

ЛИЗОЦИМ – ГРАНИ ВОЗМОЖНОГО

Овсянников В.Г.¹, Торопкина Ю.Е.¹, Краскевич В.В.¹, Алексеев В.В.¹, Бойченко А.Е.¹, Алексеева Н.С.¹, Краскевич Д.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет Минздрава России», Ростов-на-Дону, e-mail: okt@rostgmu.ru;

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, e-mail: rektorat@sechenov.ru

Лизоцим – это антибактериальный агент, который является одним из главных факторов врожденного иммунитета. Впервые он был упомянут еще в 1909 г. Лизоцим расщепляет β -1,4-гликозидную связь муреинового слоя клеточной стенки бактерий, усиливает хемотаксис, обладает сорбционными свойствами в отношении микрофлоры, способствует повышению фагоцитарной активности лейкоцитов и стимуляции антителогенеза. Зона присутствия лизоцима практически не имеет границ: он обнаружен в крови, легких, почках в слюне, в слезной жидкости, селезенке, в плаценте и других тканях. Его титр находится в постоянстве, что обусловлено не только разрушением клеток и освобождением лизоцима, но также продукцией и выделением его неповрежденными клетками. Также он способен останавливать опухолевый процесс, инактивируя изоантигены, путем расщепления полисахаридных цепей мурамидина стенки клеточных мембран. Лизоцим активно используется при лечении острых пневмоний у детей и реанимационных больных, в стоматологии в виде непосредственно лекарства при пародонтите, остром очаговом пульпите, а также при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта, десен и гортани: гингивите, стоматите. Лизоцим является компонентом зубных паст и ополаскивателей рта.

Ключевые слова: лизоцим, фермент, бактерия, изоантигены, боль.

LYSOZYME – THE FRONTIERS OF POSSIBILITY

Ovsiannikov V.G.¹, Toropkina Yu.E.¹, Kraskevich V.V.¹, Alekseev V.V.¹, Boychenko A.E.¹, Alekseeva N.S.¹, Kraskevich D.A.²

¹ FGBOU VO «Rostov State Medical University Ministry of Health of Russia» Rostov-on-Don, e-mail: okt@rostgmu.ru;

² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, email: rektorat@sechenov.ru

Lysozyme is an antibacterial agent that is one of the main factors of innate immunity. It was first mentioned back in 1909. Lysozyme breaks down the β -1,4-glycosidic bond of the bacterial cell wall murein layer, enhances chemotaxis, has sorption properties in relation to the microflora, increases the phagocytic activity of leukocytes and stimulates the production of antibodies. The zone of lysozyme presence has virtually no boundaries: it is found in the blood, lungs, kidneys, saliva, tear fluid, spleen, placenta and other tissues. Its titer is constant, which is associated not only with the destruction of cells and the release of lysozyme, but also with the formation and release of its intact cells. It is also able to stop the tumor process by inactivating isoantigens by splitting the muramine polysaccharide chains on the walls of cell membranes. Lysozyme is actively used in the treatment of acute pneumonia in children and patients with resuscitation, in dentistry as a direct medicine for periodontitis, acute focal pulpitis, as well as in the treatment of infectious and inflammatory diseases of the oral mucosa, gums and larynx: gingivitis, stomatitis. Lysozyme is a component of toothpastes and mouth rinses.

Keywords: lysozyme, enzyme, bacterium, isoantigens, pain.

Лизоцим является старейшим универсальным ферментом белковой природы, встречающимся у всех живых форм. Он образован одной полипептидной цепью, состоящей из 127–130 аминокислотных остатков. В настоящий момент изучено множество материалов, которые свидетельствуют о регуляции иммунных и метаболических процессов лизоцимом [1]. Установлено, что он инициирует синтез лимфокинов, которые участвуют в дифференцировке и регуляции роста клеток, и обладает бактериолитическим эффектом [2]. Это подтверждается тесной анатомо-физиологической связью лизоцима с зонами, где

интенсивно протекают процессы метаболизма, осуществляется активное клеточное деление. Сам лизоцим также имеет большое значение в регуляции и контроле дифференцировки тканей [3]. Учитывая его важность в работе гуморального врожденного неспецифического иммунитета, а также подверженность действию факторов внешней и внутренней среды, мы провели исследование и обобщили современные данные по изменению активности лизоцима в различных условиях.

