

В.Г. Овсянников, В.В. Алексеев, А.Е. Бойченко, М.В. Бликян, Н.С. Алексеева, М.В. Абрамова

Ростовский государственный медицинский университет, Российская Федерация

## Онтогенетические аспекты изменения активности лизоцима при острой соматической боли

**Цель исследования:** изучить влияние острой соматической боли на изменение активности лизоцима у крыс разного возраста. **Методы:** активность лизоцима определяли с помощью нефелометрического метода в собственной модификации до нанесения болевого раздражения и после него через 2, 30, 60, 120, 180 мин. Болевое воздействие достигали путем электрокожного раздражения корня хвоста. **Результаты:** у интактных новорожденных крыс активность лизоцима составляла  $0,434 \pm 0,01$  ед., что выше, чем у половозрелых животных —  $0,260 \pm 0,01$  ед. ( $p < 0,001$ ), и была неизменной в течение всего эксперимента. У интактных взрослых крыс отмечена низкая активность лизоцима —  $0,015 \pm 0,003$  ед., которая в динамике эксперимента оставалась неизменной. У животных месячного возраста прослеживалась двухфазная реакция: у интактных животных активность лизоцима составляла  $0,191 \pm 0,01$  ед., через 2 мин после болевого раздражения она повышалась до  $0,378 \pm 0,01$  ед. ( $p < 0,001$ ), а через 30 мин снижалась до  $0,113 \pm 0,02$  ед. ( $p < 0,001$ ). У половозрелых крыс активность лизоцима составляла  $0,260 \pm 0,01$  ед. В ответ на острое болевое раздражение имела место однофазная реакция: увеличение активности лизоцима после острой соматической боли до  $0,450 \pm 0,014$  ед. ( $p < 0,001$ ). В плазме крови старых интактных крыс активность лизоцима —  $0,246 \pm 0,02$  ед. После аллогенного воздействия активность лизоцима упала до  $0,170 \pm 0,01$  ед. ( $p < 0,01$ ) и к концу эксперимента достигла  $0,387 \pm 0,01$  ед. ( $p < 0,001$ ). **Заключение:** ответная реакция на болевое раздражение у животных различных возрастных групп имеет особенности. Общий вектор ответной реакции на боль у месячных, половозрелых и старых крыс направлен в сторону повышения активности лизоцима, а у половозрелых животных реакция повышения активности лизоцима в ответ на боль наиболее выражена. Полученные результаты могут быть расценены как превентивная готовность лизоцима к отражению возможного повреждения тканей и их инфицирования.

**Ключевые слова:** боль, врожденный иммунитет, лизоцим.  
(Вестник РАМН. 2014; 11–12: 17–23)

17

### Обоснование

Лизоцим (муромидаза) — гуморальный фактор врожденного иммунитета, фермент лизосомального происхождения лейкоцитов крови. Оказывает бактериолитический эффект за счет расщепления  $\beta$ -1,4-гликозидной связи муреинового слоя клеточной стенки бактерий. Его бактерицидные свойства доказательно описаны в литературе [1–3]. Так, в работе D. Donaldson и соавт. было показано, что удаление лизоцима из крови снижает ее бактерицидные свойства на 49% [1]. По мнению О.В. Бухарина, уро-

вень лизоцима наиболее информативно отражает состояние врожденного иммунитета в целом [2]. Его основной источник — нейтрофилы, моноциты / макрофаги, поэтому он постоянно присутствует в организме [3].

Очевидно, что поддержание базального уровня лизоцима происходит в результате перманентного распада клеток-продуцентов [4]. Однако есть и другая точка зрения. По мнению некоторых авторов, в здоровом организме титр лизоцима находится в постоянстве [5], что обусловлено не только разрушением клеток и освобождением лизоцима, но также продукцией и вы-

V.G. Ovsyannikov, V.V. Alekseev, A.E. Boichenko, M.V. Blikyan, N.S. Alekseeva, M.V. Abramova

