі генотиптеу әдістері (сполиготиптеу, MIRU-VNTR) ажырату қабілеті төмен болады және жақында болған берілу тізбектерін сенімді анықтауға мүмкіндік бермейді. Толық геномды секвенирлеу (WGS) сенімді шешім болып табылады: бір нуклеотидті полиморфизмдерді (SNP) талдау филогенияны және трансмиссия кластерлерін жоғары дәлдікпен қайта құруды қамтамасыз етеді. Соған қарамастан, Қазақстанда *M. tuberculosis* толық геномдарын зерттеу жұмыстары сирек кездеседі.

Осылайша, «Генетика» білім беру бағдарламасы аясында кешенді WGS зерттеуін жүргізу жоғары өзекті міндет болып табылады. Жұмыс Қазақстанда айналымдағы ТБ изоляттарының генетикалық құрылымын сублиния деңгейіне дейін нақтылауға, төзімділік профильдерін сипаттауға және инфекцияның

географиялық таралуын талдауға бағытталған, бұл ұлттық эпидемиологиялық қадағалау жүйесін жетілдіруге қызмет етеді.

**Зерттеу нысандары.** Зерттеу нысандары ретінде зертханалық расталған ТБ бар пациенттердің биологиялық үлгілерінен бөлініп алынған 272 *M. tuberculosis* клиникалық изоляты алынды. Материалды жинау және іріктеу 2023 жылдың қаңтарынан 2024 жылдың желтоқсанына дейінгі аралықта Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Ұлттық фтизиопульмонология ғылыми орталығының базасында жүргізілді.

**Зерттеудің мақсаты.** Зерттеудің мақсаты – толық геномды секвенирлеу негізінде Қазақстан Республикасы аумағында айналымдағы *M. tuberculosis* клиникалық изоляттарының генетикалық құрылымын кешенді зерттеу, филогенетикалық әртүрлілігін молекулалық сипаттау, дәріге төзімділік профильдерін анықтау және жақында берілу жолдарын бағалау.

**Зерттеу міндеттері:**

1. Кейінгі генетикалық талдау үшін *M. tuberculosis* клиникалық изоляттарының коллекциясын жасақтау және пациенттердің клиникалық-эпидемиологиялық деректерін жүйелеу.
2. WGS және деректерді биоинформатикалық өңдеу әдістерін қолдана отырып, айналымдағы *M. tuberculosis* изоляттарының филогенетикалық құрылымын анықтау.
3. Қоздырғыш популяциясының линия ішіндегі генетикалық әртүрлілігін сублиния деңгейіне дейін нақтылай отырып сипаттау.
4. ДДСҰ каталогына сәйкес мақсатты гендерде SNP детекциясы негізінде изоляттардың дәріге төзімділігінің молекулалық профилін анықтау және оны нақты генетикалық сублиниялардың тиесілілігімен салыстыру.
5. SNP-кластерлік талдау негізінде инфекцияның жақында берілу қарқындылығын және популяциядағы ТБ-ның эндогендік реактивациясының үлесін бағалау.
6. Геокеңістіктік талдауды қолдана отырып, Алматы облысы мен Алматы қаласында қоздырғыш генотиптерінің кеңістіктік-эпидемиологиялық заңдылықтарын және берілудің жергілікті ошақтарын анықтау.

**Зерттеу әдістері.** Жұмыста микробиологиялық, молекулалық-генетикалық және биоинформатикалық зерттеу әдістері қолданылды. *M. tuberculosis* клиникалық изоляттарын толық геномды секвенирлеу, одан әрі SNP талдауы, филогенетикалық ағаштарды қайта құру және эволюциялық динамиканы бағалау TB-Profiler, MTBseq және IQ-TREE 2 құралдарын пайдалана отырып жүргізілді. Статистикалық өңдеу R (v4.3.1) ортасында сипаттамалық статистика мен параметрлік емес критерийлерді (Манн–Уитни U-критерийі, Пирсонның $\chi^2$ критерийі, Фишердің нақты критерийі) қолдана отырып орындалды. Молекулалық әдістердің диагностикалық тиімділігі сезімталдық пен спецификалықты есептеу арқылы бағаланды, ал кеңістіктік-генетикалық талдау Мантель тесті мен картографиялау әдістерін қолдана отырып жүргізілді.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы.** Диссертациялық зерттеуді орындау барысында ажыратымдылығы жоғары WGS негізінде Қазақстан Республикасындағы *Mycobacterium tuberculosis*-тің популяциялық-генетикалық

құрылымын, филогенетикалық әртүрлілігін, дәріге төзімділік профильдері мен таралу жолдарын сипаттайтын кешенді деректер алынды.

Клиникалық изоляттар іріктемесінде сублиния деңгейіне дейін нақтылай отырып, өңірдегі қоздырғыштың филогенетикалық құрылымы сипатталды: 2-линия Beijing (72,4%) және 4-линия Euro-American (26,8%) басымдығы анықталды, бұл ретте Beijing генотипі ішінде Central Asia және Central Asia Outbreak (CAO) сублиниялары басым екені дәлелденді.

