

Влияние ингибитора Toll-подобных рецепторов на ноцицептивную чувствительность крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки

А.Ю. Абрамова^{1,2}, С.С. Перцов^{1,2}, А.Ю. Козлов^{1,2}, Е.В. Никенина^{1,3}, Е.В. Коплик¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии имени П.К. Анохина», Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России,
Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

Резюме

Введение. Воздействие отрицательных эмоциогенных факторов может приводить к изменениям болевой чувствительности. Нарушения иммунного статуса могут быть причиной нарушений гомеостаза при стрессе. Перспективным подходом к предупреждению выраженности болевого синдрома после стрессорной нагрузки является применение блокаторов рецепторов врожденного иммунного ответа.

Цель исследования. Изучить изменения ноцицептивных реакций крыс после стрессорной нагрузки в условиях предварительного введения ингибитора Toll-подобных рецепторов-4 (TLR4).

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 40 крысах-самцах Вистар. Животных подвергали 24-ч иммобилизационному стрессу. Ингибитор TLR4 (CLI-095, 2 мг/кг) или физиологический раствор (ФР) вводили внутрибрюшинно непосредственно до стрессорного воздействия. Перцептуальный компонент ноцицепции у крыс оценивали по латентному периоду реакции отведения хвоста (ЛПРОХ) в ответ на светотермальную стимуляцию, а эмоциональный – по порогу вокализации (ПВ) при электрокожном раздражении. Измерения проведены сразу после стрессорной нагрузки.

Результаты. 24-ч иммобилизация крыс с предварительным введением ингибитора TLR4 приводила к увеличению ЛПРОХ в ответ на светотермальное раздражение сразу после иммобилизационного стресса. Следовательно, применение ингибитора TLR4 до стрессорного воздействия приводит к снижению ноцицептивной чувствительности у млекопитающих. Эмоциональный компонент ноцицепции не изменялся при введении ингибитора TLR4 до стрессорного воздействия.

Заключение. Блокада рецепторов врожденного иммунного ответа TLR4 предупреждает стрессогенные изменения перцепции боли и не оказывает влияния на эмоциональный компонент ноцицептивной чувствительности у крыс. Следовательно, характер влияния ингибиторов Toll-подобных рецепторов (TLRs) на ноцицептивную чувствительность млекопитающих во многом определяется условиями введения указанных веществ – в норме или при воздействии отрицательных факторов внешней среды.

Ключевые слова: крысы, ноцицептивные пороги, острое стрессорное воздействие, ингибитор Toll-подобных рецепторов, CLI-095.

Для цитирования: Абрамова А.Ю., Перцов С.С., Козлов А.Ю., Никенина Е.В., Коплик Е.В. Влияние ингибитора Toll-подобных рецепторов на ноцицепцию после иммобилизационного стресса. Российский журнал боли, 2019; 17 (4): 13–19. <https://doi.org/10.25731/RASP.2019.04.36>

Информация об авторах:

Абрамова А.Ю. – <https://orcid.org/0000-0001-5940-3056>

Перцов С.С. – <https://orcid.org/0000-0001-5530-4990>

Козлов А.Ю. – <https://orcid.org/0000-0003-4906-8439>

Никенина Е.В. – <https://orcid.org/0000-0003-4869-0576>

Коплик Е.В. – <https://orcid.org/0000-0003-3898-8133>

Автор, ответственный за переписку: Абрамова А.Ю. – e-mail: nansy71@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5940-3056>

Effect of inhibitor of Toll-like receptors on the nociceptive sensitivity in rats after a single long-term stress exposure

A.Yu. Abramova^{1,2}, S.S. Pertsov^{1,2}, A.Yu. Kozlov^{1,2}, E.V. Nikenina^{1,3}, E.V. Koplik¹

¹P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow, Russia;

²I.A. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia;

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Negative emotiogenic exposures can induce a change in nociception. Immune disturbances can cause disturbances of homeostasis during stress. Receptor inhibitors of the innate immune response hold much promise to preventing the severity of pain after stress-induced dysfunction.

Goal of study. This work was designed to study a change in nociception of rats after the stress exposure under conditions of prior administration of inhibitor of Toll-like receptor-4 (TLR4).

Materials and methods. Experiments were performed on 70 male Wistar rats. The animals were subjected to 24-h restraint stress. Inhibitor TLR4 (CLI-095, 2 mg/kg) or saline was injected intraperitoneally before the treatment. The perceptual component of nociception in rats was evaluated from the tail-flick latency (TFL) in response to light-heat stimulation. The perceptual component was determined from the vocalization threshold (VT) during electrocutaneous stimulation. The measurements were conducted immediately after the stress exposure.