Rostov-on-Don State Medical University, Russian Federation

## Ontogenetic Aspects of Changing Lysozyme Activity under Acute Somatic Pain

**Objective:** Our aim was to study influence of acute somatic pain on lysozyme activity of rats of different age: newborn, rats after eye opening, rats at the age of a month, adult and old rats. **Methods:** Lysozyme activity was checked before pain irritation and 2, 30, 60, 120, 180 min afterwards using Dorofeychuk's method in our modification. Pain effect was modeling by electrical stimulation. **Results:** activity of lysozyme was  $0.434 \pm 0.01$  units in intact newborn rats, it was higher than in adult rats —  $0.260 \pm 0.01$  units ( $p < 0.001$ ) and it was unchanged during the experiment. We found low lysozyme activity in rats after eye opening —  $0.015 \pm 0.003$  units and it was stable during the experiment. Rats at the age of a month had diphasic reaction: lysozyme activity was  $0.191 \pm 0.01$  units in intact rats, it increased up to  $0.378 \pm 0.01$  units ( $p < 0.001$ ) in 2 min after painful irritation and it decreased up to  $0.113 \pm 0.02$  units ( $p < 0.001$ ) in 30 min. Lysozyme activity was  $0.260 \pm 0.01$  units. Single-phase reaction was determined after acute painful irritation: increase of lysozyme activity after acute somatic pain up to  $0.450 \pm 0.014$  units ( $p < 0.001$ ). Lysozyme activity was  $0.246 \pm 0.02$  units in blood plasma of old rats. It decreased up to  $0.170 \pm 0.01$  units ( $p < 0.01$ ) after painful irritation and it was  $0.387 \pm 0.01$  ( $p < 0.001$ ) in the end of the experiment. **Conclusion:** Response on pain irritation has differences in different groups. The common vector of pain response was the increase of lysozyme activity in rats at the age of a month, adult rats, rats after eye opening and old rats. Reaction of increasing lysozyme activity was strongly detected in adult rats. The results demonstrate preventive lysozyme resistance to potential tissue damage or contamination.

**Key words:** pain, innate immunity, lysozyme.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 11–12: 17–23)

делением его неповрежденными клетками [6]. Изменение же содержания лизоцима связывают со стимуляцией нейтрофилов и моноцитов, которые активно выделяют фермент, тем самым повышая его содержание в жидких средах [7, 8].

Зона присутствия лизоцима практически не имеет границ. Он обнаружен в крови, слюне [9], слезной жидкости, в легких, почках [10], селезенке [11], плаценте [12] и других тканях.

Доказано, что активация продукции лизоцима происходит не только при инфекционном раздражении, но и в ответ на неспецифические стимулы [13]. Известна, например, реакция лизоцима на адаптацию организма к климатогеографическим условиям [2]. Достаточное число работ убедительно доказывает связь между физической нагрузкой и содержанием лизоцима в биологических средах [14].

Среди неспецифических раздражителей, способных привести в движение систему лизоцима, особенно рельефно выступают те, которые вызывают стресс [2]. В связи с этим будет вполне логичным предположить влияние боли на активность лизоцима в сыворотке крови. В доступной литературе сведений о влиянии боли в целом или краткосрочной, острой интенсивной соматической в частности нами не найдено. Не исключено, что реакция на боль может наступить и иметь при этом свои особенности. Получены данные, отражающие возрастные особенности биосинтеза лизоцима [15]. Однако единого исследования, объясняющего онтогенетические особенности биосинтеза лизоцима, его функциональной активности на раздражения антигенной и неантигенной природы в доступной литературе нами не обнаружено. Кроме того, отсутствуют сведения о реакции системы лизоцима на острую соматическую боль (ОСБ) в онтогенезе.

Целью исследования было изучить влияние кратковременной ОСБ на изменение активности лизоцима у крыс разного возраста: новорожденных, прозревших, месячных, половозрелых и старых.

## Методы

### Дизайн исследования

Нерандомизированное контролируемое перекрестное исследование.

### Критерии соответствия

В опыт были включены здоровые крысы, содержащиеся в виварии в условиях, соответствующих требованиям эксперимента. Новорожденные и прозревшее потомство получали грудное вскармливание, крысы месячного возраста, взрослые и старые — питание комбикормом, сбалансированным по потребностям в белках, жирах, углеводах, витаминах, минеральных, веществах и микроэлементах, в рациональных дозах.

### Условия проведения

Все эксперименты проводили в стандартных условиях соблюдения содержания животных, температурного режима, освещенности, времени суток, заданных параметров раздражения в лаборатории изучения патогенеза боли кафедры патологической физиологии РостГМУ.

ОСБ 3–4-й степени интенсивности моделировали путем электрокожного раздражения рецепторной зоны корня хвоста крыс с помощью электростимулятора ЭСУ-2 (Госреестр 4515-74, СССР) со следующими параметрами: частота тока — 100 Гц; напряжение тока — 30 В; длительность импульса — 500 мс; задержка импульса — 2 мс и время стимуляции — 2 мин.

Животных декапитировали через 2, 30, 60, 120 и 180 мин после болевого воздействия в соответствии с серией эксперимента и осуществляли взятие крови, которую затем центрифугировали в течение 20 мин при 1500 об./мин.

### Продолжительность исследования

Продолжительность исследования составила 1,5 года и включала вынашивание беременности (21 сут), достижение животными заданного возраста (14 сут, 1 мес, 3–4 мес, более 1 года) и времени собственно эксперимента (2, 30, 60, 120 и 180 мин).

### Исходы исследования

Исходом исследования являлось достижение ОСБ 3–4-й степени интенсивности с последующей декапитацией животных в заданные интервалы времени и взятием крови. Полученную сыворотку использовали для определения активности лизоцима.

### Методы регистрации исходов

Факт наличия боли и ее интенсивность регистрировали на основании поведенческих и вегетативных реакций подопытных животных в соответствии с общепринятыми критериями, предложенными А.В. Вальдманом и Ю.Н. Васильевым в модификации В.Г. Овсянникова [16].

