

Орынбасар Мадияна Болатжанқызының «Үй мысықтарына арналған COVID-19 инфекциясына қарсы суббірлікті вакцинасын әзірлеу және иммунобиологиялық қасиеттерін зерттеу» тақырыбындағы 8D09101 – «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылған диссертациялық жұмысына АНДАТПА

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. COVID-19 пандемиясы аясында SARS-CoV-2 вирусының адамнан жануарға, жануардан жануарға және кері трансмиссиясы ғылыми қоғамдастықтың ерекше назарында. Әсіресе үй мысықтарының эпидемиологиялық маңызы зор, себебі олар адаммен тығыз байланыста және вирустық инфекцияға жоғары бейімділік танытады. SARS-CoV-2 вирусы алғаш рет 2019 жылдың соңында анықталып, қысқа уақыт ішінде жаһандық пандемияға айналды. Бастапқыда тек адамдар арасында таралады деп есептелген вирустың зооноздық табиғаты кейінгі зерттеулерде дәлелденіп, оның адамнан жануарға жұғу мүмкіндігі расталды. Үй жануарларының ішінде мысықтар SARS-CoV-2 вирусына ең сезімталдардың бірі болып табылады. Олар вируспен жұқтырылып қана қоймай, оны басқа мысықтарға да бере алады. Мысықтарда инфекция көбінесе симптомсыз немесе жеңіл түрде өтеді, сирек жағдайларда тыныс алу бұзылыстары, тәбеттің төмендеуі және әлсіздік байқалады. Алайда симптомсыз тасымалдау эпидемиологиялық тұрғыдан ерекше қауіпті болып табылады, себебі инфекцияның жасырын таралуына әкеледі. Халықаралық деректер бойынша, мысықтардың репродуктивтік саны (R_0) 3-тен асады, ал вирусты ұзақ мерзім бойы бөліп шығару қабілеті оларды вирустың табиғи ортасына айналдыруы мүмкін. Азия, Еуропа және Америка құрлықтарында мысықтар тұқымдасы өкілдерінің SARS-CoV-2-мен табиғи жолмен ауыру жағдайлары ресми түрде тіркелген. Осыған байланысты, Бір Денсаулық One Health тұжырымдамасы шеңберінде үй мысықтарын вакцинациялау пандемияға қарсы кешенді шаралардың ажырамас бөлігі болып табылады. Бұл тәсілдің маңыздылығын халықаралық деңгейдегі ірі эпидемиологиялық зерттеулер де растайды: мысалы, Чилиде 2020–2024 жылдары 1377 мысықтың сарысуын талдау нәтижесінде олардың иммундық жауап ұзақтығы 15 айға дейін сақталатыны анықталған. Қытайдың Ухань қаласында жүргізілген зерттеу SARS-CoV-2 вирусының адамнан үй мысықтарына берілу мүмкіндігін нақты дәлелдеді. Зерттеу барысында 102 мысықтың қан сарысуы сынақтан өткізілді. Нәтижесінде, 15 мысықта (14,7%) SARS-CoV-2-ге қарсы антиденелер анықталды, оның ішінде 11-інде вирусты бейтараптандыратын антиденелердің болуы расталды. Бұл көрсеткіштер мысықтардың вируспен нақты байланыста болғанын және олардың иммундық жүйесінің тиісті жауап қалыптастырғанын көрсетеді.

Диссертациялық зерттеудің мақсаты. Қауіпсіз, иммуногенді және тиімді үй мысықтарына арналған COVID-19 суббірлікті вакцинасын әзірлеу және иммунобиологиялық қасиеттерін зерттеу.

Зерттеу міндеттері:

1. Вакцина дизайнын әзірлеу және препараттың пилоттық сериясының сапасын зертханалық бақылау;
2. Вакцинаны оңтайлы формуляциялауды таңдау мақсатында мысықтардағы вакцинаның иммуногендік және протективті тиімділігін зерттеу;
3. Мысықтардағы вакцинациядан кейінгі иммунитеттің кернеуі мен ұзақтығын бағалау.

