



Ф НАО КМУ 7.5-01-02/1
ДП НАО КМУ 7.5-01/01

Өмір туралы ғылымдар институтының кеңейтілген отырысының № 3 хаттамасынан көшірме

21.11.2024 ж.

ҚАРАҒАНДЫ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ

21.11.2024 ж. № 3 хаттама

Қарағанды қ.

Төраға – Өмір туралы ғылымдар институтының директоры м.ғ.к., PhD Омарова А.О.

Хатшы – Қоңырова А.А.

Қатысты:

Клюев Д.А., м.ғ.к., Өмір жайлы ғылым институтының директоры;

Понамарева О.А., м.ғ.к., биомедицина кафедрасының меңгерушісі;

Мхитарян К.Э., м.ғ.к., физиология кафедрасының меңгерушісі;

Ахметова С.Б., м.ғ.к., биомедицина кафедрасының профессоры, ғылыми комитет мүшесі;

Жарылқасын Ж.Ж., м.ғ.к., қауымдастырылған профессор, қоғамдық денсаулық мектебі профессоры, ғылыми комитет мүшесі;

Бакирова Р.Е., м.ғ.д., ішкі аурулар кафедрасының профессоры;

Молотов-Лучанский В.Б., м.ғ.д., ішкі аурулар кафедрасының профессоры;

Кадырова И.А., PhD, ғылыми-зерттеу зертханасының жетекші ғылыми қызметкері;

Лавриненко А.В., PhD, ғылыми-зерттеу зертханасының меңгерушісі;

Беляев Р.А., м.ғ.к., неврология, психиатрия және реабилитология кафедрасының қауымдастырылған профессор;

Рахимова Б.Б., х.ғ.к., биомедицина кафедрасының профессоры;

Кабикенова З.С., м.ғ.к., мейірбике ісі кафедрасының қауымдастырылған профессоры;

Турдыбекова Я.Г., PhD, акушерлік, гинекология және перинатология кафедрасының қауымдастырылған профессоры;

Коршуков И.В., информатика және биостатистика кафедрасының ассистент-профессоры;

Муратбекова Ш.С., неврология, психиатрия және реабилитология кафедрасының оқытушы-зерттеушісі;

Кульбаева З.Д., неврология, психиатрия және реабилитология кафедрасының оқытушы-зерттеушісі;

Выписка из протокола № 3 расширенного заседания института наук о жизни от 21.11.2024г.

КАРАГАНДИНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Протокол № 3 от 21.11.2024 г.

г. Караганда

Председатель – Омарова А.О., PhD, начальник научного отдела Института наук о жизни

Секретарь – Қоңырова А.А.

Присутствовали:

Клюев Д.А., к.м.н., ассоциированный профессор, Директор Института наук о жизни;

Понамарева О.А., к.б.н., заведующая кафедрой биомедицины;

Мхитарян К.Э., к.м.н., заведующая кафедрой физиологии;

Ахметова С.Б., к.м.н., профессор кафедры биомедицины, член научного комитета;

Жарылқасын Ж.Ж., к.м.н., ассоциированный профессор, профессор школы общественного здоровья, член научного комитета;

Бакирова Р.Е., д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней;

Молотов-Лучанский В.Б., д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней

Кадырова И.А., PhD, ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории;

Лавриненко А.В., PhD, заведующая научно-исследовательской лабораторией;

Беляев Р.А., к.м.н., ассоциированный профессор кафедры неврологии, психиатрии и

реабилитологии

Рахимова Б.Б., к.х.н., профессор кафедры биомедицины;

Кабикенова З.С., к.м.н., ассоциированный профессор кафедры сестринского дела;

Турдыбекова Я.Г., PhD, ассоциированный профессор кафедры акушерства, гинекологии и

перинатологии;

Коршуков И.В., ассистент-профессор кафедры информатики и биостатистики;

Муратбекова Ш.С., преподаватель-исследователь кафедры неврологии, психиатрии и

реабилитологии;

Кульбаева З.Д., преподаватель-исследователь кафедры неврологии, психиатрии и

реабилитологии;

Пахомов А.В., преподаватель кафедры неврологии, психиатрии и реабилитологии;
Жылкыбаева И.М., «Медицина» мамандығы бойынша 3 жыл докторанты;
Шаяхметова Е.В., «Медицина» мамандығы бойынша 2 жыл докторанты;
Серегина А.А., «Медицина» мамандығы бойынша 1 жыл докторанты;

Власова А.В., «Мейіргер ғылымы» мамандығы бойынша 3 жыл докторанты;

Өмір туралы ғылымдар институтының барлық қызметкерлері, неврология, психиатрия және реабилитология кафедрасының қызметкерлері, магистранттар мен докторанттар, шақырылған қонақтар.

Барлығы 43 адам.

КҮН ТӘРТІБІ:

Епифанцева Елена Валериевнаның 6D110100 «Созылмалы стресстегі және фармакологиялық түзету фонындағы молекулалық-жасушалық өзгерістерді бағалау. Эксперименттік зерттеу» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алуға арналған диссертациясын алдын ала талқылау

Ғылыми кеңесшілер:

Клюев Д.А. – м.ғ.к., қауымдастырылған профессор, Өмір туралы ғылым институтының директоры;

Муравлева Л.Е. – б.ғ.д., профессор

Шетелдік кеңесші:

Kitova T.T. - MD, PhD, DMSc, professor of Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Medical University – Plovdiv, Plovdiv, Bulgaria.

