

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

АБРАМОВА МАРИНА ВЛАДИМИРОВНА

**ФАКТОРЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА У САМОК КРЫС
И ИХ ПОТОМСТВА ПРИ НОРМАЛЬНЫХ РОДАХ
И БОЛЕВОЙ СТИМУЛЯЦИИ**

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Заслуженный работник высшей школы РФ,
кандидат медицинских наук, доцент
Бойченко Александр Евгеньевич.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор
Михельсон Александр Феликсович.

Ростов-на-Дону - 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	15
1.1. Боль, как феномен	15
1.2. Феномен боли при родах	16
1.2.1. Морфологический и биохимический субстрат	16
1.2.2. Физиологическое значение родовой боли	19
1.2.3. Негативная составляющая обезболивания родов	23
1.3. Раздражители неантигенной природы и иммунитет	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	42
2.1. Характеристика объекта и серий исследований	42
2.2. Постановка экспериментов с моделированием острой боли	48
2.3. Методика исследования активности лизоцима.....	49
2.4. Метод исследования С-реактивного белка	51
2.5. Методика исследования С3 компонента комплемента.....	51
2.6. Методика исследования фагоцитарной активности нейтрофилов	52
2.7. Методы статистического анализа результатов исследований	55
2.8. Обобщенная блок-схема структуры экспериментального исследования .	55
ГЛАВА 3. ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛИЗОЦИМА ИНТАКТНЫХ И ПОДВЕРГНУТЫХ БОЛЕВОЙ СТИМУЛЯЦИИ БЕРЕМЕННЫХ САМОК КРЫС ДО И ПОСЛЕ РОДОВ. ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛИЗОЦИМА У ПРИПЛОДА ДО И ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ ОТ ИНТАКТНЫХ КРЫС И КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ БОЛЕВОЙ СТИМУЛЯЦИИ НАКАНУНЕ РОДОВ.....	57
3.1. Изменение активности лизоцима у интактных крыс до и после родов	59
3.2. Изменение активности лизоцима до и после родов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию	62
3.3. Изменение активности лизоцима сыворотки крови приплода интактных крыс до и после родов	64
3.4. Изменение активности лизоцима сыворотки крови приплода крыс, подвергнутых аллогенному воздействию до и после родов	67

ГЛАВА 4. С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК ИНТАКТНЫХ И ПОДВЕРГНУТЫХ АЛЛОГЕННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ КРЫС И ИХ ПОТОМСТВА ДО И ПОСЛЕ РОДОВ.....	71
4.1. Изменение содержания С- реактивного белка у intactных крыс до и после родов	74
4.2. Изменение содержания С- реактивного белка до и после родов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию	76
4.3. Содержание С - реактивного белка у приплода intactных крыс до и после рождения	79
4.4. Изменение содержания С-реактивного белка у приплода стимулированных крыс до и после рождения.....	81
ГЛАВА 5. ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ С3 КОМПОНЕНТА КОМПЛЕМЕНТА У КРЫС И ИХ ПОТОМСТВА ПРИ НОРМАЛЬНОМ ТЕЧЕНИИ РОДОВ И ПРЕДШЕСТВУЮЩЕЙ АЛЛОГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ	84
5.1. Изменение содержания С3 компонента комплемента у intactных крыс до и после родов	86
5.2. Изменение содержания С3 компонента комплемента до и после родов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию на завершающем этапе беременности	89
5.3. Изменение содержания С3 компонента комплемента у приплода intactных крыс до и после рождения	91
5.4. Изменение содержания С3 компонента комплемента у приплода до и после родов от крыс, подвергнутых аллогенному воздействию	93
ГЛАВА 6. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРЫС И ИХ ПОТОМСТВА В УСЛОВИЯХ НОРМАЛЬНЫХ РОДОВ И ПРИ БОЛЕВОЙ СТИМУЛЯЦИИ НАКАНУНЕ РОДОВ	98
6.1. Фагоцитарная активность нейтрофилов у intactных крыс до и после родов	99
6.1.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у intactных крыс до родов и после родоразрешения.....	99

6.1.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у intactных крыс до родов и после родоразрешения	102
6.1.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у intactных крыс до родов и после родоразрешения.....	106
6.2. Фагоцитарная активность нейтрофилов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов	108
6.2.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов	108
6.2.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов.....	112
6.2.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов	116
6.3. Фагоцитарная активность нейтрофилов у приплода intactных крыс до и после родов	123
6.3.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у приплода intactных крыс до родов и после родоразрешения.	123
6.3.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у приплода intactных крыс до родов и после родоразрешения.....	127
6.3.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у приплода intactных крыс до родов и после родов.....	131
6.4. Фагоцитарная активность нейтрофилов у приплода крыс, подвергнутых аллогенному воздействию	133
6.4.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у приплода до родов и в раннем послеродовом периоде, матери которых накануне родов подверглись болевому воздействию	133
6.4.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у приплода крыс подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов	138
6.4.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у приплода крыс подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов.....	142
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	149

ВЫВОДЫ.....	178
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	179
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ	180
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	182
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	211

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Проблема боли относится к непреходящим. Отношение к боли двойственное, как двойственен и сам типовой патологический процесс под названием «боль». С одной стороны крайне негативное отношение индивидуума к боли, с другой – осознание ее целесообразности, как сигнала повреждения или угрозы повреждения структуры или функции органов и систем целостного организма.

Боль имеет доказательную оценку как фактора, приводящего к мобилизации резервов, обеспечивающих резистентность организма по отношению к неблагоприятным факторам (Крыжановский Г.Н., 1985, 1997, 1999, 2000; Кукушкин М.Л., 2003, 2004, 2007, 2011; Овсянников В.Г., 1990, 2003, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015). Считается, что 80% граждан имеют в анамнезе приступы боли.

На сегодняшний день фундаментально исследованы морфология движения болевого сигнала, его биохимическая основа, триггерные механизмы; создана теоретическая и практическая база терапии боли (Игнатов Ю.Д., 1982, 1986, 1990; Кукушкин М.Л., 2004-2016; Овсянников В.Г., 1990, 2003; Куликов А.В., Шифман Е.М., 2013; Jones A.R.P., 2003).

Актуальность работы определяется тем, что отношение социума к родовой боли и обезболиванию родов не сформировано окончательно до настоящего времени (Полушин Ю.С., Коростылев Ю.М., Вартанова И.В., 2015). Необходимо понимание, когда и при какой степени интенсивности родовой боли необходимо анестезиологическое пособие, чтобы не допустить ее перерастание в самостоятельный этиологический фактор повреждения (Кукушкин М.Л., 2010).

Предпринятое исследование позволяет комплексно оценить механизмы активации как гуморальных, так и клеточных факторов врожденного иммунитета, а точнее их наиболее значимых представителей: лизоцима, С – реактивного белка, С3 фракции комплемента, нейтрофилов крови, - в ответ на болевой стимул, предшествующий началу родовой деятельности, установить

какие из них вовлекаются в долорогенный процесс первично, а какие вторично, индуцировано.

Исходя от обратного, а именно понимания влияния болевого стимула, наносимого накануне родов, на активацию факторов врожденного иммунитета, можно судить о том, что теряет организм, исключив компонент боли из родов. На этой теоретической основе сформулировать рекомендации о целесообразности превентивной коррекции возможного иммунодефицитного состояния, связанного с анестезией и исключением боли как фактора стимуляции врожденных механизмов защиты.

Таким образом, изучение механизмов боли, нанесенной беременным накануне родов, и вовлечения факторов врожденного иммунитета в аллогенный процесс делает проблему актуальной как с медико-биологических позиций, так и социальных.

Степень разработанности темы. Имеются многочисленные исследования патогенеза соматической боли, висцеральной боли. Ее начальные проявления возникают, как правило, на фоне неизмененного функционального состояния организма. И если боль воспринимается как основной сигнал повреждения или его угрозы, то в отдельных случаях назначение боли остается не вполне понятным, а стало быть, и не вполне ясной остается тактика врача по отношению к такой боли.

Примером может служить родовая боль. Она по своей природе и висцеральная и соматическая. Такая боль возникает в большинстве случаев у практически здоровых женщин, когда организм выполняет физиологическую функцию, детерминированную самой природой. По мере развития цивилизации борьба с родовой болью обрела социальный заказ. До 90 % рожаящих женщин в мировой акушерской практике прибегают к обезболиванию родов. В нашей стране эта тенденция получила развитие в последние пятнадцать лет (Куликов А.В., Шифман Е.М., 2013; Белоробородов А.И., Карпенко М.А., 2016; Почетный В.М., Киселев Е.В., 2017).

На протяжении всего периода от начала обезболивания родов до настоящего времени в литературе обсуждаются негативные последствия обезболивания родов. (Шифман Е.М., 1997, 2002; Herrera-Gomez A. et al., 2015; Hoefnagel A. et al., 2016; Armstrong S., Fernando R., 2016).

Все без исключения авторы объясняют негативные последствия обезболивания несовершенством технологий, свойствами используемых обезболивающих средств и никто даже не упоминает о возможных негативных последствиях исключения боли как таковой из сценария родовой деятельности. С обезболиванием женщина обрела комфорт, но что потеряно ее организмом? Это остается за рамками исследований.

Актуальность настоящего исследования определяется попыткой выяснить: боль причиняет только страдание роженице или несет на себе позитивный компонент ей и ее потомству? Ответ на этот вопрос, как полагаем, можно получить путем экспериментального исследования, избрав в качестве объекта моделирования крыс. Воспроизведение патологии на крысах следует считать наиболее адекватным, т.к. эти животные имеют 90% генов общих с генами человека, а стало быть, и обмен веществ и функции этих двух видов имеют основания для сравнения (Abbott A., 2004).

Конечно, предполагаемая в работе экспериментальная модель не повторяет болевое сопровождение родов. Это воспроизведение бинарной боли на фоне измененного беременностью функционального состояния экспериментального животного, которая предшествует началу родов. В литературе имеются достаточное количество трактовок, объясняющих назначение боли в динамике родов, и практически полностью отсутствует объяснение значения первого аккорда боли: это свидетельство приближающегося события или запуск механизма превентивного формирования его обеспечения.

Результаты исследования не могут быть перенесены на человека без их дальнейшего углубленного исследования.

Цель работы: изучить динамику факторов врожденного иммунитета при измененном функциональном состоянии организма самок крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов, и их потомства.

Задачи исследования:

1. Изучить активность лизоцима, содержание С-реактивного белка, С3 компонента комплемента, фагоцитарную активность нейтрофилов (ПАНф-1, ПАНф-4, ФЧ-1, ФЧ-4, ИЗФ) в периферической крови у самок крыс накануне нормальных родов и в раннем послеродовом периоде.

2. Исследовать активность лизоцима, содержание С-реактивного белка, С3 компонента комплемента, фагоцитарную активность нейтрофилов (ПАНф-1, ПАНф-4, ФЧ-1 ФЧ-4, ИЗФ) в периферической крови накануне родов и в раннем послеродовом периоде у самок крыс, подвергнутых аллогенному воздействию.

3. Выявить особенности изменения активности лизоцима, содержания С-реактивного белка, С3 компонента комплемента, фагоцитарной активности нейтрофилов (ПАНф-1, ПАНф-4, ФЧ-1 ФЧ-4, ИЗФ) в периферической крови приплода интактных крыс накануне нормальных родов и в раннем послеродовом периоде.

4. Обнаружить возможные изменения активности лизоцима, содержания С-реактивного белка, С3 компонента комплемента, фагоцитарной активности нейтрофилов (ПАНф-1, ПАНф-4, ФЧ-1, ФЧ-4, ИЗФ) периферической крови накануне родов и в раннем послеродовом периоде у приплода крыс, подвергнутых аллогенному воздействию.

Научная новизна исследования. Впервые дается комплексная оценка реакции со стороны гуморальных и клеточных факторов врожденного иммунитета – лизоцима, С-реактивного белка, С3-фракции комплемента, нейтрофилов крови в динамике экспериментального воспроизведения острой соматической и висцеральной боли.

Впервые предложена для изучения экспериментальная модель острой бинарной боли у животных с измененным беременностью и родами функциональным состоянием.

Выявлено, что в ответ на острую бинарную боль происходит вовлечение в аллогенный процесс факторов врожденного иммунитета, при этом у взрослых самок доминирует активация гуморальных факторов врожденного иммунитета – лизоцима, СРБ, С3-фракции комплемента, а у их приплода доминирует повышение фагоцитарной активности нейтрофилов.

Впервые проведено сопоставление реакции гуморальных и клеточных факторов врожденного иммунитета у беременных самок и их приплода до нормальных родов и в раннем послеродовом периоде.

Впервые проведено сопоставление реакции гуморальных и клеточных факторов врожденного иммунитета у самок крыс и их потомства на острую бинарную боль накануне родов, в первые, третьи и пятые сутки после родоразрешения с аналогичными показателями в те же сроки у интактных (не подвергнутых аллогенному воздействию) животных и их потомства. Установлено, что активация факторов врожденного иммунитета у животных обеих групп сравнения носит однонаправленный характер. У животных, подвергнутых аллогенному воздействию, она более выражена и более продолжительна.

На основании анализа собственных результатов, сопоставления их с данными литературы, предложен алгоритм (принципиальная схема) поэтапного вовлечения гуморальных и клеточных факторов врожденного иммунитета в аллогенный процесс у беременных самок и их приплода до родов и в раннем послеродовом периоде.

Теоретическая и практическая значимость работы. Впервые проведено комплексное исследование факторов врожденного иммунитета у самок крыс и их потомства до родов и в раннем послеродовом периоде при нормальных родах и предшествующей им болевой стимуляции. Полученный материал расширяет представления о патогенезе боли, возникающей на фоне измененной реактивности организма и являющейся по своей природе бинарной болью.

Результаты исследования внедрены в образовательный процесс в РостГМУ на кафедре патологической физиологии, кафедре анестезиологии и

реаниматологии, а также кафедре микробиологии и вирусологии №2 при освоении студентами, ординаторами преподаваемых дисциплин.

Фактический материал может быть полезен в практической деятельности врачей акушеров-гинекологов, анестезиологов-реаниматологов, неонатологов, педиатров, иммунологов.

Методология и методы исследования. При выполнении исследования автор руководствовалась методологией естественного научного объективизма и использовала основной метод патологической физиологии – экспериментальное моделирование бинарной боли у беременных самок крыс накануне родов. Избранный методологический подход позволил вскрыть диалектику связей между первичным болевым сигналом и превентивной активацией факторов врожденного иммунитета.

В работе использованы физиологические, патофизиологические, биохимические, иммуноферментные, микробиологические, морфологические, электротехнические, математические методики, а также методики анализа и синтеза как составляющие метода научного познания.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Нормальные роды имеют своим следствием активацию гуморальных факторов врожденного иммунитета у самок крыс накануне родов: активность лизоцима повышается, содержание СРБ нарастает, уровень С3 компонента комплемента снижается. Отмечается увеличение поглотительной способности нейтрофилов, переваривающая активность остается неизменной.

2. В послеродовом периоде у интактных крыс возрастает активность лизоцима, снижается содержание С3 компонента комплемента, повышается уровень СРБ, возрастает поглотительная активность нейтрофилов.

3. У приплода, рожденного интактными самками, в раннем послеродовом периоде отмечается повышение активности лизоцима в периферической крови, содержание СРБ и С3 компонента комплемента остается без изменений, (по отношению к контрольным значениям)

поглощительная и переваривающая активность нейтрофилов повышается на третьи сутки.

4. Сразу после болевой стимуляции беременных самок крыс накануне родов происходит не только повышение активности лизоцима, увеличение содержания в периферической крови СРБ и снижение содержания С3 компонента комплемента, а также увеличение поглощительной и переваривающей способности нейтрофилов. Эти изменения отмечаются до родов и в раннем послеродовом периоде.

5. У приплода, рожденного самками, получившими накануне родов аллогенную стимуляцию, в раннем послеродовом периоде отмечается повышение активности лизоцима в периферической крови. Содержание СРБ и С3 компонента комплемента остается практически неизменным, поглощительная и переваривающая активность нейтрофилов повышается более существенно, по сравнению с приплодом, рожденным интактными самками.

6. У приплода, рожденного крысами, испытанными накануне родов аллогенное воздействие и самок, не подвергнутых болевой стимуляции, отмечается, повышение активности лизоцима в периферической крови, в обоих случаях отсутствует реакция СРБ и С3 компонента комплемента. Как и у приплода интактных крыс нарастает поглощительная и переваривающая активность нейтрофилов, но это увеличение у приплода стимулированных крыс более выражено.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседании кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России; VI Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Боль: теория и практика», (Ростов-на-Дону, 2015); 69 итоговой научной конференции молодых ученых РостГМУ, (Ростов-на-Дону, 2015); X Юбилейной международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, (Курск, 2016); 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ

«Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины», (Волгоград, 2016).

Внедрение в практику результатов работы. Результаты исследования внедрены в работу кафедр патологической физиологии, микробиологии и вирусологии №2, анестезиологии и реаниматологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России для использования при освоении дисциплин «Патологическая физиология», «Микробиология, вирусология», «Иммунология», «Анестезиология, реаниматология», «Интенсивная терапия» студентами, ординаторами и аспирантами.

Публикации результатов исследования. Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 12 статей и тезисов, в том числе 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, и издания, приравненные к ним.

Личный вклад автора. Автором проведен аналитический обзор источников отечественной и зарубежной литературы (90 %), лично разработаны и апробированы методологические и методические основы данного научного исследования (95%). Автор принимала непосредственное участие в проведении экспериментального исследования (90 %). Диссертант самостоятельно разработала основные идеи и алгоритм обработки полученных результатов проведенных исследований, проводила их анализ, обобщения и подготовку публикаций (95 %). На основании полученных результатов исследования сделаны обоснованные выводы и предложены практические рекомендации (90 %).

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 214 страницах текста, состоит из введения, глав: «Обзор литературы», «Материал и методы исследования», четырех глав собственных исследований,

выводов и списка использованной литературы, содержащей 286 источников, из них 192 отечественных исследователей и 94 зарубежных. Работа иллюстрирована 69 таблицами и 40 рисунками.

Анализ, обработка полученных результатов, интерпретация текстового содержания и написание глав диссертации осуществлялось на кафедре патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России в соответствии с планом научных исследований университета.

