Погорелов Вадим Викторович, Жуков Виктор Иванович

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ РАДИКУЛОИШЕМИИ И ИХ НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ КОРРЕКЦИЯ

В эксперименте на 30-ти крысах линии Вистар изучались показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, уровень гормонов - кортизола и мелатонина, а также лептина под влиянием альфа-липоевой кислоты и мелатонина. Введение альфа-липоевой кислоты и мелатонина экспериментальным животным сопровождалось изменением показателей антиоксидантной защиты - кортизола, мелатонина и лептина. Изменения были более выраженными при комбинации этих лекарственных средств.

Адрес статьи: www.gramota.net/materials/1/2014/4/36.html

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

Альманах современной науки и образования

Тамбов: Грамота, 2014. № 4 (83). С. 128-133. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: www.gramota.net/editions/1.html

Содержание данного номера журнала: www.gramota.net/materials/1/2014/4/

© Издательство "Грамота"

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: www.gramota.net

Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: almanac@gramota.net

УДК 616.721.1:577.73
Медицинские науки

В эксперименте на 30-ти крысах линии Вистар изучались показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, уровень гормонов – кортизола и мелатонина, а также лептина под влиянием альфа-липоевой кислоты и мелатонина. Введение альфа-липоевой кислоты и мелатонина экспериментальным животным сопровождалось изменением показателей антиоксидантной защиты – кортизола, мелатонина и лептина. Изменения были более выраженными при комбинации этих лекарственных средств.

Ключевые слова и фразы: дискогенная радикулоишемия; пероксидация липидов; антиоксидантная защита; альфа-липоевая кислота + мелатонин.

Погорелов Вадим Викторович
Центральная клиническая больница Украинской железной дороги, г. Харьков
pogorelovvadim@mail.ru

Жуков Виктор Иванович, д. мед. н., д. биол. н., профессор
Харьковский национальный медицинский университет, Украина
pogorelovvadim@mail.ru

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ РАДИКУЛОИШЕМИИ И ИХ НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ КОРРЕКЦИЯ©

Введение. Дегенеративно-дистрофические процессы позвоночника, межпозвонковых дисков и мышечно-связочного аппарата приводят к остеохондрозу и дискогенной радикулоишемии (ДРИ). На развитие и прогрессирование ДРИ влияют различные факторы [9]. Известно, что усиление процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) играет важную роль в формировании воспаления при ДРИ [3]. Процессы окисления и восстановления в нормальных условиях сбалансированы, а в условиях патологических изменений при ДРИ возникает окислительный стресс (ОС), для которого характерными являются усиление прооксидантного и оксидантного повреждений нервной ткани, изменение гормонального статуса [7].

В природную систему защиты нейронов входит антиоксидантный гормон мелатонин, который подавляет активность оксида азота (NO). Понижение уровня NO под влиянием мелатонина, в том числе за счёт ингибирования индуцибельной NO-синтазой (иNOS), препятствует апоптозу. Мелатонин связывает наиболее токсичные гидроксильные радикалы, пероксинитрит, NO, синглетный кислород и пероксильный радикал. Он является донором электронов, перехватывает активные формы кислорода и обезвреживает радикалы NO. Кроме того, он действует как вторичный антиоксидант, стимулирует активность глутатионпероксидазы, которая превращает перекись водорода в воду, активирует супероксиддисмутазу (СОД), иNOS, связывает ионы металлов с переменной валентностью Fe^{2+}, Cu^{2+}, Mg^{2+}, которые имеют прооксидантые свойства [7; 8; 11].

Наряду с мелатонином важную роль в организме выполняет провоспалительный адипокин – лептин. Он относится к цитокинам (ЦК). В зависимости от состояния иммунной системы лептин проявляет провоспалительное действие, направленное на усиление ОС и прогрессирование ДРИ. В этом случае необходимо предположить, что лептин вызывает некоторые дисрегуляторные процессы при формировании метаболических и локально-воспалительных процессов. Повышение экспрессии лептина сопровождается повреждением хрящевой ткани, повышением проницаемости сосудов. Лептин является триггером дегенеративно-дистрофического процесса (ДДП), повышает продукцию NO, вызывает повреждение позвоночно-суставного матрикса, торможение синтеза коллагена II, активирует матриксные металлопротеиназы (ММП). Таким образом, ДРИ – это метаболический процесс, в который вовлекаются позвоночно-двигательные сегменты и мышечно-связочный аппарат. Кроме этого, при ДДП позвоночника важную роль играют ЦК, которые усиливают течение воспаления [9].