Results. 24-h immobilization of rats with the prior administration of a TLR4 inhibitor induced an increase in TFL in response to light-heat stimulation immediately after the stress exposure. Hence, the nature of the effect of TLRs inhibitors on the nociceptive sensitivity of mammals is largely determined by the conditions for the introduction of these substances - normal or pathological.

Conclusion. The blockade of receptors of the innate immune response TLR4 prevents a stress-induced change and does not affect the emotional component of nociceptive sensitivity in rats.

Keywords: rats, nociceptive thresholds, acute stress exposure, Toll-like receptors.

For citation: Abramova A.Yu., Pertsov S.S., Kozlov A.Yu., Nikenina E.V., Koplik E.V. Effect of inhibitor of Toll-like receptors on the nociceptive sensitivity in rats after a single long-term stress exposure. Russian journal of pain 2019; 17 (4): 13–19. (In Russ.) <https://doi.org/10.25731/RASP.2019.04.36>

Information about the authors:

Abramova A.Yu. – <https://orcid.org/0000-0001-5940-3056>

Pertsov S.S. – <https://orcid.org/0000-0001-5530-4990>

Kozlov A.Yu. – <https://orcid.org/0000-0003-4906-8439>

Nikenina E.V. – <https://orcid.org/0000-0003-4869-0576>

Koplik E.V. – <https://orcid.org/0000-0003-3898-8133>

Correspondence author: Abramova A.Yu. – e-mail: nansy71@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5940-3056>

Введение

Боль – неприятное сенсорное и эмоциональное переживание, связанное с истинным или потенциальным повреждением ткани или описываемое в терминах такого повреждения [1]. На изменения болевой чувствительности у млекопитающих могут влиять как эндогенные, так и экзогенные факторы. К экзогенным факторам относится, в частности, целый ряд внешних стрессорных воздействий различного генеза. Выявлено, что короткие по длительности и умеренные по силе стрессоры стимулируют активность антиноцицептивной системы, что способствует развитию анальгетического эффекта [2, 3]. В то же время длительные и интенсивные стрессорные нагрузки приводят к патологическим изменениям в виде увеличения болевой чувствительности, что может быть обусловлено нарушениями выработки кортизола [4], периферической и центральной сенситизацией ноцицепторов, снижением или усиливением функциональной активности клеток ЦНС [5, 6].

Влияние стрессогенных факторов на организм млекопитающих вызывает изменение гомеостаза за счет ак-

тивации гипotalамо-гипофизарно-надпочечникового комплекса. Эти процессы сопровождаются рядом изменений в клетках и тканях, обеспечивающих адаптацию организма к стрессу. К таким изменениям относят выработку белков теплового шока, нуклеиновых кислот и продуктов некроза и апоптоза клеток [7]. Указанные биологически активные вещества объединены в группу «дистресс-ассоциированные молекулярные паттерны» (ДАМП, DAMP) [8] – эндогенные молекулы, способные инициировать иммунный ответ. При длительном или интенсивном действии стрессоров увеличивается синтез DAMP, что, в свою очередь, может приводить к нарушению иммунного статуса организма – одному из наиболее тяжелых последствий, возникающих при отрицательных эмоциогенных воздействиях [9, 10].

В настоящее время существует большое количество данных, иллюстрирующих роль нарушений иммунного статуса в механизмах ноцицепции [11, 12]. Описаны изменения ноцицептивной чувствительности при экзогенном антигенном воздействии [13] и активации рецепторов врожденного иммунного ответа [14].

К рецепторам врожденного иммунного ответа относят Toll-подобные рецепторы (TLR, Toll-like receptors) [15]. Указанные рецепторы составляют первую линию защиты от инфекций, сигнализируя о присутствии патогенов, и одновременно играют ключевую роль в продукции цитокинов [16]. В настоящее время у млекопитающих изучено 13 видов TLRs, каждый из которых имеет специфические лиганды. Такими лигандами могут являться не только патоген-ассоциированные молекулярные паттерны – ПАМП (PAMP), но и дистресс-ассоциированные молекулярные паттерны. Показано, что белки теплового шока вызывают усиленную выработку провоспалительных цитокинов при действии на TLR4 и TLR2 [17].

Одним из наиболее перспективных подходов к снижению выраженности или предупреждению нарушений иммунного статуса как при влиянии эндогенных, так и экзогенных стрессорных воздействиях является применение блокаторов TLRs [18]. Одним из таких соединений является TAK-242, или CLI-095, – селективный ингибитор TLR-4 (TLR4), который широко применяется в экспериментальных исследованиях на животных для изучения иммунозависимых механизмов различных физиологических и патофизиологических состояний [19, 20].

