

© Коллектив авторов, 2020

УДК 616-092

Алексеев В.В.<sup>1</sup>, Каде А.Х.<sup>2</sup>

## Функциональная и корреляционная зависимость между показателями метаболической активности нейтрофилов и $\alpha$ -дефензинов у животных различных возрастных групп в динамике острой соматической боли

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, 344022, г. Ростов-на-Дону, Россия, пер. Нахичеванский, д. 29;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 350063, г. Краснодар, Россия, ул. имени М. Седина, д. 4

В последние годы все чаще встречаются штаммы микроорганизмов, устойчивые к антибиотикам. Необходим поиск новых средств, обеспечивающих надежный антибактериальный эффект. Актуальным является изучение антимикробных пептидов. Возникает вопрос,  $\alpha$ -дефензины активируются только при микробной атаке или существуют и иные триггеры их вовлечения в иммунологический процесс. Если исходить из того, что любая рана всегда болезненна, но не любая острая боль связана с внешним повреждением тканей, встает вопрос о возможности вовлечения нейтрофилов и  $\alpha$ -дефензинов в долорогенный процесс как таковой. **Цель** работы – выявление корреляционной связи и особенностей вовлечения нейтрофилов и  $\alpha$ -дефензинов в острый долорогенный процесс на этапах онтогенеза. **Методика.** Объект исследования – белые беспородные крысы 3 возрастных групп: месячные (30-35-дневные,  $n=36$ ), взрослые половозрелые (2-3 месячные,  $n=36$ ), старые (старше 1 года,  $n=36$ ). Каждая группа делилась на контрольную и экспериментальную подгруппы. В экспериментальных подгруппах моделировали острую соматическую боль методом электростимуляции. После болевого воздействия брали материал для исследования через 2, 30-60, 120-180 мин. Содержание  $\alpha$ -дефензинов в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Для оценки микробицидной активности нейтрофилов использовали спонтанный и стимулированный НСТ – тест. Для оценки корреляционной связи между изучаемыми показателями применяли метод ранговой корреляции Спирмена. **Результаты.** Острая краткосрочная соматическая боль активирует кислородзависимые механизмы микробицидности нейтрофилов и приводит к увеличению уровня  $\alpha$ -дефензинов в периферической крови. В онтогенезе реакция имеет свои особенности, но ее стандартный и непродолжительный характер очевиден. Установлена прямая корреляционная зависимость между функциональной активностью нейтрофилов и уровнем  $\alpha$ -дефензинов в периферической крови у 30-35-дневных и 2-3-месячных животных. **Заключение.** Полученные данные имеют значение при разработке препаратов на основе  $\alpha$ -дефензинов и их применении пациентами различного возраста при наличии в анамнезе острого болевого синдрома.

**Ключевые слова:** боль; крысы;  $\alpha$ -дефензины; нейтрофилы; онтогенез.

**Для цитирования:** Алексеев В.В., Каде А.Х. Функциональная и корреляционная зависимость между показателями метаболической активности нейтрофилов и  $\alpha$ -дефензинов у животных различных возрастных групп в динамике острой соматической боли. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(2): 21-29.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2020.02.21-29

**Для корреспонденции:** Алексеев Владимир Вячеславович, e-mail: alexeev911@gmail.com

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста – Алексеев В.В.; концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование – Каде А.Х.

Поступила 12.07.2019

Принята к печати 20.04.2020

Опубликована 28.05.2020

Alekseev V.V.<sup>1</sup>, Kade A.Kh.<sup>2</sup>**Functional and correlational relationship between indexes of the metabolic activity of neutrophils and  $\alpha$ -defensins in animals of different age groups in the dynamics of acute somatic pain**<sup>1</sup>Rostov State Medical University,  
Nakhichevansky Pereulok 29, Rostov-on-Don 344022, Russia;<sup>2</sup>Kuban State Medical University,  
Mitrofana Sedina Str. 4 Krasnodar 350063, Russia

Microorganism strains resistant to antibiotics have become more common. This fact prompts searching for new means that would provide a reliable antibacterial effect. Studying antimicrobial polypeptides is relevant. A question arises whether  $\alpha$ -defensins are activated only during a microbial attack or there are other triggers for their involvement in the immunological process. Since any wound is always painful but acute pain is not always associated with an external injury, the question is whether neutrophils and  $\alpha$ -defensins can be involved in the dolorogenic process as such. **The aim** of the study was to determine correlation and features of neutrophil and  $\alpha$ -defensin involvement in an acute dolorogenic process at stages of ontogenesis. **Methods.** The study was performed on white rats divided into three age groups (30-35-day-old, 2-3-month-old, and older than one year). Each group was divided into control and experimental subgroups. In experimental subgroups, acute somatic pain was modeled by electrostimulation. Material was collected at 2, 30-60, and 120-180 min after electrostimulation. Serum content of  $\alpha$ -defensins was measured by enzyme immunoassay. Neutrophil microbicidal activity was evaluated using the spontaneous and stimulated NBT tests. Values were compared using the non-parametric Mann-Whitney U-test, and correlations were analyzed using the Spearman rank correlation test. **Results.** Acute short-term somatic pain activated oxygen-dependent mechanisms of neutrophil microbicidal activity and induced increased levels of  $\alpha$ -defensins in peripheral blood. This reaction has specific features in ontogenesis but it is obviously standard and short-term. The functional activity of neutrophils was directly correlated with the level of  $\alpha$ -defensins in peripheral blood of 30-35-day-old and 2-3-month-old animals. **Conclusion.** At stages of ontogenesis, oxygen-dependent neutrophil microbicidal activity and peripheral blood content of  $\alpha$ -defensins increase in response to acute, short-term somatic pain. The type of response is determined by age-related features. The study results are important for development of  $\alpha$ -defensin-based drugs and prescribing them to patients of different age with a history of acute pain.

