



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

## **ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ЛИЗОЦИМА ПРИ ОСТРОЙ СОМАТИЧЕСКОЙ БОЛИ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС**

*Ростовский государственный медицинский университет,  
кафедра патологической физиологии.*

*Россия, 344022, г.Ростов-на-Дону, пер.Нахичеванский, 29. E-mail: ovsyannikov\_vg@mail.ru*

**Цель.** Изучить влияние острой соматической боли на активность лизоцима в крови у животных.

**Материалы и методы.** Исследования выполнены на половозрелых нелинейных белых крысах – самцах. Острую соматическую боль моделировали путем электрокожного раздражения рецепторной зоны корня хвоста. После болевого воздействия животные декапитировались и осуществлялся забор крови для исследования активности лизоцима по нефелометрическому методу.

**Результаты.** Наблюдали повышение уровня лизоцима через 2 минуты после аллогенного воздействия, которое сохранялось еще в течение 30 минут, через 60 минут содержание лизоцима снижается до исходных значений, с последующим статистически достоверным падением его уровня.

**Вывод.** При острой соматической боли происходит вовлечение лизоцима в аллогенный процесс. Реакция лизоцима на ОСБ носит скоротечный и двухфазный характер: быстрое увеличение содержания в периферической крови с последующим падением ниже фоновых цифр.

**Ключевые слова:** лизоцим, боль, врожденный иммунитет.

**V.G. Ovsyannikov, S.V. Shlyk, V.V. Alekseev, A.E. Boychenko,  
M.V. Blikyan, N.S. Alekseeva, M.V. Abramova**

## **CHANGE OF LYSOZYME'S LEVEL IN ACUTE SOMATIC PAIN IN ADULT RATS**

*Rostov State Medical University,  
Department of pathological physiology*

*Russia, 344022 Rostov-on-Don, Nakhichevansky str., 29. E-mail: ovsyannikov\_vg@mail.ru*

**Purpose.** To study the effects of acute somatic pain on the activity of lysozyme in the blood of animals.

**Materials and methods.** Experiments were conducted on white adult non-linear male rats. Acute somatic pain was simulated by electrocutaneous stimulation of the receptor zone of the root of the tail. The animals were decapitated and blood sampling was carried out to study the activity of lysozyme by nephelometric method after the acute somatic pain.

**Results.** Quantity of lysozyme increased in 2 minutes and in 30 minutes after acute somatic pain. Level of lysozyme decreased to the baseline values in 60 minutes after painful stimulation. Statistically significant decline of its level was observed.

**Summary.** Lysozyme gets involved in the allogenic process when acute pain is experienced. The reaction of lysozyme to the acute somatic pain is transient and biphasic: a rapid increase in the peripheral blood with subsequent decline below the initial values.

**Keywords:** lysozyme, pain, innate immunity.



## Введение

Накоплен весьма убедительный материал, свидетельствующий о реакции факторов врожденного иммунитета на болевой сигнал. Если этот сигнал краткосрочен и выражен, происходит активация ряда механизмов обеспечивающих резистентность организма [1].

Судя по всему, боль выполняет тревожную функцию, благодаря чему формируется готовность факторов врожденного иммунитета к разворачиванию полномасштабной ответной реакции. В лаборатории по изучению механизмов боли проф. Овсянникова В.Г. этот феномен получил определение синдрома мобилизационной готовности [2].

Было показано, что аллогенный стимул повышает фагоцитарную активность, микробицидность нейтрофилов, активизирует миелопероксидазную активность [3].

Установлено, что при неспецифических воздействиях на организм, например при физической нагрузке, повышается миелопероксидазная активность и одновременно возрастает уровень лизоцима – одного из ключевых факторов врожденного иммунитета [4], т.е. лизоцим реагирует не только на антигенное воздействие, но и на иные факторы не связанные с микробной стимуляцией. Внимание исследователей в разное время было сосредоточено на изучении изменения содержания лизоцима в процессе адаптации организма к климато-географическим условиям [5]. Достаточное число работ убедительно доказывают коррелятивную связь между физической нагрузкой и содержанием лизоцима в биологических средах [6, 7, 8].

Даже умственно-эмоциональная работа явилась предметом изучения ее влияния на факторы иммунитета [9].

На этом фоне будет вполне логичным предположить возможность влияния боли на уровень лизоцима в сыворотке крови. В доступной литературе сведений о влиянии боли на уровень лизоцима нами не найдено, что и определило цель настоящего исследования: изучить влияние острой соматической боли на содержание и активность лизоцима в крови у взрослых экспериментальных животных (крыс).