Следует отметить, что, несмотря на многообразие подходов к оценке и анализу показателей болевой чувствительности при различных нарушениях иммунного статуса, в литературе отсутствуют данные о влиянии стрессорных воздействий на иммунозависимые механизмы ноцицепции. В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение характера ноцицептивных реакций крыс после длительной иммобилизационной нагрузки в условиях предварительного введения ингибитора TLR4 (CLI-095).

Материалы и методы

Эксперименты проведены на 40 крысах-самцах Вистар с массой тела $320,5 \pm 5,0$ г. Животных содержали в клетках (по 5 особей в каждой) при температуре 20–22°C на стандартном пищевом рационе в искусственных условиях освещения (9:00–21:00 – свет, 21:00–9:00 – темнота). После доставки в лабораторию крысы проходили адаптацию к лабораторным условиям в течение 5 дней. При проведении опытов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными на заседании этической комиссии НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина (протокол № 1 от 3.09.2005), требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

Крысы были разделены на 4 экспериментальные группы по 10 особей в каждой. Животные группы I служили в качестве контроля; они проходили процедуру хэндинга с последующим нахождением в «домашних» клетках, затем им вводили физиологический раствор (ФР) в объеме 1 мл внутрибрюшинно. Группе крыс II вводили ФР, а затем подвергали стрессорной нагрузке – 24-часовой иммобилизации в индивидуальных пластиковых пенах размером 16,5x5,5 см на протяжении 1 суток (09:00–09:00). Выбор этой модели стресса обусловлен тем, что данный вид воздействия приводит к классическим проявлениям стрессорного ответа организма: инволюции

тимуса и селезенки, а также гипертрофии надпочечников у экспериментальных животных [21]. Кроме того, показано, что 24-ч иммобилизация крыс сопровождается выраженным изменением ноцицептивной чувствительности у крыс [22]. Животным III группы вводили внутрибрюшинно CLI-095 (синтетический ингибитор TLR4, InvivoGen) в дозе 2 мг/кг, разведенного до 1 мл ФР. Выбор этой дозы CLI-095 определялся в первую очередь характером действия данного соединения на ноцицептивную чувствительность экспериментальных животных. Показано, что внутрибрюшинное введение CLI-095 в указанной дозе предупреждает развитие аллодонии у животных [23]. Крысам IV группы вводили CLI-095, а затем подвергали иммобилизационному стрессу.

Через 24 часа после инъекции веществ у всех групп животных измеряли показатели ноцицептивных реакций. Перцептуальный компонент ноцицепции у крыс оценивали по латентному периоду реакции отведения хвоста (ЛПРОХ) в ответ на светотермальное раздражение методом «tail-flick». Измерения проводили на приборе Tail-Flick Analgesia Meter 0104-301V (Columbus Instruments, США). Животных помещали в специальные пластиковые пеналы. Осуществляли 5 предъявлений ноцицептивного раздражителя с последующим расчетом среднего значения ЛПРОХ в секундах у каждой особи. Эмоциональный компонент ноцицептивных реакций определяли по порогу вокализации крыс (ПВ, мА) в ответ на электрокожное раздражение хвоста. Для этого применяли металлические кольцевые электроды, фиксируемые на хвосте, и электростимулятор SEN-3201 (NihonKohden, Япония). Использовали следующие параметры электростимуляции: частота – 10 Гц, длительность импульса – 0,5 мс. Силу тока постепенно увеличивали с 0,25 до 1 мА до появления у крыс реакции вокализации (пiska).

Результаты опытов обрабатывали с помощью соответствующих статистических и аналитических методов с использованием пакетов программ STATISTICA 10.0 и Microsoft Office Excel 2010. Так как распределение полученных данных отличалось от нормального, анализ различий между двумя зависимыми переменными проводили с помощью непараметрического критерия Уилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Числовые данные в таблицах приведены в виде медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1; Q3).

Результаты

Числовые данные, отражающие показатели перцептуального и эмоционального компонентов ноцицептивных реакций у крыс разных экспериментальных групп, представлены соответственно в табл. 1 и 2.

При изучении изменений показателей перцептуального компонента ноцицепции в разных экспериментальных условиях были получены следующие результаты. Показано, что при введении ФР ЛПРОХ снижался на 4,73%, однако эти изменения не были статистически значимы. При введении ФР и последующей 24-ч иммобилизации установлено статистически значимое снижение ЛПРОХ – на 26,82% ($p < 0,01$) по сравнению с исходными показателями. В группе животных с внутрибрюшинным введением CLI-095 также обнаружено статистически значимое уменьшение показателя ЛПРОХ. Показате-

ли ЛПРОХ у этих крыс снижались на 13,15% ($p<0,01$). Противоположные результаты были получены у животных, которым вводили CLI-095 и затем подвергали иммобилизационному стрессу. У этих крыс установлено статистическое значимое увеличение ЛПРОХ сразу после стрессорного воздействия – на 30,91% ($p<0,001$) по сравнению с показателями в исходном состоянии.