**Keywords:** pain; rats;  $\alpha$ -defensins; neutrophils; ontogenesis.

**For citation:** Alekseev V.V., Kade A.Kh. Functional and correlational relationship between indexes of the metabolic activity of neutrophils and  $\alpha$ -defensins in animals of different age groups in the dynamics of acute somatic pain. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(2): 21-29. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.21-29

**For correspondence:** Vladimir V. Alekseev, PhD, professor assistant of the department of pathological physiology the Rostov State Medical University; 29, Nakhichevansky Lane, Rostov-on-Don, 344022, Russia, e-mail: alexeev911@gmail.com

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Contribution:** the concept and design of the study, collection and processing of material, writing a text— Alekseev V.V.; the concept and design of the study, writing a text, editing — Kade A.Kh.

**Information about authors:**Alekseev V.V., <https://orcid.org/0000-0002-8055-2184>Kade A.Kh., <https://orcid.org/0000-0002-0694-9984>

Received 12.07.2019

Accepted 20.04.2020

Published 28.05.2020

**Введение**

Непреложной истиной является то, что любое ранение сопровождается первичным или вторичным инфицированием зоны повреждения [1, 2]. Очевидным является и тот факт, что повреждение тканей сопровождается острой болевой реакцией. В связи с этим протокол оказания помощи при получении травмы включает обязательное обезболивание и введение антибиотиков [3, 4]. К сожалению, в последние годы все чаще

встречаются штаммы микроорганизмов, устойчивые к антибиотикам [5, 6]. Необходим поиск новых средств, обеспечивающих надежный антибактериальный эффект. В этом плане обнадеживающим является изучение антимикробных полипептидов (АМП). В последние десятилетия идентифицировано более ста АМП. Среди них далеко не последнее место занимают дефензины. В клинической практике акценты сделаны на

изучении  $\alpha$ -дефензинов [7, 8]. Возникает вопрос,  $\alpha$ -дефензины активируются только при микробной атаке или существуют и иные триггеры их вовлечения в иммунологический процесс. Если исходить из того, что любая рана всегда болезненна, но не любая острая боль связана с внешним повреждением тканей, встает вопрос о возможности вовлечения нейтрофилов и  $\alpha$ -дефензинов в долорогенный процесс как таковой.

Сочетанное изучение реакции нейтрофилов и  $\alpha$ -дефензинов диктуется их тесной функциональной связью [9].

Цели исследования:

1. Установление факта вовлечения нейтрофилов и  $\alpha$ -дефензинов в острый долорогенный процесс.

2. Выявление особенностей реакции факторов врожденного иммунитета на острую кратковременную соматическую боль на этапах онтогенеза.

3. Выявление корреляционной зависимости между изменениями кислородзависимой микробицидности и уровнем  $\alpha$ -дефензинов при острой кратковременной соматической боли.

### Методика

Объектом исследований служили белые беспородные крысы.

Выделено несколько возрастных групп: месячные (30-35-дневные,  $n=36$ ), взрослые половозрелые (2-3-месячные,  $n=36$ ), старые (старше 1 года,  $n=36$ ). Каждая возрастная группа распределялась на контрольную и экспериментальную подгруппы. У крыс опытной подгруппы электрокожным раздражением рецепторной зоны корня хвоста моделировали острую соматическую боль (ОСБ) 3-й–4-й степени интенсивности по критериям А.В. Вальдмана и Ю.Н. Васильева в модификации В.Г. Овсянникова [10]. Взятие материала для исследования осуществляли через 2, 30-60 и 120-180 мин после моделирования ОСБ. Содержание  $\alpha$ -дефензинов в сыворотке крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы Cloud-Clone Corp (США). Приготовление растворов стандартов, конъюгатов А и В, промывочного буфера проводили согласно инструкции к набору.

Для оценки микробицидной активности нейтрофилов использовали цитохимический метод спонтанного и стимулированного НСТ–теста [11]. Под микроскопом оценивали процентное содержание нейтрофилов с темно-синими гранулами формазана в цитоплазме. Анализировали 100 сегментоядерных нейтрофилов. Вычисляли процент нейтрофилов с признаками восстановления тетразолия в формазан до и после моделирования ОСБ.

Все экспериментальные работы выполнены с соблюдением утвержденных Европейской конвенцией правил этики о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях и Правилами лабораторной практики, утвержденными приказом Минздрава России № 708 от 23.08.2010. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Статистическую обработку данных проводили на основе непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Критическое значение уровня значимости ( $p$ ) принималось равным 0,05. Результаты представлены как медиана с верхним и нижним квартилями и интервалом значений  $Me [Q_{0,25}; Q_{0,75}]$  (Min-Max). Для выявления корреляционной связи между изучаемыми показателями применяли метод ранговой корреляции Спирмена.

### Результаты

В табл. 1 представлены результаты исследования животных в контрольных группах.