ГЛАВА 1

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Боль, как феномен

Сколь глубоко бы мы не погружались в века, неизменно прослеживается ряд закономерностей, как в неживом, так и в животном мире: агрессия, паразитирование, механизмы защиты от них.

Воспаление, доиммунные механизмы защиты прослеживаются на самых ранних этапах эволюционного развития. Сегодня можно говорить о сложившихся, содержательно завершенных типовых патологических процессах, особенно у теплокровных животных и их высшего представительства *homo sapiens*. К ним относятся: лихорадка, воспаление, иммунитет, реакция системы кровообращения на уровне микроциркуляции, патология реактивности, шок, боль и т.п. Именно эти типовые патологические процессы, связанные с защитой и повреждением и тем самым двуединые по своей сути, обеспечивают организму преодоление повреждений физического, химического, биологического и даже социального характеров.

Но, если будет нарушена грань противостояния повреждения и защиты, исход может обрести негативный характер. Воспаление становится деструктивным, лихорадка обретает гиперпиретический характер, централизация кровообращения сменяется патологическим депонированием крови, шок обретает необратимый характер, а боль приводит к дисфункции и страданиям, подчас невыносимым. Феномен боли уникален. По определению профессора Овсянникова В.Г. «боль – это типовой, выработанный в ходе эволюции патологический процесс, возникающий при действии на организм повреждающих (ноцицептивных) факторов или ослаблении противоболевой системы и характеризующийся перцепцией, активацией вегетативных, эмоциональных, поведенческих, двигательных, антиноцицептивных реакций, направленных на защиту организма от повреждения, поддержание гомеостаза и устранение боли».

Позиция В.Г. Овсянникова определена однозначно: боль – следствие повреждения или ослабления различных звеньев антиноцицептивной системы - в основном это так.

Боль подает сигнал о повреждении и настойчиво заявляет о себе до тех пор, пока конфликт не будет исчерпан. В социальном плане боль и сторож, и настойчивый побудитель, заставляющий человека своевременно обратиться за помощью к врачу, а не уповать только на благоприятное разрешение патологических процессов и болезни в целом.

Боль в основном манифестирует выход функционирования системы или органа за рамки физиологически допустимых параметров. Иными словами, боль всегда свидетельствует о преодолении патогенным фактором функционально допустимого для органа барьера.

1.2. Феномен боли при родах

1.2.1. Морфологический и биохимический субстрат

Отдельно можно рассматривать боль при родах, по крайней мере, при родах человека. Феномен боли при родах выходит за рамки традиционного понимания этиологии и патогенеза боли. Ни одна из физиологических функций человека в норме не сопровождается болью, если только это не патология самой системы боли (аллодиния). И только роды, будучи физиологическим процессом, причем необходимым для сохранения популяции особей и самого вида, сопровождаются болью.

На сегодняшний день хорошо изучен патогенез боли при родах. Боль при родах по своей природе относится к висцеральной и соматической. Ее характер зависит от периода родов и субстрата раздражения (рисунок 1).

В первом периоде родов боль может быть классифицирована как висцеральная, так как её источником являются ноцицепторы матки. При достижении внутриматочного давления в период схваток некоторой пороговой величины происходит возбуждение рецепторов. Считается, что в генерации болевых импульсов заинтересованы в наибольшей мере рецепторы шейки матки.

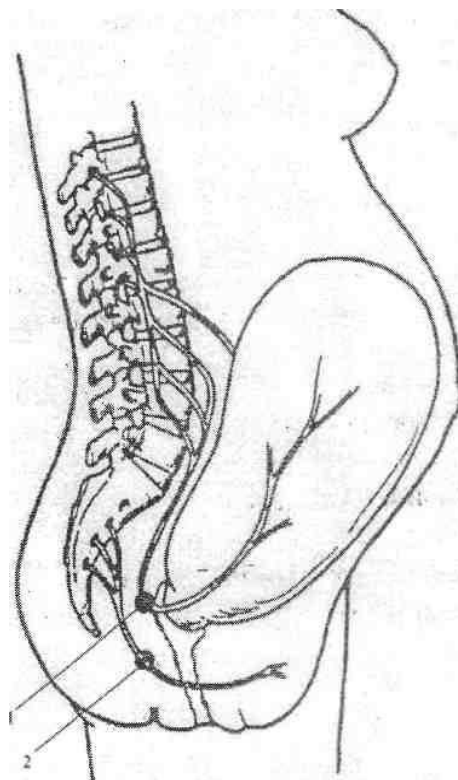


Рисунок 1 – Главные ноцицептивные пути, передающие болевые импульсы во время родов и родоразрешения (1 - нервы подчревного сплетения; 2 - пудендальный нерв) (Viscomi С.М., 2013)

В первом периоде родов импульсы поступают к 10-12 грудному и 1-2 поясничному сегментам спинного мозга. По задним корешкам спинальных нервов болевой импульс достигает спинного мозга. При этом субъективно боль ощущается в сегментах кожи Th₁₁ - Th₁₂. При нарастании интенсивности боли расширяется и её проекция от Th₁₀ до L₂. По мере продвижения плода в процесс вовлекаются сегменты от L₂ до S₁ спинного мозга, поэтому роженица особенно остро ощущает боль в пояснично-крестцовом отделе.

Импульсы проводятся по подчревным нервам, задним ветвям спинномозговых нервов. В их проведении заинтересованы волокна А и С. В полости малого таза они соединяются с симпатическим стволом и в составе задних корешков спинномозговых нервов проходят через белое вещество и попадают в серое вещество спинного мозга. Тела самих нейронов находятся в спинномозговых узлах. В задних рогах спинного мозга, которые вовлекаются в

аллогенный процесс, продуцируются медиаторы ноцицептивной направленности: субстанция Р, вазоактивный кишечный пептид, соматостатин, аспартат, глутамат. Кроме того, здесь же вырабатываются тормозные медиаторы. Они по своей функциональной направленности носят антиноцицептивный характер. Это энкефалины, серотонин, ГАМК, и α -адренергические агонисты - адреналин, норадреналин, дофамин.

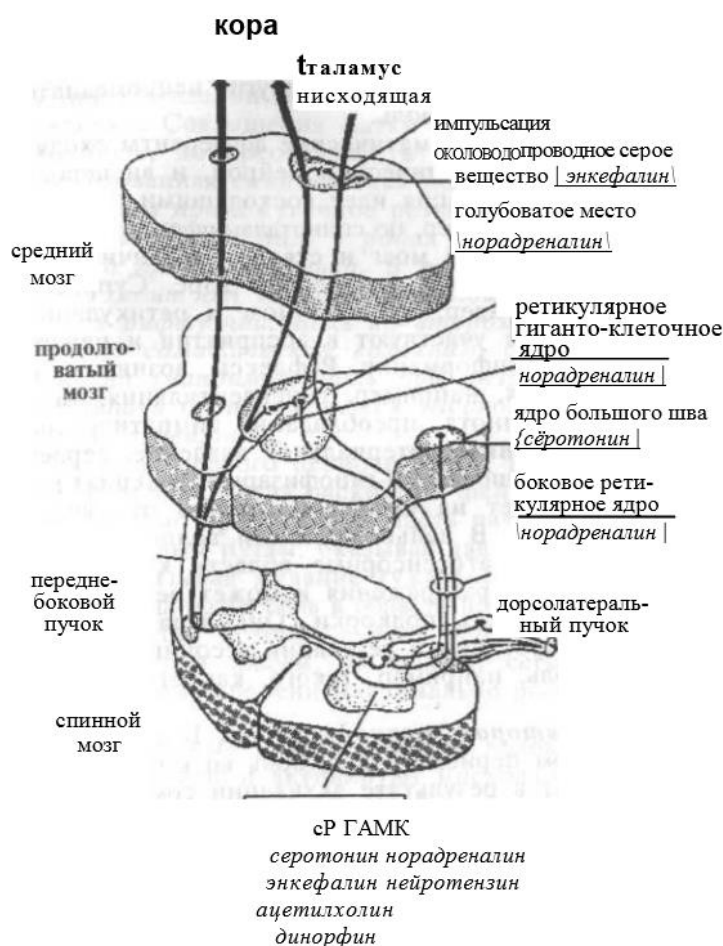


Рисунок 2 – Проводящие пути и нейромедиаторы болевого синдрома в родах (Зильбер А.П., Шифман Е.М., 1997)

Ноцицептивная информация, поступающая в средний мозг, преобразуется и обеспечивает тормозные влияния на уровне задних рогов спинного мозга. Существенную роль в этом отношении играет центральное серое вещество среднего мозга. Эта область получает регулирующие импульсы, участвующие в формировании болевого чувства, его интенсивности, из лобной доли коры головного мозга, лимбической системы, таламуса и гипоталамуса. Кроме того,

в области центрального серого около водопроводного вещества среднего мозга образуются энкефалины и серотонин. Нисходящие тормозные аксоны подключаются на уровне среднего мозга и направляются в спинной мозг. Возможно и прямое нисхождение проводящих путей в спинной мозг. Тормозное влияние на восприятие сигналов боли осуществляется также и на сегментарном уровне (рисунок 2).

Оттенки боли, сопровождающие её чувством беспокойства, страха, формируются на уровне лимбической системы.

Во втором периоде родов за счёт растяжения стенок влагалища в процесс вовлекаются соматические нервы, идущие из крестцовых сегментов S_{2-4} . Аfferентация проходит по волокнам типа Δ и полимодальным типа C . Тела нейронов этих нервов лежат в спинномозговых узлах. Информация от этих нейронов достигает серого вещества спинного мозга, что, как и указывалось, важно для формирования болевого ощущения.

Во втором периоде преобладает острая локализованная соматическая боль. Информация, передающаяся по висцеральным и соматическим волокнам, не только обеспечивает ноцицептивное восприятие, но и провоцирует выработку эндогенных опиатов и α_2 -агонистов. В этом проявляется двуединость формирования боли.

1.2.2. Физиологическое значение родовой боли

Знание патогенеза боли, однако, отнюдь не объясняет ее значения.

По мере социализации человека, все больше доминирует взгляд на необходимость родов как таковых и исключения боли, как сопутствующего фактора. С точки зрения психологической, ни один человек не желает испытывать боль и противостоит ей всеми доступными средствами. Рожать без боли – желание понятное. По сути, это социальный заказ общества.

Сегодня сообщество акушеров и его научный потенциал сосредоточены исключительно на разработке эффективных методов преодоления родовой боли. Этому вопросу посвящены бесчисленные исследования и публикации,

как в периодической, так и фундаментальной печати. Вектор научной дискуссии сосредоточен на поиске наиболее эффективных технологий обезболивания, критике альтернативных.

Однако при этом «буме» научных и фармакологических разработок абсолютно не принимается во внимание вопрос о целесообразности родовой боли. Необходимость обезболивания родов, таким образом, не вызывает сомнения. Существующий в настоящее время подход к фактору родовой боли находит отражение и в учебной литературе: в учебнике по акушерству вопрос о предназначении боли при родах также никак не освещается.

Попытки найти публикации о позитивном влиянии боли на родовой процесс и адаптацию ребенка к внеутробным условиям обитания малорезультативны, что характерно как для отечественной, так и для зарубежной литературы. Наиболее последовательно необходимость смириться с болью в родах, отстаивает церковь. Такие публикации не единичны. С современных позиций эти публикации не носят научно-обоснованный характер и не могут служить основой научной дискуссии.

К малочисленным научным публикациям по вопросу позитивного значения родовой боли относятся работы белорусских коллег. Они подчеркивают, что болевой компонент родов рефлекторным путем стимулирует выработку эндорфинов и энкефалинов, концентрация которых в крови роженицы многократно возрастает, давая ей эмоционально позитивное восприятие рождения ребенка. Этому соответствует чувство радости и счастья, глубокого удовлетворения. Кроме того, авторы подчеркивают, что боль в родах является для женщины индикатором позитивной динамики родов, смены периодов родовой деятельности. Боль, ее оттенки, по мнению авторов, дают информацию женщине о том, что роды идут успешно (Рутковская Е. А., Сидоренко В. Н., Трухановец О. В., 2009). Конечно же, речь идет о терпимой боли (хотя понятие это весьма относительно, так как человек по своей природе в принципе стремится избавиться от болевых ощущений).

Родовая боль инициирует выброс в кровь роженицы кортизола и эндорфинов. Последние влияют на формирование материнско-детской привязанности (Brinsmead M., Smith R., Singh B., Lewin T., Owens P., 1985). Причем концентрация эндорфинов в крови увеличивается по мере нарастания болевого раздражения (Räisänen I., Paatero H., Salminen K., Laatikainen T., 1984; Vacigalupo G., Riese S., Rosendahl H., Sating E., 1990).

Выделяющиеся эндорфины не только придают позитивную окраску родам, но и ингибируют продукцию ИЛ-8 хориодецидуальными клетками, а значит профилактуют дегрануляцию нейтрофилов, выделение ПГ-E2 и ПГ-F2 и в конечном итоге немотивированное воспаление (Nandhra T.S., Carson R.J., 2000).

Именно под влиянием боли выделяются эндорфины, которые с молозивом женщины передаются ребенку, что способствует преодолению новорожденным стресса и скорейшей адаптации к новым условиям жизни (Zanardo V., Nicolussi S., Giacomini C., Faggian D., Favaro F., Plebani M., 2001).

Роды, сопровождаемые болью, активируют за счет выделения катехоламинов антиноцицептивную систему. Источник боли оказывается триггером в этом механизме (Bergqvist L.L. et al., 2009). Присутствие боли формирует естественную защиту матери и ребенка, она эволюционно выработана и генетически детерминирована, направлена на формирование гармоничного единства матери, плода и ребенка (Брехман Г.И., 2011).

Боль в родах обеспечивает выброс гормонов стресса и тем самым повышает неспецифическую резистентность матери и плода, инициирует выброс эндорфинов, что позволяет ребенку более благополучно преодолевать стресс и, наконец, содействует формированию положительного психофизиологического контакта между матерью и ребенком, то логично говорить о том, что, исключив боль, и мать, и плод, и ребенок теряют эти позитивные компоненты в динамике родов, либо они становятся менее выраженными.

Сверхсильная боль может вызвать дизрегуляцию со стороны органов и систем женщины (Кулаков В.И., Серов В.Н., Абубакирова А.М., Чернуха Е.А., Баранов И.И., Федорова Т.А., 2000; Craig A.D., 2002; Craig A.D., 2003). При сверхсильной родовой боли изменяется кровоток, он сокращается за счет генерализованного спазма сосудов, следствием чего является гипоксия плода (Кулаков В.И., Серов А.М., Абубакирова А.М. и др., 1998). Сильная боль может явиться причиной нарушения родовой деятельности, а в послеродовом периоде дисфункции органов и систем у матери (Шифман Е.М., 1997; Гнездилова А.В., Овечкин А.М., Кукушкин М.Л., 1999).

В этих случаях медикаментозная коррекция показана, так как сверхсильная боль может привести к дискоординации самой родовой деятельности.

Дети, родившиеся без анестезии, раньше по времени реализуют рефлексы, связанные с питанием (первое движение руки ко рту, первое движение руки к соску матери, первое лизание, первое сосание), нежели рожденные с обезболиванием родов (Ransjo-Arvidson A.B. et al, 2001).

Еще в тридцатые годы ушедшего века в лаборатории Леона Абгаровича Орбели было показано, что боль, сопровождающая роды, улучшает трофику тканей, в том числе матки, повышает силу мускульного аппарата за счет выделения катехоламинов и повышения тонуса симпатического отдела центральной нервной системы (Орбели Л.А., 1936).

Рядом авторов показано, что родовая боль, которую следует расценивать как функционально допустимую («нормальную»), существенно влияет на гормональный статус женщины и прежде всего повышение уровня в крови адреналина и глюкокортикоидов, что в свою очередь активизирует работу сердечно-сосудистой, дыхательной систем, увеличивает элиминацию углекислоты из крови, увеличивает ее насыщение кислородом, и тем самым профилактирует внутриутробную гипоксию плода (Зильбер А.П., 1984; Балич Э.Я., 1990; Конке С.В., 1996).

1.2.3. Негативная составляющая обезболивания родов

Хотя научных работ, свидетельствующих о позитивном назначении «физиологической» родовой боли практически нет, имеются многочисленные сведения о негативном влиянии того или иного вида анестезии на состояние матери, плода и ребенка. Косвенно, такие работы, так или иначе, свидетельствуют в пользу естественных родов. Социальный подход жестко диктует поиск оптимальных средств обезболивания. Это исполняется, о чем свидетельствуют многочисленные публикации. Но другая сторона настораживает М. Энкина: почти полное отсутствие исследований, посвященных влиянию анестезии на состояние новорожденного (Энкин М., Кейре М., Нейлсон Дж. и др., 2003). Появляются лишь отдельные публикации, в которых авторы обращают внимание на слишком скудные сведения относительно влияния анестезиологического пособия на новорожденного (Littleford J., 2004; Vakheit K.H.et al., 2008; Бычкова С. В., 2012).

Идеи обезболивания родов и их технологическое воплощение сегодня стремительно набирают вес, конечно же, они не уступят своих позиций, пока не появятся другие приемы оказания помощи женщине в родах.

В настоящее время появляются лишь отдельные публикации, в которых авторы обращают внимание на слишком скудные сведения относительно влияния анестезиологического пособия на новорожденного (Littleford J., 2004; Vakheit K.H.et al., 2008; Бычкова С.В., 2012).

Более 150 лет назад, в 1847 году, английский врач Джейм Симонс впервые применил хлороформенный наркоз при родах королевы Виктории. Не трудно догадаться, чем рисковал доктор в случае негативного исхода родов. Тем не менее, стремление обеспечить женщине комфортные роды оказалось сильнее (Кобеляцкий Ю.Ю., Ефремов Л.В., 2009).

В последующие сто лет обезболивание родов носило эпизодический характер. Преодоление традиций и опыта всегда затруднительны. Для обезболивания применялся общий наркоз, что далеко не всегда давало желаемые результаты. Ряд исследователей, независимо друг от друга, приходят

к заключению о возможном неблагоприятном воздействии наркотических препаратов как на роженицу, так и на плод (Ranta P., 1994; Walker N.C., 1999; Абрамченко В.В., 1999; Русел Р., 2000).