Для стабилизации мембран клеток и улучшения репаративных процессов в нервной ткани всё шире используется альфа-липоевая кислота (АЛК), но в последнее время стало известно, что мелатонин более активно инактивирует пероксильные радикалы. Кроме антирадикального действия, он имеет противовоспалительное и антидегенеративное, стимулирует активность антиоксидантных ферментов [7; 8; 14].

Целью работы стало изучение состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, а также кортизола, мелатонина и лептина в условиях оксидативного стресса при экспериментальной дискогенной радикулоишемии у крыс и его патогенетическая коррекция.

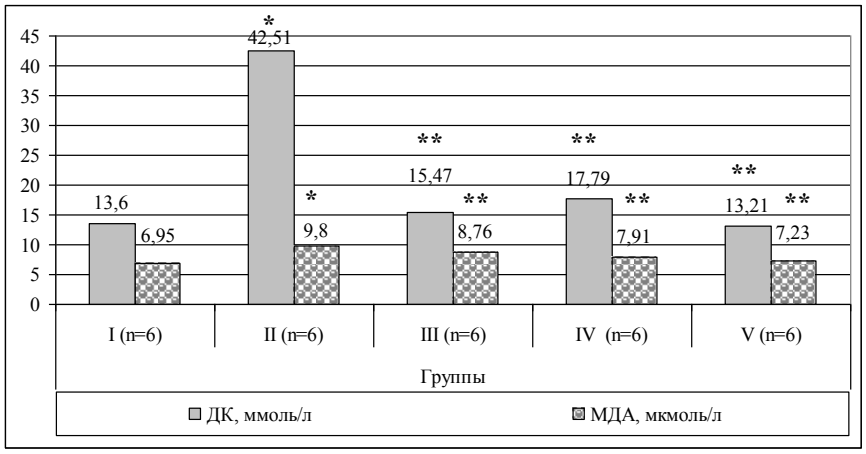
Материалы и методы исследования. Моделирование дискогенной радикулоишемии. В эксперименте использовались 30 крыс инбредной линии Вистар массой 180,0±5,36 г. Животные были разделены на 5 групп по 6 крыс в каждой. Первая группа (группа сравнения) – интактные животные. Для моделирования дискогенной радикулоишемии во второй, третьей, четвёртой и пятой группах в эксперименте проводили резекцию хвоста крысы, из которого извлекали межпозвонковый диск и имплантировали в позвоночный канал

© Погорелов В. В., Жуков В. И., 2014

на уровне межпозвонкового диска L_4-L_5. Для проведения манипуляций животных вводили в кетаминовый наркоз. У всех крыс 2-й, 3-й, 4-й и 5-й групп развивалась острая радикулоишемия, которая проявлялась в нарушении двигательной функции задних конечностей, то есть парапарезом. Животные во второй группе не получали лекарственные средства. В третьей группе животные получали АЛК в дозе 8,5 мг/кг действующего вещества в физиологическом растворе подкожно, в четвёртой – водный раствор мелатонина (Melaxen®, “Unifarm”, USA) в дозе 30 мг/кг подкожно, в пятой группе животные получали АЛК + мелатонин в вышеприведенных дозировках. На 10-е сутки крысам вводили чрезмерную дозу тиопентала, которая приводила к смерти. Для оценки результатов эксперимента изучали состояние показателей оксидантной и антиоксидантной систем в крови. Эксперимент отвечал требованиям Закона Украины № 3447-1 от 21.02.2006 г. «О защите животных от жестокого поведения» [2; 5; 10; 13].

Интенсивность процессов ПОЛ в крови оценивали по содержанию диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). Активность СОД и каталазы в крови определяли спектрофотометрическим методом. Ферментативную активность NOS и количество метаболитов NO определяли модифицированным методом, предложенным О. Н. Ковалевой с соавторами [4]. Активность церулоплазмина определяли по методу Равина с использованием субстрата парафенилдиамина [6; 12]. Уровень кортизола и мелатонина в крови определяли иммуноферментным методом. Кроме этого, иммуноферментным методом определяли содержание лептина, интерлейкина (ИЛ)-1β и маркеры интенсивности фиброзообразования ММП-1 и тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (ТИМП-1). Уровень NO в нейтрофилах и тромбоцитах определяли по методу электронной парамагнитной резонансной спектрометрии. Статистическая обработка материала осуществлялась на основе формализованных протоколов обследования на персональном компьютере при помощи программ *Statistic Graphics* и *Excel* с использованием традиционных методов параметрической и непараметрической статистики [1].

