

# МУХАТАЕВ ЖУСИПБЕК ЕРКИНОВИЧТИҢ

«6D060700-Биология» мамандығы бойынша философия докторы (Ph.D) ғылыми дәрежесін алуға арналған диссертацияна

## АҢДАТПА

### Витилиго иммунотерапиясына арналған Т-реттеуші жасушаларды ынталандыру үшін тәсілдерді әзірлеу

**Зерттеу жұмысының жалпы сипаттамасы.** Диссертация витилиго науқастарының перифериялық қанындағы Т-реттегіш жасушаларының (Трег) фенотиптік сипаттамаларын зерттеуге және оның иммунотерапиясына арналған химерлі антиген рецепторы ендірілген (CAR) антиген-спецификалық Т-реттеуші жасушаларды (Трег-тер) ынталандыру және жасап шығару тәсілдерін зерттеуге және депигментацияны тежеудегі антибиотиктердің әсерін зерттеуге арналған.

**Зерттеудің маңыздылығы.** Витилиго - бұл әлем халқының 0,5-1% -ында кездесетін, емделмейтін, толыққанды зерттелмеген аутоиммунды тері ауруы болып табылады. Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің ШЖК «Қазақ дерматология және жұқпалы аурулар ғылыми орталығы» РМК-ның ресми статистикасына сәйкес, 2018 жылға витилигоның таралуы жүз мың адамға шаққанда 9,6 жағдайды құрады. Бүгінгі күні витилиго үшін ауруды зерттеуге қаражаттың шектеулі болуына байланысты таргетті емдеу түрлері жоқ, өйткені витилиго өмірге қауіп төндіретін ауру емес болып табылады. Әдеттегі тағайындалатын емдеу әдістеріне кортикостероидтар, УКВ фототерапиясы, және сирек жағдайларда хирургиялық меланоцит трансплантациясын қолданады. Егерде науқас терісінің 70-80%-нан астамын витилиго құраса, толық депигментацияны кейбір жағдайларда қарастырылады. Витилигоны емдеудің мұндай тәсілдері тиімді емес және елеулі жанама әсерлері бар, және де меланоциттерді трансплантациялау - бұл экстремалды хирургиялық әдіс болып табылады. Терідегі ақтандақтар витилигомен зардап шегетін науқастардың күнделікті өмір сапасына жағымсыз әсерлері бар. Стигматизация деңгейі әр түрлі мәдениеттерде өзге болуы мүмкін, және науқастардың көпшілігі психологиялық стрессті, өзін-өзі төмен бағалауды және депрессияны бастан кешіреді, және кейбір ауыр жағдайларда өзіне-өзі қол жұмсауға да алып келуі мүмкін.

Витилиго этиологиясы өте күрделі және әлі толықтай анықталмаған, бірақ бұл жағдай стресс, генетикалық бейімділік, экологиялық факторлар және меланоциттерге тән аутоиммундылық секілді көптеген факторлардың өзара

әсерінен туындауы мүмкін. Соңғы зерттеулерге сәйкес, иммундық төзімділікті бұзылуы аурудың дамуының негізгі себебі болып табылады, бұл жағдайда цитотоксикалық Т жасушалары науқастың меланоциттеріне шабуыл жасайды. Аутоиммунды аурулардың көпшілігіндегі этиологиясы иммундық реакцияның бұзылуынан, оның ішінде Т-реттегіш жасушалардың (трегтер) жетіспеушілігінен немесе нашарлауымен байланысты болады. Өзінің немесе өзге антигендерді тану қабілеті бұзылғанда иммундық жүйе ағзаның жасушалары мен тіндерін шабуылдайды, нәтижесінде аутоиммунды аурулар пайда болады. Трегтердің рөлі бұл жағдайда иммундық жүйенің белсенділенуін басу және патологиялық өзін-өзі реактивтіліктің алдын-алу болып табылады. Витилиго кезінде CD39<sup>+</sup> және CD44<sup>+</sup> Трегтердің үлесінің жүйелі түрде төмендеуі байқалады, ол фенотиптік сипаттамаларды және функционалды белсенділікті анықтайды, сондай-ақ трегтердің витилиго зақымдануларына миграцияның азаюы, депигментация аймағымен байланысты. Жақында Трег-терді витилигоға бейім тышқан моделіне адаптивті түрде енгізу жасалды, нәтижесінде депигментацияның тоқталуы байқалды, бірақ бұл нәтиже ұзаққа созылмады. Осылайша, Трег-терді аутоиммундық ошағына жеткізу иммундық төзімділікті күшейтеді және жергілікті қажетсіз иммуносупрессияның алдын алады деген тұжырым қалыптастырылды.