С современных позиций, наркоз снижает иммунобиологический статус и женщины и ребенка: уменьшается в периферической крови количество лейкоцитов, в пуповинной крови активность комплемента ниже нормы, на 5-7 сутки после родов у новорожденного уменьшается количество лимфоцитов, в частности CD3+ и Т-хелперов.

При рождении ребенка снижено содержание ИЛ-4, но уже через 5-7 суток оно выше нормы, содержание цитотоксических лимфоцитов к этому сроку остается сниженным (Бычкова С.В., 2012).

Тем не менее, использование общего обезболивания или спинальной анестезии остается необходимым при операциях кесарева сечения. По мнению ряда исследователей, после такой операции, выполненной под наркозом, в ранний постнатальный период определяется недостаточность натуральных киллеров, IgG, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10, TNF- α , и все это на фоне повышенного содержания ИФН- γ , СРБ и эндогенного NO₂ (Бычкова С.В, Чистякова Г.Н., Ковалев В.В., Ремизова И.И., 2011; Бычкова С.В., 2012).

Конечно, все отклонения нельзя интерпретировать, как следствие обезболивания (наркоза), имеет место оперативное вмешательство и как следствие, воспаление, но ведь речь идет не о матери, а о новорожденном, и весь отмеченный негативный шлейф в большей мере связан с обезболиванием. Более того, Hayashi et al. (2003); Dermizaki E., Androulidaki A., Tsatsanis C., Ciravanis A., Margioris A. (2009), отмечают, что при кесаревом сечении, проводимом под наркозом, наблюдаются нарушения со стороны кровообращения, дыхания, гемостаза, иммунной системы, как у матери, так и у плода.

Негативные последствия обусловлены токсичностью наркотического материала, проникающего в организм плода через гистогематический плацентарный барьер, который в принципе предназначен охранять плод от

негативного воздействия. И хотя плацентарный барьер обеспечивает селективную миграцию веществ, как оказалось, наркотические вещества являются запороговыми, преодолевают барьер и проникают в кровь плода. Проникая через плацентарный барьер, они способны нарушить дыхание, его регуляцию у плода и новорожденного (Хитров В.В., 2000).

Закись азота с его позитивными, в целом, эффектами, его легкостью, как наркотического вещества оказывает токсический эффект на клетки, находящиеся в состоянии митоза (Зильбер А.П., Шифман Е.М., 1997), а таких в организме плода с избытком.

На угнетение дыхания при применении анестетиков указывает Попарт М. (2000).

Достаточно часто у детей, родившихся в условиях обезболивания родов, отмечается сонливость, а при передозировке наркотического вещества возможны возбуждение новорожденного и даже судороги (Шабалов Н.П., 2004).

У детей, родившихся при обезболивании родов, мышечный тонус и мышечное напряжение ниже, чем в группе исследования детей, родившихся естественным путем в нормальных родах без применения анестетиков (Scanlon J.W., Ostheimer G.W., Lurie A.O., Brown W.U., Weiss Jz., Alper M.U., 1976).

Негативное влияние анестетиков может прослеживаться даже в первые минуты его применения, у плода это выражено изменением сердечного ритма (Rilay E.T., 1999).

В те же годы ряд авторов отмечал негативное влияние анестетиков на состояние сердечно-сосудистой системы, как у плода, так и у новорожденного (Цывьян П.Б., Якубович О.И., Башмакова Н.В., Севостьянова О.Ю., Артемьева О.Г., Кинжалова С.В., Мякишева О.А., 1998; Медвинский И.О., Якубович О.И., Башматова Н.В., Цывьян П.Б., Севостьянова О.Ю., Артемьева О.Г., Кинжалова С.В., Мякишева О.Р., 1998).

При обезболивании родов у плода возможна аспирация желудочного содержимого (Мойр Д.Д., 1985).

Анестезиологические пособия в ряде случаев приводят к снижению артериального давления у рожениц (Николаев И.В., 1991) и снижению психосоматического статуса новорожденных, оцениваемого по шкале Апгар (Roberts S.W., 1995).

Сравнивая психосоматический статус детей, рожденных с использованием обезболивания родов и без такового, исследователи отмечали преимущества последнего. Так, применяя статистический анализ, было проведено сравнение физиологических показателей с использованием шкалы NBSA у детей, родившихся при обезболивании родов и без такового.

Установлено, что снижение двигательной реакции новорожденных, их ориентировочных реакций, вплоть до 20-х суток было выражено в большей мере после родов, проведенных с обезболиванием (Sepkoski C.M., 1992).

Царегородцев И.С., работа которого посвящена выбору наиболее адекватных средств обезболивания, показал, что психический статус детей, определяемый по шкале Апгар, у детей, рожденных без обезболивания, имеет преимущества по сравнению с детьми, рожденными матерями, получившими наркоз.

Такие дети лучше самостоятельно успокаивались в ответ на голосовое обращение к ним, живее реагировали на мягкое тактильное раздражение, при пеленании вели себя более спокойно (Царегородцев И.С., 2008).

Царегородцевым И.С. (2008) установлено, что у новорожденных, матери которых получали аналгезию на первые и вторые сутки после рождения чаще, чем у детей, родившихся без обезболивания, отсутствовала реакция на световой и звуковой раздражитель. Несколько ранее Царегородцев И.С., Волосников Д.К., Узлова Т.В. (2007) показали достоверные различия ($p < 0,05$) неврологического статуса у детей, рожденных под эпидуральной анестезией, по сравнению с детьми, рожденными без обезболивания. У первых чаще наблюдалось выпадение отдельных рефлексов и видов активности. Наиболее часто страдали рефлексы опоры и автоматической походки. Эти изменения сохранялись до пяти суток. По данным Imprey L. (2000) и Царегородцева И.С.

(2008) эпидуральная анестезия увеличивает продолжительность первого и второго периодов родов.

На сегодняшний день в акушерскую практику уверенно вошел метод эпидуральной анестезии. Очевидно, он будет сопутствовать родам как минимум в ближайшие годы. Метод признан наиболее эффективным. О негативном влиянии эпидуральной анестезии на плод и новорожденного. Об этом свидетельствуют работы Scanlon J.W. (1976), Philipsen T. (1989), Writer W.D. (1998), Vancey M.K. (2001), Бабкина П.С. и Синченко А.М. (2008), Shrestha B. с соавторами (2014), Kumar M. с соавторами (2014), Kjerulff Kristen и Zhu Junjia (2014).

На осложнения со стороны неврологического статуса новорожденного при эпидуральной анестезии указывают Ong B. (1995), Liguori G.A. (1998), Loo C.C. (2000).

В начале девяностых годов ушедшего века известный исследователь А.Д. Мигган, опираясь на анализ большой выборки наблюдений, констатировал, что у женщин, рожавших в условиях эпидуральной анестезии, новорожденные дети имели более низкий мышечный тонус по сравнению с детьми, появившимся на свет без обезболивающего пособия. А.Д. Мигган полагает, что это результат реакции центральной нервной системы новорожденного на наркоз. Автор отмечает, что максимальное число отклонений наблюдается в первые сутки после родов (Мигган А.Д., 1981).

При использовании эпидуральной анестезии затягивается период желтушности новорожденных, присутствует гипогликемия в периоде ранней неонатальной адаптации (Бычкова С.В., 2012).

О.В. Рязанова в своей кандидатской диссертации (2012) подтверждает, что ЭА оказывает негативное влияние на неврологический статус новорожденного.

Профессор Равиль Нариндер описывает не единичные случаи, свидетельствующие о негативном влиянии эпидуральной анестезии на

сердечнососудистую систему, систему дыхания, желудочно-кишечный тракт, систему свертывания крови (Нариндер Р., 2012).

Не менее убедителен в этом и Президент Ассоциации акушерских анестезиологов-реаниматологов профессор Шифман Е.М. (Куликов А.В., Шифман Е.М., 2013).

Если оценивать эту информацию по существу, то все авторы связывают негативные последствия обезболивания родов не с исключением боли как таковой из их структуры, а с несовершенством технологии и качества, применяемых лекарственных средств.

В принципе же, по мнению Шифман Е.М., нет достаточной доказательной базы, свидетельствующей об ошибочности выбранного курса на обезболивание родов (Полушин Ю.С., Айламазян Э.К., Коростылев Ю.М. и др., 2011).

Тем не менее, очевидно, что в случаях патологии родов, когда у женщины отмечается гипертензия, преэклампсия, при выраженном болевом синдроме, который может привести к дискоординации родов, эпидуральная анестезия является методом выбора (Зильбер А.Г., Шифман Е.М., 1997; Шифман Е.М., 2002).

Как следует из обзора, негативные эффекты обезболивания родов описаны в основном в XX веке. Это объясняется тем, что именно на двадцатый век приходится внедрение новых технологий и неизбежная в связи с этим дискуссия. За последние двадцать лет достигнут несомненный прогресс в обезболивании родов, минимизированы его негативные последствия. Однако этот факт отнюдь не снимает вопрос о том, в чем позитивный эффект боли для беременной, роженицы и потомства. Вопрос не потерял своей актуальности, а лишь неправомерно снят с повестки дня.

Таким образом, из вышеизложенного следует сделать следующие выводы:

1. В настоящее время практически отсутствуют работы, связанные с изучением влияния родовой боли на организм матери, плода и ребенка. Не

изучены ее позитивные эффекты и последствия ее исключения из структуры родов.

2. Социальный заказ на обезболивание родов останется актуальным на ближайшую перспективу.

3. Многочисленные факты свидетельствуют о более частых осложнениях со стороны психосоматического статуса новорожденных, появившихся на свет у матерей, получивших обезболивание в родах, по сравнению с детьми, рожденными без обезболивания, однако эти эффекты связывают с технологическими издержками.

1.3. Раздражители неантигенной природы и иммунитет

Череду уже отмеченных осложнений можно дополнить нарушениями со стороны иммунологического статуса новорожденных. У новорожденных, перенесших операционно-анестезиологический стресс (имеется в виду кесарево сечение), наблюдается абсолютное снижение Т-лимфоцитов. Изменяется функция клеток, участвующих в иммунологическом надзоре (Сепбаева А.Д., Михельсон В.И., Дегтярева М.В., Матвеева Ю.В., Жиркова Ю.В., Гордеева Е.А., 2009).

Период новорожденности детей, матери которых получали обезболивание в родах, характеризуется количественными и качественными изменениями врожденного и адаптивного иммунитета (Володин Н.И., Дегтярева М.В. и др., 1999).

В норме иммунная система новорожденных недостаточно зрелая, тем не менее, она может реагировать на антигенную агрессию и, как пишут Дегтярева М.В. и Солдатов И.Г., на изменения окружающей среды (Дегтярева М.В., Солдатов И.Г., 2007).

Исходя из закономерностей формирования любой системы и системы иммунологического надзора, следует предположить, что наиболее рано завершается формирование факторов врожденного иммунитета.

Совершенно не изученным является вопрос: влияет ли родовая боль на факторы иммунитета, в частности врожденного иммунитета, и если влияет, то как? Ведь боль не есть антигенный раздражитель. Это и является целью нашего исследования. Но прежде, чем ответить на поставленный вопрос, необходимо убедиться, что иммунная система, факторы врожденного иммунитета в принципе способны реагировать на раздражители неантигенной природы, не несущие на себе антигенную информацию.

Если такие факты имеются, они анатомированы и опубликованы, поэтому следует сделать следующий шаг – уточнить, может ли боль как таковая быть причисленной к раздражителям неантигенной природы, способным привести в движение иммунную систему и, в частности, факторы неспецифической защиты или врожденного иммунитета.

В ростовской школе патофизиологов убедительно показано, что боль приводит в движение функции нервной, эндокринной систем, влияет на кровообращение, репродуктивное здоровье и т.п. То есть боль обладает полиорганным тропизмом, как минимум через основные эффекты, обнаруживающиеся со стороны гуморального звена управления и нервной системы. Это дало основание сформулировать определение феномена боли, включающее информацию о широком спектре реакций на боль со стороны органов и систем (Овсянников В.Г., 2003).

Позиция профессора Овсянникова В.Г. находит подтверждение в научной литературе, где показано, что боль влияет на функции мозга, сердечно-сосудистой системы, метаболизм, выделительную функцию и т.п.

Нас же интересует влияние боли на иммунологическую реактивность. Как показало знакомство с научной литературой, в разработку вопросов иммунитета и иммунопатологии вовлечен мощный интеллектуальный потенциал, начиная от лауреатов Нобелевской премии И.И. Мечникова и П. Эрлиха и заканчивая блестящими школами В.И. Иоффе, А.Д. Адо, Р.В. Петрова, Р.М. Хайтова, С.А. Кетлинского, А.С. Симбирцева, А.А. Ярилина, А.Н. Гордиенко и др. Однако при большом разнообразии научных интересов,

которые демонстрируют разные научные школы, в классических трудах по иммунологии не рассматриваются интересующие нас вопросы, напрямую касающиеся аллогенного процесса.

В последние два десятилетия появились отдельные работы, выполненные на стыке проблемы «боль - иммунология» (Овсянников В.Г., 2003-2017).

В этих исследованиях не столько прослеживается влияние боли на иммунитет, сколько роль иммунологических факторов в формировании боли. Значение этих работ в первую очередь заключается в установлении факта принципиальной связи боли и иммунитета.

Так, согласно исследованию И.П. Унич, иммунологические механизмы присутствуют в формировании психогенной и невропатической боли, являющейся результатом демиелинизирующих процессов аутоиммунной природы (Унич П.П., 2011). Показано также, что степень выраженности аллергических реакций коррелирует со снижением порога болевой чувствительности (Василенко А.М. и др., 1995).

Моделирование иммунных реакций приводит к повышению болевой чувствительности, активации нейронов, участвующих в формировании боли. Эти факты получены в опытах на крысах (Абрамов Ю.Б. и др., 2002).

Выявлена зависимость количественного и качественного иммунного ответа от интенсивности боли, переносимой организмом, на что указывают Васильева О.А., Семке В.Я. (1994), Wilder R.L. (2001), Hewitt D.Y. (1997), Akata K.T., Van Eldic L. (2000), Gilkey S.J. (1992).

Установлено, что изменение функции эндотелия сосудов патологическим процессом активирует биосинтез долорогенных пептидов с последующим их выделением в кровь.

Обнаружена параллель между снижением уровня лимфоцитов Т-хелперов и активацией болевого процесса (Hewitt D.Y. et al., 1997). Правда, авторы не расшифровывают механизм этого явления. Можно предположить, что этот феномен имеет связь с характером и уровнем продукции интерлейкинов,

которые функционально опосредуют свои эффекты на формирование болевых синдромов (Marchand F. et al., 2005; Bruno P.P. et al., 2007).

Модификация антигенов путем их конъюгации с биологически активными веществами усиливает невропатическую боль (Крыжановский Г.Н. и др., 1992). Интересный факт обнаружен Абрамовым В.В. и Абрамовой Т.Я. (2007). Они связывают патогенез головных болей с продукцией ИЛ-1.

Описано участие ИЛ-10 в формировании боли (Watkins LR., Maier S.F., 2003; Brack A., Stein C., 2004).

Выяснено, что нейтрофилы способны продуцировать опиоиды, которые оказывают противоболевой эффект. В этой связи, как показывает работа Н.С. Алексеевой, острая боль повышает активность нейтрофильных лейкоцитов как фагоцитарную, так и киллинговую (Алексеева Н.С., 2009). Абрамов Ю.Б. полагает, что и система боли и иммунная система, в своей функциональной связи, объективно противостоят повреждению (Абрамов Ю.Б., 2009).

Признанная общность двух систем предполагает возможность обратного порядка, другими словами боль может влиять на иммунологическую реактивность.

Прежде чем искать подтверждение высказанной теоретической посылке, попытаемся сузить поиск фактов, свидетельствующих о возможности влияния раздражителей неантигенной природы на иммунологический статус, ограничив его рамками факторов врожденного иммунитета.

Факторы врожденного иммунитета подразделяются на гуморальные и клеточные.

К числу гуморальных факторов врожденного иммунитета относится ряд хорошо изученных субстанций. В их число входит маннозосвязывающий лектин (МСЛ). Это острофазный белок, синтезируемый печенью (Меджитов Р., Джаневей Ч., 2004). Его опсонизирующие свойства делают более эффективным фагоцитоз, а способность связываться с углеводами микроорганизмов позволяет запустить активацию комплемента, образовывать за счет этого

мембраноатакующий комплекс и подвергать разрушению микроорганизмы (Ахматова Н.К., Киселевский М.В., 2008).

Лектины разнообразны по своей структуре и свойствам. Лектины наиболее эффективны в связи с комплементом. Они в этом случае обслуживают реакции адаптивного иммунитета. Комплемент обладает широкими функциональными возможностями, и его назначение не ограничивается только участием в реакциях адаптивного иммунитета. Он эффективен и в обеспечении механизмов врожденного иммунитета (Кокряков В.Н., 2006).

На одном из первых мест среди факторов, обеспечивающих врожденный иммунитет, стоит лизоцим (Царев В.Н., 2010). Это активный фермент – N-ацетилмурамалгидролаза. Лизоцим продуцируется как макрофагами, так и гранулоцитами. Он секретируется на базальном уровне, поступает в кровь, присутствует в ней, а так же в других биологических жидкостях (Вершигора А.Е., 1980).

Функция лизоцима вполне конкретна: путем расщепления пептидогликана мембран микроорганизмов он нарушает целостность микроба, тем самым обеспечивая его киллинг (Вершигора А.Е., 1980). Внимание к лизоциму не ослабевает уже в течение целого столетия, с того момента, когда Лещенков П.К. в 1909 году открыл вещество в курином белке, обладающее бактерицидными свойствами.

Всплеск интереса к этой субстанции относится к 1922 году, когда Флеминг назвал это вещество «лизоцимом» и постулировал теорию его участия в защите организма от инфекции.

С именами W.S. Tillet и T.J. Fransis (1930) связано открытие C-реактивного белка. С этого белка и началось изучение белков острой фазы и вот уже 85 лет к нему приковано внимание практических врачей, а также исследователей.

СРБ взаимодействует с микроорганизмами, образуя с ними комплекс, который в присутствии Ca^{++} активирован по классическому пути систему комплемента. Активированные фрагменты комплемента, в частности его C3

фракция опсонизируют микробы, повышая эффективность фагоцитоза (Авдеев С.Н., Баймаканова Г.Е., 2008).

Сам СРБ повышает фагоцитарную активность моноцитов и нейтрофилов за счет того, что на их поверхности находятся высокоафинные рецепторы для СРБ (Buchta R. et al., 1987).