Активность лизоцима в сыворотке крови определяли нефелометрическим методом в собственной модификации [17, 18]. Об активности лизоцима судили по изменению степени светопропускания опытной взвеси *Micrococcus lysodeikticus* по сравнению с исходной.

Суточную агаровую культуру микрококка смывали, фильтровали и стандартизировали, т.е. доводили светопропускную способность до 0,66 с помощью calorimetra (КФК-2МП Госреестр 9301-83, Россия) при использовании зеленого светофильтра (540 нм) в кювете с рабочей длиной 3 мм. В пробирку помещали 1,47 мл взвеси микрококка и 0,03 мл цельной сыворотки, в итоге получая разведение 1:50). Смесь встряхивали и выдерживали при 37 °С в течение 1 ч. После этого ее снова встряхивали и нефелометрировали с фиксацией, отмечая показания по шкале светопропускания правого барабана.

### Анализ в подгруппах

В каждой группе исследования проводили поэтапно: изучение активности лизоцима в сыворотке крови у интактных животных — контрольная группа ( $n = 15$ ), изучение активности лизоцима через 2 мин после аллогенного воздействия ( $n = 15$ ), а также через 30 ( $n = 15$ ), 60 ( $n = 15$ ), 120 ( $n = 15$ ) и 180 ( $n = 15$ ) мин.<sup>1</sup>

### Этическая экспертиза

Экспериментальные исследования выполнены в полном соответствии с требованиями «Международной кон-

<sup>1</sup> У новорожденных животных масса тела не позволяет осуществить взятие крови в объеме, достаточном для исследования, поэтому в один опыт включали 5–6 новорожденных особей из одного помета.

венции по гуманному обращению с подопытными животными» (Страсбург, 1986), а также с Приказом МЗ РФ № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» от 19.06.2003 г.

**Статистический анализ**

Статистическая обработка данных проводилась с применением прикладных программ STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США) и Microsoft Office Excel 2007. Статистический анализ включал расчет средней арифметической величины (M), ошибки среднего (m), среднего квадратического отклонения (σ). Числовые данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего (M ± m). Для сравнения средних величин независимых малых выборок использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. При сравнении качественных показателей применяли непараметрический критерий χ². Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05, а как тенденцию к значимости принимали 0,05 < p ≤ 0,1.

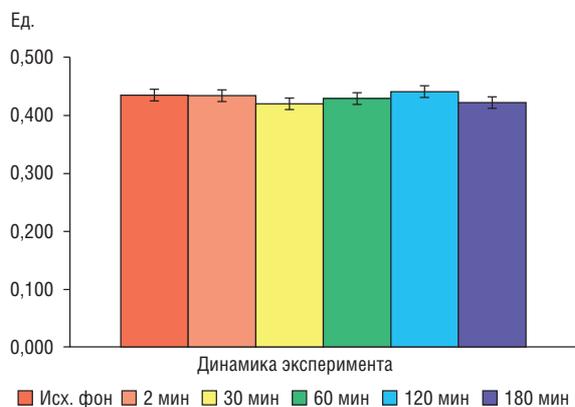
**Результаты**

**Объект исследования**

Нелинейные лабораторные белые крысы. Все животные были объединены в 5 возрастных групп: новорожденные (n=453), прозревшие — 14-е сут жизни (n=90), месячные (n=90), половозрелые — 3–4 мес (n=90), старые — старше 1 года (n=90). Масса новорожденных животных составила 14–16 г, прозревших — 30–35 г, месячных — 50–55 г, половозрелых — 160–200 г, старых — 250–300 г. Новорожденных и прозревших крыс брали в эксперимент без учета гендерных различий; крысы месячного возраста, взрослые и старые крысы — самцы.

**Основные результаты исследования**

У интактных новорожденных животных, именуемых контрольной группой (рис. 1), активность лизоцима периферической крови составила 0,434±0,01 ед. У крыс этой же возрастной группы, которым было нанесено болевое раздражение, активность лизоцима практически не изменялась через 2, 30, 60, 120 и 180 мин и составила 0,433±0,009 (p > 0,05), 0,419±0,01 (p > 0,05), 0,428±0,01 (p > 0,05), 0,440±0,01 (p > 0,05) и 0,421±0,01 ед. (p > 0,05), соответственно.



**Рис. 1.** Динамика изменения активности лизоцима у новорожденных крыс при острой соматической боли.

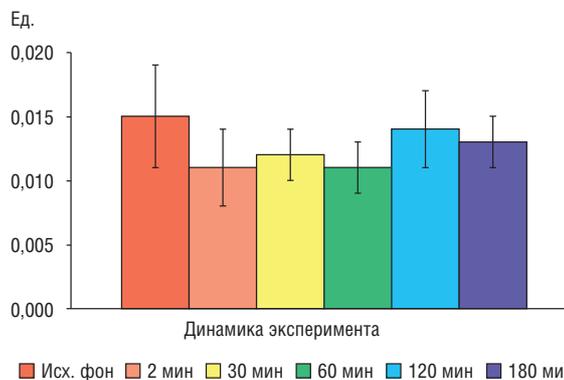
*Примечание.* Статистически значимых различий нет (p > 0,05).

