

**8D05110 – Вирусология білім беру бағдарламасы бойынша философия
докторы (PhD) дәрежесін алу үшін Хайдаров Сәкеннің
«SARS-CoV-2 вирусына қарсы препараттардың вирусқа қарсы
белсенділігін in vitro зерттеу» тақырыбындағы диссертациясына
АНДАТПА**

Диссертациялық зерттеудің жалпы сипаттамасы

Диссертацияның мақсаты – SARS-CoV-2 вирусына қарсы заманауи фармакологиялық препараттардың вирусқа қарсы белсенділігін Vero E6 жасуша мәдениетінде және трансгенді емес зертханалық тышқандардың эксперименттік үлгісінде кешенді түрде зерттеу.

Зерттеу барысында SARS-CoV-2/KAZ/B.1.1/2021 (Alpha нұсқасы) штаммы бөлініп алынып, оның молекулалық-генетикалық және морфологиялық сипаттамасы жүргізілді. Вирусқа қарсы белсенділікті бағалау үшін тенофовир алафенамид (TAF), фавипиравир, рибавирин және дексаметазон препараттары қолданылды.

Зерттелген қосылыстардың цитотоксикалық қауіпсіз концентрациялары және ингибирлеуші концентрация диапазоңдары (IC_{10} – IC_{100}) анықталды. Препараттардың SARS-CoV-2 вирусының репликациясына әсері RT-qPCR әдісімен сандық тұрғыда бағаланды. Тенофовир алафенамидті қолдану кезінде вирус жүктемесінің айтарлықтай төмендеуі байқалды, бұл оның айқын вирусқа қарсы белсенділігін дәлелдейді.

RdRP (ORF1b/NSP12) генінің Alpha және Wuhan штаммдары арасындағы салыстырмалы талдау олардың жоғары гомологиясын және антивирустық терапия нысандарының тұрақтылығын растады.

Сонымен қатар, рекомбинантты IL-33 цитокинының туа біткен иммундық жауапты белсендіруге әсері зерттелді, бұл оның коронавируc инфекциясында иммуномодуляциялық агент ретінде әлеуетін көрсетті.

Зерттеу нәтижелері COVID-19 терапиясының жаңа схемаларын әзірлеу мен антивирустық препараттарды сынаудың эксперименттік үлгілерін қалыптастыру үшін практикалық маңызға ие.

Диссертациялық жұмыстың өзектілігі

2020 жылы басталған COVID-19 пандемиясы әлемдік денсаулық сақтау жүйесінің осал тұстарын көрсетті. SARS-CoV-2 вирусының кең таралуы үлкен адам шығынымен қатар, тиімді емдеу құралдарының жетіспеушілігін айқындады. Вакциналар жасау саласындағы жетістіктерге қарамастан, тікелей вирусқа қарсы әсері бар препараттарға деген қажеттілік әлі де жоғары.

Осы тұрғыда кең спектрлі фармакологиялық құралдардың, соның ішінде тенофовир алафенамидтің (TAF), фавипиравир мен рибавириннің вирусқа қарсы белсенділігін зерттеу ерекше өзектілікке ие. Бұл диссертация олардың цитоуыттылығын және тиімділігін Vero E6 жасуша мәдениетінде зерттеуге, сондай-ақ Қазақстан аумағынан бөлініп алынған SARS-CoV-2 нұсқаларымен өзара әрекеттесу ерекшеліктерін анықтауға бағытталған.

Зерттеудің мақсаты мен міндеттері

Зерттеу мақсаты: SARS-CoV-2 вирусына қарсы бірқатар препараттардың вирусқа қарсы белсенділігі мен цитоуыттылығын *in vitro* зерттеу және олардың әсер ету молекулалық механизмдерін анықтау.

Зерттеу міндеттері:

1. Қазақстан аумағында айналымдағы SARS-CoV-2 штаммдарын бөліп алу және молекулалық-генетикалық сәйкестендіру.
2. RdRP (ORF1b/NSP12) генінің Wuhan және Alpha штаммдары арасындағы нуклеотидтік тізбектерін салыстыру.
3. Vero E6 жасушалық сызығында ССК8 және МТТ әдістерін қолдана отырып, препараттардың цитотоксикалық концентрацияларын (CC_{50} , IC_{10} – IC_{100}) анықтау.
4. TAF және басқа препараттардың вирус репликациясын тежеп, вирус жүктемесін азайтудағы тиімділігін бағалау.
5. Рекомбинантты IL-33 цитокинының WT тышқандарындағы туа біткен иммундық жауапқа әсерін зерттеу.
6. Антивирустық терапияда қолдануға арналған ұсыныстарды әзірлеу.