Проведенные на кафедре патологической физиологии исследования показали, что этот острофазный белок откликается на острую боль, его количество возрастает, но значительно меньше, чем при развитии воспалительной реакции. Список можно продолжить лактоферрином-железосодержащим протеином, который обладает бактерицидными свойствами; бета-лизинами, продуктом жизнедеятельности тромбоцитов, они также обладают бактерицидными свойствами; пропердином, который участвует в реакциях активизации комплемента по альтернативному пути. Эти факторы работают не только самостоятельно, но и за счет активизации комплемента, мембраноатакующие свойства которого известны.

Дело не в детальном описании гуморальных факторов иммунитета и их свойств и даже не в их количестве. Для нас необходимо ответить на вопрос: могут ли гуморальные факторы иммунитета изменяться количественно или повышать свою активность при действии на теплокровный организм раздражителей неантигенной природы.

Судя по крайне скудным сведениям на этот счет внимание к проблеме такого рода либо не было привлечено, либо привлечено косвенно при изучении физиологических или патологических процессов.

В процессе изучения стресс-реакций, которые близки по своему содержанию к острой боли, Ф.И. Ершов, О.Н. Киселев (2005) зафиксировали увеличение содержания интерферонов в периферической крови подопытных животных в тех случаях, когда стресс был непродолжительным. Длительный стресс приводил к подавлению выработки интерферонов. Такие работы проводились в середине прошлого века рядом исследователей, в их числе Вылегжанин А.И. (1952); Чеботарев Д.Ф. (1956); Зеленин В.Ф. (1948, 1959);

Панкова Е.В. (1960); Тутова И.М. (1962); Вартанян М.М. (1965); Широкинская О.Н. (1967).

В более поздние сроки количество публикаций по этому вопросу резко сократилось. Видимо, повышенное внимание к интерферонам в реакциях стресса пришелся на пик интереса к этому феномену, когда изучались его разносторонние свойства.

При изучении ряда физиологических и патологических процессов, не предполагающих в их начальной фазе присутствия антигеннесущего начала, ряд исследователей обнаружили колебания уровня пропердина в динамике изучаемого процесса (Рыбникова В.Н., Бровкина И.Л., Утешев Б.С., 2004). К числу таких процессов относилось лучевое поражение, злокачественные новообразования, анемии и, что особенно интересно для нашего исследования, кровопотеря, беременность и роды.

Дьяченко С.Я. (2007) наблюдала нарастание уровня лизоцима при лапаротомии как таковой, без контакта с внутренними органами.

Было установлено, что при травматическом и ожоговом шоке уровень пропердина в лимфе возрастал (Курочкин В.И., Слесарев В.О., 1978). Надо признать, что и при том, и при другом виде шока имели место не только боль, но и повреждение тканей. Не исключено, что именно оно явилось инициальным моментом повышения содержания пропердина, но и участие боли в этом процессе отрицать нет оснований.

Уровень СРБ повышается при заболеваниях неинфекционной природы, в частности при сердечно-сосудистой патологии (Нануашвили А.Ш. и др., 2004).

Сегодня этот факт общепризнан и вовлечение СРБ в патологический процесс в практической медицине обрел диагностическое и прогностическое значение.

Система комплемента реагирует на повреждения неантигенной природы, например, при действии лучевой энергии на организм (Богомаз Т.А., 2006).

Правда, не исключено, что под влиянием активных форм кислорода клеточный субстрат обретает антигенность. Например, феномен демаскирования детерминант в белковых молекулах.

Весьма интересные для нашего исследования, но не лишённые противоречия сведения, обнаруживаем в исследованиях бактериоцидной активности сыворотки крови у животных при родах.

Например, клетки трофобласта плаценты угнетают функцию дендритных клеток, что в свою очередь, ведет к угнетению биосинтеза интерферона- γ (Талаев В.Ю., 2009 и др.). С другой стороны, после родов у животных повышается бактерицидная активность сыворотки крови. В частности, уровень комплемента повышался почти вдвое (Пудовкин Д.Н., 2004).

Есть сведения, что уровень лизоцима у животных после родов снижался, но лишь в тех случаях, когда им вводили адаптогены и стресс-корректоры (Гнездилова Л.А. и др., 2007).

Последнее наблюдение вызывает особый интерес.

Стресс и боль - близкородственные понятия, и результаты данных экспериментов мы можем трактовать как вероятность повышения уровня лизоцима в динамике стресса. При всей противоречивости и недостаточной определенности изложенного материала можно сделать вполне определенный вывод: гуморальные факторы врожденного иммунитета приходят в движение под влиянием раздражителей неантигенной природы.

Продолжая рассматривать возможность участия факторов врожденного иммунитета, следует остановиться на их клеточном представительстве.

С начала XX века, когда состоялось эпохальное событие: открытие и описание И.И. Мечниковым феномена фагоцитоза, и до наших дней, фагоциты остаются в поле зрения ученых. Нобелевская премия, увенчавшая труды нашего соотечественника И.И. Мечникова, не могла не приковать к себе внимание мирового научного сообщества. Интерес к учению Мечникова И.И. носил циклический характер. Пик сменялся падением, депрессией. Однако еще в 1926 году Л.М. Безредко в своей книге «История одной идеи» дальновидно

предсказывал открытию И.И. Мечникова большую перспективу: «Как и всякая истина, идея о фагоцитозе пережила автора. Она продолжает будить мысли и зарождать новые исследования». Сегодня мы убеждаемся в умении автора заглянуть в перспективу. И, действительно, после некоторого спада интереса к фагоцитозу, а он вполне объясним, умы ученых захватили идеи не менее знаменитого Эрлиха. В середине XX века и в последующие годы интерес к фагоцитозу обострился и учение получает развитие вплоть до наших дней. Достаточно упомянуть фундаментальные труды патриарха отечественной патофизиологии, признанного авторитета Андрея Дмитриевича Адо, обобщившего их в монографии «Патофизиология фагоцитов» (Адо А.Д., 1961).

Доказательством того, что идеи фагоцитоза живут и развиваются, служат в первую очередь яркие труды А. Н. Маянского «Очерки о нейтрофиле и макрофаге», «Клинические аспекты фагоцитоза» (А. Н. Маянский, 1983; Маянский А.Н., Пикуза О.Н., 1993), работы Долгушина И.И., Бухарина О.В. (2001), Хаитова Р.М. (2005), Enberg et al. (2002), Показательны также вышедшие в последнее десятилетие труды Д.В. Рудик, Е.И. Тихомировой (2006), И.Б. Ушаковой (2007), труды Н.С. Алексеевой (2009), и других.

Список можно продолжать. Для нас перечисленные и оставленные за строкой работы, кроме трудов Алексева В.В. и Алексеевой Н.С., представляют исторический и познавательный интерес. Все вышеперечисленные работы посвящены, прежде всего, противомикробной защите и соответствуют научным интересам их авторов. Нас же интересует, могут ли фагоциты, в частности нейтрофилы, изменять свою функциональную активность под воздействием факторов неантигенной природы.

В фагоцитах заложены мощнейшие микробицидные механизмы. Это кислородзависимые и кислороднезависимые киллинговые возможности. С ними связаны лизосомальные структуры, в выполнении функций которых принимают участие миелопероксидаза, кислые и щелочные фосфатазы, гликоген и липиды и т.п. (Покровский В.И. и др., 1979; Нагоев Б.С., 1983, Губжокова Е.Б., 2004, Шестопапов А.В. и др., 2009).

Понятно, что столь мощный бактерицидный механизм должен быть использован по назначению против микробов. Но из этого вовсе не следует, что активироваться микробицидные механизмы могут только под влиянием антигенного раздражения. Возможны неантигенные сигналы, которые подготовят, мобилизуют эти механизмы к схватке с предполагаемым антигеннесущим агентом. Это предположение нашло подтверждение в работе Н.С. Алексеевой, в которой сформулировано понятие «о синдроме мобилизационной готовности» фагоцитов крови или, как уточнил профессор Брин В.Б., «превентивной готовности» нейтрофилов к захвату и перевариванию микроорганизмов, которые в конкретный момент еще отсутствуют.

Д.Н. Маянский замечает, что изменение функциональной активности нейтрофилов может быть связано не только с микробным раздражением, но и иными факторами (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Нагоев Б.С., 1986). Установлено, что вещества химической природы способны активировать фагоциты (Мальдов Д.Г. и др., 2009).

Известный отечественный патолог П.Д. Горизонтов, изучая механизмы стресса (а стресс и боль, как мы уже отмечали понятия взаимосвязанные) отмечал, что на него наиболее рано реагируют лейкоциты крови (Горизонтов П.Д., 1983). Более того, установлено, что физическая нагрузка, если она не чрезмерна, повышает фагоцитарную активность лейкоцитов, стимулирует в нейтрофилах «респираторный взрыв» (Hoffman-Goetz L., Pedersen V.K., 1994, Nieman D.C., 1996, Smith J.A., 1997).

Заслуженный деятель науки РСФСР, профессор Гордиенко А.Н., который приобрел интерес к иммунологии и фагоцитозу в частности, благодаря своему учителю И.Г. Савченко, стажировавшемуся у И.И. Мечникова в Париже, в Пастеровском институте, доказал, что активация симпатoadреналового звена управления активирует фагоцитоз (Гордиенко А.Н., 1949, 1954).

А.Д. Адо наблюдал обратный эффект при введении в организм адреналина. С современных позиций противоречие легко разрешается, дело в

дозе и воздействии на рецепторный аппарат : α - адренорецепторы активируют фагоциты при своем раздражении, а β -адренорецепторы тормозят.

Как показали исследования, сделанные уже в этом веке, стресс вызывает в фагоцитах интенсивное образование активных форм кислорода, что означает, что такой фагоцит готов к киллингу (Хавинсон В.Х., Бураков В.А., Арутюнян А.В., Малинин В.В., 2003).

Еще Шебалин А.И. (1954) отмечал, что агрессивное поведение крыс активирует фагоцитоз.

Необходимо отметить, что задолго до исследований Н.С. Алексеевой было показано, что мощный долорогенный стимул подавляет функцию фагоцитов, в то время как боль малой интенсивности наоборот активирует фагоцитоз (Самцов В.А., 1950). В то же время независимо от В.А. Самцова, Маркарян П.А. (1954), Зданевич В.М. (1958) подтвердили эту закономерность.

П.Д. Горизонтов проводил электроболевые раздражения крыс. Он наблюдал нейтрофилез, при этом количественные изменения сопровождались качественными – нейтрофилы активировались.

Сведения о реакции лейкоцитов на боль находим в трудах Дионесова С.М. (1963), Боксер О.Я., Григорьев К.И. (2005).

Опыты на животных, у которых создавалась гиперadreналинемия, отвечали на аллогенное раздражение депрессией фагоцитоза (Аннагельдыева А.Г., 1974). Представитель Ростовской школы патофизиологов Алексеев В.В., показал, что реакция системы фагоцитоза на боль универсальна у животных различных возрастных групп, отличие заключается лишь в характере ответа, его интенсивности и продолжительности (Алексеев В.В., 2008; Мазуркевич Г.С., 2004), подчеркивает, что мощный болевой поток по афферентным нервам является причиной иммунодефицитных состояний, по крайней мере, должен быть учтен одной из причин.

Выявлено, что гранулоциты крови экспрессируют рецепторы на своей поверхности в ответ на интенсивное раздражение (стрессогенный фактор) эти

рецепторы, α или β , определяют направленности их реакции (Долгушин И.И., Бухарин О.В., 2001; Silliman C. et al., 2002).

Таким образом, из анализа доступной литературы следует, что факторы врожденного иммунитета реагируют на раздражения неантигенной природы вообще и на боль в частности.

Исследование механизмов врожденного иммунитета представляется оправданным и перспективным. При родах обширная раневая поверхность является фактором риска для возможной микробной агрессии, в связи с чем превентивная мобилизация факторов неспецифической защиты как никогда кстати.

Новорожденный ребенок имеет еще слаборазвитую иммунную систему и, если предположить, что болевой сигнал через медиацию достигает и его, функциональная готовность к отражению инфекции у новорожденного особенно актуальна.

У людей при естественном родоразрешении плод подвергается влиянию метаболических и физических факторов, что принципиально меняет баланс его гормонов: резко активизируется выброс адреналина и его предшественников, глюкокортикоидов, либеринов. Они повышают его резистентность, активизируют сурфактантную систему легких, активизируют кровообращение в жизненно важных органах уже в первые минуты жизни. (Чернуха Е.А., Комисарова Л.М., Байбарина Е.Н., 2003). Это происходит при нормальных родах. Но в таком случае естественно возникает вопрос: сохраняется ли активация адаптивных сил организма при обезболивании? К сожалению, сопоставления процессов естественного родоразрешения и с обезболиванием в этом плане, как это следует из обзора доступной литературы, не проводилось, и, следовательно, поставленный вопрос остается на сегодняшний день весьма актуальным.

Также нам не удалось получить информацию об изменении иммунобиологического статуса при выключении болевого компонента из родов.

Если исходить от обратного, приняв априори положение о том, что крысы рожают без боли, то выявленная активация факторов врожденного иммунитета после болевой стимуляции животных накануне родов позволяет соотнести полученный эффект с болью, с усиленной выработкой и трансплацентарным поступлением катехоламинов к плоду.

Среди гуморальных и клеточных факторов иммунитета наше внимание привлекает лизоцим, СРБ, СЗ – фракция комплемента и нейтрофилы. Дело не в том, что они отличаются от прочих какими-то преимуществами. Эта обойма факторов врожденного иммунитета в полной мере отражает все важные звенья врожденного иммунитета.

Опыт исследовательской работы с этими факторами уже в достаточной степени накоплен, чему способствовала, в частности, деятельность лаборатории боли кафедры патофизиологии РостГМУ.

В исследовании не предполагается получить ответ о механизмах и проявлениях тонкого иммунологического характера. Как патофизиологов нас интересует принципиальный вопрос в изучении механизма боли, является ли боль, бинарная боль, на фоне измененной реактивности организма беременностью, инициатором повышения бактерицидных свойств крови или превентивной готовности факторов врожденного иммунитета к встрече с бактериальной инфекцией у матери и у новорожденного?

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Характеристика объекта и серий исследований

Работа основана на использовании экспериментального материала. В исследовании использовалось 360 белых беспородных самок крыс и их приплод (320 пометов^{*}).

Все экспериментальные животные рождались и росли в стационарных условиях филиала вивария РостГМУ на кафедре патологической физиологии (заведующий кафедрой – профессор Овсянников В.Г.), в комфортных температурных условиях (около 21°C).

Световой день составлял 12 часов. Для питания животных использовали полноценные корма для грызунов с дополнительным прикормом в виде фруктов и овощей. Вода употреблялась животными самостоятельно из поилок. Текущая уборка клеток осуществлялась ежедневно. Генеральная уборка с дезинфекцией клеток выполнялась еженедельно.

Экспериментальное исследование выполнено в полном соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований» (1989) и приказом МЗ РФ 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» от 23 августа 2010г.

В соответствии с задачами, поставленными в работе, выполнено 3 серии исследований: I серия – исследования проводились на не беременных белых половозрелых самках крыс (2-5 месяцев); II серия – исследовали беременных самок и их приплод накануне родов (на 19-20 день эмбрионального развития плодов) и после родов на 1, 3 и 5 сутки; III серия - исследовали беременных самок подвергнутых аллогенному воздействию и их приплод накануне родов (на 19-20 день эмбрионального развития плодов) и после родов на 1, 3 и 5 сутки (таблица 1-3).

^{*}Здесь и далее по тексту: с целью получения достаточного для исследования объема крови, ее забор осуществляется у всего помета (5-7 особей).