Рецензенттер:

Понамарева О.А. – б.ғ.д., биомедицина кафедрасының меңгерушісі

Мхитарян К.Э. – м.ғ.к., физиология кафедрасының меңгерушісі

ТЫҢДАДЫ:

«Созылмалы стресстегі және фармакологиялық түзету фонындағы молекулалық-жасушалық өзгерістерді бағалау. Эксперименттік зерттеу» тақырыбында диссертациялық жұмысты ұсынған Философия докторы (PhD) дәрежесін ізденуші Епифанцева Елена Валериевна.

Қойылған сұрақтар:

1. Понамарева О.А.

- Эксперименттегі созылмалы стресс моделінің модификациясы қандай?

- Интакттік жануарлар тобындағы пурин метаболизмі, тотығу метаболизмі және кортизол көрсеткіштерінің өзгеруін қалай түсіндіруге болады (созылмалы стресстік әсерсіз)?

Пахомов А.В., преподаватель кафедры неврологии, психиатрии и реабилитологии;

Жылкыбаева И.М., докторант 3 года специальности «Медицина»;

Шаяхметова Е.В., докторант 2 года специальности «Медицина»;

Серегина А.А., докторант 1 года специальности «Медицина»;

Власова А.В., докторант 3 года специальности «Сестринская наука»

Все сотрудники Института наук о жизни, сотрудники кафедры неврологии, психиатрии и реабилитологии, магистранты и докторанты, приглашенные гости.

Всего 43 человека.

ПОВЕСТКА ДНЯ:

Предварительное обсуждение диссертации Епифанцевой Елены Валериевна на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110100 «Оценка молекулярно-клеточных изменений при хроническом стрессе и на фоне фармакологической коррекции. Экспериментальное исследование.»

Научные консультанты:

Клюев Д.А. - к.м.н., ассоциированный профессор, директор Института наук о жизни

Муравлева Л.Е. – д.б.н., профессор

Зарубежный консультант:

Kitova T.T. - MD, PhD, DMSc, professor of Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Medical University – Plovdiv, Plovdiv, Bulgaria.

Рецензенты:

Понамарева О.А. – к.б.н., заведующая кафедрой биомедицины

Мхитарян К.Э. – к.м.н., заведующая кафедрой физиологии

СЛУШАЛИ:

Соискателя степени доктора философии (PhD) Епифанцеву Елену Валериевну, которая представила диссертационную работу на тему «Оценка молекулярно-клеточных изменений при хроническом стрессе и на фоне фармакологической коррекции. Экспериментальное исследование».

Заданные вопросы:

1. Понамарева О.А.

- В чем заключается модификации модели хронического стресса в эксперименте?

- Чем объяснить изменения показателей пуринового метаболизма, окислительного метаболизма и кортизола в группе интактных животных (без хронического стрессового воздействия)?

- Плацебо қабылдаған жануарлар тобындағы биохимиялық көрсеткіштердің өзгеруін қалай түсіндіруге болады?

- Антидепрессанттарды қабылдау кезінде каталаза белсенділігінің жоғарылауы тотығу стрессінің активтенуіне компенсаторлық реакция болып табылады нәліктен нәтижелер антидепрессанттардың метаболизмінің стресстік зақымдануын күшейтетінін көрсетеді?

Жауаптары:

- Негізгі модификация-бұл нақты стресстерді қолдану нүктелеріне, олардың кезектесуіне, әр нақты стресстің әсер ету ұзақтығына және егеуқұйрықтардың түрлеріне тән мінез-құлық бұзылыстарының бейімделуіне және дамуына кедергі келтіруге бағытталған модельдің қалыптасуына әсер ету бойынша әр түрлі модальділіктің мұқият таңдалған стресстік әсерлерінің әсерін болжау мүмкін еместігі болып табылады.

- Аталған көрсеткіштердің өзгеруі мінез-құлық сынақтарын жүргізуге және қан алуға реакциямен түсіндіріледі, бұл сонымен қатар стресстік әсер болып табылады, бұл бірнеше рет қайталанатын орташа күштің өткір стрессімен және аталған процедуралар арасындағы кезеңде оған бейімделу процесімен салыстырылады

- Плацебо тобындағы (3-топ) биохимиялық көрсеткіштердің өзгеруі стресстік әсердің тоқтатылуымен және СБОС тудырған мінез-құлық бұзылыстарында тотығу стрессі жағдайында организмдегі деструктивті және репаративті процестердің табиғи ағымымен түсіндіріледі.

- Қорытынды жеткілікті жоғары каталаза белсенділігімен тотығу метаболизмінің (плазмадағы ақуыздың реактивті карбонил туындыларының, плазмадағы малон диальдегидінің және эритроциттердің жоғарылауы) көрсеткіштерінің үздіксіз жоғарылауына негізделген

2. Мхитарян К.Э.

- терапияның әсерін бағалаудың негізгі параметрлері ретінде қандай нақты көрсеткіштер (мінез-құлық, биохимиялық, гистологиялық) қолданылды. Сондай-ақ, фармакотерапияның тиімділігін бағалау критерийлері қандай екенін нақтылау қажет: мінез-құлық сынақтары мен қан алудан басқа диагностиканың қосымша әдістері жүргізілді ме?