Активность лизоцима в контрольной группе прозревших животных (рис. 2) была весьма низкой (0,015±0,003 ед.). При этом в 3 случаях из 15 его активность вообще отсутствовала. Через 2, 30, 60, 120 и 180 мин после моделирования ОСБ показатели не претерпели значимых изменений и составили 0,011±0,003 (p > 0,05), 0,012±0,002 (p > 0,05), 0,011±0,002 (p > 0,05), 0,014±0,002 (p > 0,05) и 0,013±0,02 ед. (p > 0,05), соответственно.

По прошествии 1 мес после рождения (рис. 3) у крыс активность лизоцима, определяемая в сыворотке крови, составила 0,191±0,01 ед., что было ниже уровня, отмечавшегося в периоде новорожденности (p < 0,001). Нанесение болевого раздражения уже через 2 мин приводило к повышению активности изучаемого субстрата до 0,378±0,01 ед. (p < 0,01) по сравнению с контрольными значениями. Однако уже через 30 мин после моделирования ОСБ происходило снижение бактериолитической активности лизоцима до 0,113±0,02 ед. что ниже, чем в контрольной группе (p < 0,001).

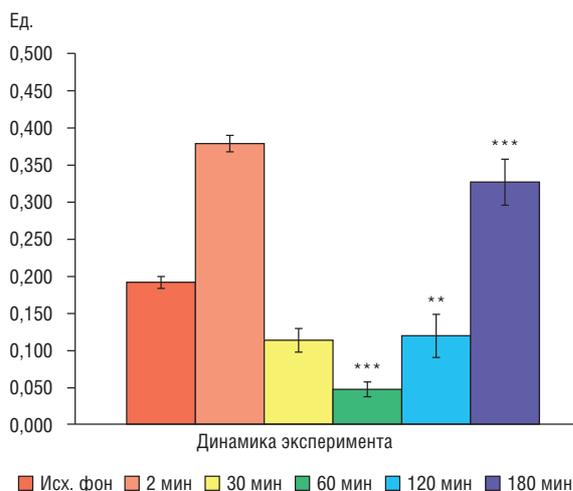
Минимальных значений (0,047±0,01 ед.) активность лизоцима достигла через 1 ч после начала эксперимента, что было существенно ниже контрольных значений (p < 0,001). Через 2 ч динамика активности лизоцима приобрела позитивный характер по отношению к предыдущей группе, «бактерицидность» составила 0,119±0,03 ед. (p < 0,01). Однако следует иметь в виду, что прирост не достиг исходных значений, и различие с контрольной группой продолжало оставаться значимым (p < 0,001). Обнаруженная через 2 ч тенденция к росту активности лизоцима нашла свое разрешение через 3 ч после нанесения болевого раздражения животным. Уровень литической активности лизоцима возрос до 0,326±0,03 ед., что статистически значимо превышало активность, определенную у животных контрольной группы (p < 0,001).

У половозрелых животных (рис. 4), вошедших в контрольную группу, активность лизоцима в сыворотке крови составляла 0,260±0,01 ед. Через 2 мин после аллогенного воздействия у животных того же возраста было отмечено увеличение активности определяемого субстрата до 0,45±0,014 ед. (p < 0,001), но этот эффект оказался непродолжительным. В группе животных, кровь которых была взята для исследования через 30 мин после нанесения аллогенного воздействия, активность лизоцима стала меньше (0,39±0,008 ед.), но тем не менее этот показатель продолжал оставаться высоким по отношению к контрольной группе, и различие было высокосignificantным (p < 0,01).



**Рис. 2.** Динамика изменения активности лизоцима у прозревших крыс при острой соматической боли.

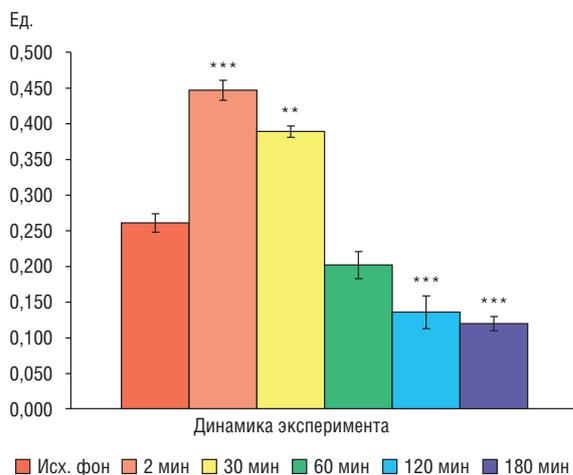
*Примечание.* Статистически значимых различий нет (p > 0,05).