В сравнении с месячными крысами у взрослых половозрелых животных как спонтанный, так и стимулированный тест ярче выражен. Тем не менее более высокая метаболическая активность не обуславливает активацию микробицидности нейтрофилов, равно как и их способности увеличивать содержание в периферической крови  $\alpha$ -дефензинов.

Таким образом, у животных контрольной группы показатели, характеризующие спонтанный НСТ–тест, возрастают по мере взросления животных. Стимулированный НСТ–тест у взрослых половозрелых крыс выше, чем у крыс месячного возраста, однако у старых животных он снижается, одновременно в старости снижается и микробицидность нейтрофилов. Содержание  $\alpha$ -дефензинов по мере взросления животных также повышается, а к старости постепенно снижается, однако остается более высоким, чем у месячных крыс.

Через 2 мин после болевой стимуляции у крыс месячного возраста показатели, характеризующие метаболическую активность нейтрофилов и уровень  $\alpha$ -дефензинов в периферической крови возрастают. При этом прирост значений, характеризующих микробицидность нейтрофилов и содержание  $\alpha$ -дефензинов имеют высоко значимое различие ( $p<0,01$ ) по сравнению с показателями контрольной группы (табл. 2).

Проведенный корреляционный анализ выявил прямую зависимость между увеличением киллинговой активности нейтрофилов и нарастанием уровня  $\alpha$ -дефензинов ( $\rho=0,047$ ).

При анализе показателей, характеризующих метаболическую активность нейтрофилов взрослых крыс, обращают на себя внимание 3 обстоятельства: 1) абсолютные значения спонтанного и стимулированного НСТ-теста у взрослых крыс несколько ниже, чем у месячных животных (**табл. 2**); 2) не выявлено значимых

Таблица 1

## Уровень регистрируемых параметров в контрольной группе животных

	спНСТ		стНСТ		К стим		α-Деф	
	Me		Me		Me		Me	
месячные	Me	55,5	Me	90,5	Me	1,63	Me	12,5
	Q <sub>0,25</sub>	54,1	Q <sub>0,25</sub>	86,0	Q <sub>0,25</sub>	1,60	Q <sub>0,25</sub>	11,9
	Q <sub>0,75</sub>	58,4	Q <sub>0,75</sub>	93,8	Q <sub>0,75</sub>	1,66	Q <sub>0,75</sub>	13,1
	min	49,7	min	82,0	min	1,58	min	11,5
	max	60,4	max	100,3	max	1,72	max	15,6
взрослые	Me	65,7	Me	111,5	Me	1,67	Me	15,9
	Q <sub>0,25</sub>	57,5	Q <sub>0,25</sub>	104,8	Q <sub>0,25</sub>	1,61	Q <sub>0,25</sub>	15,7
	Q <sub>0,75</sub>	63,2	Q <sub>0,75</sub>	122,7	Q <sub>0,75</sub>	1,71	Q <sub>0,75</sub>	16,9
	min	56,5	min	86,4	min	1,53	min	15,4
	max	87,8	max	141,0	max	1,78	max	17,4
старые	Me	73,3	Me	108,2	Me	1,47	Me	13,7
	Q <sub>0,25</sub>	71,1	Q <sub>0,25</sub>	100,8	Q <sub>0,25</sub>	1,44	Q <sub>0,25</sub>	13,2
	Q <sub>0,75</sub>	74,6	Q <sub>0,75</sub>	113,5	Q <sub>0,75</sub>	1,52	Q <sub>0,75</sub>	15,0
	min	68,9	min	98,2	min	1,39	min	13,4
	max	76,3	max	113,7	max	1,53	max	15,1

**Примечание.** Обозначения здесь и в табл. 2–4: спНСТ (спонтанный), стНСТ (стимулированный) нитросиний тетразолиевый тест.

Таблица 2

## Уровень регистрируемых параметров через 2 мин после острой соматической боли

	спНСТ		стНСТ		К стим		α-Деф	
	Me		Me		Me		Me	
месячные	Me	79,9*	Me	143,8*	Me	1,82*	Me	21,0*
	Q <sub>0,25</sub>	59,9	Q <sub>0,25</sub>	112,6	Q <sub>0,25</sub>	1,81	Q <sub>0,25</sub>	19,5
	Q <sub>0,75</sub>	83,4	Q <sub>0,75</sub>	150,9	Q <sub>0,75</sub>	1,84	Q <sub>0,75</sub>	22,5
	min	47,5	min	93,3	min	1,79	min	19,0
	max	85,4	max	155,2	max	2,03	max	23,1
взрослые	Me	61,6	Me	119,1	Me	1,91*	Me	31,2*
	Q <sub>0,25</sub>	54,8	Q <sub>0,25</sub>	105,3	Q <sub>0,25</sub>	1,89	Q <sub>0,25</sub>	24,0
	Q <sub>0,75</sub>	73,4	Q <sub>0,75</sub>	132,7	Q <sub>0,75</sub>	1,93	Q <sub>0,75</sub>	47,0
	min	48,3	min	90,9	min	1,80	min	23,8
	max	79,4	max	163,0	max	2,05	max	51,0
старые	Me	71,8	Me	114,9*	Me	1,59*	Me	20,8*
	Q <sub>0,25</sub>	70,4	Q <sub>0,25</sub>	111,1	Q <sub>0,25</sub>	1,58	Q <sub>0,25</sub>	20,1
	Q <sub>0,75</sub>	73,1	Q <sub>0,75</sub>	118,2	Q <sub>0,75</sub>	1,61	Q <sub>0,75</sub>	22,4
	min	57,7	min	91,2	min	1,57	min	19,8
	max	74,8	max	119,9	max	1,64	max	23,5

**Примечание.** \* –  $p < 0,05$  статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой. Обозначения см. табл. 1.

изменений спонтанного и стимулированного НСТ-тестов сразу после болевой атаки по отношению к контрольным значениям; 3) очевидно, главное, интегральная величина (коэффициент микробицидности, характеризующий киллинговую активность нейтрофилов) половозрелых крыс, выше, чем у крыс месячного возраста, и по сравнению с контрольными значениями в этой возрастной группе имеется высокозначимое различие ( $p < 0,01$ ) (табл. 2).

