

**Мусабай Қаракөз Нуржанқызының**  
**«Ауыр коронавирустық инфекцияларда ішек микробиотасы мен**  
**иммундық жүйе арасындағы байланыстың мультимикстік**  
**зерттеулері» тақырыбындағы 8D05101-«Биология» білім беру**  
**бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу**  
**үшін ұсынылған диссертациялық жұмысының**

**АННОТАЦИЯСЫ**

**Жұмыстың өзектілігі.**

Ауыр коронавирустық инфекция кезінде ішек микробиотасы мен иммундық жүйе арасындағы өзара байланысты зерттеу қазіргі биомедициналық ғылымның өзекті бағыттарының бірі болып табылады. Ішек микробиотасы иммундық жауапты реттеуде маңызды рөл атқарады және оның дисбиозы қабыну процестерінің күшеюімен, сондай-ақ әртүрлі аурулардың дамуымен байланысты екені анықталған.

Коронавирустық инфекция иммундық жүйенің дисрегуляциясымен және қабыну цитокиндерінің шамадан тыс өндірілуіне байланысты цитокиндік дауылдың дамуымен сипатталады. Соңғы зерттеулер ішек микробиотасының COVID-19 кезіндегі иммундық жауапты модуляциялауға ықпал етуі мүмкін екенін көрсетеді. Ішек микробиомы иммундық гомеостазды сақтауда маңызды рөл атқарып қана қоймай, «ішек-өкпе осі» арқылы тыныс алу жүйесімен өзара әрекеттесуге және ангиотензин түрлендіретін фермент 2 (ACE2) рецепторының экспрессиясына әсер етуі ықтимал. Ішек микробиотасының теңгерімсіздігі аурудың ауырлығына, клиникалық нәтижесіне және вакцинация тиімділігіне ықпал етуі мүмкін.

Қазіргі уақытта еуропалық және азиялық популяцияларда коронавирустық инфекция кезіндегі ішек микробиомына қатысты зерттеулер жүргізілгенімен, Орталық Азия өңірінде, оның ішінде Қазақстанда бұл бағыт жеткілікті зерттелмеген. Осыған байланысты ауыр коронавирустық инфекция кезінде ішек микробиотасы мен иммундық жүйе арасындағы байланысты кешенді зерттеу аурудың патогенезін терең түсінуге, әлеуетті биомаркерлерді анықтауға және емдеу стратегияларын жетілдіруге мүмкіндік береді.

**Зерттеудің мақсаты** ауыр коронавирустық инфекция жағдайында ішек микробиотасы мен иммундық жүйе арасындағы байланысты мультимикстік тәсілдер арқылы зерттеу.

**Зерттеу міндеттері:**

1. Коронавирустық инфекция кезінде цитокиндік профильді сау жағдаймен салыстыра зерттеу.
2. Коронавирустық инфекция кезінде ішектің микробиомдық құрамын сау жағдаймен салыстыра анықтау.

3. Постковидтік кезеңдегі цитокиндік профильдегі өзгерістерді анықтау.
4. Постковидтік кезеңдегі ішек микробиомасының құрамындағы өзгерістерді зерттеу.
5. Коронавирус инфекциясы кезінде ішек микробиомасының көрсеткіштері мен иммундық статус параметрлері арасындағы өзара байланысты анықтау.
6. Коронавирус инфекциясы ағымының ауырлығымен байланысты биомаркерлерді анықтау.

#### **Зерттеу нысаны:**

Коронавирустық инфекция диагнозы қойылған ауыр 60 науқас және 51 адамнан тұратын сау бақылау тобынан жинақталған қан және нәжіс үлгілері.

**Зерттеу дизайны:** динамикадағы перспективалық бойлық зерттеу

#### **Зерттеу әдістері:**

- нәжістен ДНҚ бөліп алу;
- ДНҚ концентрациясын анықтау;
- 16S рРНК секвенирлеу;
- мультиплекстік цитокиндік профильді талдау;
- статистикалық өңдеу әдісі және биоинформатикалық

мәліметтерді талдау;

#### **Ғылыми жаңалығы**

Алғаш рет Қазақстан Республикасының популяциясына ауыр коронавирус инфекциясы жағдайында иммундық жауап пен ішек микробиотасын корреляциялық бағалау жүргізілді.

