

© А. Д. Болатчиев, 2022
УДК 615.28
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17099>
ISSN – 2073-8137

МЕЛАТОНИН И ВИТАМИН D₃ УСИЛИВАЮТ ЭКСПРЕССИЮ ЭНДОГЕННОГО БЕТА-ДЕФЕНЗИНА-1 У КРЫС

А. Д. Болатчиев

Ставропольский государственный медицинский университет,
Российская Федерация

MELATONIN AND VITAMIN D₃ ARE INDUCE THE EXPRESSION OF ENDOGENOUS BETA-DEFENSIN-1 IN RATS

Bolatchiev A. D.

Stavropol State Medical University, Russian Federation

Изучалось влияние мелатонина (10 мг/кг), холекальциферола (5000 мкг/кг) и монтелукаста (10 мг/кг) на сывороточный уровень эндогенного антимикробного пептида – бета-дефензина-1 (BD-1) у крыс. В исследование было включено 32 крысы линии Wistar (самцы массой 180–200 г) – по 8 крыс в каждой группе. Препараты вводились ежедневно, однократно на протяжении трех дней; контрольная группа получала стерильный физиологический раствор. На четвертый день осуществлялся забор крови для проведения иммуноферментного анализа. В контрольной группе уровень BD-1 составил 295 (292,9–315,4) пг/мл (здесь и далее значения представлены в виде медианы, в скобках – первый и третий квартили). При сравнении с группой, получавшей монтелукаст, не было выявлено достоверных отличий от контроля – уровень BD-1 составил 355,3 (329,8–374,5) пг/мл. Введение мелатонина и холекальциферола (витамин D₃) достоверно увеличивало уровень эндогенного BD-1: 453 (401,3–479) пг/мл и 533,6 (495–553,5) пг/мл соответственно. Полученные результаты открывают возможности для создания нового класса низкомолекулярных лекарственных средств – индукторов эндогенных антимикробных пептидов.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, дефензины, мелатонин, холекальциферол

The effect of melatonin (10 mg/kg), cholecalciferol (5000 µg/kg), and montelukast (10 mg/kg) on the serum level of the endogenous antimicrobial peptide, beta-defensin-1 (BD-1), was studied for the first time in rats. The study included 32 Wistar rats (male, weighing 180–200 g) – 8 rats in each group. The drugs were administered daily, once for three days; controls received sterile saline. On the fourth day, blood was taken for enzyme immunoassay. In the control group, the level of BD-1 was 295 (292.9–315.4) pg/ml (hereinafter, the values are presented as a median; in brackets, the first and third quartiles). In comparison with the group, received montelukast, there were no significant differences with the control – the level of BD-1 was 355.3 (329.8–374.5) pg/ml. It was shown that the introduction of melatonin and cholecalciferol (vitamin D₃) significantly increases the level of endogenous BD-1: 453 (401.3–479) pg/ml and 533.6 (495–553.5) pg/ml, respectively. The results obtained open up new opportunities for creating a new class of low molecular weight drugs – inducers of endogenous antimicrobial peptides.

Keywords: antimicrobial peptides, defensins, melatonin, cholecalciferol

Для цитирования: Болатчиев А. Д. МЕЛАТОНИН И ВИТАМИН D₃ УСИЛИВАЮТ ЭКСПРЕССИЮ ЭНДОГЕННОГО БЕТА-ДЕФЕНЗИНА-1 У КРЫС. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2022;17(4):415-417.
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17099>

For citation: Bolatchiev A. D. MELATONIN AND VITAMIN D₃ ARE INDUCE THE EXPRESSION OF ENDOGENOUS BETA-DEFENSIN-1 IN RATS. *Medical News of North Caucasus*. 2022;17(4):415-417.
DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17099> (In Russ.)

АМП – антимикробный пептид

BD-1 – бета-дефензин-1

Крупномасштабное исследование с участием 471 миллиона человек из 204 стран мира показало, что в 2019 году более 1,27 миллиона смертей были напрямую вызваны антибиотикорезистентными бактериями. При этом более 4,95 миллиона было ассоциировано с антибиотикорезистентностью [1]. Столь масштабное распространение устойчивых к противомикробным препаратам возбудителей определяет необходи-

мость поиска и разработки новых стратегий фармакотерапии.

Антимикробные пептиды (АМП) являются важнейшим модулем системы врожденного иммунитета и обеспечивают первую линию защиты от инфекционных агентов [2]. Механизм антибактериального действия АМП основан на прямом цитотоксическом воздействии на клеточную стенку бактерий с последующей пермеабиллизацией мембраны, что приводит

к лизису и гибели бактерий. Ранее нами было показано, что даже однократное введение малых доз АМП может снижать летальность при экспериментальном сепсисе, вызванном карбапенем-устойчивыми грамотрицательными бактериями [2].