На втором этапе исследования были проанализированы изменения показателей эмоционального компонента ноцицептивных реакций у крыс разных экспериментальных групп. Установлено, что введение ФР не влияет на показатели ПВ. Через 24 часа после инъекции ФР он составлял 0,6 мА и соответствовал исходному значению. Статистически значимые отличия были обнаружены у животных, которым вводили ФР и затем подвергали иммобилизационному стрессу. В этой экспериментальной группе ПВ снижался на 33% ($p<0,01$) по сравнению с исходными данными. В группе с введением CLI-095 без стрессорной нагрузки также обнаружено снижение показателей эмоционального компонента ноцицепции на 33%, однако эти изменения не были статистически значимы. При анализе изменений показателей эмоционального компонента в группе животных с введением CLI-095 и последующей стрессорной нагрузкой статистически значимых отличий выявлено не было: ПВ соответствовал исходному значению.

Таблица 1. Изменения показателя перцептуального компонента ноцицепции (ЛПРОХ, сек) разных экспериментальных групп (Ме (Q1; Q3)

Группа	Экспериментальные условия	Исходно	Через 24 часа
I.	ФР	4,86 (4,43; 5,45)	4,63 (4,43; 5,05)
II.	ФР – СТРЕСС	3,64 (3,12; 4,16)	2,66 (2,37; 2,97)**
III.	CLI-095	4,15 (3,86; 4,3)	3,61 (3,28; 3,75)**
IV.	CLI-095 – СТРЕСС	3,99 (3,72; 4,25)	5,23 (4,79; 5,67)***

Примечание: ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ по сравнению с соответствующими показателями в исходном состоянии.

Note: ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ compared to the baseline.

Таблица 2. Изменения показателя эмоционального компонента ноцицепции (ПВ, мА) разных экспериментальных групп (Ме (Q1; Q3)

Группа	Экспериментальные условия	Исходно	Через 24 часа
I.	ФР	0,6 (0,4; 0,6)	0,6 (0,4; 0,7)
II.	ФР – СТРЕСС	0,6 (0,4; 0,8)	0,4 (0,2; 0,6)**
III.	CLI-095	0,6 (0,4; 0,8)	0,4 (0,4; 0,6)
IV.	CLI-095 – СТРЕСС	0,6 (0,4; 0,8)	0,6 (0,6; 0,8)

Примечание: ** $p<0,01$ по сравнению с соответствующими показателями в исходном состоянии.

Note: ** $p<0,01$ compared to the baseline.

Обсуждение

В представленной работе изучен характер изменений перцептуального и эмоционального компонентов ноцицептивных реакций крыс при введении ингибитора Toll-подобных рецепторов до однократной длительной стрессорной нагрузки.

Установлено, что 24-ч иммобилизация животных с предварительным введением ФР приводит к снижению показателей обоих компонентов ноцицептивных реакций. Обнаруженные изменения свидетельствуют о том, что сразу после отрицательного длительного стрессорного воздействия происходит увеличение болевой чувствительности животных.

Введение ингибитора TLR4 не влияет на показатель эмоционального компонента ноцицепции, но приводит к снижению ЛПРОХ. Указанные изменения иллюстрируют усиление перцепции ноцицептивных факторов в условиях блокады TLR4. Напротив, выявлено, что внутрибрюшинная инъекция ингибитора TLR4 с последующим стрессорным воздействием оказывает противоположное действие на перцепцию боли у крыс. Обнаружено, что ЛПРОХ увеличивается в данных условиях, что отражает снижение ноцицептивной чувствительности. Следует отметить, что эмоциональный компонент ноцицепции не изменяется в условиях введения ингибитора TLR4 и последующего стрессорного воздействия.

Обсуждая полученные результаты, следует подчеркнуть, что изменения болевой чувствительности при эмоциональном воздействии могут быть вызваны как различной природой стрессоров, так и продолжительностью и интенсивностью самого воздействия. Например, многократная 4-часовая иммобилизация животных приводит к усилиению перцепции боли [24], а кратковременное и низкое по интенсивности стрессорное воздействие вызывает анальгезию [3].