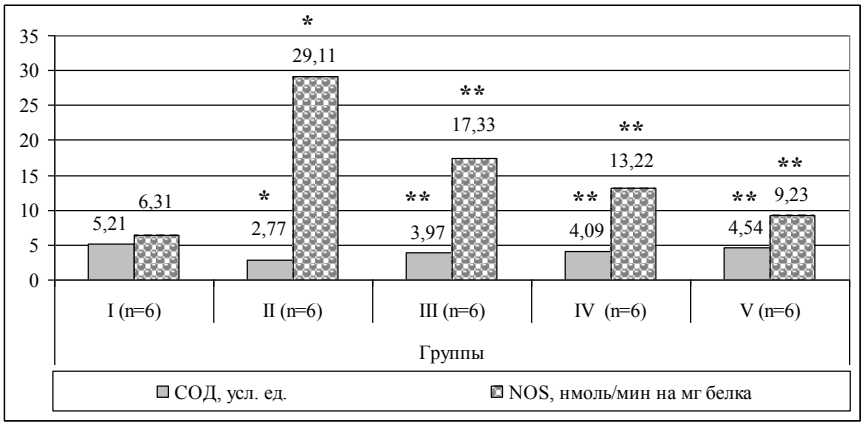
Результаты исследования и их обсуждение. Ответ организма на моделирование острой радикулоишемии проявлялся развитием пероксидации липидов и асептическим воспалением, а изменение ДК, МДА во второй группе наблюдения – как развернутый ОС, комбинированный со стрессом эмоционального напряжения, что представлено на Рис. 1 и 4. Клиническая картина экспериментальной ДРИ, которую наблюдали у крыс, характеризовалась наличием выраженного отёка и гиперемией оболочек корешков спинного мозга на уровне L_4-L_5 позвонков, парапарезом задних конечностей и снижением активности животных, что выявлено при их осмотре на следующий день моделирования ДРИ.



Примечание:p<0,05; различия достоверны:
* – вероятность разницы показателей в сравнении с интактной группой;
** – вероятность разницы показателей в сравнении со второй группой.

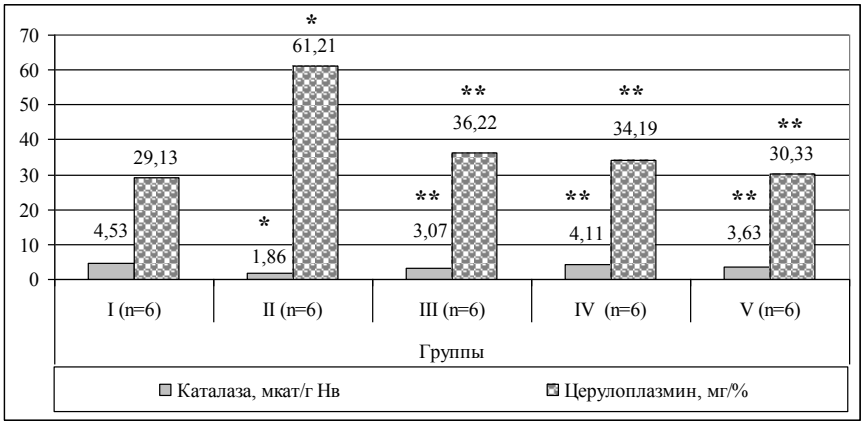
Рис. 1. *Показатели перекисного окисления липидов в сыворотке крови экспериментальных животных и их изменения под влиянием лекарственных средств*

По поводу оценки действия NO как основного нейромедиатора необходимо сказать, что патологическая стимуляция нейронов способствует активации иNOS и освобождению NO, что, в свою очередь, сопровождается индукцией нитрозилирующего стресса, главным регулятором которого может быть мелатонин, что представлено на Рис. 4. Таким образом, ингибирование иNOS мелатонином снижает уровень NO и его нейротоксические проявления, тормозит механизмы воспаления и апоптоз нейронов. Проведенное исследование показало повышение уровня иNOS во второй группе по сравнению с интактными животными и его снижение в третьей, четвёртой и особенно пятой группе после применения АЛК в комбинации с мелатонином, что представлено на Рис. 2, 3. Также на Рис. 2, 3 показано, что во второй группе экспериментальных животных в ответ на моделированное воспаление отмечаются снижение показателей СОД, каталазы и повышение активности церуллоплазмина. Применение АЛК в комбинации с мелатонином способствовало нормализации этих показателей в третьей-пятой группах наблюдения, что представлено на Рис. 2, 3.