Очевидно, приведенная триада свидетельствует о более упорядоченном и рациональном характере метаболизма у взрослых половозрелых животных по сравнению с крысами месячного возраста, что позволяет, при меньших ресурсных затратах, обеспечивать более выраженный эффект. Образование  $\alpha$ -дефензинов сразу после нанесения ноцицептивного раздражения резко возрастает, различие с контролем высокозначимо ( $p < 0,01$ ), в абсолютных значениях этот прирост выше, чем у месячных животных, что лишь подтверждает высказанное выше предположение (табл. 2).

Через 2 мин после болевого воздействия у старых крыс спонтанный НСТ-тест не претерпевает изменений, стимулированный – демонстрирует тенденцию роста, что же касается самой микробицидности нейтрофилов и уровня  $\alpha$ -дефензинов, то здесь обнаруживается высокозначимый прирост (табл. 2).

Можно констатировать, что у животных месячного возраста реакция в ответ на боль, характеризующая метаболическую активность нейтрофилов, более лабильна, чем у взрослых и старых животных.

Судя по результатам, у крыс месячного возраста через 30-60 мин после болевого воздействия продолжается активация фагоцитарной активности, но она не свидетельствует о нарастании переваривающей способности нейтрофилов и увеличении биосинтеза  $\alpha$ -дефензинов. Напротив, в этот временной промежуток киллинговая активность нейтрофилов падает и содержание  $\alpha$ -дефензинов в периферической крови также снижается. Проявляется своеобразная диссоциация функций: поглотительной, переваривающей и синтетической (табл. 3). При этом корреляционный анализ подтверждает это наблюдение. Между снижением коэффициента микробицидности нейтрофилов и падением уровня  $\alpha$ -дефензина выявляется прямая корреляционная зависимость ( $\rho = 0,43$ ). Характерным признаком для данной группы (1 мес) является депрессия всех показателей, характеризующих метаболическую активность нейтрофилов. На первый взгляд продолжает сохраняться высокий уровень  $\alpha$ -дефензинов ( $p < 0,001$ ), но это, очевидно, связано не с их усиленной продукцией, а недостаточным разрушением в периферической крови в течение 1-го ч после болевого воздействия (табл. 3).

Таблица 3

## Уровень регистрируемых параметров через 30-60 мин после острой соматической боли

	спНСТ		стНСТ		К стим		$\alpha$ -Деф	
	Me		Me		Me		Me	
месячные	Me	131,2*	Me	163,1*	Me	1,37*	Me	14,2*
	Q <sub>0,25</sub>	114,3	Q <sub>0,25</sub>	158,1	Q <sub>0,25</sub>	1,30	Q <sub>0,25</sub>	13,7
	Q <sub>0,75</sub>	146,0	Q <sub>0,75</sub>	199,2	Q <sub>0,75</sub>	1,41	Q <sub>0,75</sub>	14,6
	min	106,9	min	149,3	min	1,14	min	13,2
	max	161,4	max	209,5	max	1,45	max	15,0
взрослые	Me	64,7	Me	113,6	Me	1,72	Me	17,7*
	Q <sub>0,25</sub>	60,9	Q <sub>0,25</sub>	100,5	Q <sub>0,25</sub>	1,69	Q <sub>0,25</sub>	17,5
	Q <sub>0,75</sub>	68,5	Q <sub>0,75</sub>	119,9	Q <sub>0,75</sub>	1,75	Q <sub>0,75</sub>	18,0
	min	53,5	min	92,3	min	1,64	min	16,9
	max	74,5	max	125,9	max	1,82	max	18,3
старые	Me	104,8	Me	176,7	Me	1,68*	Me	16,4*
	Q <sub>0,25</sub>	65,7	Q <sub>0,25</sub>	108,0	Q <sub>0,25</sub>	1,64	Q <sub>0,25</sub>	15,9
	Q <sub>0,75</sub>	117,9	Q <sub>0,75</sub>	213,2	Q <sub>0,75</sub>	1,79	Q <sub>0,75</sub>	18,5
	min	50,7	min	93,1	min	1,58	min	15,2
	max	124,4	max	240,5	max	1,84	max	19,5

Примечание. \* –  $p < 0,05$  статистически значимые различия по сравнению с контрольной группы. Обозначения см. табл. 1.

Характерной особенностью для этой возрастной группы (1 мес) следует считать поступательное увеличение значений, характеризующих киллинговую активность нейтрофилов в течение 1-го ч после начала эксперимента. Уровень  $\alpha$ -дефензинов в крови к этому времени снижается, но остается выше контрольных значений (табл. 3).