Трег-тердің иммуносупрессивті белсенділігін қалпына келтіру және олардың аутоиммунды қабыну аймағында олардың көбеюін арттыру үшін аутоиммунды шабуылға ұшыраған жасушалардың антигендеріне арналған химерлі антигенді рецептор (CAR) бар Трег-терді жасап шығару ұсынылды. Қазіргі уақытта CAR-T жасушаларына негізделген терапия қатерлі ісік ауруларын емдеуде кеңінен қолданылады. Бұл тәсілдер қатерлі ісік жасушаларының антигендерін танитын CAR-модификацияланған Т-жасушаларын аутологиялық жолмен енгізуге негізделген. Кейбір CAR-T жасушаларының қатерлі ісігінің емдеуде дәстүрлі терапиямен салыстырғанда жоғары тиімділікті көрсетті және клиникада қолдануға рұқсат етілген. Бұл әдісті Трег-терді қолдану арқылы аутоиммунды ауруларды емдеуде де қолдануға болатыны тұжырымдалды. Осылайша, біз меланоциттерде экспрессияланатын ганглиозид D3 антигеніне (GD3) бар CAR Трег-терін алу әдісін ойластырдық және олардың витилиго ошақтарына миграциясын жоғарылату және меланоциттерге жергілікті иммундық төзімділікті қамтамасыз ету үшін оларды қолдану тиімділігін зерттедік.

Сондай-ақ, антибиотиктерді қолдану нәтижесінде пайда болған микробиомды қалпына келтіру витилиго және басқа аутоиммундық аурулар үшін терапияның перспективті бағыты болып саналады. Микробиомның маңыздылығы қазіргі кезде оның аурулардың дамуына әсер етуімен байланыстылығы зерттеушілердің назарын аударуда. Антибиотиктердің микробтардың әртүрлілігіне жүйелі және жергілікті әсері безеу, псориаз және атопиялық дерматит сияқты бірнеше аурудың өршуіне әсер етеді деп бұрын мәлімделген болатын. Микробтардың алуан түрлілігі иммундық гомеостазды қолдағанмен, кейбір бактериялар Rob0 тудыратын комменсальды бактериялардың көмегімен патогендік реакцияны қоздыруы мүмкін.

Тағы бір мысалға *B. adolescentis* мөлшерінің артуы адамның аутоиммунды артритімен байланысты. Кейбір микробтық пептидтер CD8 T жасушаларының реакциясын қоздыруы мүмкін, алайда бұл жауаптар қазіргі таңда жақсы түсінілмеген. Осылайша, T-жасушаның активтенуіне әсер ететін бактерияларды жақсырақ түсіну ішектің денсаулығына витилиго дамуына әсер етуі мүмкін. Осылайша микробиоманың өзгеруі мен трегтердің таралуын бағалау үшін витилигоға бейім тышқандар моделінде антибиотиктер қолданылды.

Осылайша, бұл зерттеу витилиго пациенттердің перифериялық қан Трег-терінің фенотиптік сипаттамаларын зерттеуге және ганглиозид D3 (GD3) антигеніне арналған CAR-модифицирленген Трег-терін (GD3-спецификалық CAR Трег) алу әдісін және оның *in vitro* және *in vivo* жағдайында емдеудегі тиімділігін зерттеуге бағытталған, сондай-ақ, Трег-тердің иммуносупрессивті белсенділігіне антибиотиктерді қолданудың әсері микробиомның алуантүрлілігінің өзгеруі секілді витилиго және басқа да ауыр аутоиммундық аурулардың иммунотерапияна арналған жаңа тәсілдерін жасау үшін өзекті болып табылады.

**Зерттеу жұмысының мақсаты.** Зерттеудің мақсаты – витилиго пациенттердің перифериялық қан Трег-терінің фенотиптік сипаттамаларын зерттеу және витилигоның иммунотерапиясы ретінде CAR негізінде антиген-спецификалық Т-реттеуші жасушаларды (Трег-тер) ынталандыру және жасап шығару тәсілдерінің әсерін *in vitro* және *in vivo* жағдайында зерттеу және депигментацияны тежеудегі антибиотиктердің рөлін зерттеу болып табылады.