Зерттеу әдістері. Зерттеу жұмыстары М.Айқымбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығының BSL-3 және ABSL-3 зертханаларында және ҚазҰАЗУ қарасты Халықаралық вакцинология орталығында жүргізілді. Зертханалық жануарларды ұстау және пайдалану жөніндегі институционалдық комитеттің ұсынылған жобаны зерттеуге рұқсаты бар (22.09.2020 жылғы №4 хаттама)

Жұмыста Анти-Spike IgG деңгейі – ELISA әдісімен анықтау әдістер кешені қолданылды: Барлық талдау әдістерінің ішінде антигенді немесе антиденені анықтауға ферменттерді белгі ретінде қолдануға негізделген иммунологиялық талдау айрықша орын алады. Иммунды талдауда ферменттерді таңба ретінде қолдану мүмкіндігінің себебі ферменттердің катализдік белсенділігінің жоғары болуы сәйкес субстраттық жүйе көмегімен фермент концентрациясының ерітіндідегі дәрежесін 10 – 15 М анықтауға мүмкіндік береді.

Қорғауға ұсынылатын негізгі ережелер:

1. Үй мысықтары арасында SARS-CoV-2 вирусының таралуы мен резервуарының пайда болу қаупі – мысықтардың вирусты жұқтыруға бейімділігі, вирусты ұзақ уақыт бойы шығару қабілеті COVID-19 пандемиясымен «Бір Денсаулық» тұжырымдамасы аясында күресудің маңызды бағыты ретінде үй мысықтарын вакцинациялау қажеттілігін дәлелдейді.

2. Үй мысықтарына арналған COVID-19 инфекциясына қарсы суббірлікті вакцинаның дизайны мен пилоттық сериясының сапасын зертханалық бақылау – вакцинаның қауіпсіздігі, иммуногенділігі және протективті тиімділігі оның құрамына енгізілген антигендер мен адъюванттардың дұрыс таңдалуымен және препараттың пилоттық сериясының сапа көрсеткіштерімен анықталады.

3. Вакцинаның әртүрлі формуляцияларының мысықтардағы иммуногендік және протективті тиімділігі – алғаш рет үй мысықтарына арналған суббірлікті вакцинаның әртүрлі формуляциялары салыстырмалы түрде зерттеліп, олардың иммундық жауап тудыру қабілеті мен вирустан қорғау тиімділігі бағаланады.

Зерттеудің негізгі нәтижелерінің сипаттамасы.

Жүргізілген зерттеу жұмысының барысында үй мысықтарына арналған COVID-19 суббірлікті вакцинасының иммунобиологиялық қасиеттері кешенді түрде зерттеліп, келесідей негізгі нәтижелер алынды:

1. Вакцина дизайны және сапалық бақылау. SARS-CoV-2 вирусының негізінде суббірлікті вакцинаның конструкциясы әзірленді. Вакцинаның пилоттық сериясы дайындалып, оның сапа көрсеткіштері (стерильділік, қауіпсіздік, антигендік белсенділік, физика-химиялық қасиеттері) зертханалық бақылаудан өткізілді.

2. Вакцинаның иммуногендік белсенділігі. Вакцинаның әртүрлі формуляциялары (адъюванттардың түрі мен концентрациясы бойынша) мысықтарға енгізіліп, салыстырмалы иммуногендік зерттеулер жүргізілді. Нәтижелері бойынша: Вакцинацияланған мысықтардың қан сарысуында SARS-CoV-2-ге қарсы спецификалық антиденелердің жоғары титрлері тіркелді; ELISA әдісімен анықталған антидене деңгейі бақылау тобымен салыстырғанда статистикалық маңызды жоғары болды ($p < 0,05$); Бейтараптандырушы антиденелердің титрлері вирустың референттік штаммына қарсы жоғары бейтараптандыру қабілетін көрсетті; Вакцинаның оңтайлы формуляциясы анықталып, ол жоғары иммуногендік белсенділікпен қатар қауіпсіздік талаптарына да толық жауап берді.

3. Протективті тиімділік. Вакцинацияланған мысықтар SARS-CoV-2 вирусының вирулентті штаммымен тәжірибелік жолмен жұқтырылды. Нәтижелері келесідей болды: Вакцинацияланған топтағы мысықтардың вирусты бөлу ұзақтығы мен мөлшері бақылау тобымен салыстырғанда айтарлықтай төмендеді ($p < 0,01$); Вакцинацияланған жануарларда клиникалық ауру белгілері (тыныс алу бұзылыстары, әлсіздік, тәбеттің төмендеуі) байқалмады немесе өте жеңіл түрде өтті; Бақылау тобындағы мысықтарда вирустың жоғары деңгейде бөлінуі және аурудың айқын клиникалық көріністері тіркелді.