- оларды іріктеу қалай жүргізілді. Мысалы, жануарлардың мінез-құлқы мен белсенділігіндегі ұқсастықтарды растау үшін қандай да бір сынақ қолданылды ма?

- нәліктен бұл стресс факторлары модель үшін таңдалды және олардың әрқайсысынан қандай әсер күтілді, сонымен қатар нәліктен стресс факторлары

- Чем объяснить изменения биохимических показателей в группе животных, получавших плацебо?

- Повышение каталазной активности при приеме антидепрессантов – это компенсаторная реакция на активацию окислительного стресса почему в выводах указывается, что антидепрессанты усугубляют стрессовые повреждения метаболизма?

Ответы:

- Основной модификацией является непредсказуемость воздействия тщательно отобранных стрессовых воздействий различной модальности по воздействию на точки приложения конкретных стрессоров, их чередования, длительности воздействия каждого конкретного стрессора и формирования модели, направленные на препятствие адаптации и развитие поведенческого расстройства, специфично видовым особенностям крыс.

- Изменение перечисленных показателей объясняется реакцией на проведение поведенческих тестов и забором крови, что также является стрессовым воздействием, которое сопоставимо с неоднократно повторяющимся острым стрессом умеренной силы и процессом адаптации к нему в период между указанными процедурами

- Изменения биохимических показателей в группе плацебо (группе 3) объясняются прекращением стрессового воздействия и естественным течением деструктивных и репаративных процессов в организме в условиях оксидантного стресса при поведенческих расстройствах вызванных ХНУС.

- Вывод основан на продолжающемся повышении показателей окислительного метаболизма (повышении содержания реактивных карбонильных производных белка в плазме, малонового диальдегида в плазме и эритроцитах) при достаточно высокой каталазной активности

2. Мхитарян К.Э.

- какие конкретно показатели (поведенческие, биохимические, гистологические) были использованы в качестве основных параметров для оценки эффекта от терапии. Также стоит уточнить, каковы критерии оценки эффективности фармакотерапии: проводились ли какие-либо дополнительные методы диагностики, кроме поведенческих тестов и заборов крови?

- как именно проводился их отбор. Например, был ли использован какой-то тест для подтверждения схожести в поведении и активности животных.

- почему именно эти стрессоры были выбраны для модели и какой эффект от каждого из них ожидался, также объяснить почему стрессоры были выбраны именно в данной последовательности, длительности воздействия и интенсивности.

белгілі бір реттілікте, әсер ету ұзақтығы мен қарқындылығында таңдалғанын түсіндіріңіз?

- Дозаны есептеудің жақсы түсіндірілген әдістемесіне қарамастан, әсер ету механизмдерін стресстен туындаған бұзылыстың патогенезімен байланыстыра отырып, осы препараттарды таңдауды негіздеу ұсынылады.

- Зерттеу барысында жануарлардың әл-ауқатын қамтамасыз ету процестерін және осындай зерттеулердегі этикалық бақылаудың маңызды аспектісі ретінде олардың азаптарын азайту мүмкіндіктерін егжей-тегжейлі ашу ұсынылады.

- Диссертация Колмогоров—Смирновтың қалыпты таралуын тексеру үшін тестті қолданады. Бұл критерийді қолдануды негіздеу ұсынылады, өйткені үлкен көлемдегі симметриялы үлестіру үшін Лиллиефорс түзетілген Колмогоров—Смирновтың тестін қолдану ұсынылады, ал кішігірім үлгілер үшін Шапиро—Уилк критерийі ұсынылады.

- Кейбір талдау әдістерінің сипаттамасы (мысалы, Краскела-Уоллиса Н-критерийі) жеткілікті түрде орналастырылған. Краскел-Уоллис критерийін қолданған кезде медианалық тест нәтижелерін толығырақ сипаттауға болады.

Жауаптары:

- Мінез-құлық, биохимиялық және патоморфологиялық параметрлерді кешенді бағалау жүргізілді, бұл біздің жұмысымыздың айрықша ерекшелігі болды. Бағалау критерийлері мінез-құлық сынақтарынан және биохимиялық талдау үшін қан алудан басқа, ми гомогенатындағы каталаза белсенділігін, БРКТ (Белоктардың реактивті карбонилді туындылары) және МДА (Малон диальдегиды) анықтау және мидың патоморфологиялық талдауын жүргізу үшін биохимиялық зерттеу жүргізу үшін пайдаланылған егеуқұйрықтардың миын алу болды.

- Жануарларды іріктеу үшін стандартты жануарларды іріктеу шеңберінен шығатын әсерді болдырмау үшін қосымша сынақтар жүргізілген жоқ. Негізгі әдіс әлеуметтік үстемдікке бейім агрессивті жануарларды, әдейі оңай басылатын жануарларды, әлеуметтік мінез-құлық белгілері бар жануарларды, адамның қатысуына реакцияда жоғары ұялшақтықты зерттеуге қоспау үшін мінез-құлықты бақылау жүзеге асырылды. Басқа іріктеу әдістері СОП (стандартты операциялық процедураларға) сәйкес келді.