Алғаш рет ауыр COVID-19 жағдайында және бір жыл көлемінде цитокин деңгейлері мен олардың динамикасы анықталды.

Алғаш рет коронавирус инфекциясы жағдайында ішек микробиотасының ерекшеліктері динамикалық түрде зерттелді.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы.** Алғаш рет Қазақстан Республикасының популяциясына коронавирустық инфекцияның ауыр түрімен ауыратын науқастардың иммундық жауабы мен ішек флорасының жағдайына корреляциялық бағалау жүргізілді.

Алғаш рет цитокиндердің деңгейі мен динамикасы бір жыл ішінде ауыр COVID-19 ауыратын науқастарда анықталды.

Алғаш рет коронавирус инфекциясын жұқтырған науқастардың ішек микробиотасының ерекшеліктері динамикада зерттелді.

**Практикалық маңыздылығы.** Зерттеу нәтижелері науқастардың иммундық жүйесінің реакциясы мен ішек микробиота жағдайы арасындағы байланыстарды анықтау арқылы ауыр COVID-19 жағдайларын терең түсінуге көмектеседі.

Цитокиндердің деңгейі ауыр COVID-19 кезінде бір жыл ішінде қалай өзгертіні анықталғандықтан, қабыну процестерінің динамикасын

жақсы түсінуге, цитокиндік өзгерістерді алдын ала бағалауға және иммундық жүйенің реакцияларын ғылыми тұрғыдан талдауға мүмкіндік береді.

Зерттеу барысында COVID-19 жағдайында жіті және постковидтық кезеңде ішек микробиотасында айтарлықтай өзгерістер орын алатыны анықталды. Бұл нәтижелер инфекциядан кейін ішек микробиотасының қалпына келу динамикасын зерттеуге мүмкіндік береді және болашақта ішек микробиотасының тұрақтылығын бағалауға арналған биологиялық тәсілдерді әзірлеуді жеңілдетеді.

Цитокиндік және микробиомдық биомаркерлер туралы осы зерттеудің нәтижелері коронавирустық инфекция бойынша әлемдік дерекқорларды толықтырады.

Бұл зерттеудің нәтижелері COVID-19 инфекциясы кезінде иммундық жүйе мен ішек микробиотасының өзара әрекетін тереңірек түсінуге мүмкіндік береді, сондай-ақ инфекциядан кейінгі микробиота динамикасын зерттеу арқылы биологиялық механизмдерді анықтауға және жалпы халықтың денсаулығын жақсарту бағытындағы ғылыми негізді кеңейтуге септігін тигізеді.

#### **Қорғауға шығарылатын негізгі ережелер:**

1. Коронавирустық инфекциямен ауыратын науқастарда аурудың жіті кезеңінде қабыну цитокиндері жоғары, ал қабынуға қарсы цитокиндер төмен болатыны анықталды. MDC, EGF, IP-10, IL-15, IL-8 цитокиндері ең маңызды көрсеткіштер ретінде анықталды.

2. Ішек микробиомын зерттеу нәтижесінде топтар арасында статистикалық айырмашылық көрсетіп, зерттеу тобында оппортунистік бактериялар *Prevotella 9*, *Lachnospirales* және *Bacteroides* түрлері басым болды, ал *Haemophilus*, *Leptotrichia*, *Prevotella*, *Prevotella\_7*, *Neisseria* және *Streptococcus* сандары керісінше төмен болды.

3. Постковидтық кезеңде иммундық маркерлер бойынша IL-6 жоғары, ал IL - 1RA төмен концентрациясы анықталды. Ішек микробиомы динамикада маңызды айырмашылықтар көрсетіп, 1 жылдың көлемінде шартты-патогенді бактериялар саны азайып, комменсал бактериялардың саны артатыны анықталды.

4. Коронавирустық инфекция кезінде статистикалық маңызды комменсал бактерия түрі *Eubacterium hallii* анықталды. *E. hallii* саны төмендеген сайын цитокиндік дауылдың алдын алатын қабынуға қарсы цитокиндерінің экспрессиясы да төмендейтіні анықталды.