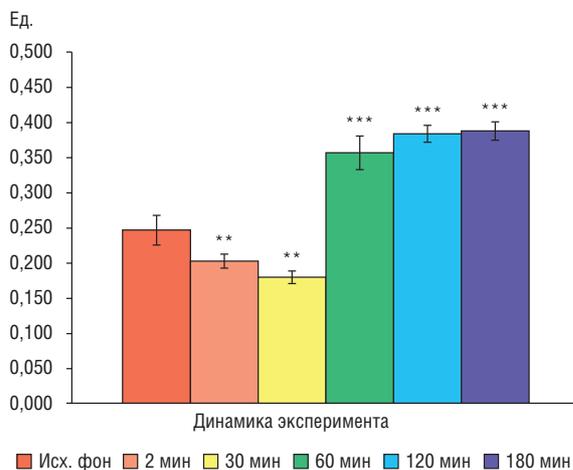
**Рис. 3.** Динамика изменения активности лизоцима у крыс месячного возраста при острой соматической боли.

Примечание (здесь и на рис. 4, 5). \*\* — отличие от нормы статистически существенно значимо ( $p < 0,01$ ); \*\*\* — отличие от нормы статистически высокозначимо ( $p < 0,001$ ).

20



**Рис. 4.** Динамика изменения активности лизоцима у половозрелых крыс при острой соматической боли.



**Рис. 5.** Динамика изменения активности лизоцима у старых крыс при острой соматической боли.

У животных, выдержавших часовую экспозицию после болевого воздействия, активность лизоцима составила  $0,201 \pm 0,019$  ед. На первый взгляд, показатели вернулись к своим исходным значениям, но, согласно результатам статистического анализа, произошло снижение активности лизоцима в периферической крови ( $p < 0,05$ ) по отношению к контрольной группе. Через 2 ч после электростимуляции отмечено уменьшение активности лизоцима до  $0,135 \pm 0,023$  ед. ( $p < 0,001$ ). Через 3 ч активность лизоцима находилась на уровне  $0,119 \pm 0,01$  ед. ( $p < 0,001$ ).

У старых, как и у половозрелых интактных крыс (рис. 5), вошедших в контрольную группу, активность лизоцима составила  $0,246 \pm 0,02$  ед. Через 2 мин после болевого воздействия у животных отмечали статистически значимое снижение активности лизоцима до  $0,202 \pm 0,01$  ед. ( $p < 0,01$ ). По прошествии 30 мин тенденция к снижению активности лизоцима в крови подопытных животных сохранялась ( $0,179 \pm 0,01$  ед.;  $p < 0,01$ ). Через 1 ч после аллогенного воздействия активность лизоцима возросла и превзошла исходные значения в сравнении с контрольной группой ( $0,356 \pm 0,02$  ед.;  $p < 0,001$ ). Через 2 ч после болевого раздражения активность лизоцима стала еще выше ( $383 \pm 0,01$  ед.;  $p < 0,001$ ).

Бактериолитическая активность лизоцима сохранялась на высоких цифрах и через 3 ч после моделирования острой соматической боли. Исследуемый показатель был очень близок к предыдущему и составлял  $0,387 \pm 0,01$  ед. ( $p < 0,001$  при сравнении с контролем).

## Обсуждение

Полученный фактический материал был весьма неоднородным как с точки зрения количественной оценки активности лизоцима у интактных животных разных возрастных групп, так и по изменениям активности в динамике экспериментов. У интактных новорожденных крыс активность лизоцима была самой высокой по сравнению с остальными возрастными группами. Казалось бы, именно в этой серии экспериментов следует ожидать динамичный ответ на болевой стимул, однако этого мы не наблюдали — во все временные периоды экспериментов активность лизоцима оставалась стабильно высокой и неизменной.

Возможно, это связано с тем, что не происходила трансляция болевого стимула эффекторам-продуктам лизоцима, либо отсутствовала реакция эффекторов на стимул.

Учитывая литературные данные, можно предположить, что такие результаты нашего исследования связаны с тем, что лизоцим к новорожденным поступает с молоком матери. На основании специального исследования выведена шкала, отражающая содержание лизоцима у детей различных возрастных групп [19]. При этом самое высокое содержание лизоцима (а значит, и его активность) было зарегистрировано у доношенных новорожденных детей, находившихся на естественном вскармливании. Для них лизоцим — не только средство обеспечения антибактериальных функций, но и фермент, необходимый для адекватного переваривания белков, содержащихся в материнском молоке. Самый высокий уровень лизоцима зафиксирован в слюне новорожденных детей [20], что косвенно отражает и его концентрацию в крови.

Стабильно высокий уровень лизоцима у новорожденных крыс можно объяснить его постоянным попол-

нением за счет регулярного кормления. Это касается и наработки субстрата, и фагоцитарной активности, что мы и наблюдали в наших исследованиях [21]. Таким образом, формирование болевой реакции у новорожденных имеет свою особенность: система лизоцима не реагирует на болевой стимул.