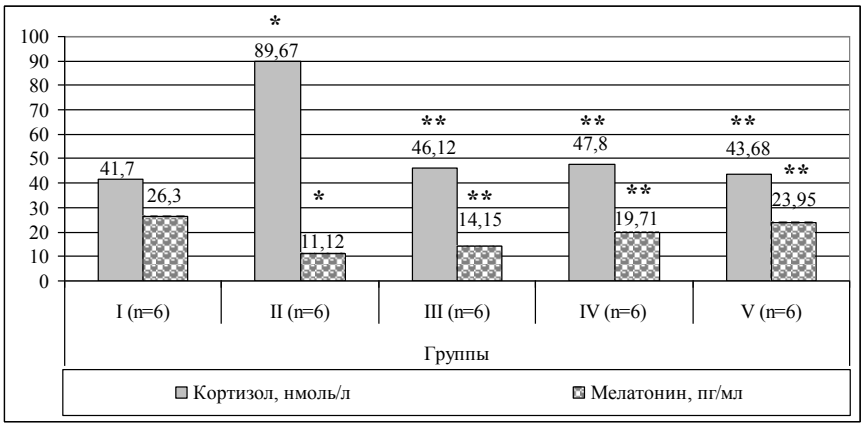
Примечание: p<0,05; различия достоверны:
* – вероятность разницы показателей в сравнении с интактной группой;
** – вероятность разницы показателей в сравнении со второй группой.

Рис. 2. *Показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови экспериментальных животных и их изменения под влиянием лекарственных средств*



Примечание: p<0,05; различия достоверны:
* – вероятность разницы показателей в сравнении с интактной группой;
** – вероятность разницы показателей в сравнении со второй группой.

Рис. 3. *Показатели антиоксидантной системы в сыворотке крови экспериментальных животных и их изменения под влиянием лекарственных средств*