- Негізгі принциптер созылмалы болжанбайтын орташа стресстің моделін қалыптастыруға негізделген, қазірдің өзінде оның экспозицияның болжанбайтындығын және созылмалы экспозицияға сәйкес келетін модельдің орташа дәрежесі мен ұзақтығын болжайды, оған үш рет жасалған құрылымдық схеманы қайталау арқылы қол жеткізілді. Сонымен қатар, белгілі бір модель

- Несмотря на хорошо объясненную методику расчета дозировки, рекомендуется обосновать выбор именно данных препаратов, связывая механизмы действия с патогенезом стресс-индуцированного расстройства.

- Рекомендуется более детально раскрыть процессы обеспечения благополучия животных в ходе исследования и возможности минимизации их страдания как важного аспекта этического контроля в подобных исследованиях.

- Диссертант использует для проверки на нормальность распределения тест Колмогорова—Смирнова. Рекомендуется обосновать применение данного критерия, так как для симметричного распределения с большим объемом выборки рекомендовано использовать тест Колмогорова—Смирнова с поправкой Лиллиефорса, а для небольших по объему выборок рекомендуется критерий Шапиро—Уилка.

- Описание некоторых методов анализа (например, Н-критерий Краскела-Уоллиса) достаточно развернуто. Возможно более подробно можно было описать результаты медианного теста при применении критерия Краскела-Уоллиса.

Ответы:

- Проводилась комплексная оценка поведенческих, биохимических и патоморфологических параметров, что являлось отличительной особенностью нашей работы. Критериями оценки, помимо поведенческих тестов и забора крови для биохимического анализа, являлся забор головного мозга крыс, использованный для проведения биохимического исследования определения каталазной активности, РКПБ и МДА в гомогенате головного мозга и проведения патоморфологического анализа головного мозга.

- Для отбора животных дополнительных тестов не проводилось, во избежание воздействий, выходящих за рамки стандартного отбора животных. Основным методом было наблюдение за поведением во избежание включения в исследование агрессивных животных, склонных к социальному доминированию, заведомо легко подавляемых животных, животных с признаками асоциального поведения, повышенной пугливости в реакции на присутствие человека. Остальные методы отбора соответствовали СОП

- Основные принципы положенные в формирование модели Хронического непредсказуемого умеренного стресса уже в названии предполагают его непредсказуемость воздействия и умеренную степень и длительность создания модели, соответствующую хроническому воздействию, что достигалось повторением разработанной структурированной схемы трехкратно. При этом, отвечая на вопрос о конкретной модели, необходимо отметить, что

туралы сұракка жауап бере отырып, колданылған стрессердің әрқайсысы сау ағзанын жұмыс істеуінің және оның үйлесімді психоэмоционалды күйін сақтаудың әртүрлі факторларына бағытталған белгілі бір модальділікке ие екенін атап өткен жөн.

Әр түрлі модальды стрессорлардың ауысуы ұқсас стрессорға немесе сол типтегі стрессорға бейімделу әсерін жокка шығаруды көздеді. Күнделікті бір-бірін 6 күн, 7 күн бойы алмастыратын кайталанбайтын орташа күшті стрессорлар колданылды, мінез-құлық сынақтарында бақылау жүргізілді, бұл да стресс болды.

«Тығыз тор» - торға қосымша бөлімді орнату арқылы ұяшықтың кеңістігі екі есе шектеу егеуқұйрықтың ыңғайсыз жағдайының психоэмоционалды компонентін белсендіретін жануардың периперсоналды кеңістігін азайтуға әсер етеді.

«Тамақтың жетіспеушілігі»-24 сағат бойы тамақтан айыру, бұл процеске тамақ алудың негізгі қажеттілігін және аштық сезімін тудырады, зерттелетін жануарларға ыңғайсыздық туғызады, тамақ іздеуге бағытталған іс-шаралар, тамақтану кезеңін күту.

«Қарындаш салғышқа иммобилизация» – қозғалуға арналған кеңістікті шектемей, жануарлар жеке қарындаш қораптарға орналастырылды. Жануарлар жеке қарындаш қораптарға орналастырылды, бұл кеңістікте қозғалудың негізгі қажеттілігіне қайшы келетін қозғалғыштықтың шектелуін тудырады, іздеу-зерттеу қызметі, одан айырылған кезде мазасыздық пен ыңғайсыздық деңгейі артады. «Күннің жарық уақытында көлеңкелеу» – күннің жарығы кезінде күндізгі уақытта жасанды көлеңкелеуді жасау, ұзақтығы 15 сағат, ГГБ (гипоталамус-гипофиз-бүйрек үсті осі) мен САМ (симпато-адренал-медулярлық осін) өзіне тартып, циркадиялық ритмдерге әсер етеді.

«Судың жетіспеушілігі» – 10 сағат бойы судан айыру, бұл процеске базалық сұйықтықты алу мен шөлдеу сезімін тудырады, және де жалпы әлауқаттың өзгеруімен бірлесіп жүреді, суды іздеуге бағытталған іс- шаралар, су болмаған жағдайдағы мазасыздық, басқа су болған күндерді алмағанда торда судың пайда болған кездегі дезориентацияның пайда болуы,

«Тәуліктің қараңғы уақытында жасанды жарықтандыру» –тәуліктің қараңғы уақытында жасанды жарық жасау, ұзақтығы 15 сағат, ГГБ (гипоталамус-гипофиз-бүйрек үсті осі) мен САМ (симпато-адренал-медулярлық осін) өзіне тартып, циркадиялық ритмдерге әсер етеді және жануардың белсенділігінің қалыпты кезеңінде (түнгі түрдің белсенділігі)жарықтандыру есебінен бағдарланбауы байқалады.