Мақсатты орындау үшін зерттеудің негізгі міндеттері келесідей:

1. Витилиго науқастарының перифериялық қанынан алынған Трег-тердің фенотиптік сипаттамаларын зерттеу.
2. Иммуносупрессивті Трег фенотипін *ex-vivo* ұстау тәсілдерін жасау.
3. Антиген-спецификалық Трег-терді витилигоны емдеу үшін жасуша негізіндегі иммунотерапияны жасау.
4. GD3-спецификалық CAR Трег-тердің *in vitro* жағдайындағы активтілігін талдау
5. GD3-спецификалық CAR Трег-тердің *in vivo* тәжірибесінің жағдайындағы тиімділігін талдау.
6. Витилигодағы депигментацияны бақылау үшін микробиологиялық әртүрлілікке антибиотиктердің әсерін зерттеу.

**Зерттеу нысандары мен қолданылған материалдар.** Витилиго науқастарының перифериялық қанының Т-реттегіш жасушалары, тышқан CD3<sup>+</sup> T жасушалары және CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Трег-тері, адамның HLA-A2-оң және -теріс меланоциттері, TCR-трансгендік тышқандар (h3TA2).

**Зерттеу әдістері.** Жасушаларды культивациялау, трансфекция, вирустық трансдукция, ағымдық цитометрия, иммуногистохимия, иммунофлуоресцентті бояу, флуоресцентті микроскопия, ELISA, тірі жасушаны флуоресцентті бейнелеу, каспаза-3/7 апоптоздың талдауы, тышқандармен жұмыс істеу, адаптивті жасуша

транфері, жалпақ тақтайда сканерлеу, Adobe Photoshop графикалық редакторында кескінідерді талдау және GraphPad Prism-де статистикалық талдау.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы.** Зерттеу барысында перифериялық қандағы CD39<sup>+</sup> және CD44<sup>+</sup> Трегтердің үлес салмағы витилиго науқастарында едәуір төмендегені алғаш рет анықталды. Сондай-ақ, ремиссияда жүретін витилиго науқастарында, бақылауға қарағанда, CD39<sup>+</sup> және CD44<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> фенотипі бар Трегтердің үлесінің азаятындығы анықталды. Алынған мәліметтер витилигодағы Трег жасушаларының дисфункциясын көрсетеді және олардың иммунодепрессивті қасиеттерінің төмендеуі арқылы депигментация ошақтарына Трегтердің тиімді көшу қабілеттілігінен айырылғанын көрсетеді, және де бұл меланоцит-спецификалық Т жасушаларының бақылаусыз белсенділігі мен аурудың өршуіне әкелуі мүмкін. Алынған нәтижелер витилиго иммундық реттеудің бұзылу себептерін түсінуге ықпал етеді және Трегтердің жоғарылатылған супрессорлық белсенділігі мен олардың витилиго ошақтарына тартылуына негізделген витилиго емдеудің жаңа тәсілдерін жасауға негіз бола алады.

GD3-тің шамадан тыс экспрессиясы адам мен тышқан терісінің эпителий жасушалары мен меланоциттерінде анықталды. GD3 беттік антигенінің жоғарылауы витилигоға тән таргет антиген ретінде анықталды.