Формирование разнонаправленных изменений болевой чувствительности может быть обусловлено механизмами, связанными с определенной стадией стрессорного ответа. Известно, что в стадию тревоги происходят наиболее выраженные изменения физиологических функций, а в начале стадии резистентности преобладают компенсаторные процессы [25]. Следует подчеркнуть, что во многом колебания болевой чувствительности связаны с усиленным выделением в разные стадии стресса определенных биологически активных веществ, обладающих либо анальгезирующими эффектом, либо вызывающим усиление ноцицептивного проведения возбуждения. Показано, что на ранней стадии стрессорного ответа происходит активация эндогенной каннабиноидной системы за счет повышения возбудимости CB1-рецепторов на пирамидных нейронах гиппокампа [26]. По мнению ряда авторов, активность эндогенной каннабиноидной системы является одним из определяющих факторов в формировании антиноцицептивного действия стресса [27; 28]. В то же время на начальном этапе стрессорного ответа происходит активация симпато-адреналовой системы, что проявляется в усиленной продукции катехоламинов и активации стресс-лимитирующих механизмов, в том числе эндогенной опиоидной системы [29].

Полученные нами данные об усилении болевой чувствительности при стрессорном воздействии могут быть обусловлены рядом причин. В частности, установлено, что снижение продукции катехоламинов может оказывать влияние на развитие хронической нейрогенной боли [30]. Также не исключено, что снижение болевых порогов при стрессе является следствием недостаточной активности стресс-лимитирующих систем в ранние сроки после стрессорного воздействия. Можно предположить, что сниженная функциональная активность этих систем может быть обусловлена иммунными процессами, развивающимися при ответе организма на действие экзогенных стрессорных факторов [9].

Острые или хронические стрессорные воздействия могут приводить как к усилению, так и к ослаблению иммунного ответа на действие повреждающего фактора. Установлено, что острый стресс сопровождается повышенной пролиферацией иммунокомпетентных клеток лейкоцитарного ряда, в то время как хронический стресс оказывает подавляющее воздействие на клетки иммунной системы [31]. Выявлен дисбаланс активности Т-хелперов 1-го и 2-го типа при разных видах стрессорных воздействий, что приводит к сдвигу соотношения про- и противовоспалительных цитокинов [32].

Известно, что боль – многокомпонентная интегративная реакция организма на повреждение или представление такого повреждения. Наряду с другими компонентами болевого ответа в последние годы активно изучается иммунный компонент ноцицепции. Это обусловлено большим количеством данных, иллюстрирующих важную роль нарушений нейроиммунных взаимодействий в патогенезе острой и хронической боли [33, 34]. Особое внимание в этом плане уделяется цитокинам – полипептидным медиаторам межклеточных взаимодействий. Продукция большинства цитокинов является частью клеточного ответа, связанного с распознаванием клетками миеломоноцитарного ряда как патоген-ассоциированных молекулярных паттернов [35], так и дистресс-ассоциированных молекулярных паттернов [36]. Следует подчеркнуть, что анализ изменений цитокинового баланса в норме и при патологии достаточно сложен: эти соединения обладают свойством плейотропности и, в зависимости от ряда условий, могут оказывать стимулирующее, ингибирующее или модулирующее действие на развитие иммунного ответа. В то же время установлено, что усиленная выработка ряда цитокинов (ФНО, ИЛ-1 β и ИЛ-6) может вызывать периферическую сенсилизацию ноцицепторов, в результате чего усиливается чувствительность нейронов к последующему действию раздражителя [37]. Таким образом, выявленное в нашей работе повышение ноцицептивной чувствительности животных в ранние сроки после иммобилизационного стресса согласуется с опубликованными данными о влиянии продуцируемых при стрессорном ответе цитокинах на болевые реакции у млекопитающих.

В механизмах врожденного неспецифического иммунного ответа ведущая роль принадлежит Toll-подобным рецепторам. Известно, что специфическими лигандами для этих видов рецепторов могут служить различные биологически активные соединения. Роль TLRs в механизмах развития иммунного ответа при экзогенном антигенном воздействии описана во многих научных исследованиях [38, 39]. При взаимодействии фрагментов

молекул антигена с TLRs запускается каскад иммунных реакций с вовлечением адаптерных белков, что ведет к последующей продукции цитокинов и других биологически активных веществ, ассоциированных с воспалением.

TLRs входят в общую группу паттерн-распознающих рецепторов (pattern-recognition receptors, PRR) [40], лигандами для которой являются алармины (англ. «alarm» – опасность). Алармины – общее название молекулярных паттернов, способных инициировать в организме иммунный ответ. Эта группа включает в себя и DAMP: связанные с повреждением молекулы теплового шока (англ. heat shock proteins – HSP), фибронектин, фибронектин, олигосахариды гиалуроновой кислоты, распознаваемые преимущественно рецепторами фагоцитирующих клеток, а также целый ряд стрессорных молекул (MICA, MICB, RAE-1, ULBP1, ULBP2, ULBP3), которые связываются преимущественно с рецепторами NK-клеток [41]. Следует подчеркнуть, что разные DAMP и PAMP могут распознаваться одними и теми же рецепторами. Известно, в частности, что TLR4 и TLR2 являются эфекторными рецепторами не только для ЛПС, но и для белков теплового шока hsp60 и hsp70, олигосахаридов гиалуроновой кислоты и других эндогенных соединений [41].