каждый из использованных стрессоров имеет определенную модальность направленную на различные факторы функционирования здорового организма и поддержания его гармоничного психоэмоционального состояния.

Чередование стрессоров разной модальности предполагало исключение эффекта адаптации к схожим стрессором или стрессору одного и того же типа. Были использованы неповторяющиеся стрессоры умеренной силы, ежедневно сменяющие друг друга в течение 6 дней, на 7 дней, проводился контроль в поведенческих тестах, что также являлось стрессором.

«Тесная клетка» - ограничение пространства клетки вдвое за счет установки дополнительной перегородки в клетке, влияет на уменьшение периперсонального пространства животного, активирующие психоэмоциональный компонент дискомфорта состояния крысы,

«Депривация пищи» – лишение пищи на 24 часа, вызывает вовлечение в процесс базовой потребности в получении пищи, и ощущение чувства голода, создавая дискомфорт для исследуемых животных, деятельность направленную на поиск пищи, ожидание периода кормления.

«Иммобилизация в пенале» – без ограничения пространства для движения, но не перемещения. Животные помещались в индивидуальные пеналы, что вызывает ограничение подвижности, противоречащее базовой потребности к перемещению в пространстве, поисково-исследовательской деятельности, при лишении чего повышается уровень тревоги и дискомфорт.

«Затененность в светлое время суток» – искусственное создание затемнение в течение светового дня, длительностью 15 часов, оказывает влияние на циркадные ритмы, вовлекая ГГН ось и САМ ось

«Депривация воды» – лишение воды на 10 часов, вызывает вовлечение в процесс базовой потребности в получении жидкости, и ощущение чувства жажды, сопровождающееся изменением общего самочувствия, деятельность направленную на поиск поилки, тревожность при ее отсутствии, и дезориентацию во времени появления поилки в клетке, где в другие дни она присутствует постоянно.

«Искусственная освещенность в темное время суток» – создание искусственного освещения в темное время суток, длительностью 15 часов, оказывает влияние на циркадные ритмы, вовлекая ГГН ось и САМ ось и дезориентацию животного за счет освещенности в обычный период его активности (ночная видовая активность)

«Полная иммобилизация» – помещение животных в индивидуальные пеналы, лишаящие их

«Толық иммобилизация» – жануарларды жеке қарындаш салғышқа орналастырып, 2 сағатқа қозғалыс мүмкіндігінен айыру, бұл тікелей стресс болып табылады, жануарлардың дене қалпын өзгерту мүмкіндігінен айырады, сонымен қатар үмітсіз жағдайдағы эмоцияналдық сезімді қамтамасыз етеді.

Сонымен қатар, әсер ету ұзақтығы эксперименттік жануарлардың биологиялық түрі, егеуқұйрық өзіне айқын зиян келтірместен шыдай алатын және жедел стресстік бұзылыстың дамуына дейін стресстің әсер ету деңгейін арттырмай, әсер ету күшін қалыпты деңгейде сақтай отырып, рұқсат етілген әсерлер туралы қолда бар ақпарат негізінде таңдалды.

Мінез-құлық сынақтарындағы зерттеу:

Бірнеше сынақтарды қолдану егеуқұйрықтардың әртүрлі тітіркендіргіштерге реакциясының ерекшеліктеріне және егеуқұйрықтардың қараңғы жерлерге рефлекторлық артықшылығына, катып қалуына, күтіміне вегетативті реакцияларына (зәр шығару мен дәреттің жиілеуі) мазасыздық симптомы ретінде қолданылады. Келесі көрсеткіштер, жеңдерден ілу, тіректер, орын ауыстыру, жарықтандырылған ашық жерлерде ұзақ уақыт болу сияқты көрсеткіштер қанағаттанарлық деңгейдегі жануарлардың болжамды-зерттеу қызметін сипаттайды. Иммобилизациямен, төмен қозғалғыштықпен және ангедониямен сипатталатын депрессиялық бағыттың көріністері. Әртүрлі бағыттағы сынақтардың комбинациясы олардың әртүрлі психотиптері мен мінез-құлық реакцияларына байланысты зерттелетін жануарлардағы психологиялық үлгілердің көбірек санын анықтауға мүмкіндік береді.

- Диссертация АҚ «Халықаралық ғылыми-өндірістік Холдингы «Фитохимия» базасында, биологиялық химия кафедрасында, патоморфология кафедрасында, ҚР БҒМ қаржыландыратын ИРН № BR05236584 «Жаңа фитопрепараттарды әзірлеу және олардың фармакологиялық және клиникалық зерттеулері» (2018-2020) және ҚР БҒМ қаржыландыратын "Жаңа нейротропты препаратты әзірлеу: фармакологиялық және клиникалық зерттеулер" (2020-2022) ЖРН №AP08052389 ғылыми-зерттеу жобасығылыми-зерттеу бағдарламасы аясында жүзеге асырылды, сонымен қатар зерттеу объектісі гармин гидрохлориді болып табылды, ол төмен дозада қолданған кезде ерте зерттеулерде антидепрессант әсері мен мазасыздыққа қарсы белсенділігін көрсетті. Зерттеу нәтижелері АҚ«ХФӨХ «Фитохимия»-ның меншігі болып табылады.