Таблица 1 – Распределение экспериментальных животных по сериям и группам

Серии исследования	Задачи исследования	Группы и подгруппы	Количество крыс в группах	Всего животных в серии		
I серия	Изучение показателей врожденного иммунитета у не беременных половозрелых самок крыс в исходном состоянии (без болевой стимуляции) - контрольная группа	<i>1 гр. – половозрелые крысы-самки</i>	40	40		
		1К – исследование комплемента С3;	10			
		1С – исследование СРБ;	10			
		1Л – исследование активности лизоцима;	10			
		1Ф – исследование фагоцитарной активности.	10			
II серия	Изучение показателей врожденного иммунитета у беременных интактных самок крыс и их приплода (без болевой стимуляции)	<i>2.1.1 гр. – интактные беременные самки крыс накануне родов</i>	40	160 + приплод		
		2.1.1К – исследование комплемента С3;	10			
		2.1.1С – исследование СРБ;	10			
		2.1.1Л – исследование активности лизоцима;	10			
				2.1.1Ф – исследование фагоцитарной активности.	10	
		<i>2.1.2 гр. – приплод от интактных беременных самок крыс накануне родов</i>	40			
		2.1.2К – исследование комплемента С3;	10			
		2.1.2С – исследование СРБ;	10			
		2.1.2Л – исследование активности лизоцима;	10			
				2.1.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	10	
		<i>2.2.1 гр. – интактные самки крыс на 1 сутки после родов</i>	40			
		2.2.1К – исследование комплемента С3;	10			
		2.2.1С – исследование СРБ;	10			
		2.2.1Л – исследование				

Серии исследования	Задачи исследования	Группы и подгруппы	Количество крыс в группах	Всего животных в серии
		активности лизоцима; 2.2.1Ф – исследование фагоцитарной активности. 2.2.2 гр. – приплод от интактных самок крыс на 1 сутки после родов	10 10 40	
		2.2.2К – исследование комплемента С3; 2.2.2С – исследование СРБ; 2.2.2Л – исследование активности лизоцима; 2.2.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	10 10 10 10	
		2.3.1 гр. – интактные самки крыс на 3 сутки после родов	40	
		2.3.1К – исследование комплемента С3; 2.3.1С – исследование СРБ; 2.3.1Л – исследование активности лизоцима; 2.3.1Ф – исследование фагоцитарной активности.	10 10 10 10	
		2.3.2 гр. – приплод от интактных самок крыс на 3 сутки после родов	40	
		2.3.2К – исследование комплемента С3; 2.3.2С – исследование СРБ; 2.3.2Л – исследование активности лизоцима; 2.3.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	10 10 10 10	
		2.4.1 гр. – интактные беременные самки крыс на 5 сутки после родов	40	
		2.4.1К – исследование комплемента С3; 2.4.1С – исследование СРБ; 2.4.1Л – исследование активности лизоцима;	10 10 10	

Серии исследования	Задачи исследования	Группы и подгруппы	Количество крыс в группах	Всего животных в серии
		2.4.1Ф – исследование фагоцитарной активности. 2.4.2 гр. – приплод от интактных самок крыс на 5 сутки после родов 2.4.2К – исследование комплемента С3; 2.4.2С – исследование СРБ; 2.4.2Л – исследование активности лизоцима; 2.4.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	10 40 10 10 10 10	
III серия	Изучение показателей врожденного иммунитета у беременных самок крыс и их приплода после болевой стимуляции	3.1.1 гр. – стимулированные самки крыс накануне родов 3.1.1К – исследование комплемента С3; 3.1.1С – исследование СРБ; 3.1.1Л – исследование активности лизоцима; 3.1.1Ф – исследование фагоцитарной активности. 3.1.2 гр. – приплод от стимулированных самок крыс накануне родов 3.1.2К – исследование комплемента С3; 3.1.2С – исследование СРБ; 3.1.2Л – исследование активности лизоцима; 3.1.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	40 10 10 10 10 40 10 10 10 10 10	160 + приплод
		3.2.1 гр. – стимулированные самки крыс на 1 сутки после родов 3.2.1К – исследование комплемента С3; 3.2.1С – исследование СРБ; 3.2.1Л – исследование активности лизоцима;	40 10 10 10	

Серии исследования	Задачи исследования	Группы и подгруппы	Количество крыс в группах	Всего животных в серии
		3.2.1Ф – исследование фагоцитарной активности. 3.2.2 гр. – приплод от стимулированных самок крыс на 1 сутки после родов 3.2.2К – исследование комплемента С3; 3.2.2С – исследование СРБ; 3.2.2Л – исследование активности лизоцима; 3.2.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	10 40 10 10 10	
		3.3.1 гр. – стимулированные самки крыс на 3 сутки после родов 3.3.1К – исследование комплемента С3; 3.3.1С – исследование СРБ; 3.3.1Л – исследование активности лизоцима; 3.3.1Ф – исследование фагоцитарной активности. 3.3.2 гр. – приплод от стимулированных самок крыс на 3 сутки после родов 3.3.2К – исследование комплемента С3; 3.3.2С – исследование СРБ; 3.3.2Л – исследование активности лизоцима; 3.3.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	40 10 10 10 10 40 10 10 10	
		3.4.1 гр. – беременные самки крыс на 5 сутки после родов 3.4.1К – исследование комплемента С3; 3.4.1С – исследование СРБ;	40 10 10	

Серии исследования	Задачи исследования	Группы и подгруппы	Количество крыс в группах	Всего животных в серии
		3.4.1Л – исследование активности лизоцима; 3.4.1Ф – исследование фагоцитарной активности. <i>3.4.2 гр. – приплод от стимулированных самок крыс на 3 сутки после родов</i> 3.4.2К – исследование компонента СЗ; 3.4.2С – исследование СРБ; 3.4.2Л – исследование активности лизоцима; 3.4.2Ф – исследование фагоцитарной активности.	10 10 40 10 10 10	

Таблица 2 – Пояснения к порядку нумерации групп экспериментов. Часть 1.

	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	5 группа	6 группа
I. Взрослые крысы интактные	Инт. контроль	Накануне родов	Нет	Первые сутки после родов	Третьи сутки после родов	Пятые сутки после родов
II. Взрослые крысы стимулированные	Инт. контроль (значения I.-1гр.)	Накануне родов (значения I.-2гр.)	Накануне родов после болевой стимуляции	Первые сутки после родов	Третьи сутки после родов	Пятые сутки после родов

Таблица 3 – Пояснения к порядку нумерации групп экспериментов. Часть 2.

	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	5 группа
III. Приплод интактных крыс	Накануне родов	Нет	Первые сутки после родов	Третьи сутки после родов	Пятые сутки после родов
IV. Приплод стимулированных крыс	Накануне родов (значения III.-1гр.)	После болевой стимуляции матери	Первые сутки после родов	Третьи сутки после родов	Пятые сутки после родов

2.2. Постановка экспериментов с моделированием острой боли

Острую соматическую боль (ОСБ) моделировали путем электрокожного раздражения рецепторной зоны корня хвоста крыс. Для моделирования острой висцеральной боли использовали метод ректальной электростимуляции (Сачков В.И. и др., 1990) с помощью электростимулятора ЭСУ-2 со следующими параметрами: ОСБ 3-4 степени интенсивности: частота тока – 100 Гц; амплитуда тока – 30 В; длительность импульса – 500 мс; задержка импульса – 2 мс и время стимуляции – 2 минуты. На основании анализа поведенческих и вегетативных реакций опытных животных оценивали интенсивность болевого раздражения в соответствии с критериями Вальдмана А.В. и Васильева Ю.Н. в модификации Овсянникова В.Г. (2003), приведенными в таблице 4.

Таблица 4 – Критерии интенсивности боли

Уровень реакции	Характеристика реакции
1	Порог ответной реакции – вздрагивание век, сгибание конечности.
2	Сгибание стимулируемой конечности, вздрагивание головы, зажмуривание, прижимание ушей.
3	Вздрагивание всем телом, облизывание, изменение позы, одиночные передвижения, вокализация.
4	Интенсивный многократный крик, постоянное передвижение, беспокойство.
5	Генерализованные движения, побег с криком, агрессивность.

Забор материала для исследования производили не пике развития ноцицептивной реакции (через 2 минуты после электростимуляции). Для получения биологического материала (кровь) крыс декапитировали с помощью гильотины. Все манипуляции с экспериментальными животными проводили в соответствии с приказом МЗ РФ 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» от 23 августа 2010г.

На рисунке представлена схема использованной в работе экспериментальной модели острой соматической и острой висцеральной боли (рисунок 3).



Рисунок 3 – Схема нанесения аллогенного воздействия

2.3. Методика исследования активации лизоцима

Кровь после забора центрифугировалась 20 минут при 1500 оборотах в минуту. Полученную сыворотку использовали для исследования активности лизоцима по нефелометрическому методу Дорофейчука В.Г., (1968) в нашей модификации.

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

Проведенное нами исследование проводилось по следующей методике: суточную агаровую культуру *Micrococcuslysodeicticus* (штамм *Micrococcusluceus*) смывали и готовили взвесь (рисунок 4). Для получения равномерной микробной взвеси мелкие сгустки микробных клеток, кусочки питательной среды удаляются путем фильтрования взвеси через тонкий слой ваты. Взвесь стандартизируется на ФЭК-56 при использовании зеленого⁴⁵

светофильтра (540 мкм) в кювете с рабочей длиной 3 мм. В пробирку помещается 1,47 мл взвеси микрококка и 0,03 мл цельной сыворотки (в итоге получается разведение сыворотки 1:50). Смесь встряхивается и выдерживается при 37° в течение часа. После этого она снова встряхивается и нефелометрируется, показания при этом отмечаются по шкале светопропускания правого барабана. Показатель активности равен разности опытного образца и стандартной культуры. (Дорофейчук В.Г., 1968).

ФЕДЕРАЛЬНОЕ КАЗЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОСТОВСКИЙ-на-ДОНУ
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

ПАСПОРТ ШТАММА

Штамм: *Micrococcus luteus* (var. *lysodeikticus*)

Номер штамма: международный типовой штамм ATCC 4698, NCTC 2665

Инвентарный номер РПЧИ: 18884/2

Дата поступления в РПЧИ: 2005г.

Откуда получен: Государственный НИИ стандартизации и контроля
медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича

Краткая характеристика штамма:

Морфологические и биохимические свойства типичные.

Штамм исследовал Сев

Дата исследования 4.10.2012

Заведующий музеем живых культур Сев

Рисунок 4 – Паспорт штамма микроорганизма *Micrococcus luteus*

2.4. Метод исследования С-реактивного белка

Концентрация СРБ в сыворотке крови крыс определялась методом иммуноферментного анализа с помощью наборов фирмы BDBiosciences. Приготовление растворов стандартов, конъюгата, промывочного буфера проводили согласно инструкции к набору.

Во все лунки рабочего планшета, покрытого моноклональными кроличьими антителами к СРБ крыс, вносили по 100 мкл стандартных растворов и предварительно разведенных образцов сыворотки крови крыс (1:4000). Планшет накрывали и инкубировали 30 минут при комнатной температуре. По окончании инкубации лунки планшета промывали 5 раз промывочным буфером с помощью промывочного устройства MULTIWASHLABSYSTEMS (Finland).

После промывки во все лунки планшета вносили по 100 мкл конъюгата и инкубировали 30 минут при комнатной температуре. Промывали планшет как указано выше.

Далее во все лунки вносили по 100 мкл ТМБ субстратного раствора, инкубировали 10 минут в темноте при комнатной температуре, останавливали цветную реакцию добавлением в каждую лунку по 100 мкл раствора фосфорной кислоты.

Измерение оптической плотности опытных проб при 450 нм и обсчет результатов проводили на фотометре MULTISKANMSLABSYSTEMS (Finland). В компьютерное обеспечение прибора вводили численное значение концентрации С-РБ в стандартных растворах и после измерения и пересчета в соответствии с разведением 1:4000 получали концентрацию исследуемого вещества в опытных пробах в мкг/мл.

2.5. Методика исследования С3 компонента комплемента

Концентрацию С3 компонента комплемента в сыворотке крови крыс определяли методом иммуноферментного анализа с помощью наборов фирмы

Cloud-CloneCorp. (США). Приготовление растворов стандартов, конъюгатов А и В, промывочного буфера проводили согласно инструкции к набору.

Во все лунки рабочего планшета, покрытого моноклональными кроличьими антителами к С3 компоненту комплемента крыс, вносили по 100 мкл стандартных растворов и предварительно разведенных образцов сыворотки крови крыс (1:5000). Планшет накрывали и инкубировали 2 часа при температуре 37°C. По окончании инкубации содержимое лунок удаляли, планшет не промывали и вносили по 100 мкл конъюгата А, инкубировали 1 час при температуре 37°C. После инкубации планшет промывали 3 раза промывочным буфером с помощью промывочного устройства MULTIWASHLABSYSTEMS (Finland).

После промывки во все лунки планшета вносили по 100 мкл конъюгата В, инкубировали 30 минут при температуре 37°C и промывали планшет 5 раз как указано выше.

Далее во все лунки вносили по 90 мкл субстратного раствора ТМБ, инкубировали 15-25 минут при температуре 37°C в темноте, останавливали цветную реакцию добавлением в каждую лунку по 50 мкл стоп-реагента.

Измерение оптической плотности опытных проб при 450 нм и обсчет результатов проводили на фотометре MULTISKANMSLABSYSTEMS (Finland). В компьютерное обеспечение прибора вводили численное значение концентрации С3 компонента комплемента в стандартных растворах и после измерения и пересчета в соответствии с разведением 1:5000 получали концентрацию исследуемого вещества в опытных пробах в мкг/мл.

2.6. Методика исследования фагоцитарной активности нейтрофилов

В пробирку наливали по 0,2 мл гепаринизированной крови, затем добавляли по 0,1 мл миллиардной взвеси бактерий *Staphylococcus aureus* «Covan» (рисунок 5), (выращенных на агаре Хоттингера при 37°C в течение 24 час и убитых кипячением на водяной бане в течение 30 мин), аккуратно перемешивают. Ставят в термостат при 37°C на 1 час.

Для определения поглотительной активности на предметное стекло наносили 40 мкл исследуемого материала и аккуратно растягивали чистым стеклом. После полного высыхания мазки фиксировали 20 мин., затем окрашивали по Романовскому-Гимзе 20 мин. После экспозиции краску смывали дистиллированной водой, мазки высушивали.

Пробирки выдерживали в термостате ещё 3 час для дальнейшего определения переваривающей способности нейтрофилов. После срока инкубации готовили мазки описанным выше способом и окрашивали по Романовскому-Гимзе. Окрашенные мазки анализировали под иммерсионным микроскопом.

Для определения фагоцитарного индекса (ФИ1 и ФИ4) подсчитывали в мазках, сделанных через 1 и 4 часа инкубации, по 100 нейтрофилов (Нф) и число поглощенных бактерий в каждом из них.

Посчитывали процент активных фагоцитов (ПАФ) - количество Нф с захваченными микробами.

Определяли индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) по формуле:

$$ИЗФ = \frac{\Phi_{Ч1} - \Phi_{Ч4}}{\Phi_{Ч1}}$$

Чем интенсивнее процесс киллинга, тем выше положительное значение ИЗФ. Полностью завершенному фагоцитозу соответствует ИЗФ +1,0. Отрицательные величины ИЗФ отражают незавершенный фагоцитоз (Ковальчук Л. В. и др., 2010).

Москва, 121002
Сивцево-Вражек, 41
тел. 241-39-22

снв № РН 24 12617

92

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

Государственный научно-исследовательский институт
стандартизации и контроля медицинских биологических пре-
паратов имени Л. А. Тарасевича

Паспорт штамма

Штамм S. aureus

Особое название штамма Солган - I

Получен из НИИЭМ, Москва

Дата получения 1974 г. Выделен. _____

Краткая характеристика штамма _____

По морфологическим и
биохимическим свойствам

Научный сотрудник _____

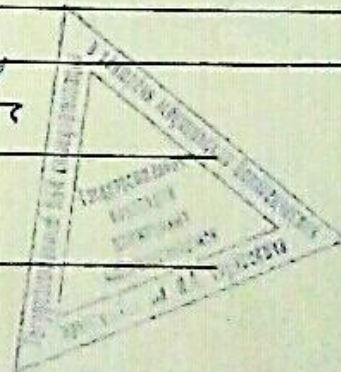
Отпуск штамма разрешил. _____

Зав. лабораторией _____

« 26 »

IX

1974 г.



1718—15 000

Рисунок 5 – Паспорт штамма микроорганизма Staphylococcus aureus

2.7. Методы статистического анализа результатов исследований

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакетов программ Microsoft Office Excel 2010 Pro, STATISTICA 8.0. и включала в себя проверку нормальности распределения количественных признаков с использованием критерия Колмогорова-Смирнова с поправкой Лиллиефорса и критерия Шапиро-Уилка; медиана (Me), квантили ($Q_{0,25}$ – нижняя квантиль, $Q_{0,75}$ – верхняя квантиль), интервал значений от минимального значения (Min) до максимального (Max) для данных, не подчиняющихся нормальному распределению), сравнение данных на основе U-критерия Манна-Уитни. Критическое значение уровня значимости (p) принималось равным 0,05. Результаты расчетов представлены как медиана с квантилями и интервалом значений $Me [Q_{0,25}; Q_{0,75}] (Min-Max)$.

2.8. Обобщенная блок-схема структуры экспериментального исследования

В заключение главы приводим обобщенную блок-схему структуры экспериментального исследования, отражающую сравнительно-возрастной системный подход к изучаемому патофизиологическому феномену влияния острой висцеральной и соматической боли на врожденный иммунитет в онтогенезе (рисунок б).

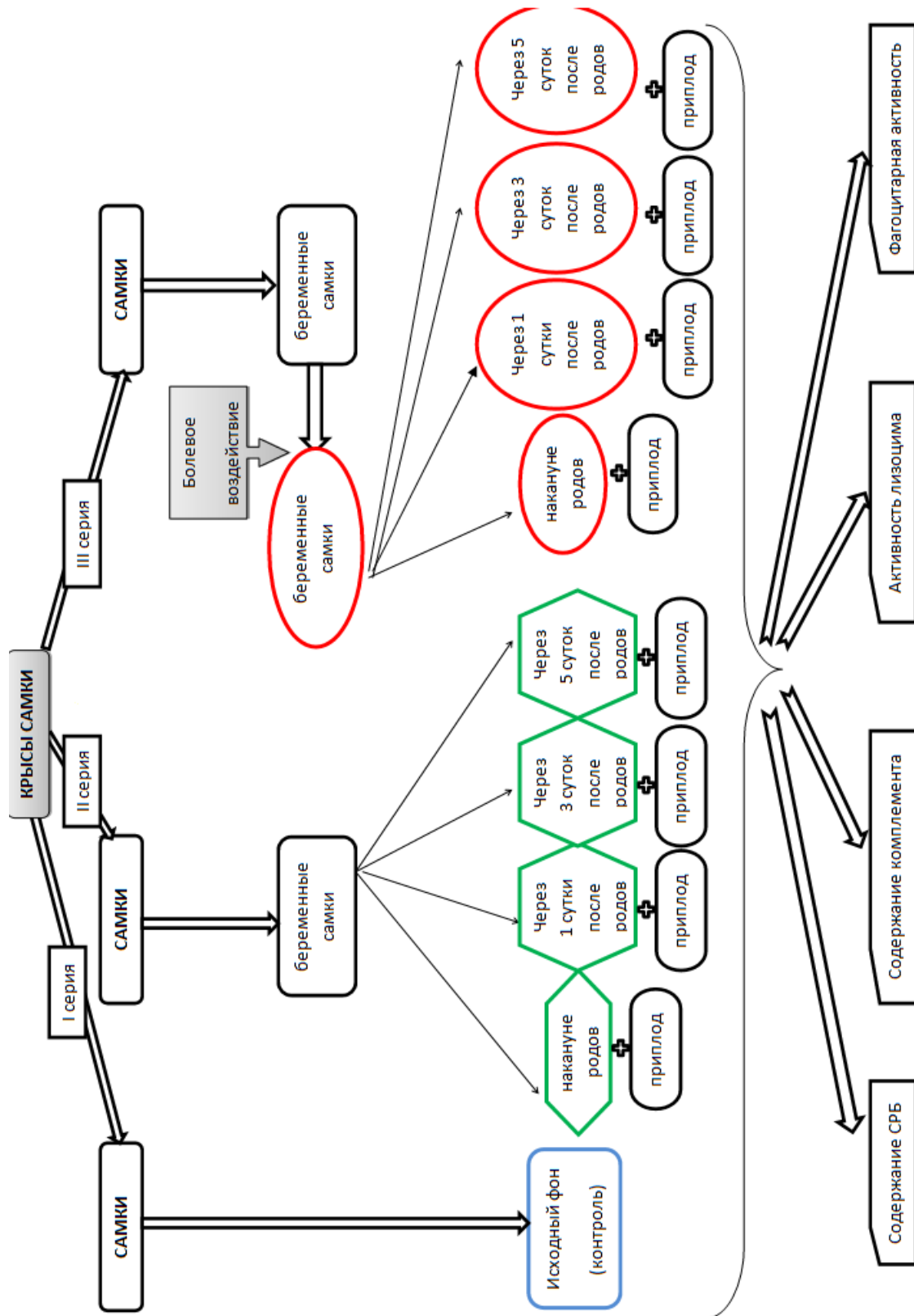


Рисунок 6 – Блок-схема структуры экспериментального исследования

ГЛАВА 3

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛИЗОЦИМА ИНТАКТНЫХ И ПОДВЕРГНУТЫХ БОЛЕВОЙ СТИМУЛЯЦИИ БЕРЕМЕННЫХ САМОК КРЫС ДО И ПОСЛЕ РОДОВ. ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ЛИЗОЦИМА У ПРИПЛОДА ДО И ПОСЛЕ РОЖДЕНИЯ ОТ ИНТАКТНЫХ КРЫС И КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ БОЛЕВОЙ СТИМУЛЯЦИИ НАКАНУНЕ РОДОВ

Лизоцим – один из наиболее изученных гуморальных факторов врожденного иммунитета. Он же мурамидаза – фермент лизосом лейкоцитов крови, низкомолекулярный белок. Противомикробный эффект лизоцима достигается за счет расщепления β -1-4 гликозидной связи муреинового слоя клеточной стенки бактерий. Обладает противомикробной активностью по отношению к грамположительным микроорганизмам. В меньшей степени это свойство выражено по отношению к грамотрицательным бактериям.