#### **Зерттеу тұжырымдары:**

1. Зерттеу тобында бақылау тобымен салыстарғанда қабыну цитокиндері IL-1A (FDR=0,03047), FLT-3L (FDR=0,00302), IL-2 (FDR=0,03924), IL-6 (FDR=0,00048), IL-9 (FDR=0,00778), MCP-3 (FDR=0,01850), IFN $\gamma$  (FDR=0,06763) және IL-17A (FDR=0,00012) айтарлықтай жоғары болды. Ал, қабынуға қарсы цитокиндерден IL-5

(FDR=0,09064), EGF (FDR=0,00012), эотаксин (FDR=0,00012), IL-4 (FDR=0,00001), IL-12 (p40) (FDR=0,00082), MDC (FDR=0,05648), MCP- 1, IL-15 (FDR=0,00004) деңгейінің жоғарылауы анықталды. Ауыстыру белгілерінің маңыздылығын зерттеу барысында хемокиндер арасынан MDC, EGF өсу факторы және IP-10, ал интерлейкин арасынан IL-15 және IL-8 интерлейкиндері ең маңызды көрсеткіштер ретінде анықталды.

2. Ішек микробиомының құрылымын талдауда альфа әртүрлілікті анықтауда Observed ( $p=0,005$ ;  $d=0,59$ ) пен Chao1 ( $p=0,05$ ;  $d=0,53$ ), ал бета әртүрлілік анықтауда Bray-Curtis ( $R=0,759$ ;  $p=0,0001$ ) екі топ арасындағы микробтық қауымдастық құрылымында статистикалық маңызды айырмашылықты көрсетті. Сызықтық дискриминантты талдау (LDA) эффект өлшемімен (LEfSe) нәтижесі зерттеу тобында *Prevotella 9*, *Lachnospirales* және *Bacteroides* түрлері басым, ал *Haemophilus*, *Leptotrichia*, *Prevotella*, *Prevotella\_7*, *Neisseria* және *Streptococcus* сандары керісінше азаятынын анықтады. Бақылау тобында керісінше *Prevotella 7*, *Haemophilus* және *Veilonella* басым болатынын көрсетті.

3. Постковидтық кезеңде зерттеудің 1 жылымен алты айлық кезеңді салыстырғанда статистикалық маңызды иммундық маркерлер эотаксин ( $p=0,01619$ ), MCP-1 ( $p=0,00794$ ), MDC ( $p=0,00169$ ), MIP-1a ( $p=0,00072$ ), TGF $\alpha$  ( $p=0,00111$ ), TNF $\alpha$  ( $p=0,06176$ ) және VEGF-A ( $p=0,02385$ ) сияқты цитокиндердің деңгейі төмендеді, ал FGF-2 ( $p=0,01133$ ), G-CSF ( $p=0,01133$ ) және IL-15 ( $p=0,03340$ ) деңгейі аурудан айыққаннан кейін көтерілді. Динамикада IL-6 жіті кезеңде жоғарылап 6 ай бойы бақылау тобымен салыстырғанда жоғары экспрессияны ұстап тұрды, ал IL - 1RA жарты жыл бойы төмен экспрессия көрсетті.

4. Динамикада альфа әртүрлілік үшін Observed және Chao1 индексі T1 мен T5 нүктелерінде ( $p=0,005$ ), T2 мен T5 нүктесінде ( $p=0,005$ ) және T4 мен T5 нүктесінде ( $p=0,005$ ) айтарлықтай статистикалық маңызды айырмашылықтар анықтады. Ішек микробиомы құрылымын талдау нәтижесінде *Prevotella 9* және *Bacteroides* түрлері T1 нүктеден T5 нүктеде аздап төмендеді, ал *Parabacteroides*, *Eubacterium\_hallii\_group*, *Agathobacter* түрлері керісінше T1-T5 арасында статистикалық маңызды жоғарылау көрсетті.

5. КВИ жіті және постковидтық кезеңде статистикалық маңызды бактерия түрі *Eubacterium hallii* анықталды. *E. hallii* аурудың жіті кезеңімен салыстырғанда динамикада статистикалық маңызды айырмашылықпен артты. *E. hallii* MCP-1, MCP-1b, IFN-a2, eotaxin, IP-10, EGF-2, TNF, G-CSF цитокиндермен және IL-7, IL-10, IL-12 интерлейкиндерімен теріс корреляция көрсетті.