Сходная картина отмечена нами и у прозревших животных, у которых сохранялся стабильный уровень лизоцима в динамике всего эксперимента. Различие было лишь в том, что у прозревших животных отмечена низкая активность лизоцима, что можно объяснить вытеснением грудного молока из рациона у крысят этого возраста за счет перехода на обычную пищу, а это, в свою очередь, влечет за собой уменьшение экзогенного поступления лизоцима. Кроме того, основные продуценты лизоцима — нейтрофилы уступают место лимфоцитам (первый перекрест). Если к этому добавить, что лизоцим легко подвергается катаболизму в крови [22], становится понятным, что без его регулярного и достаточного пополнения экзогенным и эндогенным путями ожидать высокой активности и не приходится.

Принимая во внимание низкую возрастную функциональную активность нейтрофилов и макрофагов, мы можем объяснить отсутствие реакции системы лизоцима на боль. Таким образом, формирование болевой реакции у прозревших животных, как и у новорожденных, не вовлекает в долорогенный процесс систему лизоцима, а активность самого лизоцима вне зависимости от боли весьма низкая.

Система лизоцима у месячных крыс весьма динамична. У интактных животных отмечен умеренный уровень активности лизоцима. Через 2 мин после болевого воздействия активность лизоцима возрастала, но уже через 30 мин показатели активности были ниже, чем у животных, включенных в контрольную группу. Это снижение активности усугублялось в динамике эксперимента, а затем сменялось ростом, и уже через 3 ч после болевой стимуляции активность лизоцима вновь превышала контрольные значения. Контрольные эксперименты, о которых будет сказано ниже, дают основание полагать, что трансляция болевого стимула к клеткам-продуцентам вызывает выделение лизоцима и, как следствие, повышение его активности через 2 мин после болевого воздействия. Выделение лизоцима сопровождалось рефрактерностью клеток [23], а наработанный лизоцим катаболизировался, чем и можно объяснить уменьшение его уровня ниже контрольных значений. Учитывая лабильность метаболизма, свойственную месячным животным (это соответствует возрасту 4–8-летнего ребенка), новая волна прироста активности лизоцима не является неожиданной.

У половозрелых крыс реакция на боль носит весьма конкретный однофазный характер. Через 2 мин после нанесения болевого раздражения активность лизоцима в периферической крови возрастала, а затем медленно уменьшалась, и это снижение было зафиксировано даже через 3 ч после начала эксперимента. В объяснении этого феномена мы можем трактовать всплеск активности лизоцима как ответную реакцию на боль с последующим наступлением рефрактерности клеток-продуцентов и катаболизмом наработанного лизоцима в крови.

Реакция системы лизоцима на боль у старых животных носит характер зеркального отображения по отношению к той, что мы наблюдали у половозрелых особей. Сразу после болевого воздействия наблюдали снижение активности лизоцима, а через час после начала эксперимента она нарастала, и это повышение сохранялось вплоть до его завершения.

Довольно сложно объяснить падение активности лизоцима у старых животных после нанесения болевого раздражения. Литературные данные свидетельствуют о том, что катехоламины могут не только стимулировать функциональную активность нейтрофилов и макрофагов, но и подавлять ее через  $\beta$ -адренорецепторы [24], а следовательно, и способность продуцировать лизоцим. Как общебиологическая закономерность, наступает некоторый период депрессии с последующей активацией функции продуцирующих клеток.

При всей мозаичности картины существует общая направленность изменения активности лизоцима в ответ на ОСБ.

Начиная с месячного возраста, у крыс имеет место повышение активности лизоцима в периферической крови в ответ на болевое раздражение. Как было показано в настоящем исследовании, эта реакция может быть срочной и отсроченной, однофазной и двухфазной, но, тем не менее, она существует. То, что повышение активности лизоцима можно связать именно с болевым воздействием, доказывают дополнительно проведенные эксперименты в рамках настоящего исследования. Так, например, у половозрелых животных через 2 мин отмечалось увеличение активности лизоцима в периферической крови. Если же предварительно производили новокаиновую блокаду тканей прикорневой зоны хвоста крысы и наносили болевое раздражение избранных параметров, никакого существенного сдвига в динамике активности лизоцима не происходило. Можно было бы предположить, что электрораздражение вызвало повреждение тканей, и повышение активности лизоцима сопряжено с раздражением клеток-продуцентов продуктами распада поврежденных структур. Гистологическое исследование зоны электростимуляции не выявило при избранных нами параметрах электрического тока сколько-нибудь видимых морфологических повреждений.

Таким образом, первичная реакция системы лизоцима сопряжена с болевым (стрессорным) воздействием на организм. Усиление секреции лизоцима — одна из самых ранних реакций организма на стрессовое воздействие [7, 25].

Сопоставляя эти факты, можно заключить, что острая боль как стрессор вызывает в организме комплексную ответную реакцию со стороны факторов врожденного иммунитета: повышает фагоцитарную активность лейкоцитов [21], усиливает микробоцидность нейтрофилов [26] и, судя по полученным в ходе эксперимента результатам, провоцирует выделение лизоцима в периферическую кровь.