Из приведенного цифрового материала у месячных животных следует, что величина спонтанного и стимулированного НСТ-теста в абсолютных значениях снижалась по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, однако продолжает оставаться более высокой по сравнению с контрольными значениями.

После зарегистрированной депрессии к концу 1-го ч эксперимента наблюдается вторая волна статистически значимого увеличения микробицидности нейтрофилов ( $p < 0,01$ ) и содержания  $\alpha$ -дефензинов ( $p < 0,001$ ) (табл. 4).

Полученные результаты позволяют говорить о высокой функциональной лабильности нейтрофилов у крыс месячного возраста. Они бурно реагируют на болевое раздражение, реакция быстро истощается, но и достаточно быстро (в течение 2–3 ч) возрастают киллинговая активность нейтрофилов и уровень  $\alpha$ -дефензинов в периферической крови.

Взрослые крысы четко реагировали на болевое воздействие увеличением переваривающего потенциала

нейтрофилов и продукцией  $\alpha$ -дефензинов, т.е. демонстрировали превентивную готовность к отражению возможной антигенной агрессии. Однако, поскольку такой сценарий не состоялся, все показатели практически возвращались к контрольным значениям и даже были ниже последних (табл. 4).

Определенная инертность в развертывании спонтанного и стимулированного НСТ-теста у старых животных очевидна. Это проявляется в сохранении уровня показателей контрольных значений в течение 2 ч, в последующем они несколько активируются (табл. 4).

Диссонансом в выявленной реакции является значимое снижение в этот временной промежуток киллинговой активности нейтрофилов. Содержание  $\alpha$ -дефензинов к концу 3-го ч остается несколько увеличенным по сравнению с контрольными значениями. Создается впечатление, что у старых крыс срабатывает все тот же инерционный механизм, когда сохраняется баланс между продукцией и разрушением  $\alpha$ -дефензина на несколько более высоком уровне, чем у животных контрольной группы (табл. 4).

### Обсуждение

При всех рассмотренных возрастных и временных особенностях реакции изучаемых факторов врожденного иммунитета прослеживается общая закономерность:

Таблица 4

#### Уровень регистрируемых параметров через 120-180 мин после острой соматической боли

	спНСТ, ед		стНСТ, ед		К стим		$\alpha$ -Деф, нг/мл	
	Me		Me		Me		Me	
месячные	Me	89,4*	Me	156,7*	Me	1,75*	Me	19,4*
	Q <sub>0,25</sub>	84,1	Q <sub>0,25</sub>	148,9	Q <sub>0,25</sub>	1,72	Q <sub>0,25</sub>	19,2
	Q <sub>0,75</sub>	93,4	Q <sub>0,75</sub>	161,6	Q <sub>0,75</sub>	1,77	Q <sub>0,75</sub>	21,2
	min	81,3	min	133,0	min	1,64	min	18,7
	max	98,1	max	174,6	max	1,78	max	23,8
взрослые	Me	68,5	Me	104,3	Me	1,52*	Me	17,5*
	Q <sub>0,25</sub>	66,9	Q <sub>0,25</sub>	103,0	Q <sub>0,25</sub>	1,54	Q <sub>0,25</sub>	16,8
	Q <sub>0,75</sub>	73,1	Q <sub>0,75</sub>	109,7	Q <sub>0,75</sub>	1,49	Q <sub>0,75</sub>	17,9
	min	63,3	min	91,9	min	1,42	min	16,5
	max	91,9	max	130,2	max	1,59	max	18,5
старые	Me	109,4*	Me	122,9*	Me	1,31*	Me	15,6*
	Q <sub>0,25</sub>	86,3	Q <sub>0,25</sub>	109,4	Q <sub>0,25</sub>	1,23	Q <sub>0,25</sub>	15,5
	Q <sub>0,75</sub>	116,0	Q <sub>0,75</sub>	156,4	Q <sub>0,75</sub>	1,35	Q <sub>0,75</sub>	16,2
	min	80,6	min	107,1	min	1,00	min	15,3
	max	129,8	max	170,1	max	1,42	max	18,8

Примечание. \* –  $p < 0,05$  статистически значимые различия по сравнению с контрольной группы. Обозначения см. табл. 1.

в ответ на аллогенное воздействие включаются как механизмы кислородзависимой микробицидности нейтрофилов, так и продукции  $\alpha$ -дефензинов. Причем в месячном возрасте и в возрасте половой зрелости эти факторы не просто изменяются параллельно друг другу, а имеют четкую корреляционную зависимость, которая расценивается как умеренная ( $\rho$  в пределах 0,3-0,69). Исходя из того, что нейтрофилы играют значительную роль в продукции  $\alpha$ -дефензинов, следует заключить, что активация метаболической активности нейтрофилов связана с биосинтезом  $\alpha$ -дефензинов (рисунок).