Непрерывная активация или нарушение регуляции передачи сигналов паттерн-распознающими рецепторами может способствовать возникновению хронических заболеваний. Таким образом, перспективным направлением в терапии или предупреждении указанных расстройств является блокада TLRs. Следует отметить, что, несмотря на большое число работ, посвященных изучению функций этих рецепторов в формировании как иммунного ответа в организме млекопитающих, так в организации нейроиммунных взаимодействий, возможность применения блокаторов TLRs в терапии патологической боли все еще изучается [42]. Известно, что иммунная система играет неотъемлемую роль в механизмах хронизации болевого синдрома. Однако на сегодняшний день не существует терапии, направленной на регуляцию иммунных механизмов боли и обезболивания. В этом контексте имеются лишь отдельные сведения, указывающие на возможность применения блокаторов TLR4, как к новому подходу к лечению и профилактике хронических болевых синдромов [43].

В нашем исследовании показано, что внутрибрюшинное введение ингибитора TLR4 в условиях физиологической нормы приводит к усилению перцептуального компонента ноцицепции. Это может быть обусловлено наличием в организме млекопитающих регуляторных механизмов, обеспечивающих поддержание гомеостаза по принципу отрицательной обратной связи. Подавление активности рецепторов врожденного иммунного ответа приводит к сдвигу гомеостатических констант организма, что, по-видимому, является причиной изменения иммунного статуса. Полученные данные согласуются с мнением ряда авторов, указывающих на возможную регуляцию TLR-сигнального пути по принципу механизмов обратной связи [44].

В то же время установленное в нашей работе снижение перцепции боли при блокаде TLR4 и последующей стрессорной нагрузке существенно расширяет имеющиеся на-

учные сведения о роли нейроиммунных взаимодействий в механизмах ноцицепции при длительном стрессе. Вероятно, указанные изменения иллюстрируют развитие активных адаптивных процессов, направленные на регуляцию иммунного ответа при повышении концентрации DAMP в условиях экстремальных воздействий.

Обобщая приведенные данные, можно предположить, что характер влияния ингибиторов TLRs на ноцицептивную чувствительность млекопитающих во многом определяется условиями введения указанных веществ – в норме или при воздействии отрицательных факторов внешней среды. Это может быть обусловлено ролью

нейроиммунных взаимодействий в регуляторных механизмах ноцицепции. Тонкие механизмы, лежащие в основе вовлечения иммунных факторов в регуляцию боли, являются предметом наших дальнейших исследований.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета и не имело спонсорской поддержки.