Бактерицидные свойства лизоцима не вызывают сомнения. В семидесятые годы XX века опытным путем было доказано, что элиминация лизоцима из крови лишает ее на 40% бактерицидности (Donaldson D., Roberts R., Jarsens S., Tew J., 1974). По уровню лизоцима принято судить о состоянии неспецифической резистентности в целом (Бухарин О.В., Васильев Н.В., 1974).

В крови всегда присутствует лизоцим на некотором базальном уровне. Его продуцируют гранулоциты и агранулоциты (Чахова О.В., Горюнова Л.Г., 1965; Бабаян С.С., Журавлева Т.П., Лебедева Л.А., 1979; Назаров А.В., 1978; Вершигора А.Е., 1980; Йегера Л., 1990).

Постоянный базальный уровень лизоцима поддерживается за счет как минимум двух механизмов: его наработкой и секрецией клетками-продуцентами (Чахова О.В., Горюкова А.Г., 1965), а также за счет распада клеток, внутренним содержимым которых является, в частности, и лизоцим (Забиров И.М., Абедев Х.Б., 1972; Fink M.E., Finch S.C., 1968).

Повышение и последующее снижение уровня лизоцима связывают со стимуляцией клеток-продуцентов, которые выделяют его в кровь, и это ведет к повышению содержания лизоцима, последующий же распад лизоцима, его расходование вызывают снижение содержания в крови этого субстрата (Hansen N.E., Karle H., Andersen V., Olgaard K., 1972; Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983; Крыжановский Г.Н., 1985; Кольцов И.О., Дубняк К.Н., Мальцева Е.А. и др., 2010). Лейкоциты после сброса лизоцима обретают рефрактерность, что задерживает пополнение его резервов в крови (Jessup W., Leoni P., Dean R.T., 1985). Этот фермент интересен также своим присутствием практически во всех организмах и их тканях, которые живут и развиваются, причем это касается как живой, так и неживой природы (Бухарин О.В., Васильев Н.В., 1974). Самое главное для настоящего исследования то, что продукция лизоцима нейтрофилами, макрофагами зависит не только от инфекционного раздражения, но и от раздражителей неантигенной природы (Морозов В.П., Елхачева Е.В., Прияткин С.А., 1988; Прияткин С.А., 1999).

Бухарин О.В., Васильев Н.В. (1974) описывают зависимость активности лизоцима от климата и географического нахождения человека.

На уровень лизоцима влияет физическая активность индивидуума (Морозов В.Н., Цыпленков П.В., Рогозкин В.А., 1989).

По данным Крыжановского Г.Н. (1985), Бухарина О.В., Васильева Н.В. (1974), а так же Маянского А.Н. и Маянского Д.Н. (1983), Прияткина С.А. (1985), стрессоры, а боль относится именно к ним, влияют на уровень и активность лизоцима.

Показано, что в ответ на болевое раздражение активность лизоцима возрастает в крови крыс (Овсянников В.Г., Алексеев В.В., Бойченко А.Е., Бликян М.В., Алексеева Н.С., Абрамова М.В., 2014) и собак (Беловолова Р.А., 1992).

Родовая боль не является исключением, она может оказаться причиной активации и лизоцима, и других факторов врожденного иммунитета, но это требует доказательства, чему и посвящено настоящее исследование.

Таким образом, из обзора литературы следует, что лизоцим является одним из фундаментальных представителей факторов врожденного иммунитета, он хорошо изучен, имеются достаточно простые технологии его определения. Лизоцим присутствует во всех жидких средах, он весьма лабилен и реактогенен. Описанный факт его реакции на боль дает основание исследовать активность лизоцима у рожаящих интактных крыс, а также крыс, подвергшихся болевому воздействию непосредственно до родов. Наблюдения проводились в течение пяти суток, как над крысами, так и над находившимися в утробе и родившимися крысятами.

3.1. Изменение активности лизоцима у интактных крыс до и после родов

У интактных небеременных самок крыс медиана значений активности лизоцима составила 0,259 ед. Интерквартильный размах данных сосредоточен между $Q_{0,25}=0,234$ ед. и $Q_{0,75}=0,277$ ед. Минимальное значение активности лизоцима, вошедшее в выборку, равно 0,212 ед., а максимальное – 0,286 ед. (рисунок 7, гр.1)

Базальный уровень активности лизоцима не является гендерной привилегией. У интактных самцов этот показатель существенно не отличается от приведенного (Овсянников В.Г., Шлык С.В., Алексеев В.В., Бойченко А.Е., Бликян М.В., Алексеева Н.А., Абрамова М.В., 2013).

Непосредственно перед родами активность лизоцима остается неизменной, ее медиана равна 0,255 ед. $Q_{0,25}=0,228$ ед. $Q_{0,75}=0,298$ ед. Разброс значений выборки увеличивается по сравнению с первой группой и фиксируется в пределах 0,214 ед. – 0,312 ед. (рисунок 7, гр.2).

В первые сутки после родов отмечается статистически высоко значимое увеличение активности лизоцима. Ее медиана равна 0,310 ед. Размах значений между нижней и верхней квантилью колеблется от $Q_{0,25}=0,283$ ед. до $Q_{0,75}=0,326$ ед.

Распределение значений в ряду наблюдается от 0,238 ед. - это минимальное, до максимального – 0,351 ед. (рисунок 7, гр. 4).

На третьи сутки активность лизоцима продолжает расти. Увеличение статистически значимо по отношению ко всем предыдущим значениям.

Медиана активности лизоцима составляет 0,378 ед., интерквартильный интервал минимальный по сравнению с предыдущими значениями: $Q_{0,25}=0,366$ ед., $Q_{0,75}=0,388$ ед. Минимальное значение активности лизоцима в выборке составляет 0,325 ед., а максимальное 0,412 ед. (таблица 5).

На пятые сутки происходит обвальное снижение активности лизоцима. По своим параметрам она сопоставима с активностью лизоцима у интактных крыс. По отношению к данным, полученным на третьи сутки снижение активности статистически высоко значимо.

$Me = 0,268$ ед. $Q_{0,25} = 0,243$ ед., $Q_{0,75} = 0,288$ ед. Разброс значений в выборке колеблется от $Min=0,218$ ед. до $Max = 0,309$ ед. (таблица 6).

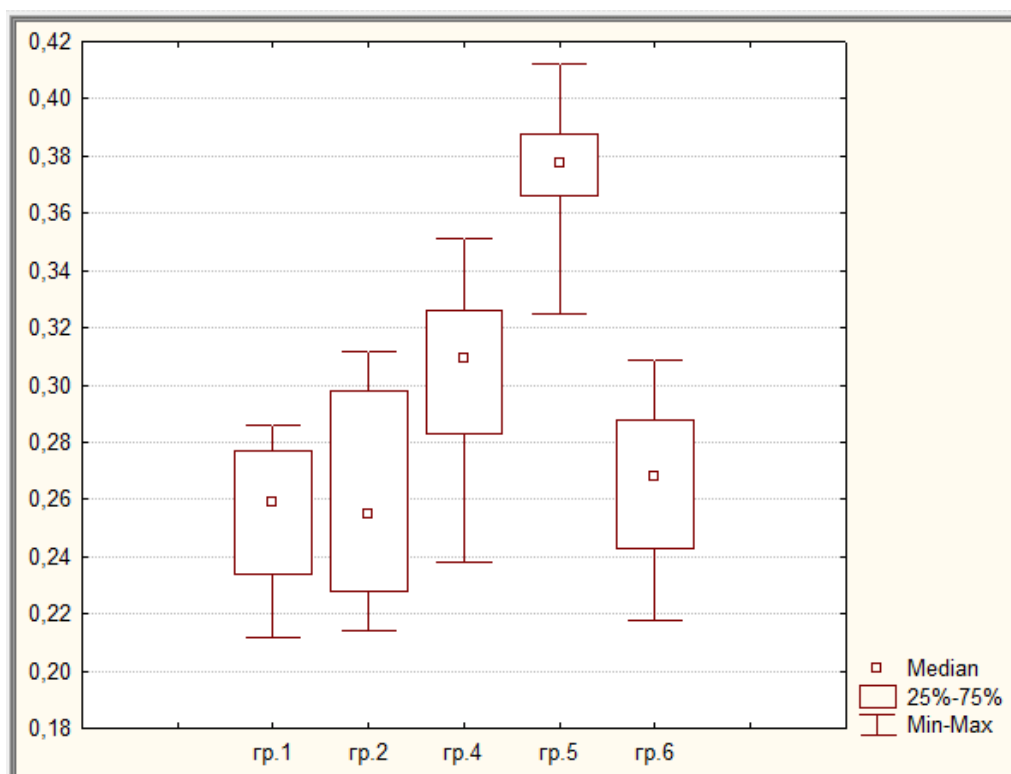


Рисунок 7 – Динамика изменения активности лизоцима у интактных крыс до и после родов

Таблица 5 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	0,259	0,234	0,277	0,212	0,286	0,074	0,043
гр.2	0,255	0,228	0,298	0,214	0,312	0,098	0,070
гр.4	0,310	0,283	0,326	0,238	0,351	0,113	0,043
гр.5	0,378	0,366	0,388	0,325	0,412	0,087	0,022
гр.6	0,268	0,243	0,288	0,218	0,309	0,091	0,045

Таблица 6 – Уровень значимости различия данных при по парном сравнении групп

	гр.1	гр.2	гр.4	гр.5	гр.6
гр.1					
гр.2	0,677585				
гр.4	0,003197	0,015565			
гр.5	0,000157	0,000157	0,000381		
гр.6	0,472676	0,850107	0,012612	0,000157	

3.2. Изменение активности лизоцима до и после родов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию

Как указывалось выше, у интактных небеременных крыс Me активности лизоцима равна 0,259 ед.[0,234 ед.; 0,277 ед.] Min – 0,212 ед. Max-0,286 ед. (рисунок 8, гр. 1).

Накануне родов у интактных крыс Me активности лизоцима равна 0,255 ед. [0,228 ед.; 0,298 ед.], разброс выборки 0,214 ед.- 0,312 ед. (рисунок 8, гр. 2).

Проведенная болевая стимуляция накануне родов изменила дизайн результатов. Медиана активности лизоцима становится равной 0,377 ед. Величина нижней квантили 0, 369 ед, а верхней 0, 401 ед. Интерквантильный диапазон сузился и является минимальным среди всех групп данной серии экспериментов (0,032 ед.). Разброс значений приведенной выборки колеблется от минимального 0,336 ед до максимального – 0,412. Зарегистрированный всплеск активности высоко значим и статистически подтвержден (рисунок 8, гр. 3).

На первые сутки после родов медиана активности лизоцима продолжает свой рост и составляет 0,425 ед. Q_{0,25}= 0,412 ед., а Q_{0,75} =0,472 ед. В данной

выборке числовой ряд начинается от минимальных значений- 0,398 ед. и завершается максимальным результатом – 0,516 ед. (таблица 7, рисунок 8, гр. 3).

Через трое суток активность лизоцима принимает еще более выраженный характер. Медиана составляет 0,486 ед., показатели межквантильного диапазона выросли от 0,423ед. ($Q_{0,25}$) до 0,501 ед. ($Q_{0,75}$). Диапазон выборки размещен между минимальным значением 0,398 ед. до 0,516 ед. (рисунок 8, гр. 5).

Следует отметить, что в первые сутки после родов медиана стремится к значениям нижней квантили, а на третьи сутки, наоборот, к значениям верхней квантили, что свидетельствует о прогрессивном росте активности лизоцима в сыворотке крови животных.

На пятые сутки прирост прекратился, активности лизоцима снизилась. Медиана равна 0,389 ед. нижняя квантиль 0,332 ед., верхняя- 0,426 ед. Результаты, составляющие выборку, имеют диапазон от 0,283 ед. до 0,471 ед. (рисунок 8, гр. 6).

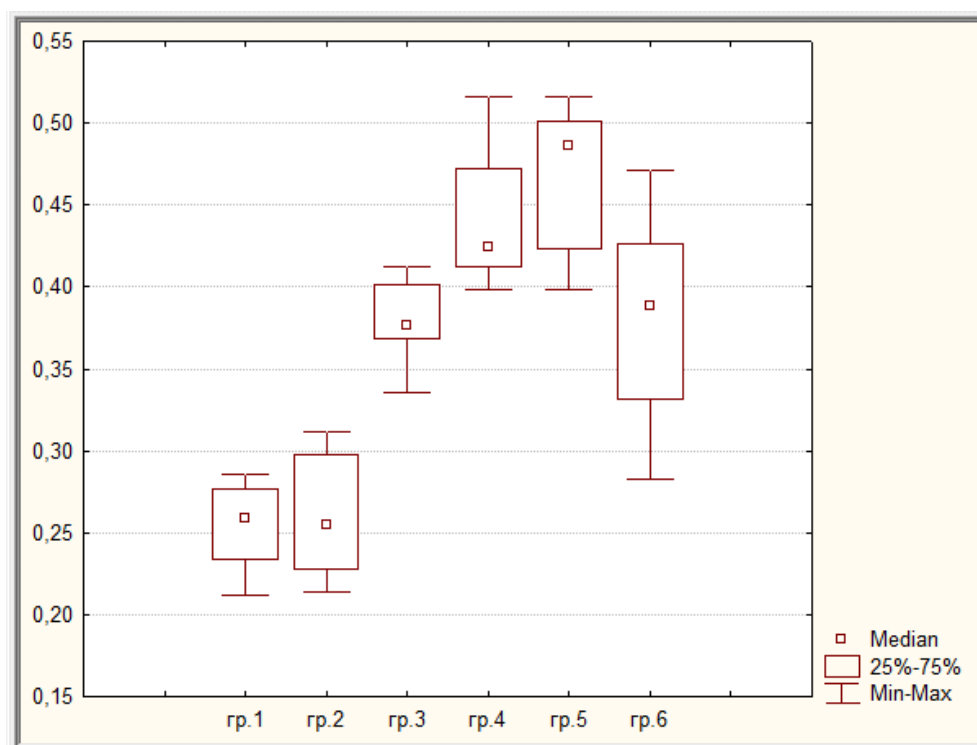


Рисунок 8 – Динамика изменения активности лизоцима у стимулированных крыс до и после родов

Таблица 7 – Результаты статистического анализа

	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max-Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}	Q _{0,25}
гр.1	0,259	0,234	0,277	0,212	0,286	0,074	0,043
гр.2	0,255	0,228	0,298	0,214	0,312	0,098	0,070
гр.3	0,377	0,369	0,401	0,336	0,412	0,076	0,032
гр.4	0,425	0,412	0,472	0,398	0,516	0,118	0,060
гр.5	0,486	0,423	0,501	0,398	0,516	0,118	0,078
гр.6	0,389	0,332	0,426	0,283	0,471	0,188	0,094

Таблица 8 – Уровень значимости различия данных при попарном сравнении групп

	гр.1	гр.2	гр.3	гр.4	гр.5	гр.6
гр.1						
гр.2	0,677585					
гр.3	0,000157	0,000157				
гр.4	0,000157	0,000157	0,000507			
гр.5	0,000157	0,000157	0,000381	0,130571		
гр.6	0,000285	0,000507	0,820596	0,058783	0,005159	

Таким образом, в послеродовом периоде как у нестимулированных крыс, так и у стимулированных крыс наблюдается увеличение активности лизоцима. Очевидным различием следует признать то, что у стимулированных животных активность лизоцима наступает раньше, сразу после болевого воздействия, еще до родов. Она так же снижается на пятые сутки, однако у стимулированных животных не достигает уровня, предшествовавшего болевому воздействию, как у не стимулированных крыс.

Если провести поэтапное сравнение активности лизоцима между стимулированными и нестимулированными животными, то на фоне общности тенденций изменения активности в двух группах обнаруживается существенная количественная разница. Между крысами обеих групп до стимуляции различий в активности лизоцима нет.

Непосредственно перед родами медиана активности лизоцима у нестимулированных крыс составляет 0,255 ед., а у стимулированных животных повышена и составляет 0,377 ед.

Сразу после родов у нестимулированных крыс медиана активности лизоцима повышается и равна 0,310 ед., у стимулированных же крыс повышение Ме более выражено и составляет 0,425ед. ($p < 0,001$) (таблица 8).

На третьи сутки у нестимулированных крыс медиана активности возрастает еще больше и составляет 0,378 ед., у стимулированных крыс нарастание активности лизоцима практически прекращается, однако при этом его уровень равен 0,488 ед., что намного выше, чем в группе сравнения, где $p < 0,001$.

На пятые сутки у нестимулированных крыс медиана активности лизоцима практически возвращается к исходным значениям и составляет 0,268 ед., а у стимулированных крыс, хотя и снижается до 0,389 ед., однако, во-первых, не достигает соответствующих показателей у интактных крыс, а, во-вторых, она более высокая, чем в группе сравнения, и эти причем различия статистически высоко значимы ($p < 0,001$).