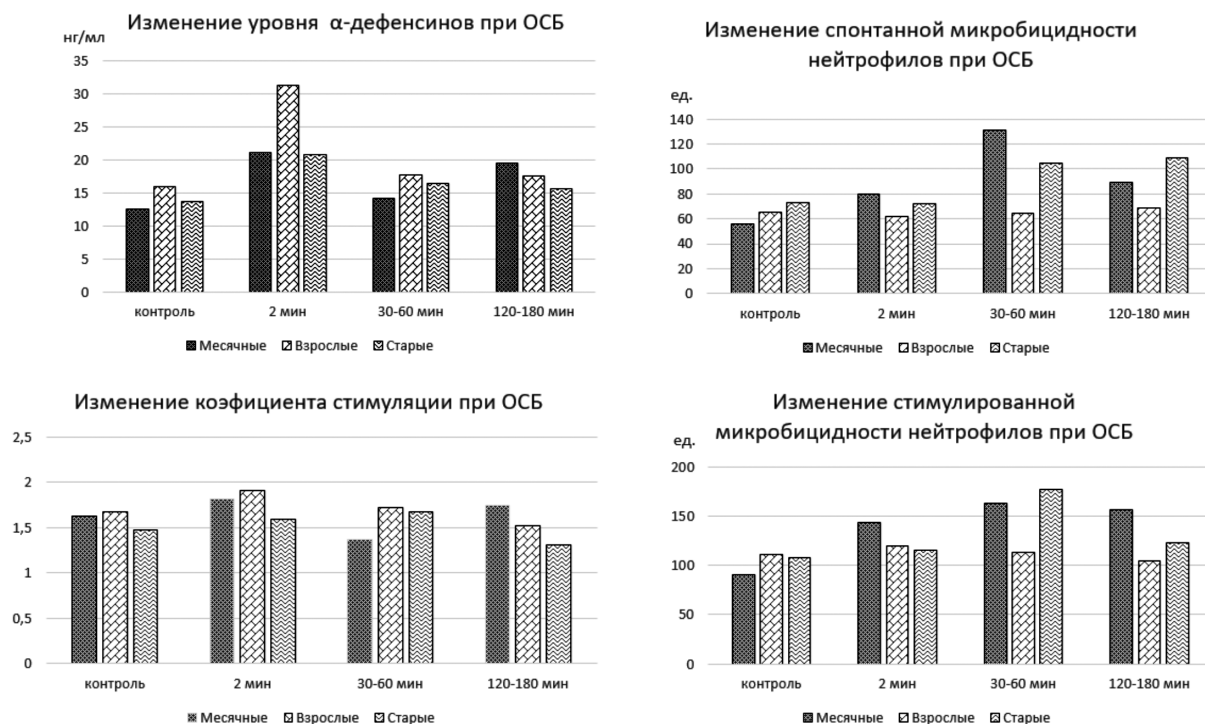
У старых животных столь выраженная корреляция не прослеживается. Объяснение вовлечения описанных факторов врожденного иммунитета следует искать в нейроиммунноэндокринных взаимодействиях при реализации универсальной стресс-реакции. А острая боль является именно таковой.

Было показано, что острая соматическая боль приводит к активации симпатoadреналовой системы во всех возрастных группах животных, которая, безусловно, имеет свои онтогенетические особенности, но выброс катехоламинов в ответ на долорогенное раздражение является обязательным [12]. Одной из

мишеней воздействия катехоламинов являются нейтрофилы. Этот факт, обнаруженный более 30 лет назад, находит все новые подтверждения [13]. Считается установленным тот факт, что на нейтрофилах присутствуют  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторы, которые регулируют функцию гранулоцитов. Через  $\alpha$ -адренорецепторы активируется метаболическая активность нейтрофилов, а также их фагоцитарная и микробицидная активность [14-23].

Образующиеся активные формы кислорода, способны повреждать собственные клеточные структуры. Однако, количество  $\beta$ -адренорецепторов, лимитирующих микробицидность нейтрофилов, возрастает и тем самым предупреждают развитие деструктивного процесса [24, 25].

С этих позиций становится понятным, почему активация фагоцитов и увеличение биосинтеза  $\alpha$ -дефензинов, закономерно возникающие, носят краткосрочный характер. Система, превентивно по отношению к возможному инфицированию, обретает функциональную готовность, но так как сценарий инфицирования не запускается, микробицидный потенциал быстро падает.



Графики изменения исследуемых параметров в ходе эксперимента.

### Выводы

На этапах онтогенеза у крыс в ответ на острую кратковременную соматическую боль возрастает кислородозависимая микробицидность нейтрофилов и увеличивается содержание  $\alpha$ -дефензинов в периферической крови.

Характер реакции определяется возрастными особенностями.

У крыс месячного возраста и достигнувших половой зрелости имеется прямая корреляционная зависимость между активацией метаболической активности нейтрофилов и ростом содержания  $\alpha$ -дефензинов в периферической крови.

#### Заключение

Полученные данные имеют значение при разработке препаратов на основе  $\alpha$ -дефензинов и их применении пациентами различного возраста при наличии в анамнезе острого болевого синдрома.

### Литература

(п.п. 6; 12; 13 см. References)