Диссертацияда меланоциттерге бағытталған антиген-спецификалық Трегтерді өндірудің әдісі сипатталған және иммундық төзімділікті *in vitro* және *in vivo* қалпына келтіру үшін GD3-спецификалық CAR Трегтерді қолданудың тиімділігі зерттелген. Атап айтқанда, GD3-спецификалық CAR Трегтерді жасау және түрлендіру әдісі жасалды. Сондай-ақ, CD4<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> Трег құрамындағы наивті CD4<sup>+</sup> Т жасушаларын поляризациялау және олардың фенотипін сақтай отырып *in vitro* жағдайында Трег пулын кеңейту үшін жаңа тәсіл әзірленді және оңтайландырылды. Алғаш рет GD3 кодталған CAR конструкциясы ретровирустардың көмегімен оңтайландырылған трансдукциялық протоколды қолдана отырып, жоғары GD3-спецификалық CAR Трегтерді *ex vivo* жағдайында жасап шығарылды. *In vitro* зерттеулер көрсеткендей, алынған GD3-спецификалық CAR Трегтердің антигендік ерекшелігі мен иммуносупрессивті IL-10 цитокинін өндірудің жоғары деңгейіне ие екендігі көрсетілді. *In vitro* меланоциттердің өміршеңдік талдауы GD3-спецификалық CAR Трегтердің иммуносупрессивті белсенділігін бағалау үшін жаңа тірі жасушаларды бейнелеу жүйесінің көмегімен алғаш рет жүргізілді. Сонымен қатар, адам меланоциттері мен меланоцит-реактивті цитотоксикалық Т жасушаларының бірлескен культурасына GD3-спецификалық CAR Трегтердің енгізілуі өміршең меланоциттер санының жоғарылауына алып келді. Сондай-ақ, GD3-спецификалық CAR Трегтердің поликлональды Трегтермен салыстырғанда меланоцит-реактивті цитотоксикалық Т жасушаларына қарсы жоғарғы иммуносупрессивті белсенділікке ие екендігі анықталды.

GD3-спецификалық CAR Трегтерді *in vivo* жағдайында қолданудың тиімділігін зерттегенде алынған Трегтер витилигоға бейім трансгендік тышқандарында иммундық төзімділікті қалпына келтіруді және депигментация

аймағының азаюын қамтамасыз ететіндігі анықталды. Поликлондық трегтермен салыстырғанда, GD3-спецификалық CAR Трег-тер меланоциттердің тартылу қабілетіне ие және меланоцит-реактивті цитотоксикалық Т жасушаларының көбеюіне үлкен иммуносупрессивті белсенділікке ие.

Микробтардың әртүрлілігі ампициллин және неомицин сияқты антибиотиктерді қабылдағаннан кейін және оның эксперименттік тышқан моделінде витилигоның дамуына әсері зерттелді. Ампициллин депигментацияның жоғарылауына әкелетіні, ал неомицин терінің Трег инфильтрациясына жанама әсер ету арқылы аурудың дамуын тежейтіні анықталды.

Алынған мәліметтер витилигоның даму механизмдерін дамуын зерттеуде септігін тигізеді және GD3-спецификалық CAR Трег-тер қолдануға негізделген витилиго жасушалық иммунотерапиясына тәсілдер жасау үшін пайдаланылуы мүмкіншілігін ашады.

### **Зерттеудің теориялық және практикалық маңыздылығы.**

Диссертация аутоиммундылықтың негізгі аспектілеріне зерттеуге септігін тигізеді. Трег-тердің фенотиптік сипаттамаларын зерттеу әртүрлі аутоиммундық бұзылыстарды жасайтын Трег-тердің әртүрлі жиынтықтарының ролін түсінуді қамтамасыз етеді. GD3 спецификалық CAR Трегтер-тің иммуносупрессивті қабілеттілігін зерттеу Трегтердің *in vivo* әсерін бақылайды және аутоиммунды аурулардағы иммуносупрессияның толық механизмін анықтауға бір қадам жақындауға көмектеседі.

Алынған нәтижелердің практикалық маңыздылығы антиген-спецификалық CAR Трег-терді қолдана отырып аутоиммунды ауруларды емдеудің жаңа тәсілдерін әзірлеу болып табылады. Алынған мәліметтер GD3-спецификалық CAR Трег-тер меланоциттерді тиімді түрде танып, *in vivo* жағдайында жергілікті иммундық төзімділікті қамтамасыз етеді. Диссертация барысында алынған мәліметтер витилиго емдеуге CAR-модифицирленген трегтердің адаптивті тасымалдаудың тиімділігін көрсетеді, және де бұл әдіс клиникалық зерттеулердің келешегі зор екендігін көрсетеді. Сонымен қатар, алынған мәліметтер мен алынған әдістер басқа да аутоиммунды аурулардың иммунотерапиясының дамуына негіз бола алады, мысалы: *remphigus vulgaris*, *remphigus bullous*, псориаз, склероз, целиак ауруы, Крон ауруы, лупус және т.б.