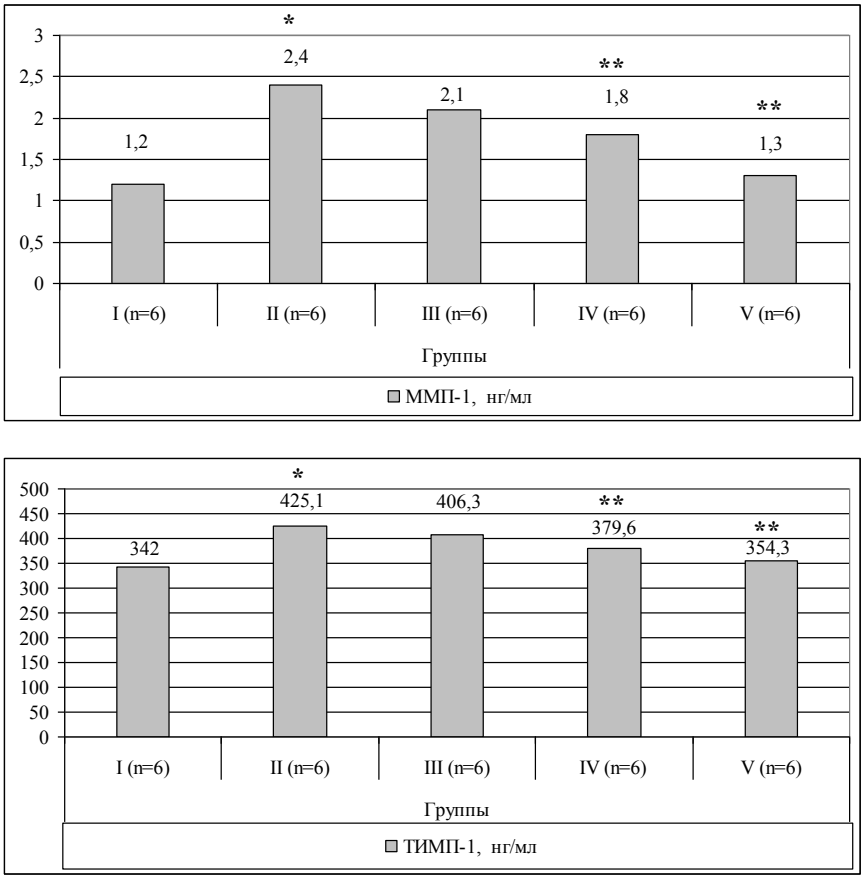


Примечание: p<0,05; различия достоверны:
* – вероятность разницы показателей в сравнении с интактной группой;
** – вероятность разницы показателей в сравнении со второй группой.

Рис. 4. *Показатели гормонов сыворотки крови экспериментальных животных и их изменения под влиянием лекарственных средств*

Повышение уровня кортизола в сыворотке крови сопровождалось снижением уровня мелатонина во второй группе экспериментальных животных и его повышением в третьей и, особенно, пятой группе наблюдения под влиянием комбинации этих лекарственных средств.

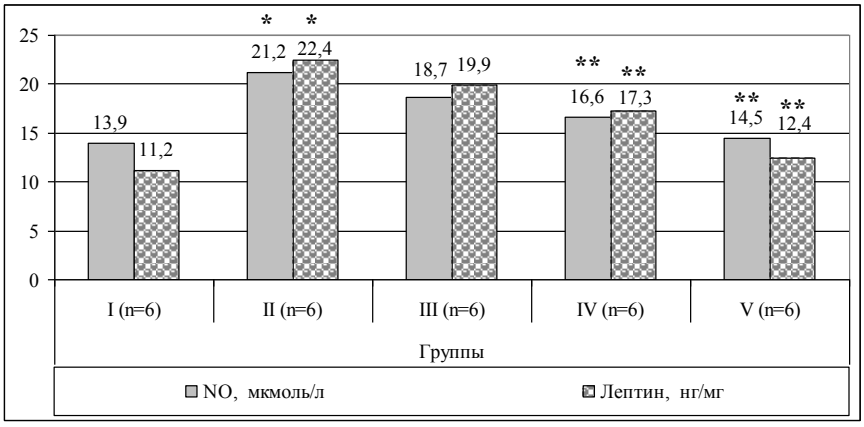
Увеличение содержания ММП у крыс второй группы в сравнении с первой свидетельствует о прогрессировании нейродегенерации вследствие повышения активности воспалительного процесса при ДРИ, что представлено на Рис. 5.



Примечание: p<0,05; различия достоверны:
* – вероятность разницы показателей в сравнении с интактной группой;
** – вероятность разницы показателей в сравнении со второй группой.

Рис. 5. *Показатели ММП-1 и ТИМП-1 экспериментальных животных и их изменения под влиянием лекарственных средств*

Применение АЛК в третьей группе, мелатонина – в четвертой сопровождалось снижением уровня ММП-1 и, особенно, в пятой группе, где имело место сочетание этих лекарственных средств.

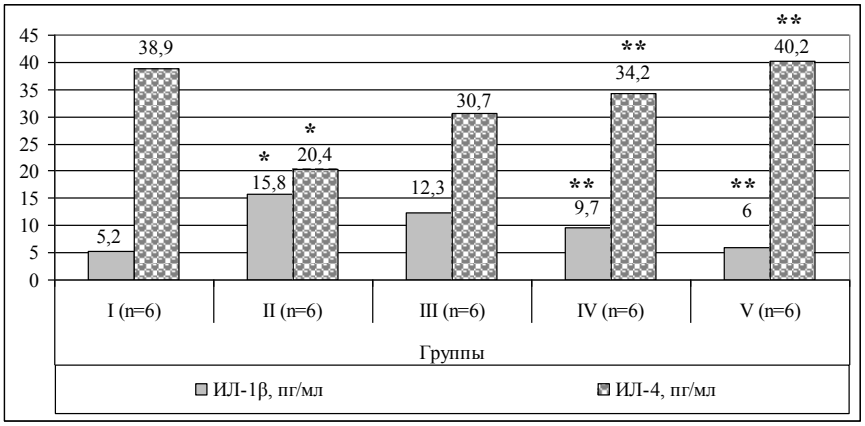


Примечание: p<0,05; различия достоверны:
* – вероятность разницы показателей в сравнении с интактной группой;
** – вероятность разницы показателей в сравнении со второй группой.