1. Гуманенко Е.К. *Военно-полевая хирургия*. М.: ГЭОТАР-медиа; 2015.
2. Дьяченко С.В., Бобровникова М.Ю., Слободенюк Е.В. Бактериологический мониторинг раневых инфекций в многопрофильном хирургическом стационаре. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2015; 1: 80-2.
3. Каралин А.Н., Терентьев В.А., Мурзаева Л.Г. Профилактика и лечение раневой инфекции на этапах медицинской эвакуации. *Здравоохранение Чувашии*. 2008; 2: 24-8.
4. Бордаков В.Н. *Рана. Раневой процесс. Принципы лечения ран*. Минск: БГМУ. 2014.
5. Демкина Е.В., Лойко Н.Г., Мулюкин А.Л., Смирнова Т.А., Гапонов А.М., Писарев В.М. и др. Влияние факторов врожденного иммунитета на развитие антибиотикотолерантности и выживание бактериальных популяций, подвергаемых антибиотической атаке. *Микробиология*. 2015; 84(6): 660.
7. Будихина А.С., Пинегин Б.В.  $\alpha$ -дефензины – антимикробные пептиды нейтрофилов: свойства и функции. *Иммунология*. 2008; 29(5): 317-20.
8. Ганковская Л.В., Богомильский М.Р., Ганковская О.А., Ланда Р.И., Лавров В.Ф., Китайгородский А.П. и др. Роль дефензинов как факторов врожденного иммунитета в защите организма детей с тяжелыми формами паратонзиллитов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; 5(60): 30-3.
9. Вахрамеева Т.Н., Бедарева Т.Ю. Дефензины как маркер системной активации нейтрофилов при клещевых нейроинфекциях. *Медицина в Кузбассе*. 2008; 3: 15-9.
10. Овсянников В.Г., Алексеев В.В. *Алгология (учение о боли): учебное пособие*. Ростов-н/Д: РостГМУ; 2017.
11. Маянский Д.Н., Цырендоржиев Д.Д., Макарова О.П. *Диагностическая ценность лейкоцитарных тестов. Ч.2: Определение биоцидности лейкоцитов: Метод. рекомендации*. Новосибирск: СО РАМН; 1996.

14. Орлова Е.Г., Ланин Д.В., Шилов Ю.И. Модуляция функциональной экспрессии аднерорецепторов фагоцитирующих клеток при остром стрессе и введении гидрокортизона. *Медицинская иммунология*. 2003; 5(3-4): 209.
15. Шилов Ю.И., Шилов С.Ю., Ланин Д.В. Аднергические механизмы регуляции иммунного ответа и функций неспецифических эффекторных клеток при стрессе. *Медицинская иммунология*. 2005; 7(2-3): 127.
16. Шилов С.Ю., Шилов Ю.И., Черешнев В.А. Аднергические механизмы в реализации иммуномодулирующих эффектов глюкокортикоидов. *Иммунология Урала*. 2005; 1: 31.
17. Годовалов А.П., Шилов Ю.И. Влияние аднергических соединений на иммунный ответ при экспериментальном тиреотоксикозе. *Вестник медицинской академической науки*. 2009; 2-1: 90.
18. Шилова Ю.А., Шилов Д.Ю., Шилов Ю.И. Влияние стресса на активность лейкоцитов периферической крови. *Успехи современной естествознания*. 2010; 7: 54-5.
19. Шилов Ю.И., Годовалов А.П. Влияние агониста и антагониста бета-аднерорецепторов на кислород-зависимую микробицидную активность нейтрофилов периферической крови в НСТ-тесте при экспериментальном тиреотоксикозе. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2011; 2-1(35):79-80.
20. Шилов С.Ю., Шилов Ю.И. Влияние гидрокортизона и блокады бета-аднерорецепторов в эффекторную фазу иммунного ответа на фагоцитарную активность клеток регионарного лимфатического узла, моноцитов крови и перитонеальных макрофагов. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; 3-2(85): 343-7.
21. Шилов Ю.И., Годовалов А.П. Аднергическая регуляция иммунного ответа при экспериментальном тиреотоксикозе у крыс. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; 3-2(85): 348-54.
22. Шилов Ю.И., Шилов С.Ю., Валиева Ю.В. Изменения нейтрофильного фагоцитоза при старении самцов и самок крыс, и введение им дегидроэпиаандростерона. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2014; 3(49): 47-8.
23. Шилов Ю.И., Шилов С.Ю., Туляев Я.А. и др. Экспериментальная модель зимозанового перитонита у крыс и ее использование в нейроиммунологии и фармакологии. В кн.: *Материалы II Международной научной конференции «Высокие технологии, определяющие качество жизни»*. Пермь: 2018: 276-8.
24. Коваленко Е.И., Семенкова Г.Н., Черенкевич С.Н. Влияние пероксида водорода на способность нейтрофилов генерировать активные формы кислорода и хлора и секретировать миелопероксидазу in vitro. *Цитология*. 2007; 49(10): 839-47.
25. Гудков С.В., Брусков В.И., Куликов А.В., Бобылев А.Г., Куликов Д.А., Молочков А.В. Биоантиоксиданты: Обзор (часть 1). *Альманах клинической медицины*. 2014; 31: 61-5.

### References

1. Gumanenko E.K. *Military Field Surgery. [Военно-полевая хирургия]*. Moscow: GJeOTAR-media; 2015. (In Russian)
2. D'yachenko S.V., Bobrovnikova M.Yu., Slobodenyuk E.V. Bacteriological monitoring of wound infections in a multidisciplinary surgical hospital. *Tihookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; 1: 80-2. (In Russian)
3. Karalin A.N., Terent'ev V.A., Murzaeva L.G. Prevention and treatment of wound infections at the stages of medical evacuation. *Zdravoohranenie Chuvashii*. 2008; 2: 24-8. (In Russian)