## Материалы и методы

Работа основана на использовании экспериментального материала. Исследования выполнены на 90 половозрелых нелинейных белых крысах самцах. Все экспериментальные животные были разделены на 2 группы: контрольную (15 животных) и экспериментальную (75 животных).

В соответствии с целями работы, выполнено 6 серий исследований, посвященных изучению особенностей изменения сывороточного лизоцима в норме и при острой соматической боли.

Острую соматическую боль (ОСБ) 4-5 степени интенсивности моделировали путем электрокожного раздражения рецепторной зоны корня хвоста крыс с помощью электростимулятора ЭСУ-2 со следующими параметрами: частота тока – 100 Гц; амплитуда тока – 50 В; длительность импульса – 500 мс; задержка импульса – 2 мс и время стимуляции – 2 минуты. На основании анализа поведенческих и вегетативных реакций опытных животных оценивали интенсивность болевого раздражения в соответствии с общепринятыми критериями [10].

После болевого воздействия животные декапитировали-

лись через 2, 30, 60, 120 и 180 минут, в соответствии с проводимой серией, и осуществлялся забор крови, которая затем центрифугировалась 20 минут при 1500 оборотах в минуту. Полученную сыворотку использовали для исследования активности лизоцима по нефелометрическому методу [11].

В этом случае об активности лизоцима судят по изменению степени светопропускания опытной микробной взвеси микрококка по сравнению с исходной.

Суточную агаровую культуру *M. lysodeicticus* смыывают, фильтруют и стандартизируют на ФЭК-56 при использовании зеленого<sup>45</sup> светофильтра (540 мкм) в кювете с рабочей длиной 3 мм. В пробирку помещают 1,47 мл взвеси микрококка и 0,03 мл цельной сыворотки (в итоге получают разведение сыворотки 1:50). Смесь встряхивают и выдерживают при 37° в течение часа. После этого ее снова встряхивают и нефелометрируют, отмечая показания по шкале светопропускания правого барабана.

Все манипуляции с экспериментальными животными проводили в соответствии с Приказом МЗ РФ №267 «Об утверждении правил лабораторной практики» от 19 июня 2003г.

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерных программ EXCEL «MicrosoftOffice 2012Pro», «STATISTICA 6.0». Вычисляли следующие показатели: среднюю арифметическую величину (M), ошибку средней величины (m). Достоверность различий по количественным признакам определяли с помощью критерия Стьюдента (t) для малых выборок, признавая их статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В исходном состоянии содержание лизоцима в периферической крови составляет  $0,26 \pm 0,013$  ед. Через 2 минуты после аллогенного воздействия отмечается увеличение определяемого субстрата до  $0,45 \pm 0,014$  ед. ( $p < 0,001$ ). Это увеличение сохраняется в течение получаса. Через 30 минут уровень лизоцима составляет  $0,39 \pm 0,008$  ед. ( $p < 0,001$ ). Через час после начала эксперимента содержание лизоцима снижается до исходных значений  $0,201 \pm 0,019$  ед. Более тщательный анализ свидетельствует о том, что описанные значения свидетельствуют лишь о некотором снижении содержания лизоцима т.к.  $p < 0,02$ .

По сути это переломный момент, когда содержание лизоцима начинает уменьшаться. Через 2 часа его уровень достигает  $0,135 \pm 0,023$  ед. ( $p < 0,001$ ), а через 3 часа –  $0,129 \pm 0,010$  ед. ( $p < 0,001$ ). Таким образом, обнаружена двухфазная реакция лизоцима на острую соматическую боль. А именно, ранний всплеск его содержания, который через один час после болевого воздействия сменяется приближением значений к исходным, с последующим статистически достоверным снижением содержания.

По данным литературы уже через 2 минуты после болевого воздействия количество лейкоцитов в периферической крови возрастает, повышается и их способность к фагоцитозу [10], а также повышается и микробицидность нейтрофилов [2].

Сопоставляя эти данные можно заключить, что боль является инициатором стимуляции нейтрофилов, а стимулированные нейтрофилы стремительно секретируют лизосомальные ферменты, в т. ч. лизоцим, содержание которых в периферической крови достигает максимума



в течение нескольких минут. Далее нейтрофилы после сброса ферментов в течение нескольких часов становятся нечувствительными к стимулам, побуждающим дегрануляцию [12].

Приведенные факты и их сопоставление с данными литературы свидетельствуют о том, что болевой стимул в конечном итоге обеспечивает повышение бактерицидных свойств крови, т.е. стимулирует механизмы врожденного иммунитета.

Усиление секреции лизоцима является одной из самых ранних реакций организма на стрессовое воздействие [13, 14, 15]. Требуется объяснения последующее снижение уровня лизоцима, и что оно может означать.