Сондай-ақ, алынған нәтижелердің практикалық маңыздылығы неомициннің Трег-терді арқылы тері аймақтарының инфильтрациясының жоғарылауына және витилигоның эксперименттік моделіндегі депигментацияның төмендеуіне әсерін анықтау болып табылады. Алынған мәліметтер витилиго емдеу тәсілдерін жасау үшін де қолданыла алады.

Зерттеу барысында трансдукция жасаудың егжей-тегжейлі протоколы дайындалды және оңтайландырылды, ол GD3-спецификалық CAR Трег-тердің жоғары экспрессиясын қамтамасыз етеді. *In vitro* жағдайында иммуносупрессивтілік деңгейін GD3 экспрессиясы бар нысана жасушалар ретінде меланоциттерді, h3T-ге тән цитотоксикалық Т-жасушалар, эффекторлық

жасушалар ретінде, сондай-ақ GD3-спецификалық CAR Трег-терді немесе поликлональды Трег-тер супрессор түрінде зерттейтін эксперименттік протоколдар жасалды. Сондай-ақ, меланоциттердің өміршеңдік деңгейіне талдау жасау үшін IncuCyte жаңа тірі жасушаларды бейнелеу жүйесін қолдана отырып оңтайландырылды, ол уақыт өте келе бірнеше кескін түсіруге және каспаза-3/7 көмегімен апоптозға ұшыраған жасушаларды анықтайтын каспаза-3/7 қызыл реагентін қолдануға мүмкіндік береді. Өзірленген тәжірибелік әдістерді молекулалық және жасушалық иммунология саласындағы зерттеулерде қолдануға болады.

Бұл Ph.D. Диссертациялық зерттеу жұмысы антиген-спецификалық Трег-терді инженерлік жолмен Трег-терге CAR-ды енгізу арқылы жасап шығару аутоиммундық ауруларды емдеудің жаңа тәсілін жасау қолданбалы ғылымға өз үлесін қосады.

Жоғарыдағы деректерді сүйенсек, диссертацияның теориялық және практикалық маңыздылығы бар.

**Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:**

1. Перифериялық қандағы CD39<sup>+</sup> және CD44<sup>+</sup> Трег-терінің үлесі вителигомен салыстырғанда едәуір төмендейді.

2. Вителигода ганглиозид D3 шамадан тыс экспрессиясы адам мен тышқан эпителий жасушалары мен меланоциттермен анықталды.

3. GD3 кодтайтын CAR конструкциясын қолдана отырып Трег-терді жоғары тиімділікпен ретровирустық трансдукциялау әдісі жасалды

4. *In vitro* жағдайында иммунодепрессивті фенотипті сақтайтын Трег-тер пулын кеңейту туралы протокол жасалды.

5. GD3-спецификалық CAR Трег-тер GD3 антигеніне жоғары деңгейде байланысу қабілетімен және *in vitro* жағдайындағы иммуносупрессивті белсенділігіне өте жоғары екені анықталды.

6. GD3-спецификалық CAR Трег-тердің h3TA2 трансгенді тышқандарға адаптивті тасымалы вителиго ошақтарындағы депигментацияны тежейді.

7. GD3-спецификалық CAR Трег-тер эпителий жасушалары мен меланоциттердегі антигенді тиімді анықтайды және тышқандардағы жергілікті иммундық төзімділікті қамтамасыз етеді.

8. Неомицин микробтардың алуантүрлілігіне жанама әсер ете отырып, тері үлгілерінде Трег-тердің инфильтрацияна әкеледі және тышқандардағы вителигоны өршуін тоқтатуға көмектеседі.

**Зерттеуді ұйымдастыру деңгейлері.** Осы диссертацияда сипатталған зерттеулер молекулалық, жасушалық, ұлпалық, ағзалық және дене деңгейлерінде жүргізілді.

**Зерттеудің ғылыми жобамен байланысы.** Антиген-спецификалық Трег-тердің көмегімен вителиго иммунотерапиясының тәсілдерін дамыту бойынша зерттеулер Ұлттық денсаулық сақтау (National Institute of Health) институтының RO1 AR057643 докторы Каролина Ле Пулге берген грантымен қолдау тапты.