6. Болжамды модельді есептеу кезінде КВИ ауыр ағымының дамуына науқастарда артық салмақтың ( $p=0,05$ ) және артериялық гипертензияның ( $p=0,05$ ) болуы әсер етеді. Сонымен қатар IL-15, IL-6

және IL-8 интерлейкиндерінің жоғары болуы, ал IL-1RA төмен болуы аурудың ауырлығын болжайтын маркер ретінде анықталды.

**Практикалық ұсыныстар:**

1. Иммундық және микробиомдық маркерлер туралы деректер халықаралық ғылыми-техникалық ақпарат базасында сақталып, Орталық Азияда КВИ кезінде ішек микробиомы мен иммундық маркерлерлердің генетикалық бейімділігі туралы әлемдік деректерді толықтырады. NCBI гендер дерекқоры: Идентификаторы – SUB13279337. Жарияланған күні: 20 маусым 2024 жыл.

2. Коронавирус инфекциясымен ауырған науқастарда ішек микробиомының функционалдық тепе-теңдігін қолдау мақсатында әртүрлі әрі теңгерімді тамақтану қағидаларын сақтау ұсынылады.

3. SARS-CoV-2 инфекциясы кезінде аурудың ауырлық дәрежесіне байланысты биомаркерлерді анықтау аясында *Eubacterium hallii* бактериясын ішек микробиотасының әлеуетті маркері ретінде зерттеу ұсынылады.

**Диссертанттың жеке үлесі.** Әдебиетке шолу жазу, биоүлгілерді жинау, зертханалық әдістерді өткізу және нәтижелерді интерпретациялау. Алынған мәліметтерді талдау және жалпылау, оларды статистикалық өңдеу. Әдеби деректер мен ғылыми материалды жинау барысында ғылыми мақалаларды, тезистерді баспаға дайындау. Зерттеудің негізгі ережелерін қамтитын халықаралық конференцияларда баяндама жасау.

**Зерттеу жұмысының апробациясы.** Зерттеудің негізгі нәтижелері мен ережелері келесі баяндамаларда айтылды:

– «Здоровье органов пищеварения- здоровье всего организма! Основы канцеропревенции», республикалық конференция, 2 маусым, 2023 жыл, Астана, Қазақстан.

– «Современные тренды в лабораторной медицине для клинической практики», ғылыми-практикалық конференция, 21-22 қыркүйек, 2024 жыл, Астана, Қазақстан.

Диссертациялық жұмыстың материалдары бойынша 6 баспа жұмысы жарияланды: Scopus базасында CiteScore бойынша процентиль 83 (Q1) басылымда 1 мақала, процентиль 66 (Q2) басылымда 1 мақала және процентиль 49 (Q3) басылымда 1 мақала, РФДИ индекстелетін басылымда 1 мақала, 2 тезис халықаралық конференциялар жинағында жарияланды. 1 авторлық куәлік алынды.

**Жұмыс нәтижелерін енгізу.** Зерттеу нәтижелері медициналық диагностикалық орталықтың бөлімшелерінде, «ШЖҚ МКК», Астана қаласы әкімдігінің №2 қалалық емханасында сынақтан өткізіліп, енгізілді.

**Жұмыстың ғылыми жобалармен байланысы.** Бұл зерттеу жұмысы Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі ғылым комитетінің BR10965164 «SARS-CoV-2 коронавирус инфекциясының және постковидтік синдромның ағымының ауырлығына клиникалық,

функционалдык, иммунологиялык және генетикалык факторлардың әсерін бағалау» (2021-2023) және AP23487014 «Атеросклероздағы микробиом делдалдық өзара әрекеттесу: SESN және APO тұқымдастарының ақуыздары, цитокиндер және клиникалық көріністер» жобалары аясында қаржыландырылды.

**Диссертация көлемі мен құрылымы.** Диссертациялық жұмыс кіріспеден, 3 негізгі бөлімнен, қорытындыдан, пайдаланылған әдебиеттер тізімінен, қосымшадан тұрады. Жұмыс баспа мәтінінің 90 бетінде көрсетілген, оған 9 кесте, 33 сурет кіреді. Пайдаланылған әдебиеттер тізімінде 217 атау бар.