Список литературы / References

- Merskey H., Bogduk N. Classification of chronic pain: descriptions of chronic painsyndromes and definitions of pain terms (2nd ed.). Seattle: IASP Press, 1994. 240 p.
- Imbe H., Iwai-Liao Y., Senba E. Stress-induced hyperalgesia: animal models and putative mechanisms. *Front. Biosci.* 2006; 11: 2179–2192.
- Jaggi A.S., Bhatia N., Kumar N., et al. A review on animal models for screening potential anti-stress agents. *Neurol. Sci.* 2011; 32 (6): 993–1005.
- Hannibal K.E., Bishop M.D. Chronic stress, cortisol dysfunction, and pain: a psychoneuroendocrine rationale for stress management in pain rehabilitation. *Phys. Ther.* 2014, 94(12): 25–1816.
- da Silva Torres I.L., Cucco S.N., Bassani M., et al. Long-lasting delayed hyperalgesia after chronic restraint stress in rats-effect of morphine administration. *Neurosci. Res.* 2003; 45 (3): 277–283.
- Kim S.H., Moon I.S., Park I.S. Unique hippocampal changes and allodynia in a model of chronic stress. *J. Korean Med. Sci.* 2013; 28 (6): 946–950.
- Rock K.L., Hearn A., Chen C.J., Shi Y. Natural endogenous adjuvants. *Springer Semin. Immunopathol.* 2005, 26 (3): 46–231.
- Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu. Rev. Immunol.* 1994; 12: 991–1045.
- Корнева Е.А., Шанин С.Н., Новикова Н.С., Пугач В.А. Клеточно-молекулярные основы изменения нейроиммунного взаимодействия при стрессе. *Рос. физiol. журн. им. И.М. Сеченова* 2017; 103 (3): 217–229.
- Korneva E.A., Shanin S.N., Novikova N.S., Pugach V.A. [Cell-molecular basis of neuroimmune interactions during stress]. *Ros. Fiziol. Zhurn. Im. I.M. Sechenova* 2017; 103 (3): 217–229. (In Russ.).
- Porcelli B., Pozza A., Bizzaro N., et al. Association between stressful life events and autoimmune diseases: A systematic review and meta-analysis of retrospective case-control studies. *Autoimmun. Rev.* 2016; 15 (4): 325–334.
- Baral P., Udit S., Chiu I.M. Pain and immunity: implications for host defence. *Nat. Rev. Immunol.* 2019, 19 (7): 433–447.
- Raoof R., Willemsen HLD., Eijkelenkamp N. Divergent roles of immune cells and their mediators in pain. *Rheumatology (Oxford)*. 2018, 57 (3): 429–440.
- Абрамова А.Ю., Перцов С.С. Липополисахариды и ноцицепция. *Рос. журн. боли* 2014; (2): 30–38.
- Abramova A.Yu., Pertsov S.S. [Lipopolysaccharides and nociception]. *Ros. Zhurn. Boli* 2012; 2 (35): 7–10. (In Russ.).
- Lacagnina M.J., Watkins L.R., Grace P.M. Toll-like receptors and their role in persistent pain. *Pharmacol. Ther.* 2018; 184: 145–158.
- Medzhitov R., Janeway C.Jr. Innate immune recognition: mechanisms and pathways. *Immunol. Rev.* 2000, 173: 89–97.
- Cen X., Liu S., Cheng K. The Role of Toll-Like Receptor in Inflammation and Tumor Immunity. *Front. Pharmacol.* 2018, 9: 878.
- Janeway C.A. Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 2002; 20: 197–216.
- Matsunaga N., Tsuchimori N., Matsumoto T., Ii M. TAK-242 (resatorvid), small-molecule inhibitor of Toll-like receptor (TLR) 4 signaling, binds selectively to TLR4 and interferes with interactions between TLR4 and its adaptor molecules. *Mol. Pharmacol.* 2011, 79 (1): 34–41.
- Wittebole X., Castanares-Zapatero D., Laterre P.F. Toll-like receptor 4 modulation as a strategy to treat sepsis. *Mediators Inflamm.* 2010, 2010: 568396.
- Zhao Y., Xin Y., Gao J., et al. Analgesic effect of TAK-242 on neuropathic pain in rats. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015, 8 (7): 7-11202.
- Алексеева И.В., Абрамова А.Ю., Козлов А.Ю. и др. Состояние органов-маркеров стресса у крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки в условиях введения липополисахарида. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2019; 167 (5): 561–565.
- Alekseeva I.V., Abramova A.Yu., Kozlov A.Yu., et al. [State of stress-marker organs in rats after single prolonged stress under conditions of lipopolysaccharide treatment]. *Byull. Eksp. Biol. Med.* 2019; 167 (5): 561–565. (In Russ.).
- Абрамова А.Ю., Никенина Е.В., Козлов А.Ю., Перцов С.С. Ноцицептивные реакции у крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки. *Рос. журнал боли* 2018; 2 (56): 3–4.
- Abramova A.Yu., Nikenina E.V., Kozlov A.Yu., Pertsov S.S. [Nociceptive reaction in rats after single prolonged stress]. *Ros. Zhurn. Boli* 2018; 2 (56): 3–4. (In Russ.).
- Woller S.A., Ravula S.B., Tucci F.C., et al. Systemic TAK-242 prevents intrathecal LPS evoked hyperalgesia in male, but not female mice and prevents delayed allodynia following intraplantar formalin in both male and female mice: The role of TLR4 in the evolution of a persistent pain state. *Brain Behav. Immun.* 2016, 56: 80–271.
- Козлов А.Ю., Абрамова А.Ю., Чехлов В.В. и др. Ноцицептивные реакции у крыс при многократных стрессорных воздействиях. *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2015; 159 (6): 676–680.
- Kozlov A.Yu., Abramova A.Yu., Chekhlov V.V., et al. [Nociceptive reactions in rats during repeated stress exposures]. *Byull. Eksp. Biol. Med.* 2015; 159 (6): 676–680. (In Russ.).
- Абрамова А.Ю., Коплик Е.В., Алексеева И.В., Перцов С.С. Уровни глюкозы крови крыс с разной поведенческой активностью в динамике многократных стрессорных воздействий. *Росс. медико-биол. вест. им. академика И.П. Павлова*. 2019, 27 (1): 10–19.
- Abramova A.Yu., Koplik E.V., Alekseeva I.V., Pertsov S.S. [Blood glucose level in rats with various behavioral characteristics in the dynamics after repeated stress exposures]. *Ross. mediko-biol. Vest. im. Akademika I.P. Pavlova*. 2019, 27 (1): 10–19. (In Russ.).
- Чурюканов М.В., Чурюканов В.В. Эндогенная каннабиоидная система: участие в формировании боли и анальгезии. *Боль*. 2005, 3 (8): 62–71.
- Churukanov M.V., Churukanov V.V. [Endocannabinoid system: role in the formation of pain and analgesia]. *Bol'*. 2005, 3 (8): 62–71 (In Russ.).
- Corcoran L., Roche M., Finn D.P. The role of the brain's endocannabinoid system in pain and its modulation by stress. *Int. Rev. Neurobiol.* 2015; 125: 203–55.
- Woodhams S.G., Chapman V., Finn D.P., et al. The cannabinoid system and pain. *Neuropharmacology* 2017; 124: 105–120.
- Ferdousi M., Finn D.P. Stress-induced modulation of pain: role of the endogenous opioid system. *Prog. BrainRes.* 2018; 239: 121–177.
- Каплиев А.В., Котиева И.М. Роль дienceфальной моноаминергической дисфункции в генезе хронической нейрогенной боли. *Ж. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2014, 114 (5): 42–45.
- Kapliev A.V., Kotieva I.M. [Role of diencephalic monoaminergic dysfunction in the genesis of chronic neurogenic pain]. *Zh. nevrologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova*. 2014, 114 (5): 42–45. (In Russ.).
- Dhabhar F.S., McEwen B.S. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav. Immun.* 1997, 11 (4): 286–306.
- Ray A., Gulati K., Rai N. Stress, Anxiety, and Immunomodulation: A Pharmacological Analysis. *Vitam. Horm.* 2017, 103: 1–25.
- Zouikri I., Karshikoff B. Lifetime modulation of the pain system via neuroimmune and neuroendocrine interactions. *Front. Immunol.* 2017; 8: 276. doi: 10.3389/fimmu.2017.00276.
- Hore Z., Denk F. Neuroimmune interactions in chronic pain – an interdisciplinary perspective. *Brain Behav. Immun.* 2019; 79: 56–62.