Цель исследования: научный поиск роли лизоцима как компонента врожденного иммунитета и диагностикума различных патологий.

Лизоцим (муромидаза) — гуморальный фактор врожденного иммунитета, фермент лизосомального происхождения лейкоцитов крови (рис. 1).

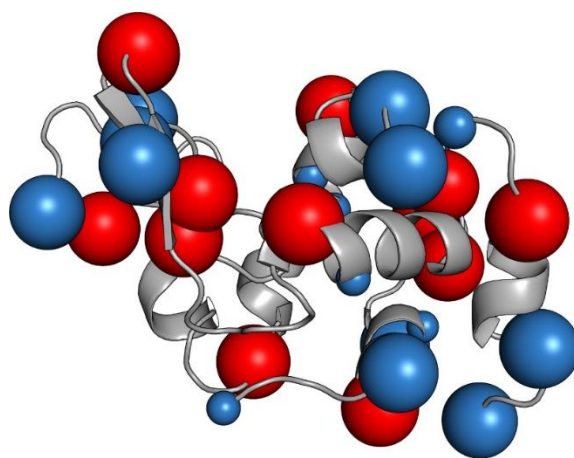


Рис. 1. Молекула лизоцима

Молекула лизоцима обладает бактериолитическим эффектом за счет расщепления β -1,4-гликозидной связи между N-ацетилглюкозамином (рис. 2) и N-ацетилмурамовой кислотой (рис. 3), которые являются основными компонентами клеточной стенки бактерий. В результате расщепления этой связи изменяется проницаемость клеточной стенки [1, 4]. В первую очередь лизоцим обнаруживается в слюне, грудном молоке, слизи носоглотки, слезной жидкости, слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта и т.д. Лизоцим в большом количестве содержится в слюне, это объясняет ее антибактериальные свойства. Его основной источник — макрофаги/моноциты, нейтрофилы, поэтому он постоянно присутствует в организме. В плазме крови концентрация лизоцима обычно составляет от 4 до 13 мг/л, а в моче у здоровых лиц обнаруживаются только следы. Концентрация лизоцима также весьма высока в грудном молоке человека (около 400 мг/л). В сутки у здорового человека синтезируется около 500 мг лизоцима, однако в плазме крови он находится непродолжительное время, так как выводится почками на 75% в течение 1 ч. Превышение уровня лизоцима в плазме и моче может наблюдаться при ряде патологических состояний и

находится под мониторингом в течение нескольких лет, так как может быть возможным маркером моноцитарного лейкоза. Превышение концентрации также может иметь место у людей, страдающих миелопролиферативными расстройствами: так, при нормальной функции почек у них производство лизоцима увеличивается до 4 раз [4].

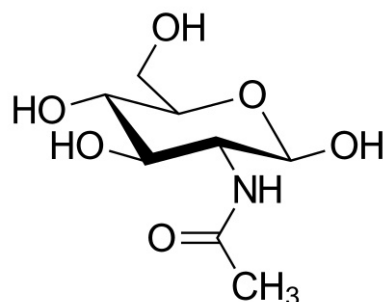


Рис. 2. *N*-ацетилглюкозамин

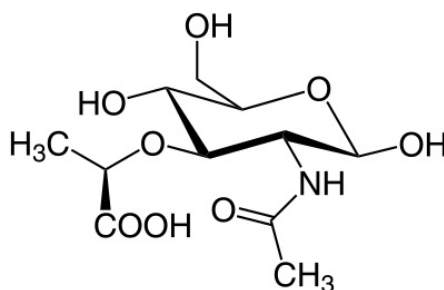


Рис. 3. *N*-ацетилмурамовая кислота

Кроме оказания бактерицидного и бактериостатического эффекта, лизоцим усиливает хемотаксис, обладает противовоспалительным действием, сорбционными свойствами в отношении микрофлоры, способствует репарации тканей, способен нейтрализовать некоторые микробные токсины, повышает фагоцитарную активность лейкоцитов, активизирует комплемент и стимулирует антителогенез.