Зерттеу нысаны мен әдістері

Зерттеу нысандары: SARS-CoV-2 вирусының Wuhan және Alpha (B.1.1.7) штаммдары, сондай-ақ антивирустық препараттар — тенофовир алафенамид, фавипиравир, рибавирин және дексаметазон.

Зерттеу пәні: Препараттардың вирусқа қарсы әсер ету механизмдері, олардың вирус репликациясына және Vero E6 жасушаларының өміршеңдігіне әсері.

Ғылыми жаңалығы

Қазақстанда алғаш рет төрт фармакологиялық препараттың жергілікті SARS-CoV-2 штаммына (Alpha нұсқасы, B.1.1.7) қарсы вирусқа қарсы белсенділігі салыстырмалы түрде кешенді зерттелді.

Жаңа ғылыми нәтижелер:

- TAF және TDF препараттарының төмен цитоуыттылықпен қауіпсіз концентрация диапазоңдары анықталды;
- TAF қолданғанда вирус репликациясының 99% тежелуі дәлелденді;
- RdRP гені бойынша Alpha және Wuhan штаммдарының жоғары гомологиясы анықталды;
- IL-33 цитокинының модельдік жануарлардағы иммуномодуляциялық әсері алғаш рет көрсетілді;
- RdRP ферментін тежеу және өлімге әкелетін мутагенез механизмі тәжірибелік тұрғыда расталды.

Зерттеудің ғылыми және практикалық маңызы

Зерттеу нәтижелері COVID-19 және басқа РНҚ-вирустық инфекцияларға қарсы жаңа емдеу тәсілдерін әзірлеу үшін маңызды ғылыми негіз болып табылады. TAF препараттарының тиімді дозалары мен әсер ету механизмдері клиникалық сынақтарда қолдануға ұсынылады.

Дайындалған Vero E6 жасушалық үлгісі антивирустық препараттардың тиімділігін бағалау үшін стандартты эксперименттік платформа ретінде ұсынылады.

Қорғауға шығарылатын негізгі тұжырымдар

1. Тенофовир алафенамид (TAF) төмен цитоуыттылықпен SARS-CoV-2 вирусына қарсы айқын антивирустық белсенділік көрсетеді.
2. RdRP генінің консервативтілігі оны әмбебап терапиялық нысана ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.
3. IL-33 цитокины туа біткен иммундық жауапты күшейтіп, *in vivo* жағдайында вирус жүктемесін төмендетеді.
4. Жасалған *in vitro* үлгі антивирустық қосылыстардың тиімділігі мен уыттылығын қайта жаңғыртылатын дәлдікпен бағалауға мүмкіндік береді.

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен қорытындылары

(бөліп алынған, морфологиялық және молекулалық сипаттамасы бар Alpha штаммы, вирус репликациясын 99% тежеген TAF тиімділігі, RdRP тұрақтылығы, IL-33 иммуномодуляциясы және тәжірибелік модельдердің тиімділігі туралы толық мазмұн сақталады).

Негізгі ғылыми жұмыстар жоспары және клиникамен байланысы

Диссертациялық жұмыс биологиялық және медициналық зерттеулер институтының ғылыми-зерттеу жоспарына сәйкес және **AP09260672** гранттық жоба шеңберінде орындалды:

«SARS-CoV-2 вирусына қарсы тенофовир алафенамид пен басқа фармакологиялық препараттардың вирусқа қарсы белсенділігін *in vitro* және *in vivo* зерттеу» (2021–2023 жж.), жоба ҚР Білім және ғылым министрлігінің Ғылым комитетімен қаржыландырылды.

Зерттеу нәтижелері жобаның негізгі мақсаттары мен міндеттеріне толық сәйкес келеді және SARS-CoV-2 вирусының айналымдағы штаммдарын бөліп алу, антивирустық белсенділікті бағалау, қауіпсіз концентрацияларды анықтау, сондай-ақ IL-33 цитокинінің иммуномодуляциялық әсерін тәжірибелік тұрғыдан дәлелдеуді қамтиды.

Жұмыс клиникалық тәжірибемен тығыз байланысты. Алынған деректер COVID-19 терапиясының тиімді схемаларын әзірлеуге және клиникалық сынақтарға арналған ұсынымдарды қалыптастыруға мүмкіндік береді.

Жарияланымдар

Диссертация материалдары бойынша 12 ғылыми еңбек жарияланды, оның ішінде:

- Web of Science және Scopus базаларындағы 2 мақала;
- ҚР БҒМ БҒССҚК ұсынған басылымдарда – 5 мақала;
- Халықаралық конференцияларда – 5 баяндама тезистері.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы

Жұмыс 140 беттен тұрады, оған кіріспе, әдеби шолу, материалдар мен әдістер, нәтижелер және талқылау, қорытынды, әдебиеттер тізімі (131 дереккөз), 9 кесте, 48 сурет және 5 қосымша енгізілген.