35. Medzhitov R., Janeway C.A. Jr. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.* 1997, 9 (1): 4–9.
36. Franklin T.C., Xu C., Duman R.S. Depression and sterile inflammation: Essential role of danger associated molecular patterns. *Brain Behav. Immun.* 2018, 72 (8): 2–13.
37. Cook A.D., Christensen A.D., Tewari D., et al. Immune cytokines and their receptors in inflammatory pain. *Trends Immunol.* 2018; 39 (3): 240–255.
38. Lim K.H., Staudt L.M. Toll-like receptor signaling. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2013, 5(1): a011247.
39. Marion C.R., Lee J., Sharma L., et al. Toll-like Receptors 2 and 4 Modulate Pulmonary Inflammation and Host Factors Mediated by Outer Membrane Vesicles derived from *Acinetobacter baumannii*. *Infect. Immun.* 2019, 1 (7), pii: IAI.00243-19. [Epub ahead of print].
40. Bianchi M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc. Biol.* 2007, 81(1): 1–5.
41. Черешнев В.А., Черешнева М.В. Иммунологические механизмы локального воспаления. *Медицинская иммунология*. 2011, 13 (6): 557–568.
- Chereshnev V.A., Chereshneva M.V. [Immunological mechanisms of local inflammation]. *Meditinskaya immunologiya*. 2011, 13 (6): 557–568. (In Russ.).
42. Bettoni I., Comelli F., Rossini C., et al. Glial TLR4 receptor as new target to treat neuropathic pain: efficacy of a new receptor antagonist in a model of peripheral nerve injury in mice. *Glia*. 2008, 56 (12): 1312–1319.
43. Bruno K., Woller S.A., Miller Y.I., et al. Targeting toll-like receptor-4 (TLR4)-an emerging therapeutic target for persistent pain states. *Pain*. 2018, 159(10): 1908–1915.
44. Заморина С.А., Раев М.Б. Toll-подобные рецепторы – подъем по тревоге. *Бюлл. Оренбургского научного центра УРО РАН*. 2016, 2 (5): 8–16.
- Zamorina S.A., Raev M.B. [Toll-like receptors – rise in alarm]. *Byull. Orenburgskogo nauchnogo tsentra URO RAN*. 2016, 2 (5): 8–16 (In Russ.).

*Поступила: 12.07.19**Принята в печать: 14.10.19**Received: 12.07.19**Accepted: 14.10.19*