Результаты сравнительного анализа позволяют заключить, что родовая деятельность сопровождается повышением активности лизоцима и в первом, и во втором случае. Отличие заключается в том, что у животных, подвергшихся болевому воздействию, активность лизоцима повышается раньше и сохраняется дальше.

3.3. Изменение активности лизоцима сыворотки крови приплода интактных крыс до и после родов

У приплода, находящегося в чреве беременных крыс, накануне родов медиана активности лизоцима составляет 0,171 ед.

Показатель нижней квантили 0,155 ед. Верхняя квантиль – 0,181 ед. Значение активности лизоцима в данной выборке распределены от Min= 0,144 ед. до Max= 0,206 ед. (рисунок 9, гр. 1).

После родоразрешения активность лизоцима в сыворотке крови новорожденных крысят прогрессивно нарастает.

Так в первые сутки после родов медиана активности лизоцима составляет 0,222 ед. Интерквартильный интервал располагается в рамках значений 0,194 ед. ($Q_{0,25}$) и 0,237 ед. ($Q_{0,75}$).

Показатели активности в данной выборке распределены между 0,176 ед. – нижняя граница и 0,251 ед.- верхняя граница (рисунок 9, гр. 3).

На третьи сутки активность лизоцима повышается, при этом повышение носит скачкообразный характер. Медиана активности исследуемого субстрата достигла значения 0,422 ед. Межквартильные границы определяются между 0,411 (нижняя граница) и 0,432 ед. (верхняя граница).

Минимальное значение активности лизоцима в рассматриваемой совокупности данных составляет 0,379 ед., максимальное – 0,491 ед. (рисунок 9, гр. 4).

На пятые сутки рост активности лизоцима продолжается, хотя и не столь значительно.

Медиана активности составляет 0,489 ед. Нижняя квантиль $Q_{0,25} = 0,476$, верхняя $Q_{0,75} = 0,491$ ед. (таблица 9).

Показатели активности в данной выборке распределены между 0,458 ед.- минимальный, 0,496 ед.- максимальный (рисунок 9, гр.5).

Следует отметить, что в каждой группе показатели расположены достаточно плотно как в целом по выборке, так и в межквартильном диапазоне. При сравнении каждой группы с первой (контрольной) и при сравнении между собой различия статистически высоко значимы (таблица 10).

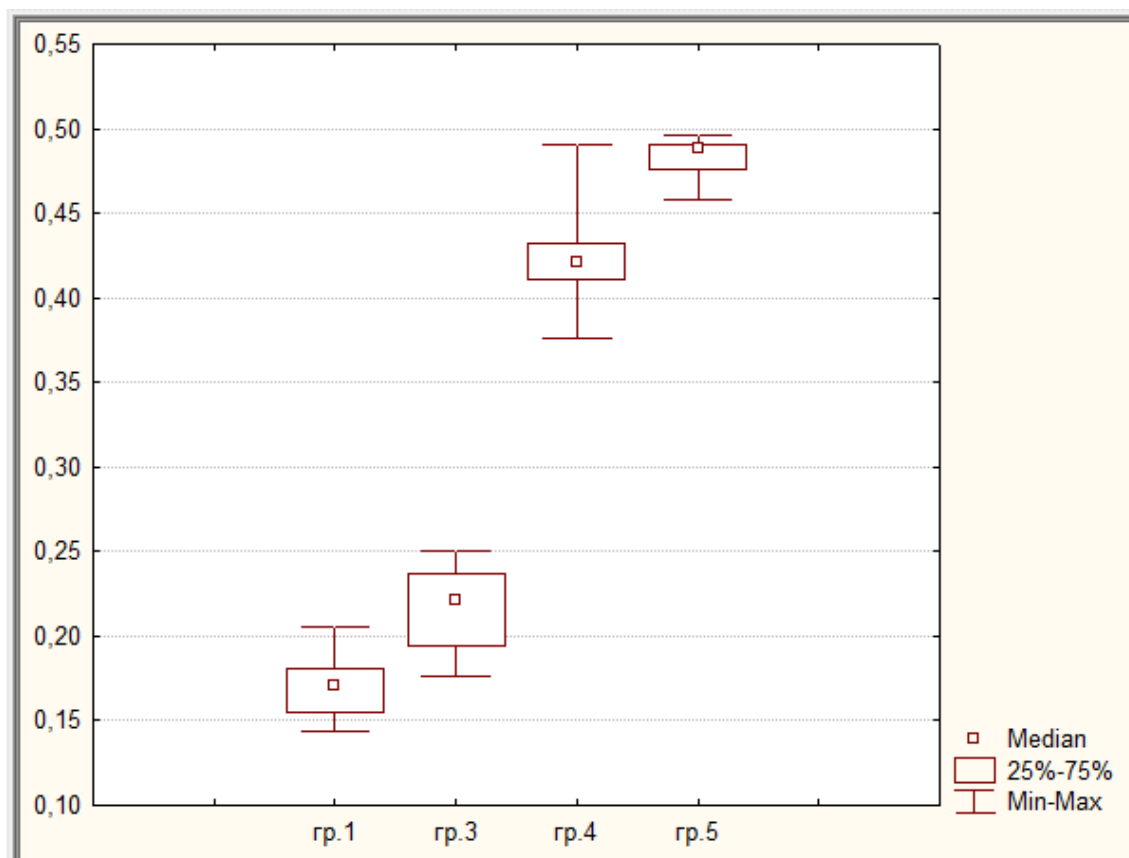


Рисунок 9 – Динамика изменения активности лизоцима у приплода интактных крыс

Таблица 9 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0.25}	Q _{0.75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0.75} - Q _{0.25}
гр.1	0,171	0,155	0,181	0,144	0,206	0,062	0,026
гр.3	0,222	0,194	0,237	0,176	0,251	0,075	0,043
гр.4	0,422	0,411	0,432	0,376	0,491	0,115	0,021
гр.5	0,489	0,476	0,491	0,458	0,496	0,038	0,015

Таблица 10 – Уровень значимости различия данных при попарном сравнении групп

	гр.1	гр.3	гр.4	гр.5
гр.1				
гр.3	0,001008			
гр.4	0,000157	0,000157		
гр.5	0,000157	0,000157	0,003611	

3.4. Изменение активности лизоцима сыворотки крови приплода крыс, подвергнутых аллогенному воздействию до и после родов

У приплода, находящегося в чреве беременных интактных крыс накануне родов Me активности лизоцима крови составляет 0,171 ед. [0,155ед.; 0,181 ед.], распределение значений в рассматриваемой выборке Min - 0,144, Max - 0,206 ед. (рисунок 10, гр.1).

После болевой стимуляции самок накануне родов у приплода активность лизоцима несколько возрастает. Медиана составляет 0,189 ед. Величина нижней квантили равна 0,179 ед., а верхней 0,214 ед. Крайнее значение показателей в ряду данной выборке составляет Min- 0,166 ед., Max- 0,234 ед. (рисунок 10, гр.2).

Различие значений медианы между описанным рядом и предыдущими статистически значимо ($p < 0,01$) (таблица 12).

В первые сутки после родов медиана активности лизоцима у новорожденных крыс составляет 0,209 ед. Нижняя квантиль – 0,185 ед., верхняя – 0,219 ед. Разброс значений исследуемой выборки расположен в интервале 0,168 ед. – 0,234 ед. (рисунок 10, гр.3).

Следует отметить, что повышение активности лизоцима в промежутке непосредственно перед родами и в первые сутки после них не находит статистического подтверждения, однако при сравнении последнего показателя с первым различия статистически высоко значимы.

На третьи сутки наблюдается как и у потомства, произведенного от интактных крыс, скачкообразное увеличение активности лизоцима. Медиана ее значений равна 0,462 ед. Нижняя квантиль $Q_{0,25}=0,416$ ед., верхняя $Q_{0,75}=0,476$ ед. Все значения данной выборки распределены в интервале от минимального – 0,388 ед. до максимального – 0,488 ед. (рисунок 10, гр.4)

На пятые сутки также продолжается рост активности лизоцима, но не столь активно, как на третьи сутки.

Медианное значение активности лизоцима составляет 0,490 ед. $Q_{0,25}=0,483$ $Q_{0,75}=0,498$ ед. (таблица 11).

Ряд сгруппирован достаточно плотно между значениями 0,476 ед.-нижняя граница и 0,521 ед. – верхняя граница (рисунок 10, гр.5).

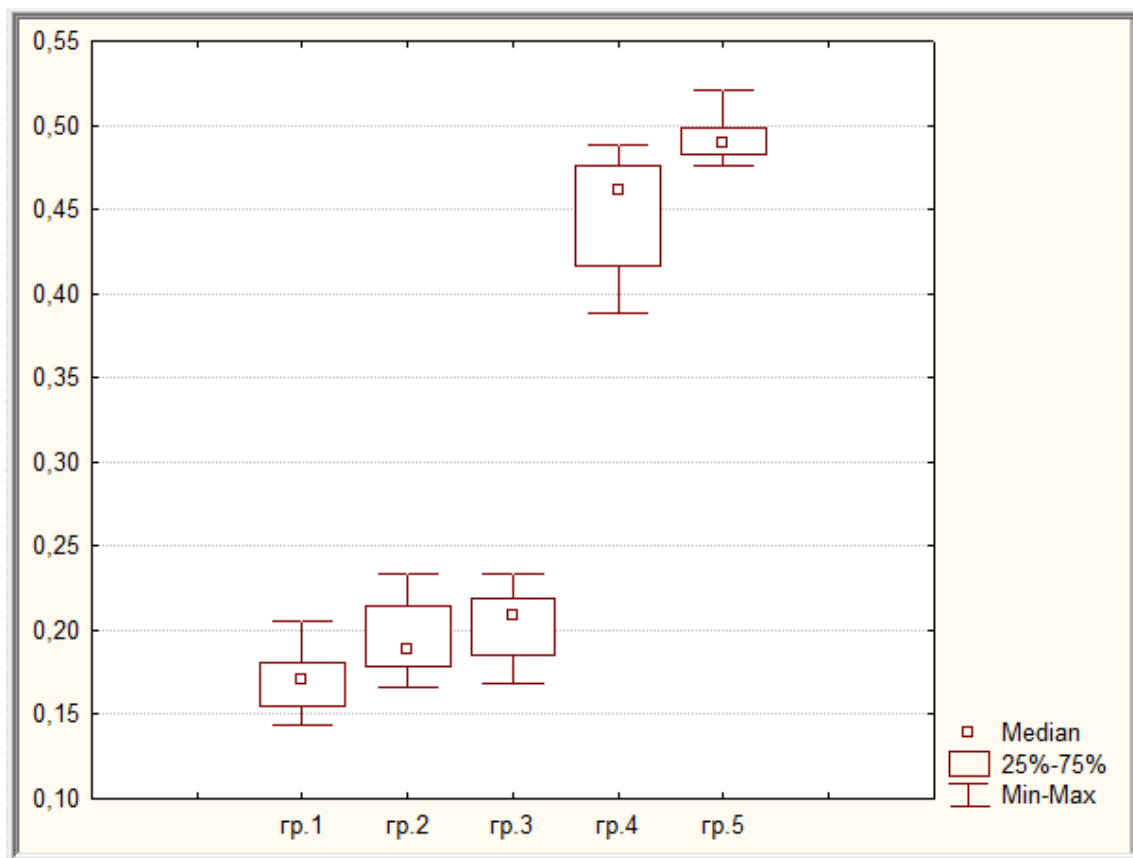


Рисунок 10 – Динамика активности лизоцима приплода, полученного от стимулированных крыс

Таблица 11 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0.25}	Q _{0.75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0.75} - Q _{0.25}
гр.1	0,171	0,155	0,181	0,144	0,206	0,062	0,026
гр.2	0,189	0,179	0,214	0,166	0,234	0,068	0,035
гр.3	0,209	0,185	0,219	0,168	0,234	0,066	0,034
гр.4	0,462	0,416	0,476	0,388	0,488	0,100	0,060
гр.5	0,490	0,483	0,498	0,476	0,521	0,045	0,015

Таблица 12 – Уровень значимости различий при парном сравнении

	гр.1	гр.2	гр.3	гр.4	гр.5
гр.1					
гр.2	0,019111				
гр.3	0,003611	0,405680			
гр.4	0,000157	0,000157	0,000157		
гр.5	0,000157	0,000157	0,000157	0,001315	

Исследуя активность лизоцима у крысят до и после родов от крыс, получавших и не получавших стимуляцию накануне родов, можно сделать следующее обобщение: по мере взросления у крысят той и другой группы отмечается увеличение активности лизоцима на всем протяжении эксперимента. Однако, эта общая для двух групп тенденция, статистический анализ не обнаруживает сколько-нибудь существенных преимуществ нарастания активности лизоцима у одной группы по сравнению с другой.

По сути, единственным отличием является то, что у приплода, находящегося в чреве крысы после ее болевой стимуляции, активность лизоцима выше, чем у приплода, находящегося в чреве интактной матери.

Отсюда можно сделать следующие выводы:

Во-первых, болевая стимуляция крыс накануне родов приводит к повышению активности лизоцима приплода.

Во-вторых, у той и другой группы подопытных животных (новорожденных крыс) по мере взросления наблюдается возрастание активности лизоцима. Этот процесс не связан с болевым воздействием на самок накануне родов, так как статистических различий между показателями при сравнении по горизонтали на всем протяжении эксперимента не обнаружено.

Объяснение самому факту роста активности лизоцима можно дать, опираясь на данные, полученные А.В. Мазуриным (2000).

Обе группы новорожденных животных находились на естественном грудном вскармливании. Известно, что лизоцим поступает с молоком матери и всасывается в кровь вскармливаемых (Мазурин А.В., Воронцов И.М., 2000; Карамева А.С., Зайцева В.В., 2010), что и повышает как его содержание, так и активность.

Обобщая материал всего исследования, следует подчеркнуть, что болевая стимуляция беременных самок крыс накануне родов повышает бактерицидную активность сыворотки крови, как минимум за счет повышения активности лизоцима. Биологическая целесообразность этого феномена очевидна. Во-первых, сам акт родов, формирование обширной поверхности вероятного

инфицирования предъявляет повышенные требования к иммунной системе. Во-вторых, в процессе вскармливания мать передает лизоцим новорожденным со своим молоком, и тем самым повышает его врожденный иммунитет.

Роль матери в формировании факторов врожденного иммунитета, как в своем организме, так и в организме новорожденного представляется ведущей.

У крыс, родам которых предшествовало аллогенное раздражение, активность лизоцима выше, чем у интактных животных в той же ситуации.

Долорогенное раздражение беременных крыс накануне родов не влияет на особенности изменения активности лизоцима у новорожденных животных.

ГЛАВА 4

С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК ИНТАКТНЫХ И ПОДВЕРГНУТЫХ АЛЛОГЕННОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ КРЫС И ИХ ПОТОМСТВА ДО И ПОСЛЕ РОДОВ

С-реактивный белок (СРБ) – продукт биосинтеза печени. Этот факт многократно подтвержден во второй половине XX века. (Kolb – Bachofen V., 1991; Gewurz H., Zang X.H., Lint T.F., 1995; Dolhain R., Haar N., Hoefakker S., 1996). Установлено так же, что продуцентами СРБ являются не только гепатоциты, но и активированные клетки белой крови. В частности на это указывают признанный авторитет в вопросах фундаментальной и прикладной иммунологии П.Г. Назаров (Назаров П.Г., Софронов Б.Н., 1983).

Без малого сто лет С-реактивный белок занимает прочное место среди субстратов, имеющих большое клиническое значение. Он завоевал славу «золотого» маркера воспаления, исследован практически при всех патологических процессах и заболеваниях имеющих в своей основе тканевое повреждение. Это настолько очевидно, что нет необходимости ссылаться на бесчисленные литературные источники. Но как справедливо замечают в своей обзорной статье Наумов А.В. с соавторами, физиологическая роль СРБ не выяснена до конца (Наумов А.В., Арцименя Л.Т., Биндиг Е.Ю., Наумова Н.В., 2010).

Имеются публикации отражающие динамику СРБ и при физиологическом процессе - беременности.

Установлено, что у здоровых беременных женщин уровень СРБ в крови возрастает с 16-ой до 28-ой недели, потом снижается. Вторая волна повышения содержания СРБ отмечается непосредственно перед родами (Teran E., Escudero C., Calle A., 2005). Есть и иная точка зрения, согласно которой беременность не влияет на содержание СРБ (Лабораторные анализы. Сыворотка и плазма крови, 2012).

Немногочисленны сведения о реакции СРБ на раздражители неантигенной природы и не приводящие к повреждению тканей.

Linkkonen Т. с соавторами (2006) показали зависимость между увеличением уровня СРБ и степенью выраженности депрессивных состояний. Положительная корреляционная зависимость между эпизодами депрессивных состояний и всплесками содержания СРБ в крови больных показана в том же году группой исследователей (Elovainio M., et al., 2006).

Содержание СРБ связывают с ожирением. Этот факт многократно подтвержден разными исследователями (Greenfield J.R., Samaras K., Jenkins A.B., et al. 2004; Gomez-Ambrosi J., Salvador J., Silva C. et al., 2006). Связь ожирения и увеличение содержания СРБ подтверждена и другими исследователями (King D., Mainous A., Egan B., et al., 2008). Они же указывают на связь увеличения уровня СРБ с инсулинрезистентностью, артериальной гипертензией. Повышение уровня СРБ ассоциируют даже с приемом оральных контрацептивных средств (vanRooijen M., Hansson L.O., Frostegard J. et al., 2006).

Во многих работах декларируется прямая зависимость между повышением уровня половых гормонов и СРБ (Lakoski S.G., Brosnihan B., Herrington D.M., 2005, Folsom A.R., Golden S.H., Boland L.G.etal., 2005).

Все перечисленные работы имеют одну общность: в них не приводятся доказательства того, что каждый из обозначенных возможных этиологических факторов, таких как депрессия, ожирение, артериальная гипертензия, избыток отдельных гормонов и прочее являются непосредственными инициаторами усиления биосинтеза СРБ, однако такая возможность также не исключается.