Зерттеудегі салыстыру препараты трициклді антидепрессанттар тобына жататын психотроптық белсенділікті зерттеудегі анықтамалық препарат болып табылатын амитриптилинді, көп бағытты

возможности двигаться на 2 часа, что прямым образом является стрессором, лишая животных возможности к изменению положения тела, обеспечение эмоциональное ощущение безвыходности ситуации.

При этом длительность воздействия была избрана на основании имеющейся информации о биологическом виде экспериментальных животных, допустимых воздействиях, которые крыса может переносить без явного ущерба для себя и не повышая уровень воздействия стрессора до развития острого стрессового расстройства, сохраняя силу воздействия на уровне умеренной.

Исследование в поведенческих тестах:

Применение нескольких тестов использовали, основываясь на особенностях реакции крыс на различные стимулы и рефлекторное предпочтение крысами темных мест, замирание, груминг, вегетативные реакции (учащение мочеиспускания и дефекации), как симптом тревоги. Такие показатели, как свешивания с рукавов, стойки, перемещение, длительное пребывание на освещенных открытых местах характеризуют ориентировочно-исследовательскую деятельность животных удовлетворительного уровня. Проявления депрессивной направленности, характеризующиеся иммобилизацией, малой подвижностью и ангедонией. Комбинация тестов различной направленности позволяет выявить большее число психологических паттернов у испытуемых животных, ввиду различных их психотипов и поведенческих реакций.

- Диссертационная работа выполнялась в рамках научно-исследовательской программы АО "Международный научно-производственный Холдинг "Фитохимия" ИРН № BR05236584 «Разработка новых фитопрепаратов и их фармакологические и клинические исследования» (2018-2020) и научно-исследовательского проекта ИРН № AP08052389 «Разработка нового нейротропного препарата: фармакологические и клинические исследования» (2020-2022), финансируемых МОН РК, объектом исследования которого являлся в том числе и гармина гидрохлорид, показавший антидепрессивный эффект и противотревожную активность в ранних исследованиях при использовании в низких дозировках. Результаты исследований являются собственностью АО «МНПХ «Фитохимия»».

Препаратом сравнения в исследовании выбрали амитриптилин, который является эталонным препаратом в исследованиях психотропной активности, относящийся к группе трициклических антидепрессантов, разнонаправленного спектра действия и одним из препаратов стандарта в лечении стрессовых расстройств, депрессивных расстройств в случае наличия признаков их

әсер ету спектрін және олардың эндогендік белгілері, мазасыздық-депрессиялық күйлері болған жағдайда стресс бұзылыстарын, депрессиялық бұзылуларды емдеудегі стандартты препараттардың бірін таңдады.

- Жануарларды тамақ пен суға қолжетімді толық рацион шартында ұсталды. Осы карантин кезеңінде денсаулығында ауытқулар бақыланды.

Зерттеу үшін жануарларды бейімдеу және іріктеу кезінде карантиндік іс-шараларға мыналар кірді: питомниктен алынған кезде зертханалық жануарларды бастапқы бақылау (клиникалық тексеру); ветеринариялық талаптарға сәйкес карантиннен өту үшін жануарларды оқшаулау; карантиндік зертханалық жануарларды азықтық, физиологиялық және психологиялық бейімдеу.

Препараттарды енгізу және эвтаназия бекітілген стандартты операциялық процедураларға сәйкес жүргізілді.

Эвтаназия және одан кейінгі декапитация эфирлік наркозбен жүргізіледі. Серия аяқталғаннан кейін қан алу 7-ші күні емес, келесі күні, жануарлардың азаптарын азайту үшін миды алумен қатар жүргізілді. Дәрі-дәрмектерді енгізу әрбір егеуқұйрыққа АҚ «XFӨХ» Фитохимия» меншігіндегі және әзірлеу өнімі болып табылатын арнайы модификацияланған атравматикалық зондтармен жұмсақ сүлгімен ұстау арқылы жеке жүргізілді.

- Зерттеулерге сәйкес, оның нәтижелері біз қолданатын үлгідегі таралу нормасын есептеу кезінде қолданылды – топтағы 10 егеуқұйрықтың Шапиро-Уилктан, Колмогоров-Смирновтан, Колмогоров-Смирновтан Лиллиефорс пен Андерсона-Дарлингке түзетілген критерийлерінің қуаты бірдей. Бұл ретте Сіздің ұсынысыңыз бойынша Шапиро-Уилка критерийін пайдалана отырып қосымша жүргізілген талдау Колмогоров-Смирновтың критерийін пайдалана отырып, біз алған есептеулердің алынған нәтижелерін растады.

- Орындалған жұмыстың статистикалық есептеулерінің міндеттері медианалық тест жүргізуді қамтымады және айырмашылықтар туралы дәлірек ақпарат алу үшін бірнеше салыстырулардың егжей-тегжейлі деректерін жұмысқа қосуды анықтайтын кейінгі талдау үшін дәлірек мәліметтер алу қажеттілігі туындады. Қолда бар талдау деректері бар медианалық тесттің сипаттамасына қосу артық болар еді және артық нәтижелердің шамадан тыс жүктелуіне әкелді.

3. Ахметова С.Б.