4. Вакцинациядан кейінгі иммунитеттің ұзақтығы. Вакцинацияланған мысықтарда иммунитеттің шиеленісуі мен ұзақтығы бағаланды. Алынған деректер бойынша: Антиденелердің қорғаныш деңгейі вакцинациядан кейін 6 ай бойы сақталды; Жоғары титрлі бейтараптандырушы антиденелер иммундық жауаптың тұрақтылығын көрсетті.

Алынған нәтижелердің жаңалығы мен маңыздылығының негіздемесі. Алғаш рет үй мысықтарына арналған COVID-19 инфекциясына қарсы суббірлікті вакцинасы шығарылды. Үй мысықтарына арналған SARS-CoV-2 суббірлікті вакцинасының технологиясы әзірленді. Алғаш рет мысықтардағы вакцинаның әртүрлі формуляциясының иммуногенділігі мен протективті тиімділігі туралы мәліметтер алынды. Үй мысықтарында суббірлікті вакцинаның әртүрлі адъюванттық формуляцияларының иммуногендігі мен протективті тиімділігі салыстырмалы түрде бағаланды. Зерттеу нәтижесінде мысықтар үшін оңтайлы адъювант түрі анықталып, оның иммундық жауапты күшейту механизмдері сипатталды.

Ет қоректілер және басқа ауруға бейім жануарларда SARS-CoV-2 инфекциясын арнайы алдын алу үшін суббірлік адъювантты вакцинаны алу тәсілі. Қазақстан Республикасы Әділет министрлігінің «Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМҚ. Өнертабысқа патент № 35485, 04.02.2022.

Ғылымның даму бағыттарына немесе мемлекеттік бағдарламаларға сәйкестігі. Диссертациялық жұмыс «Нанобөлшектерге негізделген SARS-CoV-2 интраназальды вакцинасының жаңа платформасы: жануарлардың зертханалық модельдерінің дизайнын жасау және сынау» ғылыми жобасы аясында орындалды. Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Ғылым комитеті қаржыландырды (грант № AP09259609).

Жобаның мақсаты мен диссертацияның мазмұны арасындағы байланыс: жобада нанобөлшектерге негізделген интраназальды вакцина платформасы әзірленсе, диссертацияда суббірлікті вакцинаның иммунобиологиялық қасиеттері зерттелді – бұл екі бағыт бір-бірін толықтырып, вакциналық иммунитетті жан-жақты зерттеуге мүмкіндік берді; жоба аясындағы зерттеулер ҚР М.Айқымбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығының BSL – 3 және ABSL – 3 зертханаларында жүргізіліп, жоғары деңгейдегі биологиялық қауіпсіздік талаптары сақталды; жобаның нәтижелері диссертациядағы вакцинаның протективті тиімділігін бағалауға негіз болды.

Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан үлесінің сипаттамасы. Докторант диссертациялық зерттеудің барлық кезеңдеріне, оның ішінде ғылыми тұжырымдаманы қалыптастыруға, зертханалық эксперименттерді жоспарлау мен жүргізуге, деректерді жинау мен талдауға, нәтижелерді статистикалық өңдеуге, алынған мәліметтерді интерпретациялауға, сондай-ақ ғылыми жарияланымдарды дайындау мен рәсімдеуге тікелей қатысты.

Диссертация тақырыбы бойынша жарияланған барлық жұмыстарда докторанттың үлесі негізгі болып табылады. Диссертация тақырыбы бойынша

– Scopus және Web of Science мәліметтер базасында тіркелген халықаралық Frontiers in Veterinary Science журналында (Q1) -1 мақала.

– Ет қоректілер және басқа ауруға бейім жануарларда SARS-CoV-2 инфекциясын арнайы алдын алу үшін суббірлік адьювантты вакцинаны алу тәсілі бойынша Өнертабысқа патент № 35485 алынды.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертация 109 беттен, және кіріспеден, әдебиетке шолудан, зерттеу материалдары мен әдістерінен, өзіндік зерттеу нәтижелерінен, қорытындыдан, пайдаланылған әдебиеттер тізімінен және 5 қосымшалардан тұрады. Жұмыста 14 кесте мен 10 сурет берілген. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі 114 атаудан тұрады.