Зерттеудің көп бөлігі иммунология мен дерматологияға саласының маманы доктор Ле Пул-дың зертханасында жүргізілді. Бұл зерттеуді жасауға стипендия ұсынған доктор Ле Пулдың бастамасы және қолдауы болып табылады. Қазақстанда жергілікті жетекші - Остапчук Екатерина. О. бұл зерттеуге бірінші оқу жылының басынан бастап кеңес берді және қолдау көрсетті. Витилиго пациенттердің Трегтерінің фенотиптік сипаттамаларын зерттеуге Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитеті Остапчук Екатерина Олеговқызына берген грант AP05131691 «Т-реттегіш жасушалардың ісік жасушаларының белсенділігіне әсерінің молекулалық механизмдері» гранты қолдау көрсетті. аясында М.Ә. Айтхажин атындағы Молекулалық биология және Биохимия институтында жасалды.

**Автордың жеке үлесі.** Зерттеу тақырыбы сипатталған барлық негізгі нәтижелер, тәжірибелер жүргізу, статистикалық өңдеу және алынған нәтижелерге талдау жасау, сонымен қатар диссертацияны жазу автордың жеке қатысуымен орындалды.

**Жұмыстың сыннан өтуі.** Диссертациялық жұмыста көрсетілген негізгі нәтижелер халықаралық конференциялар мен симпозиумдарда ұсынылды және талқыланды:

- халықаралық симпозиумда - Oral Presentation: Awardee of Society for Investigative Dermatology Eugene M. Farber Travel Awards for Young Investigators “The Joint Montagna Symposium on the Biology of Skin/Pan American Society for Pigment Cell Research Annual Meeting “Melanoma to Vitiligo: The Melanocyte in Biology and Medicine” (2018, Salishan Resort, Oregon);

- “2nd Antigen-Specific Immune Tolerance Drug Development Summit 2019” халықаралық ғылыми саммитінде (2019, Boston, USA

- “Northwestern Research Day 2019” ғылыми конференцияда (2019, Chicago, USA);

- “Society for Investigative Dermatology (SID) Annual Meeting” халықаралық ғылыми конференциясында (2019, Chicago, USA);

- “The Society for Immunotherapy of Cancer (SITC), 34th Annual Meeting & Pre-Conference Programs халықаралық ғылыми конференциясында, Nov. 6–10, (National Harbor, 2019, Chicago, USA);

- “Society for Investigative Dermatology (SID) Annual Meeting” халықаралық ғылыми конференциясында (2019, Chicago, USA);

- «Фараби Әлемі» студенттер мен жас ғалымдарға арналған халықаралық ғылыми конференцияда (2018, Алматы, Қазақстан);

- 28-29 қарашада академик Мұрат Әбенұлы Айтхожиннің туғанына 80 жыл толуына орай «Молекулалық биологиядағы, биотехнологиядағы, биохимиядағы іргелі зерттеулер мен инновациялар» атты жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясында (2019, Алматы, Қазақстан).

**Басылымдар.** Диссертация мазмұнының көп бөлігі 13 ғылыми жұмыста, оның ішінде импакт-факторы бар 1 ғылыми мақала (IF) = 6.29 және импакт-факторы бар

журналдарда және 3 тезис ((IF) = 8.728; (IF) = 6.29; (IF)= 4.172) *SCOPUS* мәліметтер базасына сәйкес жарияланды, Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Білім және ғылымды бақылау комитетімен (ҚР БҒМ ККСОН ҚР БҒМ) ұсынған ғылыми журналдарында 4 мақала және халықаралық конференциялар, симпозиумдар мен саммиттер материалдарындағы 5 тезис жарияланды. АҚШ-тың провизионалды патенті (сериясы № 62/915,945, Америка Құрама Штаттарында) 16/10/2009 «Витилиго емдеудің материалдары мен әдістері» алынып, Америка Құрама Штаттары және РСТ халықаралық патенті (Utility & РСТ, серия №: 17/072,939&РСТ/US2020/056104) 16.10.2020 жылы «ВИТИЛИГОНЫ ЕМДЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ» атымен тапсырылды (ішкі анықтама: NU2019-172-02 & -03).

**Диссертацияның құрылымы.** Бұл диссертация 122 бетте жазылған және жазбалар мен қысқартулар, кіріспе, әдебиетке шолу, материалдар мен әдістер, нәтижелер мен пікірталастар, қорытындылар, 215 дереккөзден алынған сілтемелер, оның 207-сі ағылшын тілінде; 3 кестеден және 50 суреттен тұрады.