В жизни боль, как правило, манифестирует при повреждении ткани. Трудно представить себе повреждение барьерной структуры без проникновения через нее инфекции. В процессе эволюции это не могло остаться без последствий. Организм выработал стандартную форму первичной реакции — реакцию тревоги, или синдром функциональной готовности, своего рода субстрат, готовый ответить на вторжение инфекции.

Помимо того, что лизоцим сам обладает бактерицидным и бактериостатическим действием, он усиливает хемотаксис [27], проявляет сорбционные свойства в отношении микрофлоры, способствует репарации тканей [28], повышает фагоцитарную активность лейкоцитов [2, 29], стимулирует антителолизис [30], активирует комплемент [30]. В последнее время появились сообщения о туморлимитирующем действии лизоцима [31].

Одним словом, весь широкий спектр свойств и эффектов лизоцима при повышении его уровня направлен на обеспечение возможности отражения инфекции, если

таковая преодолевает барьеры и попадет в организм, и восстановление тканей, если они будут повреждены.

Снижение активности лизоцима не противоречит вышеизложенным взглядам. Наоборот, известно, что причина тому — его адсорбция на эндотелии сосудов, где лизоцим за счет усиления хемотаксических влияний подготавливает сосудистую стенку к миграции лейкоцитов в зону возможного повреждения [32].

В объяснении факта снижения активности лизоцима через определенное время после болевого воздействия нельзя пренебрегать тем обстоятельством, что лизоцим, во-первых, быстро подвергается в крови катаболизму [22], а, во-вторых, лейкоциты после выделения лизосомальных ферментов (лизоцима, в частности) становятся рефрактерными к стимулам и длительное время не вырабатывают лизоцим [23].

Констатация падения содержания лизоцима в крови подопытных животных через 2–3 ч после болевого воздействия дает повод усомниться в его участии в обеспечении механизмов врожденного иммунитета на более поздних этапах развития патологического процесса. Как свидетельствуют данные литературы, достаточных оснований для такого заключения нет, т.к. известно, что через 4–6 ч после стимула лизоцим начинает вырабатываться не столько нейтрофилами, сколько макрофагами [23], однако это тема для отдельного исследования.

Сопоставляя полученные факты с данными литературы, можно сказать, что острая соматическая боль активирует факторы врожденного иммунитета, один из которых лизоцим. Эта активация направлена на обеспечение бактерицидности крови и создание условий для восстановления поврежденных тканей.

### Заключение

При всех обнаруженных особенностях данной реакции, диктуемой возрастом животных, функциональной активностью их органов и тканей, общий вектор реакций прослеживается четко: система лизоцима реагирует на боль повышением его активности. Если подобная реакция отсутствует, как мы это наблюдали у новорожденных и прозревших животных, то дело, очевидно, не в боли как таковой, а в степени зрелости субстрата реагирования.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