4. Bordakov V.N. *Wound. Wound process. Principles of wound healing Rana. [Ranevoy process. Printsipy lecheniya ran]*. Minsk; BGMU. 2014. (In Russian)
5. Demkina E.V., Loyko N.G., Mulyukin A.L., Smirnova T.A., Gaponov A.M., Pisarev V.M. et al. Influence of factors of innate immunity on the development of antibiotic tolerance and the survival of bacterial populations subjected to antibiotic attack. *Mikrobiologiya*. 2015; 84(6): 660. (In Russian)
6. Weintrob A.C., Murray C.K., Xu J., Krauss M. et al. Early infections complicating the care of combat casualties from Iraq and Afghanistan. *Surgical Infections*. 2018; 19(3): 286-97.
7. Budihina A.S., Pinegin B.V. A-defensins – antimicrobial peptides of neutrophils: properties and functions. *Immunologiya*. 2008; 29(5): 317-20. (In Russian)
8. Gankovskaya L.V., Bogomil'skiy M.R., Gankovskaya O.A., Landa R.I., Lavrov V.F., Kitaygorodskiy A.P. et al. The role of defensins as factors of innate immunity in protecting the body of children with severe forms of para-tonsillitis. *Epidemiologiya i vaksionoprofilaktika*. 2011; 5(60): 30-3. (In Russian)
9. Vahrmeeva T.N., Bedareva T.Yu. Defensins as a marker of systemic neutrophil activation in tick-borne neuroinfections. *Meditsina v Kuzbasse*. 2008; 3: 15-9. (In Russian)
10. Ovsyannikov V.G., Alekseev V.V. Algology (teaching about pain): study guide. *[Algologiya (uchenie o boli): uchebnoe posobie]*. Rostov-on-Don; RostSMU; 2017. (In Russian)
11. Mayanskiy D.N., Cyrendorzhiev D.D., Makarova O.P. *The diagnostic value of leukocyte tests. Part 2: Determination of leukocyte biocidal behavior: Method. recommendations. [Diagnosticheskaya tsennost' leykotsitarnykh testov. Ch.2: Opredelenie biotsidnosti leykotsitov: Metod. rekomendatsii]*. Novosibirsk; SD RAMN; 1996. (In Russian)
12. Navratilova E., Atcherley C.W., Porreca F. Brain Circuits Encoding Reward from Pain Relief. *Trends Neurosci*. 2015; 38(11): 741–50. doi: 10.1016/j.tins.2015.09.003
13. Nicholls A.S., Wen Wen S., Hall P. Activation of the sympathetic nervous system modulates neutrophil function. *Journal of Leukocyte Biology*. 2017; 103(2): 295-309.
14. Orlova E.G., Lanin D.V., Shilov Yu.I. Modulation of the functional expression of adrenoceptors of phagocytic cells under acute stress and the administration of hydrocortisone. *Meditsinskaya immunologiya*. 2003; 5(3-4): 209. (In Russian)
15. Shilov Yu.I., Shilov S.Yu., Lanin D.V. Adrenergic mechanisms of regulation of the immune response and functions of non-specific effector cells during stress. *Meditsinskaya immunologiya*. 2005; 7(2-3): 127. (In Russian)
16. Shilov S.Yu., Shilov Yu.I., Chereshev V.A. Adrenergic mechanisms in the implementation of the immunomodulating effects of glucocorticoids. *Immunologiya Urala*. 2005; 1: 31. (In Russian)
17. Godovalov A.P., Shilov Yu.I. Effect of adrenergic compounds on the immune response in experimental thyrotoxicosis. *Vestnik meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2009; 2-1: 90. (In Russian)
18. Shilova Yu.A., Shilov D.Yu., Shilov Yu.I. Effect of stress on the activity of peripheral blood leukocytes. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2010; 7: 54-5. (In Russian)
19. Shilov Yu.I., Godovalov A.P. Effect of beta-adrenoreceptor agonist and antagonist on the oxygen-dependent microbicidal activity of peripheral blood neutrophils in the NBT test for experimental thyrotoxicosis. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2011; 2-1(35): 79-80. (In Russian)
20. Shilov S.Yu., Shilov Yu.I. Effect of hydrocortisone and beta-adrenoreceptor blockade in the effector phase of the immune response to phagocytic activity of cells of the regional lymph node, blood monocytes and peritoneal macrophages. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; 3-2(85): 343-7. (In Russian)
21. Shilov Yu.I., Godovalov A.P. Adrenergic regulation of the immune response in experimental thyrotoxicosis in rats. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; 3-2(85): 348-54. (In Russian)
22. Shilov Yu.I., Shilov S.Yu., Valieva Yu.V. Changes in neutrophilic phagocytosis during aging of male and female rats, and the introduction of dehydroepiandrosterone. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2014; 3(49): 47-8. (In Russian)
23. Shilov Yu.I., Shilov S.Yu., Tulyaev Ya.A. et al. An experimental model of zymosan peritonitis in rats and its use in neuroimmunology and pharmacology. *[Materialy II Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii «Ysokie tehnologii, opredelyayushhie kachestvo zhizni»]*. Perm'; 2018: 276-8. (In Russian)
24. Kovalenko E.I., Semenkova G.N., Cherenkevich S.N. The effect of hydrogen peroxide on the ability of neutrophils to generate reactive oxygen and chlorine forms and secrete myeloperoxidase in vitro. *Tsitologiya*. 2007; 49(10): 839-47. (In Russian)
25. Gudkov S.V., Bruskov V.I., Kulikov A.V., Bobyl'ov A.G., Kulikov D.A., Molochkov A.V. Bioantioxidants: An Overview (Part 1). *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2014; 31: 61-5. (In Russian)

**Сведения об авторах:**

**Алексеев Владимир Вячеславович**, канд. мед. наук, доцент каф. патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России;

**Каде Азамат Халидович**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.