Алғаш рет Beijing генотипі ішінде дәріге төзімділік профилінің нақты сублинияға тиесілілігіне байланысты айқын біртекті еместігі анықталды: CAO және Europe/Russian W148 Outbreak сублиниялардың КДТ-ТБ-мен жоғары ассоциациясы көрсетілді, ал Central Asia сублиниясы негізінен дәріге сезімталдығын сақтайды.

Алғаш рет зерттелетін өңір үшін толық геномдық деректер деңгейінде рифампицин мен изониазидке төзімділіктің негізгі детерминанттары жоғары сенімді *rpoB* S450L (91,1%) және *katG* S315T (99,2%) мутациялары болып табылатынын растайтын резистенттіліктің молекулалық профилі сипатталды.

Қазақстан үшін алғаш рет туберкулездің берілуін кешенді бағалау (≤12 SNP шегімен SNP-кластерлік талдау мен эпидемиологиялық деректерді біріктіру) қолданылды, бұл аурудың даму механизмдерін сандық тұрғыдан ажыратуға мүмкіндік берді: жағдайлардың 92,65%-ы инфекцияның белсенді берілуімен, ал 7,35%-ы эндогендік реактивациямен байланысты екені дәлелденді.

Алғаш рет Мантель тестін қолдана отырып, Алматы агломерациясындағы қоздырғыш популяциясының кеңістіктік-генетикалық құрылымына баға берілді, ол генотиптердің жалпы диффузды таралуы аясында қысқа қашықтықта (8 км-ге дейін) инфекцияның клональдық берілуінің статистикалық маңызды жергілікті ошақтарын анықтады.

Алынған нәтижелер негізінде 272 *M. tuberculosis* клиникалық изоляттарының клиникалық-эпидемиологиялық және геномдық деректерінің интеграцияланған базасы жасақталды, ал олардың толық геномдық тізбектері NCBI (GenBank) халықаралық деректер базасында PRJNA1277026 жоба нөмірімен сәтті орналастырылды, бұл кейінгі молекулалық-эпидемиологиялық зерттеулерге мүмкіндікті кеңейтеді.

**Практикалық маңыздылығы.** Молекулалық-эпидемиологиялық қадағалаудың дәлдігін арттыру үшін Қазақстан Республикасының фтизиатриялық қызметі тәжірибесіне WGS және SNP-талдау әдістерін енгізудің тиімділігі негізделді. Аурудың берілуінің трансмиссиялық механизмінің басымдығы (92,65%) және жергілікті кеңістіктік кластерлену (8 км-ге дейінгі радиуста) туралы алынған деректер инфекциялық бақылау шараларын жоспарлауда және байланыста болған адамдарды эпидемиологиялық тергеу үшін басым аймақтарды айқындауда пайдаланылуы мүмкін. CAO және Europe/Russian W148 Outbreak сублинияларында резистенттіліктің ауыр формаларының шоғырлануының анықталуы молекулалық типтеуді ТБ ошақтарының эпидемиологиялық қаупін стратификациялаудың қосымша құралы ретінде қолдануға мүмкіндік береді. *rpoB* S450L және *katG* S315T

мутацияларының басымдығының расталуы дәріге төзімділікті экспресс-диагностикалауға арналған мақсатты молекулалық тест-жүйелерді әзірлеу мен енгізудің эксперименттік негізін құрайды. NCBI (GenBank, PRJNA1277026 жобасы) базасында қалыптастырылған және орналастырылған геномдық деректер базасы Қазақстанда және Орталық Азияда кейінгі молекулалық-эпидемиологиялық зерттеулер жүргізу үшін пайдаланылуы мүмкін референттік ресурс ретінде қызмет етеді.

**Теориялық маңыздылығы.** Алынған нәтижелер Қазақстанда ТБ дәріге төзімді формаларының таралуы жоғары жағдайында *M. tuberculosis* популяциялық құрылымы мен микроэволюциясы туралы қазіргі заманғы түсініктерді толықтырады және кеңейтеді. Beijing сублиниялары бойынша төзімділік профилі жөнінен анықталған линия ішіндегі гетерогенділік – CAO және Europe/Russian W148 Outbreak-те аса қолайсыздан Central Asia-да сезімталдықтың сақталуына дейін – қоздырғыштың генетикалық сублиниялары эпидемиологиялық табыстылығының бір филогенетикалық линия ішіндегі дифференциалды механизмдерін түсінуге үлес қосады. Зерттелген ТБ жағдайларының 92,65%-ы эндогендік инфекцияның реактивациясымен емес, жақында болған трансмиссиямен байланысты екенін көрсететін алынған баға жүктемесі жоғары өңірлерде КДТ-ТБ эпидемиясын ұстап тұрудағы дәріге төзімді штаммдардың белсенді берілуінің рөлі туралы түсініктерді кеңейтеді. Штаммдардың генетикалық туыстығының статистикалық маңызды, бірақ тек қысқа қашықтықта ғана айқын байқалатын кеңістіктік құрылымын анықтау туберкулездің молекулалық эпидемиологиясындағы кеңістіктік-генетикалық талдау әдіснамасын дамытуға үлес қосады.

**Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:**

1. Қазақстандағы *Mycobacterium tuberculosis* популяциясы L4 Euro-American линиясының (26,8%) болуы аясында L2 Beijing линиясының (72,4%) айқын басымдылығымен сипатталады, бұл айналымдағы изоляттардың генетикалық құрылымының негізін құрайды.

2. Beijing генотипі ішінде Central Asia (49,2%) және Central Asia Outbreak (CAO) (44,2%) сублиниялары басым, бұл ретте CAO ТБ қоздырғышының белсенді айналымын көрсететін төмен SNP-қашықтығы бар клональдық эпидемиологиялық кластерлерді құрайды.

3. Дәріге төзімділіктің генетикалық профилі КДТ-ТБ жоғары жиілігімен (29,0%) және бірінші қатардағы негізгі препараттар – рифампицин мен изониазидке төзімді изоляттар арасында тиісінше *rpoB* S450L (91,1%) және *katG* S315T (99,2%) мутацияларының басымдылығымен сипатталады.

4. SNP-кластерлеуді (≤12 SNP шегі) және пациенттердің клиникалық-эпидемиологиялық мәртебесін кіріктірілген талдау 252 изоляттың (92,65%) жақында болған трансмиссиямен, ал 20 изоляттың (7,35%) бұрын өткерілген инфекцияның реактивациясымен байланысты екенін көрсетті, бұл туберкулездің және оның дәріге төзімді генотиптерінің популяцияда таралуының негізінен трансмиссиялық сипатын растайды.

5. Туберкулез қоздырғышы *M. tuberculosis* популяциясының генетикалық-географиялық құрылымы жаһандық кеңістіктік байланыстың болмауымен

(r=0,06173; p=0,1628) және сонымен бір мезгілде инфекцияның клональдық берілуінің 8 км-ге дейінгі радиустағы жергілікті ошақтарының сақталуымен (r=0,0623; p=0,048) сипатталады.

**Автордың жеке үлесі.** Автор зерттеу міндеттерін қоюды, клиникалық изоляттар коллекциясын жасақтауды, үлгілерді секвенирлеуге дайындауды және биоинформатикалық талдаудың толық циклін өз бетінше орындады. Автор сонымен қатар нәтижелерді статистикалық өңдеуді, деректерді интерпретациялауды, ғылыми жарияланымдарды дайындауды және диссертациялық жұмысты рәсімдеуді жүзеге асырды.

**Ғылыми жұмыстар жоспарымен байланысы.** Диссертациялық жұмыс Ғылыми-зерттеу жұмыстарының жоспары аясында Ұлттық фтизиопульмонология ғылыми орталығының (Алматы қ.) базасында орындалды. Зерттеу орталықтың материалдық-техникалық базасын пайдалана отырып жүргізілді. Реактивтер мен шығын материалдары ЖИТС, туберкулез және безгекпен күрес жөніндегі Жаһандық қордың қолдауымен, сондай-ақ ғылыми орталықтың өз қаражаты есебінен қамтамасыз етілді. Зерттеу тақырыбы Қазақстан Республикасы ғылымын дамытудың «Өмір және денсаулық туралы ғылым» басым бағытына сәйкес келеді.

**Жұмыстың апробациясы.** Зерттеудің негізгі нәтижелері келесі ғылыми іс-шараларда ұсынылды және талқыланды:

- «The Union World Conference on Lung Health» халықаралық конференциясы, Париж, Франция, 2023 ж.;
- «The Union World Conference on Lung Health» халықаралық конференциясы, Бали, Индонезия, 2024 ж.;
- «The Union World Conference on Lung Health» халықаралық конференциясы, Копенгаген, Дания, 2025 ж.;
- «Генетика және физиология: өткені, бүгіні, болашағы» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы, Алматы, Қазақстан, 2025 ж.

**Жарияланымдар.** Диссертация тақырыбы бойынша 12 ғылыми еңбек жарияланды, оның ішінде Scopus және Web of Science халықаралық деректер базаларында индекстелетін журналдарда 3 мақала, Қазақстан Республикасы ҒЖБМ ҒЖБСҚК (КОКСНВО) ұсынған басылымдарда 2 мақала және халықаралық ғылыми-практикалық конференциялар материалдарында 7 тезис.

**Диссертацияның құрылымы.** Диссертациялық жұмыс кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, зерттеу материалдары мен әдістерінен, өзіндік зерттеу нәтижелерінен, қорытындыдан, пайдаланылған әдебиеттер тізімінен және қосымшалардан тұрады. Диссертация қажетті стандарттарды сақтай отырып, 13 беттік компьютерлік мәтінде баяндалған, 16 кесте, 25 суретті қамтиды. Пайдаланылған әдебиеттер тізімінде 282 дереккөз бар.