22

### ЛИТЕРАТУРА

- Donaldson D., Roberts R., Larsen H.S., Tew J. Interrelationship between serum betalysin, lysozyme and antibody complement system in killing *Escherichia coli*. *Infect. & Immunology*. 1974; 10 (3): 657–666.
- Вершигора А.Е. Основы иммунологии. Киев: Выща школа. 1980. 490 с.
- Fink M.E., Finch S.C. Serum muramidase and granulocyte turnover. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1968; 127 (2): 365–367.
- Жуковская Н.А., Ликина Т.Н. К вопросу о неспецифическом защитном действии лизоцима на организм. *Антибиотики*. 1968; 10: 920–923.
- Чахов О.В., Горюнов А.Г. Образование лизоцима культурой гистиоцитов-макрофагов. *Антибиотики*. 1965; 6: 507–511.
- Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука. 1983. С. 50.
- Кольцов И.О., Дубняк К.Н., Мальцева Е.А., Дубняк Н.С., Храмова И.А., Шаронов А.С. Соотношение стабильности лизосомных мембран (СЛМ), секреции и синтеза лизоцима и уровня секреции IL-8 моноцитов крови у здоровых и больных с аллергической и холинэргической крапивницей. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2010; 4: 21–23.
- Grossowicz N., Ariel M. Methods for determination of lysozyme activity. *Methods Biochem. Anal.* 1983; 29: 435–446.
- Аникин И.И. Содержание лизоцима в слюне у здоровых лиц. Тезисы докладов науч. конференции «Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и патологических состояниях». Челябинск. 1972. С. 40–42.
- Жоллес П. Взаимосвязь между химической структурой и биологической активностью лизоцима белка куриного яйца и лизоцимов из других источников. Сб. статей «Химия белка». М.: Мир. 1969. С. 5–23.
- Казанцева И.В. Структурно-функциональные особенности лизоцима плаценты человека. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л. 1982. 21 с.
- Бухарин О.В., Васильев Н.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. Томск. 1974. 209 с.
- Прияткин С.А. Влияние физической нагрузки на факторы неспецифической резистентности организма. Сб. ст.: Общие и частные вопросы онкоморфологии. Л.: Медицина. 1985. С. 89–93.
- Сауткин М.Ф., Иванова Т.Н., Павлова И.П. Неспецифическая резистентность и заболеваемость юных гимнасток. *Теория и практика физической культуры*. 1990; 6: 22–23.
- Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. М. 2001. 223 с.
- Овсянников В.Г. Очерки патофизиологии боли. Ростов-на-Дону: Цветная печать. 2003. 159 с.
- Дорофейчук В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом. *Лабораторное дело*. 1968; 1: 28.
- Бликин М.В. Роль гуморальных факторов неспецифической резистентности в механизмах формирования острой соматической боли. Автореф. дис.... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону. 2013. 24 с.
- Мазурин А.В., Воронцов И.М. Пропедевтика детских болезней. М.: Медицина. 1985. 23 с.
- Подгорбунских Т.В. Иммунологические показатели слюны у жителей Юного Урала. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск. 2005. 23 с.
- Алексеев В.В. Онтогенетические аспекты изменения фагоцитарной активности лейкоцитов при острой соматической боли различной интенсивности. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону. 2008. 22 с.
- Hansen N.E., Karle H., Andersen V., Olgaard K. Lysozyme turnover in man. *J. Clin. Invest.* 1972; 51 (5): 1146–1155.
- Jessup W., Leoni P., Dean R.T and Stahl P. Constitutive and triggered lysosomal enzyme secretion. In: *Developments in Cell Biology. I. Secretory Processes*. R.T. Dean, P. Stahl (eds.). Butterworths. 1985. P. 38–57.
- Головань Л.О. Некоторые показатели гуморального иммунитета при хроническом бронхите у работников лесопильного деревообрабатывающего комбината г. Архангельска. *Бюллетень СГМУ*. 2001; 2: 187–195.
- Крыжановский Г.Н. Стресс и иммунитет. *Вестник АМН СССР*. 1985; 8: 3–12.

26. Алексеева Н.С. Механизмы изменения фагоцитарной активности лейкоцитов при острой висцеральной боли. Автореф. дис...канд. мед. наук. *Ростов-на-Дону*. 2009. 21 с.
27. Барабаш Р.Д., Ермакова ТА, Бондаренко В.С., Бондаренко Е.И., Вакуленко Л.В. Кооперация антигенов, иммуноглобулинов, комплемента и антимикробных ферментов в регуляции подвижности гранулоцитов крови. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1980; 89 (1): 40–42.
28. Базлов С.Н., Егорова Е.Н., Чернин В.В., Червинец В.М., Стрелец Е.В. Трансэндоскопическое лечение рецидива гастродуоденальных язв комплексным соединением лизоцима с молекулярным йодом и полийодидами. *Российский гастроэнтерологический журнал*. 2001; 1: 40–43.
29. Вершигора А.Е. Основы иммунологии. *Киев: Выща школа*. 1980. 490 с.
30. Добротина Н.А., Казацкая Ж.А., Емельянова Г.Ю. Лизоцим как модулятор иммунологических реакций. *Вопросы медицинской химии*. 1987; 33 (4): 66–69.
31. Щербакова Э.Г., Бухман В.М., Исакова Е.Б., Бодягин Д.А., Архипова Н.А., Растунова Г.А., Воробьева Л.С., Липатов Н.Н. Влияние лизоцима на рост мышечной лимфомы и противоопухолевую активность циклофосфида. *Антибиотики и химиотерапия*. 2002; 47 (11): 3–8.
32. Морозов В.И., Петрова Т.Н. Выявление протеиназ нейтрофилов в скелетных мышцах крыс после мышечной деятельности. *Украинский биохимический журнал*. 1993; 65 (4): 40–44.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Овсянников Виктор Григорьевич**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный работник высшей школы России, заведующий кафедрой патологической физиологии РостГМУ

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, тел.: +7 (863) 201-44-12, e-mail: ovsyannikov\_vg@mail.ru

**Алексеев Владимир Вячеславович**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии РостГМУ

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, тел.: +7 (863) 201-44-12, e-mail: alexeev911@gmail.com

**Бойченко Александр Евгеньевич**, кандидат медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической физиологии РостГМУ, заслуженный работник высшей школы России

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, тел.: +7 (863) 201-44-12, e-mail: umorostgmu@yandex.ru

**Бликян Марина Владимировна**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической физиологии РостГМУ

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, тел.: +7 (863) 201-44-12, e-mail: 25marinablik@mail.ru

**Алексеева Наталья Сергеевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии РостГМУ

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, тел.: +7 (863) 201-44-12, e-mail: nataalexeeva@gmail.com

**Абрамова Марина Владимировна**, аспирант кафедры патологической физиологии РостГМУ

Адрес: 344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., д. 29, тел.: +7 (863) 201-44-12, e-mail: 25marinablik@mail.ru