Лизоцим впервые был открыт П.Н. Лашенковым (рис. 4) в белке куриного яйца в 1909 г. В 1921 г. Александр Флеминг (рис. 5) обнаружил эффективность лизоцима против бактерий. Через четыре дня после того, как у него получилось вывести колонию грамположительных кокков «AF coccus», он решил проверить утверждение Феликса д'Эрелля о роли бактериофагов в формировании приобретенного иммунитета. Александр Флеминг добавил носовую слизь в чашку с выращенными штаммами бактерий «AF coccus», стафилококков и пневмококков. В ходе этого эксперимента выяснилось, что росту бактерий препятствовал не вирус, а фермент, вызывавший их лизис, который содержался в выделенной культуре клеток из носовой жидкости. После А. Флеминг обнаружил этот фермент и в других биологических жидкостях [5]. Однако после открытия пенициллина

интерес к лизоциму снизился, пока он не был выделен и очищен из яичного белка курицы (HEWL).



Рис. 4. П.Н. Лаиценок

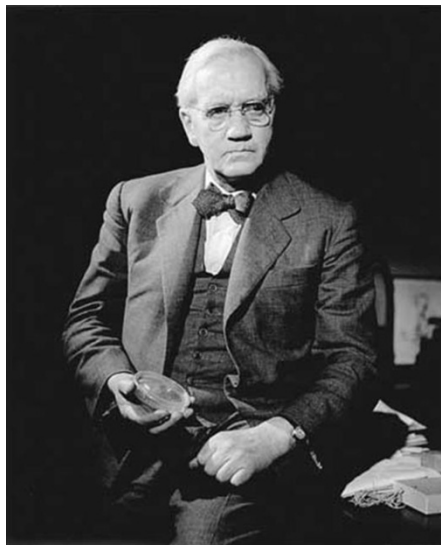


Рис. 5. А. Флеминг

В 1965 г. Дэвид Чилтон Филлипс методом рентгеновской кристаллографии получил первую модель лизоцима. Он стал вторым белком и первой ферментной структурой, которая была установлена с помощью рентгеновской кристаллографии. Также лизоцим стал первым изученным ферментом, который содержал все 20 стандартных аминокислот [6].

О.В. Чахов в 1965 г. обнаружил, что у здорового человека концентрация лизоцима находится в постоянстве [7]. В 1968 г. Н.А. Жуковской установил, что за счет распада клеток-продуцентов происходит поддержание базального уровня лизоцима [8]. А.Н. Маянский в своей работе в 1983 г. описал, что поддержание уровня лизоцима связано не только с высвобождением лизоцима из разрушенных клеток, но и с продукцией и выделением его из неповрежденных клеток [9].

D. Donaldson в 1974 г. вместе с соавторами доказал, что если удалить лизоцим из крови, то это снизит ее бактерицидные свойства на 49% [10]. О.В. Бухарин в своих исследованиях показал, что уровень лизоцима наглядно отображает состояние врожденного иммунитета у человека [2].

Callewaert L. и соавторы в 2010 г. на основе аминокислотной последовательности и биохимических свойств описали 3 типа лизоцима: С-тип (куриный), G-тип (гусиный), и I-тип (беспозвоночных). Лизоцимы С-типа преимущественно присутствуют у хордовых и у разных классов членистоногих. Лизоцимы G-типа обнаружены у представителей хордовых и у некоторых двустворчатых моллюсков. Беспозвоночные, как известно, продуцируют лизоцимы I-типа. Лизоцим у млекопитающих был обнаружен в избытке в крови и печени, в

секретах, включая слёзы, мочу, слюну и молоко, на поверхностях слизистой оболочки (где он может достигать концентраций до 1 мг/мл) и в фагоцитах, в том числе в макрофагах, нейтрофилах и дендритных клетках [11].