Вкратце можно выделить несколько возможных стратегий внедрения АМП в клиническую практику для борьбы с антибиотикорезистентностью [2]: 1) использование нативных АМП природного происхождения; 2) *de novo* дизайн уникальных АМП и/или модификация природных АМП; 3) разработка генетических конструкций (например, мРНК или вирусных векторов), экспрессирующих целевые АМП. Кроме того, представляется интересным попытаться применить другую стратегию. Это поиск малых молекул – индукторов экспрессии эндогенных АМП. Такой подход может стать многообещающей и гораздо более дешевой альтернативой экзогенному введению АМП. В настоящее время имеются лишь ограниченные данные на культурах эукариотических клеток по поиску низкомолекулярных соединений, способных индуцировать экспрессию эндогенных АМП.

Целью данной работы было исследование влияния мелатонина, холекальциферола и монтелукаста на уровень эндогенного бета-дефензина-1 (BD-1) у крыс.

Материал и методы. Исследования на животных были одобрены локальным этическим комитетом Ставропольского государственного медицинского университета (протокол заседания № 95 от 18.02.2021). Крысы линии Wistar (самцы массой 180–200 г) содержались в виварии университета, в помещениях с контролируемой температурой, по 4 крысы в клетке, при 12-часовом световом цикле, температуре 24 °C и влажности 50–60 %, с доступом к воде и пище *ad libitum*. 32 животных были рандомизированы и разделены на 4 равные группы (n=8): 1 группа – контрольная, стерильный физиологический раствор (1 мл); 2 группа – монтелукаст («Монтелар», Sandoz, Словения); 3 группа – мелатонин 10 мг/кг («Мелаксен», Unipharm Inc., США); 4 группа – холекальциферол 5000 мг/кг («Вигантол», Takeda, Япония). Все препараты вводились внутривентрально, один раз в сутки, на протяжении трех дней. На четвертый день после эвтаназии осуществлялся забор крови. Уровень BD-1 *Rattus norvegicus* измеряли с помощью иммуноферментного анализа в соответствии с инструкцией производителя (Cloud Clone corp., США) в ООО «Центр клинической фармакологии и фармакотерапии» г. Ставрополя. Для статистического анализа уровней BD-1 использовался U-критерий Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение. В контрольной группе сывороточный уровень BD-1 составил 295 (292,9–315,4) пг/мл (здесь и далее значения представлены в виде медианы, в скобках – первый и третий квартили). Введение монтелукаста не привело к значимым отличиям по сравнению с контрольной группой – уровень BD-1 составил 355,3 (329,8–374,5) пг/мл ($p=0,11518$). В группе, получавшей мелатонин, уровень эндогенного BD-1 имел достоверные отличия от контрольной группы – 453 (401,3–479) пг/мл ($p=0,00078$). Применение холекальциферола оказало еще большее влияние на концентрацию данного АМП – 533,6 (495–553,5) пг/мл (значимые отличия от 1 группы, $p=0,00078$). При сравнении 3 и 4 группы были

выявлены значимые отличия ($p=0,046$), что, вероятно, демонстрирует более выраженный эффект витамина D₃ по сравнению с мелатонином.

Полученные данные подтверждают результаты экспериментов *in vitro*. На культурах человеческих кератиноцитов, моноцитов, нейтрофилов, эпителиоцитов бронхов и миелоцитов было показано, что витамин D₃ активирует экспрессию генов дефензинов и кателицидина путем связывания с рецептором витамина D – члена суперсемейства ядерных рецепторов факторов транскрипции. Связывание лиганда вызывает гетеродимеризацию рецептора со связанными ретиноидными X-рецепторами и ответную активацию так называемых прямых повторов консенсусных мотивов RuG(G/T)TCA в ДНК, которые расположены в промоторах генов дефензинов и кателицидина.

Несмотря на то что влияние мелатонина на АМП ранее не исследовалось, ряд публикаций демонстрируют широкий спектр иммуномодулирующих эффектов данного соединения [3], что, вероятно, обуславливает его активирующее влияние на уровень эндогенных АМП. С другой стороны, известно, что мелатонин подавляет экспрессию интерлейкинов 1, 6 и 10, фактора некроза опухоли- α и гамма-интерферона [3]. В этой связи необходимы дальнейшие исследования для изучения механизма, с помощью которого мелатонин усиливает экспрессию BD-1.

Ранее в других работах было показано, что фторхинолоны, макролиды [4], андрографолид, 4-фенилбутировая кислота (и другие жирные кислоты), некоторые аминокислоты, галлат эпигаллокатехина [5], а также другие малые молекулы могут усиливать экспрессию эндогенных АМП. На основании полученных данных представляется целесообразным проведение дальнейшего скрининга среди различных низкомолекулярных соединений для поиска потенциальных индукторов экспрессии эндогенных АМП.

Заключение. В ходе работы впервые было показано, что мелатонин и холекальциферол (витамин D₃) могут усиливать экспрессию эндогенного антимикробного пептида – бета-дефензина-1 у крыс.

Информированное согласие: Экспериментальное исследование проведено в полном соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики (изложенными в национальном стандарте «Принципы надлежащей лабораторной практики» ГОСТ Р 53434–2009), с соблюдением Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986), в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985), Общими этическими принципами экспериментов на животных (Россия, 2011), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003) и полужительным заключением этического комитета.