Рис. 6. *Показатели провоспалительных медиаторов в сыворотке крови экспериментальных животных и их изменения под влиянием лекарственных средств*

Повышение уровня лептина сопровождалось повышением ИЛ-1β в этих группах. Содружественные изменения этих показателей обусловлены повышением продукции NO, который влияет на хондроциты и вызывает повреждение матрикса диска, что способствует повышению активности ММП. Взаимодействие лептина и ММП повышает катаболическое действие лептина в метаболизме диска, что представлено на Рис. 5, 6. В результате проведенного исследования по оценке действия NO, ИЛ-1β и лептина необходимо отметить, что эти изменения продукции NO взаимосвязаны с индукцией ОС, главными регуляторами которого могут быть лептин, ИЛ-1β и другие провоспалительные ЦК, которые принимают участие в формировании воспаления и цитотоксичных процессов. Снижение уровня NO и повышение уровня лептина и ИЛ-1β у экспериментальных крыс в сравнении с контролем отмечались в период обострения заболевания.

После проведенного комплексного лечения отмечались восстановление чувствительности и двигательной функции экспериментальных животных с ДРИ. Эти клинические изменения сопровождались снижением ИЛ-1β и повышением ИЛ-4, особенно в пятой и шестой группах экспериментальных животных, что представлено на Рис. 7.



Примечание: p<0,05; различия достоверны:
* – вероятность разницы показателей в сравнении с интактной группой;
** – вероятность разницы показателей в сравнении со второй группой.

Рис. 7. *Показатели воспалительных медиаторов в сыворотке крови экспериментальных животных и их изменения под влиянием лекарственных средств*

Таким образом, результаты, полученные в период проведенного экспериментального исследования, свидетельствуют, что наряду с нитрозилирующим стрессом, то есть повышением агрессии NO в результате его накопления, имеет место оксидантный стресс и стресс эмоционального напряжения, на фоне которых отмечались генерализованная активация ПОЛ, снижение СОД, иNOS, каталазы и повышение церулоплазмина. Применение АЛК у экспериментальных животных в третьей, мелатонина – в четвёртой и их комбинации – в пятой группах значительно улучшило показатели антиоксидантной защиты, что позволяет использовать данные лекарственные средства в клинике для лечения ДРИ.

Выводы

1. В условиях экспериментальной ДРИ у крыс имели место изменения, которые отражают усиление процессов окислительного метаболизма и снижение антиоксидантной защиты. Эти изменения усиливаются вторичным функциональным повреждением, которое проявляется парапарезом и развивается в течение суток.

2. Лептин является одним из пусковых моментов оксидативного стресса при экспериментальной ДРИ, о чём свидетельствует значительное повышение уровня NO и ИЛ-1β. Этот сигнальный белок может использоваться для прогноза течения воспалительного процесса и прогрессирования заболевания, а также как маркер эффективности лечения.

3. Применение в эксперименте АЛК и мелатонина сопровождалось улучшением двигательных функций и подтверждалось положительной динамикой лабораторных показателей. Наилучшие результаты были получены при применении комбинации АЛК с мелатонином, что может быть обусловлено их воздействием на разные звенья патогенеза.

Список литературы

1. **Гойко О. В.** Практичне використання пакета STATISTIKA для аналізу медіко-біологічних даних. К., 2004. 76 с.
2. **Доклінічні дослідження лікарських засобів**: метод. рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. С. 210-222.
3. **Дослідження пероксидної оксидації ліпідів та антиоксидантного захисту організму в клінічній практиці**: методичні рекомендації. Львів, 2002. С. 19-24.
4. **Ковальова О. М., Демиденко Г. В., Горбач Т. В.** Діагностика ендотеліальної функції – оцінка вазоактивного пулу оксиду азоту: методичні рекомендації. Київ, 2007. 16 с.
5. **Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А. та ін.** Науково-практичні рекомендації з утриманням лабораторних тварин та роботи з ними. К.: Авіцена, 2002. 156 с.