- Мен осыған дейін «Фитохимия» институтының жобасында суда еритін гармин-гидрохлоридін зерттеуге қатыстым. Бұл сол препарат па?

- Жүргізілген зерттеулерде біз оның гипоксияға қарсы белсенділігін де дәлелдедік, дегенмен сіздің

эндогенности, тревожно-депрессивных состояниях.

- Животных содержали в условиях свободного доступа к пище и воде на полном рационе. Во время этого периода карантинирования контролировали отклонения в состоянии здоровья. При акклиматизации и отборе животных для исследования в карантинные мероприятия включали: первичный контроль лабораторных животных при получении из питомника (клинический осмотр); изоляцию животных для прохождения карантина согласно ветеринарным требованиям; проведение кормовой, физиологической и психологической адаптации лабораторных животных, находящихся в карантине. Введение препаратов и эвтаназия проводили в соответствии с утвержденными стандартными операционными процедурами.

Эвтаназия и последующая декапитация проводились под эфирным наркозом, Забор крови по завершению серии проводился не в 7-й день, а в день последующий, одновременно с забором мозга, для уменьшения страданий животных. Введение препаратов проводилось индивидуально каждой крысе удержанием ее в мягком полотенце специально модифицированными атравматичными зондами, являющимися собственностью и продуктом разработки АО «МНПХ»Фитохимия».

- Согласно исследованиям, результаты которого были применены при расчете нормальности распределения на используемой нами выборке – по 10 крыс в группе мощность критериев Шапиро-Уилка, Колмогорова-Смирнова, Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Андерсона-Дарлинга имеет одинаковую мощность. При этом по Вашей рекомендации дополнительно проведенный анализ с использованием критерия Шапиро-Уилка подтвердил полученные результаты полученных нами расчетов с использованием критерия Колмогорова-Смирнова.

- В задачи статистических расчетов выполненной работы не входило проведение медианного теста и присутствовала необходимость получения более точных данных для последующего анализа, что определило включение в работу развернутых данных множественных сравнений, для получения более точной информации о различиях. Включение в описание медианного теста при имеющихся данных анализа было бы избыточным и привело к перегрузке работы избыточными результатами.

3. Ахметова С.Б.

- Ранее я участвовала в исследовании гармина гидрохлорида – водорастворимой формы в проекте института «Фитохимия». Это тот же препарат?

- В проводимых исследованиях мы доказали в том числе и его антигипоксантную активность, хотя

нәтижелеріңіз мүлдем баска көріністі көрсетеді. Бұл мәселе бойынша не айта аласыз?

Жауап:

- Иә, препарат сол- суда еритін түрі, капсулаланған гармин гидрохлориді.

- Иә, біз осы зерттеулерге сәйкес басылымдармен таныспыз және зерттеудің максаттары, дизайны мен әдістері өте әртүрлі екенін, бағалау мінез-құлық сынақтары негізінде жүргізілгенін және тотығу метаболизмінің, пурин алмасуының, кан мен мидағы кортизолдың көрсеткіштері ерте эксперименттерде зерттелмегенін атап өткен жөн.

4. Жарылқасын Ж.Ж.

- Сіз қандай факторлармен стресс туындаттыңыз?

- Адамдарға экстраполяция жүргізілді ме, қандай да бір зерттеу адамдармен байланысты болды ма?

- - Жануарлардың салмағы мен жасы адамдардың салмағы мен жасына, соның ішінде препараттарды есептеу кезінде байланысты ма?

Жауаптары:

- Біз СБОС моделін қалыптастыру үшін қолданған факторлар болып табылады: «Тығыз тор» - торға қосымша бөлімді орнату арқылы ұяшықтың кеңістігің екі есе шектеніз, «Тамақтың жетіспеушілігі» – 24 сағат бойы тамақтан айыру, «Қарындаш салғышка иммобилизация» – қозғалуға арналған кеңістікті шектемей, жануарлар жеке қарындаш қораптарға орналастырылды, «Күннің жарық уақытында көлеңкелеу» – күннің жарығы кезінде күндізгі уақытта жасанды көлеңкелеуді жасау, ұзақтығы 15 сағат, «Судың жетіспеушілігі» – 10 сағат бойы судан айыру, «Тәуліктің қараңғы уақытында жасанды жарықтандыру» – тәуліктің қараңғы уақытында жасанды жарық жасау, ұзақтығы 15 сағат, «Толық иммобилизация» – жануарларды жеке қарындаш салғышка орналастырып, 2 сағатқа қозғалыс мүмкіндігінен айыру. Сонымен қатар мінез құлық сынақтары «Көтерілген крест тәрізді лабиринт», «Ашық алаң», «Күйрықтан ілу» стресс болды.

-Зерттеу нәтижелерін адамдарға экстраполяциялаудың нақты процедуралары жүргізілмеген және біздің зерттеуіміздің міндеттеріне кірмеген. СБОС моделін қалыптастыру кезінде біз Жануарлар моделін қалыптастыру үшін ұсынылған жарамдылық критерийлерін барынша қолдандық.

- Иә, жасы жас тұрғындарға сәйкес келетін стресстен туындаған бір жасар егеуқұйрықтар қолданылды, бір жасар егеуқұйрықтар қолданылды, олардың жасы жас тұрғындардың жасына сәйкес келеді, онда стресстен туындаған бұзылулар жиі кездеседі, егеуқұйрықтар үшін түзету коэффициентімен және егеуқұйрықтың дене салмағына байланысты дәрі-дәрмектердің мөлшерін есептеу жүргізілді.