Наиболее приемлемое объяснение этого факта состоит в том, что, во-первых лизоцим очень быстро в плазме крови подвергается катаболизму [16], а во-вторых, лейкоциты после их стимуляции прекращают нарабатывать субстрат [12].

Возможное снижение уровня лизоцима связано с его адсорбцией на эндотелии сосудов, где он готовит сосуди-

стую стенку к эмиграции лейкоцитов в зону возможного повреждения. [17, 18].

Принимая такие теоретические выкладки, безусловно базирующиеся на фактах, можно сказать, что острая боль активирует факторы врожденного иммунитета, одним из которых является лизоцим. Эта активация обеспечивает бактерицидность крови и условия для развития воспаления.

#### Выводы

- При острой соматической боли происходит вовлечение лизоцима в аллогенный процесс.
- Реакция лизоцима на острую соматическую боль носит скоротечный и носит двухфазный характер: быстрое увеличение содержания в периферической крови с последующим падением ниже фоновых цифр в течение 3х часов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Алексеев В.В. и др. Цитокиновая активность при заболеваниях сопровождающихся острой болью // Владикавказский медико-биологический вестник. – Т. 8. – Вып. 20-21. – 2011. – С. 35-41.
2. Овсянников В.Г., Алексеева Н.С., Алексеев В.В. Особенности реакции системы белой крови на острую висцеральную боль // Боль. – 2009. – №4 (25). – С.15-18.
3. Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Алексеева Н.С., Алексеев В.В. Особенности кислородзависимого механизма микробицидности лейкоцитов в динамике острой висцеральной боли // Российский журнал боли. – 2011. – №2. – С.16-17.
4. Цыпленков П.В., Морозов В.И., Кокряков В.Н., Рогозкин В.А. Иммунорадиометрический анализ миелопероксидазы крыс // Укр. биохим. журн. – 1988. – Т. 60. – №6. – С.72-75.
5. Бухарин О.В., Васильев Н.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. – Томск, 1974. – 206 с.
6. Прияткин С.А., Морозов В.И., Рогозкин В.А. Влияние физической нагрузки на факторы неспецифической резистентности и содержания стероидных гормонов в крови человека // Физиология человека. – 1988. – Т.14. – №4. – С. 606-612.
7. Сауткин М.Ф., Иванова Т.Н., Павлова И.П. Неспецифическая резистентность и заболеваемость юных гимнасток // Теория и практика физ. культуры. – 1990. – № 6. – С. 22-23.
8. Peeters T.L., Depraeter Y.R., Vantrappen G.R. Radioimmunoassay for urinary lysozyme in human serum from leukemia patients // Clin. Chem. – 1978. – V. 24. – No.12. – P. 2155-2157.
9. Корнева И.А., Иванова Е.М. Выбор оптимальных значений основных параметров метода радиоиммуноопределения // Медицинский и допинговый контроль спортсменов. – Л.: ЛНИИФК, 1981. – С. 42-48.
10. Овсянников В.Г. Очерки патофизиологии боли. – Ростов н/Д.: Цветная печать, 2003. – 159 с.
11. Дорофейчук В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом // Лабораторное дело. – 1968. – №1. – С.28.
12. Jessup W., Leoni P., Dean R.T. Constitutive and triggered lysozyme secretion // Developments in Cell Biology. I. Secretory Processes. – Ed. R.T. Dean, P. Stahl. – Butterworths, 1985. – P. 38-57.
13. Крыжановский Г.Н. Стресс и иммунитет // Вестник АМН СССР. – 1985. – №8. – С.3-12.
14. Маянский А.И., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. – Новосибирск: Наука, 1963. – С. 256.
15. Прияткин С.А. Влияние физической нагрузки на факторы неспецифической резистентности организма // Общие и частные вопросы онкоморфологии. – Л.: Медицина, 1985. – С. 89-93.
16. Hansen N.E., Karle H., Andersen V., Olgaard K. Lysozyme turnover in man // J. Clin. Invest. 1972. – No.5. – P. 1146 – 1155.
17. Морозов В.И., Цыпленков П.В., Рогозкин В.А. Выявление миелопероксидазы нейтрофилов в скелетных мышцах крыс после мышечной деятельности // Бюлл. экспер. биол. медицина. – 1989. – Т.110. – №11. – С. 489-491.
18. Морозов В.И., Петрова Т.Н. Выявление протеиназ нейтрофилов в скелетных мышцах крыс после мышечной деятельности // Укр. биохим. журн. – 1993. – Т. 605. – №4. – С. 40-44.

ПОСТУПИЛА 11.06.2013