6. **Лабораторные методики для изучения состояния антиоксидантной системы организма и уровня перекисного окисления липидов**: методические рекомендации для докторантов, аспирантов, магистров, исполнителей НИР. Харьков: ХГМУ, 2004. 36 с.
7. **Меньшикова Б. Е., Зенков Н. К., Ланкин В. З. и др.** Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА, 2008. 284 с.
8. **Парахонский А. П.** Влияние мелатонина на иммунную систему // Современные наукоёмкие технологии. 2007. № 11. С. 56-59.
9. **Погорелов В. В., Жуков В. І., Телегіна Н. Д.** Вплив прозапальних медіаторів на перебіг дегенеративно-дистрофічних процесів хребта у хворих з дискогенною радикулоішемією // Український медичний альманах. 2013. Т. 16. № 1. С. 85-88.
10. **Радченко В. А., Дедух Н. В., Бенгус Л. М., Шимон М. В.** Экспериментальные аспекты моделирования грыжи межпозвоночного диска // Боль. Суставы. Позвоночник. 2011. № 2. С. 88-93.
11. **Тюпка Т. І., Лабунець А. І.** Стан пероксидації ліпідів та ефективність антиоксидантної терапії при експериментальному гінгівіті // Вісник біології і медицини. 2013. Т. 2 (99). Вип. 1. С. 166-168.
12. **Чевари С., Чаба И., Сеней И.** Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лабораторное дело. 1985. № 11. С. 16-18.
13. **De Suoza A., Fernando L., Amilcar C., Helton L. A.** Experimental Model to Study Intervertebral Disc Herniation // Revista Brasileira de Ortopedia. 2008. Vol. 43. № 4.
14. **Otero M.** Leptin: a Metabolic Hormone That Functions Like a Proinflammatory Adipokine // Drug News and Perspectives. 2006. Vol. 19 (1). P. 21-26.

PATHOPHYSIOLOGICAL CHANGES IN EXPERIMENTAL RADICULAR ISCHEMIA CONDITIONS AND THEIR NEUROPROTECTIVE CORRECTION

Pogorelov Vadim Viktorovich
Central Clinical Hospital of the Ukrainian Railway, Kharkov
pogorelovvadim@mail.ru

Zhukov Viktor Ivanovich, Doctor in Medicine, Doctor in Biology, Professor
Kharkiv National Medical University, Ukraine
pogorelovvadim@mail.ru

In the experiment on 30 Wistar rats the indexes of lipid peroxidation and antioxidant protection, the level of hormones – cortisol and melatonin – and also leptin influenced by alpha-lipoic acid and melatonin are studied. The injection of alpha-lipoic acid and melatonin into the experimental animals was accompanied by the change in the parameters of antioxidant protection – cortisol, melatonin and leptin. The changes were more marked in case of the combination of these remedies.

Key words and phrases: discogenic radicular ischemia; lipid peroxidation; antioxidant protection; alpha-lipoic acid + melatonin.

УДК 378.046.4:372.881.111.1
Педагогические науки

В статье отражен опыт автора по усовершенствованию наглядной схемы процесса создания и внедрения стандартизированных тестов (для лекционного занятия на английском языке по теме "Assessment Cycle"). Подробно рассматриваются элементы схемы, обосновывается выбор их англоязычных наименований и способов визуального представления этапов процесса и переходов от одного этапа к другому. Схема позволяет сформировать отчетливое представление о принципах организации процесса создания теста, благодаря которым повышается его валидность и соответствие заданной функции.

Ключевые слова и фразы: стандартизированный тест; схематизация; процесс разработки тестов; повышение квалификации учителей; наглядность.

Приходько Вера Сергеевна, к. филол. н.
Южный федеральный университет
vera.s.prikhodko@yandex.ru

ОПЫТ СХЕМАТИЗАЦИИ ПРОЦЕССА СОЗДАНИЯ ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНИВАНИЯ ЗНАНИЙ ПО АНГЛИЙСКОМУ ЯЗЫКУ©

Опыт, о котором пойдет речь в данной статье, был приобретен автором благодаря участию в разработке учебно-методических ресурсов в рамках проекта "Promoting Sustainable Excellence in Testing and Assessment of English (SM)" (неофициальный перевод: «Повышение уровня компетентности преподавателей английского языка в области тестирования и оценивания»), реализуемого при поддержке программы TEMPUS [4; 8].

© Приходько В. С., 2014