В настоящее время лизоцим имеет большое значение в стоматологии, так как он используется для лечения и оценки эффективности лечения, являясь интегральным показателем неспецифической резистентности организма. Пародонтологическое лечение зависит от состояния неспецифической защиты полости рта [12, 13, 14]. У пациентов с общесоматической патологией, имеющих благоприятное состояние интегрального показателя неспецифической резистентности организма, отмечена более высокая эффективность комплексного лечения пародонтита и лечения инфекционно-воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта, десен и гортани: стоматита, афтозных изъязвлений, катаральных явлений верхних отделов дыхательных путей, эрозии слизистой оболочки полости рта различной этиологии, гингивита, герпетических поражений слизистой оболочки полости рта [15, 16].

Созданы зубные пасты для лечения острого очагового пульпита, в состав которых входит лизоцим. Они имеют высокую проникающую способность и стимулируют репаративные процессы пульпы зуба, а также обладают обезболивающим, выраженным противовоспалительным и антисептическим действием [17-19].

Разработаны пасты, в состав которых входят, помимо лизоцима, лизаты бактерий. Они увеличивают содержание лизоцима слюны и количество иммунокомпетентных клеток в ней, активируют фагоцитоз [20].

Клинико-лабораторные исследования препарата «Имудон[®]», содержавшего в своем составе лизоцим, показали, что при сублингвальном применении он способствовал восстановлению баланса факторов местного иммунитета ротовой полости и стабилизировал микрофлору полости рта детей и подростков в течение 1,5 лет [21].

Созданы ополаскиватели для рта с лизоцимом для больных, находящихся в критическом состоянии в отделениях реанимации и интенсивной терапии в условиях искусственной вентиляции легких. Такие пациенты входят в зону риска развития внутрибольничной пневмонии. А ополаскиватели с лизоцимом предотвращают развитие инфекции [22, 23].

Лизоцим может быть диагностическим показателем в слюне, изменяемым под действием патогенных факторов окружающей среды. Он служит критерием реактивности организма, который показывает угнетение тканевых бактерицидных субстанций и напряжение адаптационных и гомеостатических резервов, является отражением состояния здоровья [24].

Доказано, что совместное применение лизоцима и антибактериальных препаратов усиливает терапевтический эффект у детей с диагнозом «острая пневмония» [25].

По результатам исследований ученых Университета Лимерика лизоцим обладает пьезоэлектрической активностью в моноклинной и тетрагональной фазах. Она в несколько раз выше, чем у основного пьезоэлектрика кварца, что позволяет использовать лизоцим в генерации электрических зарядов в клетках. Это означает, что лизоцим можно применять в качестве батареи в работе кардиостимуляторов и для генерации электрических сигналов при стимуляции нервных окончаний непосредственно в организме [26].

Лизоцим активно используется в современной пищевой промышленности, поскольку является натуральным консервантом. Благодаря своей эффективности в устранении маслянокислых бактерий наиболее часто он применяется при изготовлении сыров, технология производства которых требует длительного созревания [27-29].

Кроме того, производятся лечебно-профилактические сыры. Они содержат, помимо лизоцима, бифидобактерии и пребиотик из лактулозы. Эти сыры используют при лечении дисбактериоза у детей с гастродуоденитами и дисфункциями кишечника, а также у детей с острым миелобластным и лимфобластным лейкозом в стадии ремиссии.

В сочетании с химиотерапией лизоцим предотвращает резкое снижение содержания бифидобактерий и способствует элиминации условно-патогенной микрофлоры кишечника [30].

Лизоцим способен инактивировать изоантигены, которые имеют в составе гликопротеины и гликозаминогликаны. Изоантигенами в естественных условиях являются все виды опухолей. Их инактивация происходит путем расщепления полисахаридной цепи мурамина клеточных мембран, включая цитолемму [31]. Снижение уровня лизоцима, который способен инактивировать изоантигены, способствует развитию опухолевого процесса. При онкологических заболеваниях дефицит эндогенного фермента определяется в сыворотке крови при дифференциальной диагностике пигментных новообразований глаза. В эксперименте на крысах при лимфосаркоме наблюдалось снижение уровня лизоцима в периферической крови, а у большинства онкологических больных отмечается снижение всех показателей фагоцитарной активности [32]. Дефицит эндогенного лизоцима, несмотря на многофакторность развития онкологического процесса, служит одним из условий, способствующих возникновению и прогрессированию опухолевого образования.