Ваши результаты показывают совсем другую картину. Что можете сказать по этому вопросу?

Ответ:

- Да, препарат тот же – водорастворимая форма, капсулированная гармина гидрохлорида.

- Да, мы знакомы с публикациями по данным исследованиям и необходимо отметить, что цели, дизайн и методы исследований критично отличаются, оценка проводилась на основании поведенческих тестов и показатели окислительного метаболизма, пуринового обмена, кортизола в крови и мозге не были исследованы в ранних экспериментах.

4. Жарылқасын Ж.Ж.

- Какие факторами вы вызывали стресс?

- Была ли проведена экстраполяция на людей, как-то соотносилось исследование людьми?

- Вес и возраст животных соотносен с весом и возрастом людей, в том числе при расчете препаратов?

Ответы:

- Факторами, которые мы использовали для формирования модели ХНУС были «Тесная клетка» - ограничение пространства клетки вдвое за счет установки дополнительной перегородки в клетке, «Депривация пищи» – лишение пищи на 24 часа, «Иммобилизация в пенале» – без ограничения пространства для движения, но не перемещения животные помещались в индивидуальные пеналы, «Затененность в светлое время суток» – искусственное создание затемнение в течение светового дня, длительностью 15 часов, «Депривация воды» – лишение воды на 10 часов, «Искусственная освещенность в темное время суток» – создание искусственного освещения в темное время суток, длительностью 15 часов, «Полная иммобилизация» – помещение животных в индивидуальные пеналы, лишаящие их возможности двигаться на 2 часа. Также стрессором выступали поведенческие тесты «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Открытое поле», «Подвешивание за хвост».

- Специфических процедур экстраполяции результатов исследования на людей не проводилось и не входило в задачи нашего исследования. При формировании модели ХНУС мы максимально придерживались критериев валидности рекомендованных для формирования модели на животных.

- Да, использовались годовалые крысы, возраст которых соотносится с возрастом молодого населения, где все чаще встречаются стресс-индуцированные расстройства, расчет дозировки препаратов производился с поправочным коэффициентом для крыс и индивидуализировано по массе тела крысы.

5. Беляев Р.А.

- Сіз СБОС фонында егеуқұйрықтардың миында ишемиялық ошақтардың пайда болуын көрсетесіз бе? Сіздің зерттеуіңіз бен адамдардағы ишемиялық инсульттің дамуы арасында параллельдер жасауға бола ма?

Жауап:

- Сөзсіз, стресстің кардиоваскулярлық патологиямен дәлелденген байланысын ескере отырып, параллельдер жүргізуге болады, цереброваскулярлық патологиямен, әсіресе инсульт кезінде ишемияның дамуының патогенетикалық механизмдерін ескере отырып, тотығу стресінің процестерін белсендіре отырып, сөзсіз байланысты. Дәл осы процестер зерттеулерде миды сканерлеу кезінде халықтың едәуір бөлігіндегі кішкентай "үнсіз" асимптоматикалық ошақтарды түсіндіре алады.

Понамарева О.А. мен Мхитарян К.Э. рецензиялары тыңдалды. Комментарии қалдырылды. Епифанцева Е.В. рецензенттерге алғысын білдіріп, сұрақтарға жауап берді.

Шетелдік ғылыми кеңесші Kitova Т.Т. пікірі оқылды. Ғылыми кеңесші Ключев Д.А. Е.В. Епифанцеваға пікір білдірді.

ШЕШІМ:

6D110100 «Медицина» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ізденуші Е.В. Епифанцеваның «Созылмалы стрестегі және фармакологиялық түзету фонындағы молекулалық-жасушалық өзгерістерді бағалау. Эксперименттік зерттеу» жұмысын жария қорғауға ұсыну.

Төраға  А.О. Омарова

Хатшы  А.А. Қоңырова

5. Беляев Р.А.

- Вы указываете на формирование ишемических очагов в головном мозге у крыс на фоне ХНУС. Можно ли провести параллели между вашим исследованием и развитием ишемического инсульта у людей?

Ответ:

- Несомненно, провести параллели возможно, учитывая подтвержденную связь стресса с кардиоваскулярной патологией, неоспорима связь и с цереброваскулярной патологией, особенно при учете патогенетических механизмов развития ишемии при инсульте с активацией процессов оксидантного стресса. Этими же процессами могут объясняться мелкие «немые» бессимптомные очаги у значительного количества населения при сканировании мозга в исследованиях.

Были выслушаны рецензии Понамаревой О.А. и Мхитарян К.Э. Оставлены комментарии. Епифанцева Е.В. поблагодарила рецензентов и ответила на вопросы.

Зачитан отзыв зарубежного научного консультанта Kitova Т.Т. Научный консультант Ключев Д.А. выступил с отзывом на Епифанцеву Е.В.

РЕШЕНИЕ:

Рекомендовать работу соискателя Епифанцевой Е.В. «Оценка молекулярно-клеточных изменений при хроническом стрессе и на фоне фармакологической коррекции. Экспериментальное исследование.» к публичной защите на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности 6D110100 «Медицина».

Председатель  Омарова А.О.

Секретарь  Қоңырова А.А.