Финансирование: Данное исследование было выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта 20-75-00004.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Литература/References

1. Murray C. J., Ikuta K. S., Sharara F., Swetschinski L., Robles Aguilar G. [et al.]. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*. 2022;399:629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
2. Bolatchiev A., Baturin V., Shchetinin E., Bolatchieva E. Novel antimicrobial peptides designed using a recurrent neural

network reduce mortality in experimental sepsis. *Antibiotics*. 2022;11(3):411. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030411>

3. Shchetinin E., Baturin V., Arushanyan E., Bolatchiev A., Bobryshev D. Potential and possible therapeutic effects of melatonin on SARS-CoV-2 infection. *Antioxidants*. 2022;11(1):140. <https://doi.org/10.3390/antiox11010140>
4. Батурин В. А., Бошян Р. О. Оценка уровня антимикробных пептидов в крови у женщин репродук-

тивного возраста с воспалительными заболеваниями органов малого таза до и после антибактериальной терапии. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2021;16(2):159-161. [Baturin V. A., Boshyan R. O. Estimation of blood antimicrobial peptide levels in women of reproductive age with pelvic inflammatory disease before and after antibiotic therapy. *Meditsinskii vestnik Severnogo Kavkaza*. – Medical

News of North Caucasus. 2021;16(2):159-161. (In Russ.)].

<https://doi.org/10.14300/mnnc.2021.16035>

5. Chen J., Zhai Z., Long H., Yang G., Deng B. [et al.]. Inducible expression of defensins and cathelicidins by nutrients and associated regulatory mechanisms. *Peptides*. 2020;123:170177. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170177>

Поступила 19.04.2022

Сведения об авторе

Болатчиев Альберт Добаевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры клинической фармакологии с курсом ДПО; тел.: 89288205551; e-mail: bolatalbert@yandex.ru

© Коллектив авторов, 2022

УДК 611.728.2/738.1/.2:539.412.1

DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17100>

ISSN – 2073-8137

КРИТИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ ВНУТРИУТРОБНОГО МОРФОГЕНЕЗА СВЯЗОЧНОГО АППАРАТА ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

А. Е. Стрижков^{1,2}, Р. З. Нуриманов¹, В. Н. Николенко^{1,2}

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Российская Федерация

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Российская Федерация

CRITICAL PERIODS OF INTRAUTERINE MORPHOGENESIS OF THE LIGAMENOUS APPARATUS OF THE HIP JOINT

Strizhkov A. E.^{1,2}, Nurimanov R. Z.¹, Nikolenko N. V.^{1,2}

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Russian Federation

² M. V. Lomonosov Moscow State University, Russian Federation

В исследовании проводилось определение основных этапов и критических периодов развития связочного аппарата тазобедренного сустава человека в плодном периоде. Изучение внутри- и внесуставных связок тазобедренного сустава, мышц таза и бедра проведено на трупах 200 плодов в возрасте 12–38 недель. Использовали классические и авторские анатомические, гистологические, биомеханические и морфометрические методы исследования. Выявили два критических периода (18–21 и 28–31 недели), характеризующиеся замедлением роста, изменением структуры и экстремумом показателей биомеханических свойств связок, которые детерминируются изменениями динамического стереотипа проксимального сегмента скелета конечности плода.

Ключевые слова: тазобедренный сустав, суставные связки, мышцы таза, мышцы бедра, упруго-прочностные свойства, плод, морфогенез, критический период развития

In the study is to identify the main stages and critical periods of the development of the ligamentous apparatus of the human hip joint in the fetal period. The study of intra- and extra-articular ligaments of the hip joint, pelvic and hip muscles was carried out on the corpses of 200 fetuses aged from 12 to 38 weeks. We used classical and original anatomical, histological, biomechanical and morphometric methods of research. We identified two critical periods (weeks 18–21 and 28–31) characterized by growth retardation, changes in the structure and extremum of the biomechanical properties of the ligaments, which are determined by changes in the dynamic stereotype of the proximal segment of the fetal limb skeleton.

Keywords: hip joint, joint ligaments, pelvic muscles, thigh muscles, elastic-strength properties, fetus, morphogenesis, critical development period

Для цитирования: Стрижков А. Е., Нуриманов Р. З., Николенко В. Н. КРИТИЧЕСКИЕ ПЕРИОДЫ ВНУТРИУТРОБНОГО МОРФОГЕНЕЗА СВЯЗОЧНОГО АППАРАТА ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2022;17(4):417-421. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17100>

For citation: Strizhkov A. E., Nurimanov R. Z., Nikolenko N. V. CRITICAL PERIODS OF INTRAUTERINE MORPHOGENESIS OF THE LIGAMENOUS APPARATUS OF THE HIP JOINT. *Medical News of North Caucasus*. 2022;17(4):417-421. DOI – <https://doi.org/10.14300/mnnc.2022.17100> (In Russ.)