Исследовано влияние острой соматической боли на уровень лизоцима у взрослых крыс. После нанесения раздражителя уже через 2 минуты увеличивается активность лизоцима в периферической крови, а через 3 часа после начала эксперимента наблюдается медленное снижение. Это можно объяснить всплеском активности лизоцима как ответной

реакцией на болевое раздражение, а впоследствии наступают стадия рефрактерности клеток-продуцентов и катаболизм лизоцима, находящегося в крови [33, 34].

Выводы. В ходе анализа литературы и исследований, проведенных на базе кафедры патологической физиологии Ростовского государственного медицинского университета, были рассмотрены историческая направленность изучений лизоцима, а также современные векторы научного поиска роли лизоцима как компонента врожденного иммунитета и диагностикума различных патологий.

Список литературы

1. Дорофейчук В.Г. Механизм защитной функции лизоцима: фундаментальное и прикладное знание // Нижегородский мед журнал. 1996. № 2. С. 9-13.
2. Бухарин О.В., Васильев Н.В. Лизоцим и его роль в биологии. Томск, 1947. 208 с.
3. Pacor S. Et al. Anticancer Res. 1996. no.1B(5a). P. 2559-2564.
4. Fink M.E., Finch S.C. Serum muramidase and granulocyte turnover. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1968. no. 127 (2). P. 365–367.
5. Fleming A. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc. R. Soc. London. 1922. no. 93. P. 306–317.
6. Wang G., Maier S.E., Lo. L.F., Maier G., Dosi S., Maier R.J. Peptidoglycan deacetylation in *Helicobacter pylori* contributes to bacterial survival by mitigating host immune responses. Infect Immun. 2010. no. 78(11). P. 4660–4666.
7. Чахов О.В., Горюнов А.Г. Образование лизоцима культурой гистиоцитов-макрофагов. Антибиотики. 1965. № 6. С. 507–511.
8. Жуковская Н.А., Ликина Т.Н. К вопросу о неспецифическом защитном действии лизоцима на организм. Антибиотики. 1968. № 10. С. 920–923.
9. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука, 1983. С. 50.
10. 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). P. 657–666.
11. Callewaert L., Michiels C.W. Lysozymes in the animal kingdom. J Biosci. 2010. no.35(1). P. 127–60.
12. Блашкова С.Л., Фазылова Ю.В. Особенности гигиенического ухода у пациентов с проявлениями дерматозов на слизистой оболочке рта // Пародонтология. 2018. № 2. С. 59-57.

13. Галимова И.А., Усманова И.Н., Герасимова Л.П., Хуснаризанова Р.Ф., Усманов И.Р., Котова Ю.Б. Изучение особенностей состояния микробиома и местного иммунитета у пациентов с хроническими рецидивирующими афтами полости рта. // Уральский медицинский журнал. 2019. № 9(177). С. 11-14.
14. Шевкунова Н.А. состояние местного иммунитета полости рта у больных сахарным диабетом 2 типа при потере зубов // Успехи современной науки. 2016. № 2. С. 92-94.
15. Герасимова А.А., Кабирова М.Ф., Герасимова Л.П., Минякина Г.Ф., Сисина О.В. Уровень сенсibilизации к аллергенам грибковой этиологии и состояние местного иммунитета при заболеваниях слизистой оболочки полости рта // Проблемы стоматологии. 2017. № 1. С. 56-60.
16. Пудяк В.Е. Особенности комплексного лечения воспалительных заболеваний пародонта // Вестник Алматинского государственного института усовершенствования врачей. 2019. № 4. С. 52-55.
17. Арутюнов А.В., Сирак С.В. Морфологическая оценка влияния разработанной комбинированной лекарственной композиции на репаративные процессы при экспериментальном пульпите // Эндодонтия Today. 2015. №3. С. 31-34.
18. Сирак С.В., Сирак А.Г., Бирагова А.К. Комбинированная лекарственная паста для консервативного лечения острого очагового пульпита // Патент РФ № 2452461. Патентообладатель ООО НПО «Полет». 2012. Бюл. № 16.
19. Кобылкина Т.Л. Экспериментальная оценка репаративного дентиногенеза при пульпите//Научный альманах. 2016. № 12-2(26). С. 292-298. DOI: 10.17117/na.2016.12.02.292
20. Иванов В.Н., Улитовский С.Б., Яременко А.И. Зубная паста, содержащая смесь лизатов бактерий // Патент РФ № 2496468. Патентообладатели Иванов В.Н., Улитовский С.Б., Яременко А.И. 2013. Бюл. № 30.
21. Шевченко О.Л. Антонова А.А. Состав смешанной слюны и показатели кариеса временных зубов и его осложнений у детей // Эндодонтия Today. 2015. № 4. С. 8-11.
22. Bardes J.M., Waters C., Motlagh H., Wilson A. The Prevalence of Oral Flora in the Biofilm Microbiota of the Endotracheal Tube. Am Surg. 2016. no. 82 (5). P. 403-406.
23. Касаткин А.А., Ураков А.Л., Лукоянов И.А., Габдрафиков Р.Р., Габдрафиков Д. Р. Газированный ополаскиватель полости рта // Патент РФ № 2635992. Патентообладатель ООО «Институт терминологии» 2017. Бюл № 32.
24. Халатов В. А., Гулин А. В., Невзорова Е. В. Иммунологические показатели слюны у жителей Липецкой области // Вестник российских университетов. Математика. 2015. Т. 20. Вып.2. С 354-356.

25. Wu T., Wu C., Fu S., Wang L., Yuan C., Chen S., Hu Y. Integration of lysozyme into chitosan nanoparticles for improving antibacterial activity. *Carbohydr. Polym.* 2017. no. 155. P. 192–200.
26. Stapleton A., Noor M.R., Soulimane T., Tofail S.A.M. Physiological Role of Piezoelectricity in Biological Building Blocks. *Electrically Active Materials for Medical Devices*. World Scientific, 2016. P. 237-251. DOI: 10.1142/9781783269877_0017.
27. Мордвинова В.А., Оносовская Н.Н., Тетерева Л.И. К вопросу применения консервантов в сырах // *Переработка молока*. 2018. № 1. С. 26-28.
28. Трофимович Е.А., Николаева Н.Ю., Нуришанова И.Б. К вопросу о роли маслянокислых бактерий в производстве твердых сыров // *Теория и практика современной аграрной науки: материалы II национальной (всероссийской) научной конференции* (г. Новосибирск, 26 февраля 2019 г.). Новосибирск: издательский центр «Золотой колос», 2019. С. 392-395.
29. Шингарева Т.И. Исследование ингибиторов технически вредной микрофлоры в производстве сырной продукции // *Сыроделие и маслоделие*. 2019. № 3. С. 44-45.
30. Давидович Е.А. Лизоцим содержащие композиции в составе лечебного питания детей // *Экологическая безопасность в АПК*. 2010. N 3. С. 876.
31. Плещитый Д.Б. Лизоцим, как фактор естественной резистентности // *Биологическая роль лизоцима и его лечебное применение*. Караганда, 1972. С. 163-167.
32. Дягилев В.В. Фагоцитарные реакции у больных предраком и раком гортани // *Фагоцитоз и иммунитет: тез. докл. Всесоюз. симпоз., посвящ. 100-летию создания И.И. Мечниковым фагоцитар. теории иммунитета* (г. Москва, 14-18 ноябрь 1983 г.) / Под общ. ред. Р.В. Петрова. М., 1983. С. 85-86.
33. Овсянников В.Г., Алексеев В.В., Алексеева Н.С., Алексеева Н.А., Абрамова М.В., Бликян М.В., Лихачева Ю.Е., Бойченко А.Е. Мурамидаза в патогенезе острой соматической боли // *Современные проблемы науки и образования*. 2019. № 2. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=28775> (дата обращения: 29.05.2020).
34. Овсянников В.Г., Алексеев В.В., Бойченко А.Е., Алексеева Н.С., Абрамова М.В. Активность лизоцима при формировании острой соматической боли у старых крыс // *Владикавказский медико-биологический вестник*. 2014. Т. 20. № 29. С. 29-31.