В последнее десятилетие систематизация знаний, сопоставление фактов позволяют утверждать, что в развитии ожирения, метаболического синдрома, сахарного диабета 2 типа ведущим патогенетическим фактором является воспаление (Shoelson S.E., Lee J., Goldfine A.B 2006; Cave M.C., Hurt R.T., Frazier T.H 2008; Tilg H., Moschen A.R., 2008). Достоверно установлено, что адипоциты активно продуцируют ИЛ-6 и ИЛ-1, которые контролируют

биосинтез СРБ. Последний, являясь провоспалительным цитокином, вызывает воспаление, прежде всего в жировой ткани, при котором отсутствуют классические признаки, характерные для этого процесса (Zulet M.A., Puchau B., Navarro C., 2007; Han T.S., Sattar N., Williams K., 2002; Takebayashi K., Suetsugu M., Matsutomo R., 2006).

Таким образом, если даже процесс не имеет под собой иммунологической основы и изначально не связан с альтерацией и воспалением, с ним связано увеличение содержания СРБ. Другой вопрос, как с ними связан СРБ каузально, где первопричина? На эти вопросы ответы носят скорее предположительный характер. Трудно не согласиться с тем, что не сами заболевания, о которых речь шла выше запускают биосинтез СРБ, а осуществляют это за счет активации ИЛ-6.

В последние годы на кафедре патологической физиологии Ростовского государственного медицинского университета последовательно проводятся исследования, посвященные влиянию боли на факторы врожденного иммунитета. В частности показано, что острая интенсивная боль вызывает у взрослых животных вначале снижение СРБ, но уже через 3 часа после болевого эксцесса его содержание возрастает (Овсянников В.Г. и др., 2013).

Авторы расценивают этот факт, как вторичную реакцию клеток - продуцентов СРБ на повышение активности ИЛ-6, которую связывают именно с аллогенным воздействием.

Самостоятельный интерес представляет феномен боли при родах. Является ли боль тяжким испытанием или имеет в своей основе позитивное содержание, в частности, активацию факторов врожденного иммунитета?

С этой целью исследовалось содержание СРБ крыс до и после нормальных родов, а также родов, которым предшествовало аллогенное воздействие. СРБ исследовался также у приплода, находящегося в утробе матери, а также после рождения, как в первой, так и во второй группе подопытных животных.

4.1. Изменение содержания С-реактивного белка у интактных крыс до и после родов

У интактных небеременных крыс медиана содержания С-реактивного белка равна 412,00 нг/мл. Нижняя квантиль составляет 380,00 нг/мл, верхняя- 512,00 нг/мл. Минимальный уровень содержания С-реактивного белка в выборке- 312,00 нг/мл, максимальный -592,00 нг/мл. (рисунок 11, гр. 1).

Непосредственно перед родами медианные значения содержания С-реактивного белка не претерпевают статистически значимых изменений $Me = 434,00$ нг/мл, интерквантильный диапазон размещен между значениями $Q_{0,25} = 388,00$ нг/мл и $Q_{0,75} = 496,00$ нг/мл. Вся совокупность результатов данной группы исследования сосредоточена между нижним значением равным 352,00 нг/мл и верхним – 508,00 нг/мл. (рисунок 11, гр. 2).

В первые сутки после родов отличается тенденция к увеличению содержания исследуемого субстрата. Медиана равна 510,00 нг/мл. Интерквантильные значения становятся более плотными и расположены между $Q_{0,25} = 504,00$ нг/мл и $Q_{0,75} = 548,00$ нг/мл, при этом медиана приближена по своему уровню к нижней квантили (таблица 13).

Исследуемая выборка имеет минимальное значение 400,00 нг/мл, максимальное значение равно 680,00 нг/мл. (рисунок 11, гр.4).

Картина меняется на третьи сутки после родов. Медиана содержания С-реактивного белка в плазме крыс увеличивается до 584,00 нг/мл и это увеличение существенно значимо по отношению к контрольным цифрам. Значение нижней квантили- 532,00 нг/мл, верхняя квантиль равна 612,00 нг/мл. Разброс значений в выборке от 488,00 нг/мл (min) до 668,00 нг/мл (max) (рисунок 11, гр. 5).

На пятые сутки содержание С-реактивного белка падает. Медиана его содержания в сыворотке крови равна 394,00 нг/мл. Различие со значениями контрольных цифр статистически не значимо, а по отношению к третьим суткам снижение высоко значимо (таблица 14). Межквантильный диапазон заключается в пределах 372,00 нг/мл ($Q_{0,25}$) – 416,00 нг/мл ($Q_{0,75}$). Диапазон

разброса данных находится в пределах 348,00 нг/мл – 532,00 нг/мл. При этом медиана приближена к минимальным значениям содержания СРБ в данной выборке (рисунок 11, гр. 6).

Базальный уровень СРБ не является привилегией самок, у самцов его содержание не отличается существенно от описанного (Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Бликян М.В., Алексеев В.В. и др., 2013).

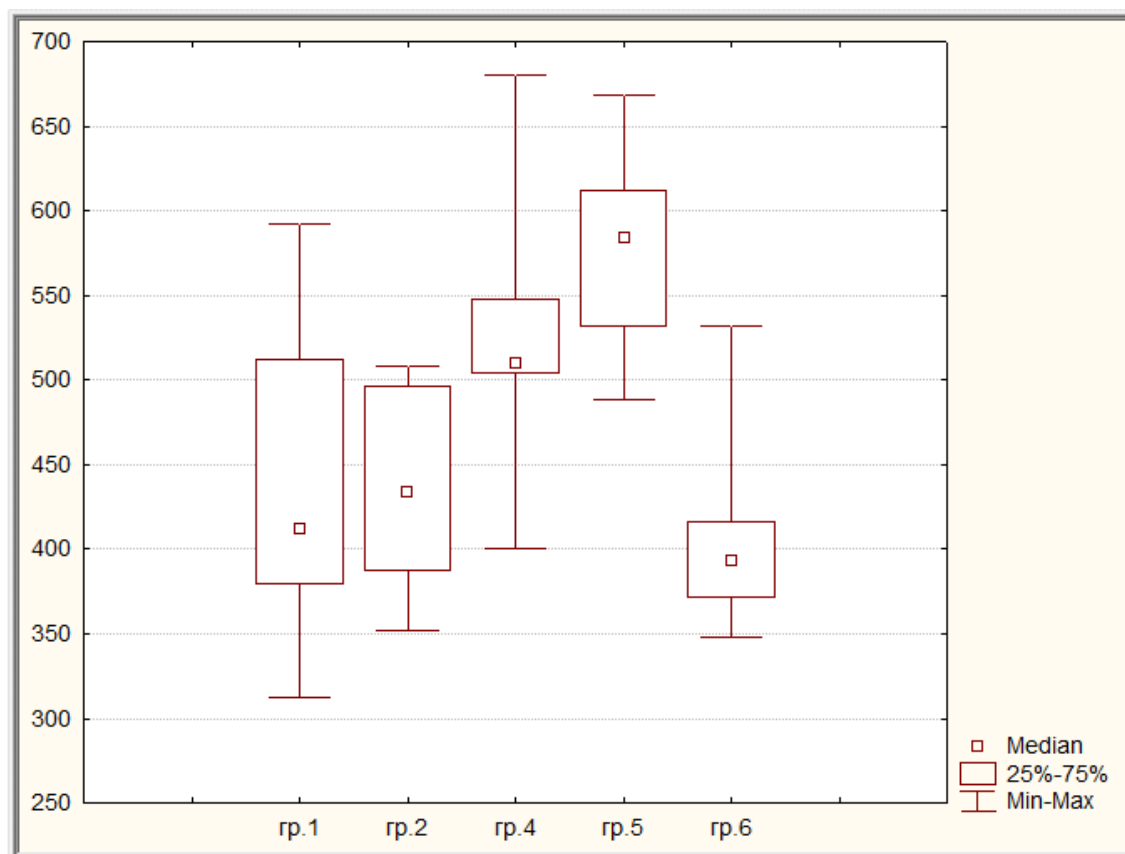


Рисунок 11 – Динамика изменения содержания С-реактивного белка у интактных крыс до и после родов

Таблица 13 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} -Q _{0,25}
гр.1	412,00	380,00	512,00	312,00	592,00	280,00	132,00
гр.2	434,00	388,00	496,00	352,00	508,00	156,00	108,00
гр.4	510,00	504,00	548,00	400,00	680,00	280,00	44,00
гр.5	584,00	532,00	612,00	488,00	668,00	180,00	80,00
гр.6	394,00	372,00	416,00	348,00	532,00	184,00	44,00

Таблица 14 – Уровень значимости различий данных при попарном сравнении

	гр.1	гр.2	Гр.4	гр.5	гр.6
гр.1					
гр.2	0,909722				
гр.4	0,075662	0,005796			
гр.5	0,005159	0,000881	0,173618		
гр.6	0,364347	0,161973	0,002827	0,000330	

4.2. Изменение содержания С-реактивного белка до и после родов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию

У интактных крыс Me содержания СРБ – 412,00 нг/мл [380,00 нг/мл; 512,00 нг/мл]. Разброс значений в выборке 312,00 нг/мл – 592,00 нг/мл (рисунок 12, гр.1).

Перед родами статистически значимых изменений не происходит. Медиана содержания СРБ- 434,00 нг/мл, [388,00нг/мл; 496,00 нг/мл]. Значения в выборке min- 352,00 нг/мл, max- 508,00 нг/мл (рисунок 12, гр. 2).

Картина меняется после нанесения болевого раздражения. Медианные значения содержания СРБ в сыворотке крови животных возрастают до 490,00 нг/мл. Но этот прирост не находит статистического подтверждения, чтобы говорить о нем как о значимом.

Нижняя квантиль равна 460,00 нг/мл, верхняя – 532 нг/мл. Диапазон значений в этой выборке минимальный по сравнению с другими. Min значения – 488 нг/мл, Max – 584 нг/мл. (рисунок 12, гр. 3).

На первые сутки после раздражения медиана содержания С-реактивного белка достигает 564,00 нг/мл (таблица 15). По сравнению с предыдущими значениями прирост статистически значим. Интерквантильный диапазон расположен между значениями $Q_{0,25} = 512,00$ нг/мл, $Q_{0,75} = 588,00$ нг/мл. В данном ряду значения расположены в диапазоне Min=440,00 нг/мл, Max = 670,00 нг/мл (рисунок 12, гр. 4).

Рост содержания СРБ продолжается на третьи сутки после родов, медиана составляет при этом 624,00 нг/мл. Этот прирост статистически высоко значим как по отношению к контрольным цифрам, так и к предшествующим

(табл.16). $Q_{0,25} = 588$ нг/мл, $Q_{0,75} = 664,00$ нг/мл. Выборка содержит значения содержания СРБ от 522,00 нг/мл (min) до 728 нг/мл (max) (рисунок 12, гр. 5).

Прирост содержания СРБ ограничен третьими сутками. На пятые сутки значение медианы снижается до 378,00 нг/мл. Это даже ниже, чем в контрольной группе. По отношению к предыдущим срокам после родов различие высоко статистически значимо (таблица 16). Нижняя квантиль составляет 264,00 нг/мл, верхняя – 440,00 нг/мл. Минимальное значение содержания СРБ составляет в выборке 248,00 нг/мл, а максимальное – 468,00 нг/мл. (рисунок 12, гр. 6).

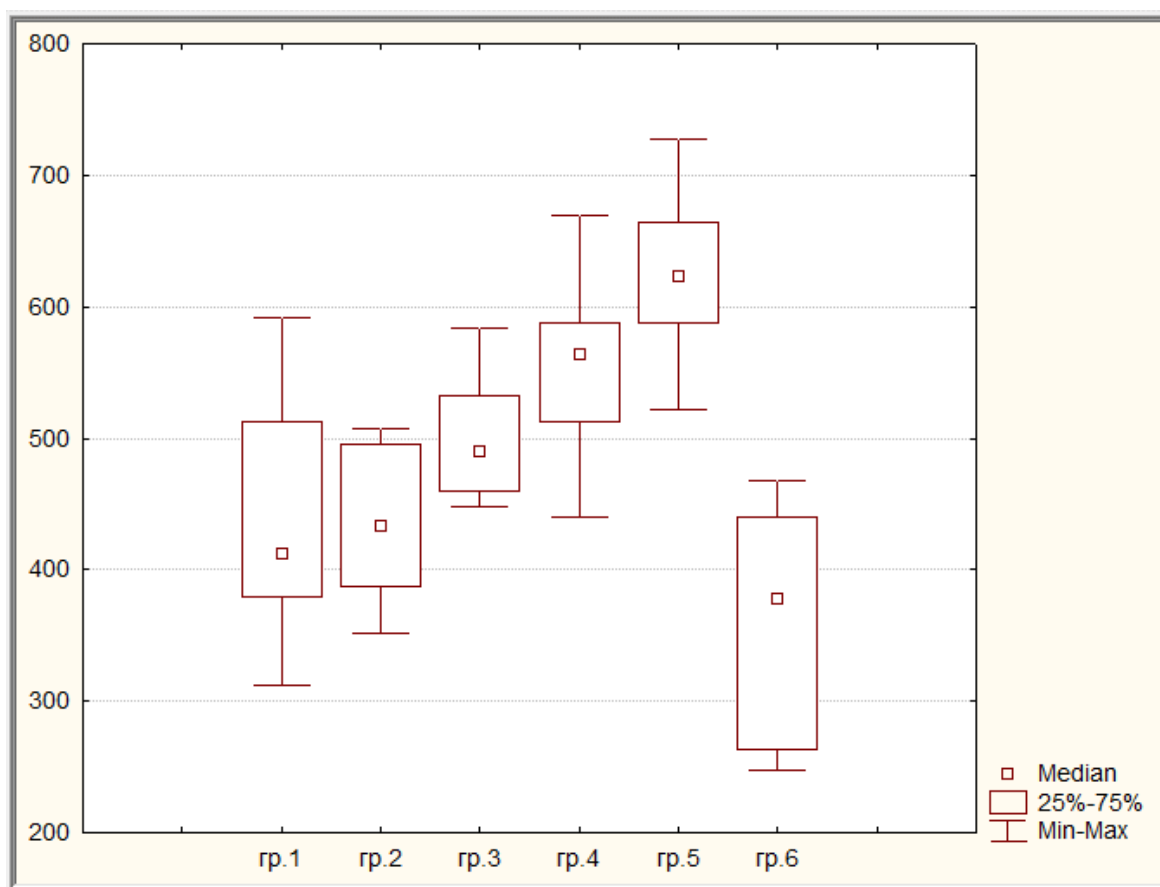


Рисунок 12 – Динамика изменения содержания С-реактивного белка у стимулированных крыс до и после родов

Таблица 15 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	412,00	380,00	512,00	312,00	592,00	280,00	132,00
гр.2	434,00	388,00	496,00	352,00	508,00	156,00	108,00
гр.3	490,00	460,00	532,00	448,00	584,00	136,00	72,00
гр.4	564,00	512,00	588,00	440,00	670,00	230,00	76,00
гр.5	624,00	588,00	664,00	522,00	728,00	206,00	76,00
гр.6	378,00	264,00	440,00	248,00	468,00	220,00	176,00

Таблица 16 – Уровень значимости различий данных при попарном сравнении

	гр.1	гр.2	гр.3	гр.4	гр.5	гр.6
гр.1						
гр.2	0,909722					
гр.3	0,173618	0,053903				
гр.4	0,010166	0,001152	0,034294			
гр.5	0,000670	0,000157	0,000507	0,023343		
гр.6	0,075662	0,041251	0,000381	0,000285	0,000157	

Таким образом, полученный фактический материал и сравнение его результатов между группой интактных беременных крыс и группой крыс, испытавших аллогенное воздействие накануне родов, свидетельствует о том, что сам факт беременности не сопровождается нарастанием содержания СРБ в периферической крови вне зависимости от того, получили ли беременные крысы болевую стимуляцию или нет.

После родов же, при сохранении вектора реакции в обеих группах сравнения, следует отметить, что у стимулированных крыс содержание С-реактивного белка нарастает на первые сутки, тогда как у интактных крыс намечается лишь тенденция к такому увеличению.

На третьи сутки в обеих группах подопытных животных зарегистрирован очевидный прирост содержания СРБ. На пятые сутки у интактных крыс содержание СРБ не отличается от контрольных значений, а у стимулированных животных прослеживается даже тенденция к падению уровня СРБ по сравнению с контрольными значениями.

Общее заключение сводится к двум позициям:

Беременность не сопровождается увеличением содержания СРБ.

Имеет место увеличение содержания СРБ после родов. У интактных животных это увеличение менее интенсивно и к пятым суткам возвращается к исходным значениям. У стимулированных крыс прирост наблюдается более стремительно, а к пятым суткам отмечено снижение содержания СРБ ниже контрольных значений.

4.3. Содержание С-реактивного белка у приплода интактных крыс до и после рождения

Медиана содержания С-реактивного белка у приплода, находящегося в чреве матери накануне родов равна 25,00 нг/мл. Нижняя квантиль составляет 12,00 нг/мл, верхняя – 32,00 нг/мл. Разброс данных в выборке от 2,00 нг/мл (min) до 76,00 нг/мл (max) (рисунок 13, гр. 1).

В первые сутки после рождения у крысят медиана содержания С-реактивного белка в плазме крови практически не меняется и составляет 29,00 нг/мл. Интерквантильный интервал достаточно плотный от $Q_{0,25} = 24,00$ нг/мл, до 50,0 нг/мл. Медиана приближена к нижней квантили (рисунок 13, гр.3).

На третьи сутки жизни содержания СРБ у крысят продолжает оставаться стабильным. Медиана содержания С-реактивного белка составляет 28 нг/мл. Цифровые значения в межквантильном диапазоне располагаются от $Q_{0,25} = 4,00$ нг/мл до $Q_{0,75} = 44,00$ нг/мл (рисунок 13, гр. 4).

К пятым суткам содержание СРБ сохраняется, но выборка принимает менее однородный характер. Медиана содержания СРБ имеет значение 82,0 нг/мл. Это выше, чем в предыдущих измерениях, но прирост не находит статистического подтверждения. $Q_{0,25} = 6,00$ нг/мл, $Q_{0,75} = 116$ нг/мл. (рисунок 13, гр.5).

Разброс значений в данной выборке велик от 2,00 нг/мл (min) до 380 нг/мл (max) (таблица 17).

Следует отметить, что при попарном сравнении показателей ни в одном случае не было статистически значимых различий (таблица 18).

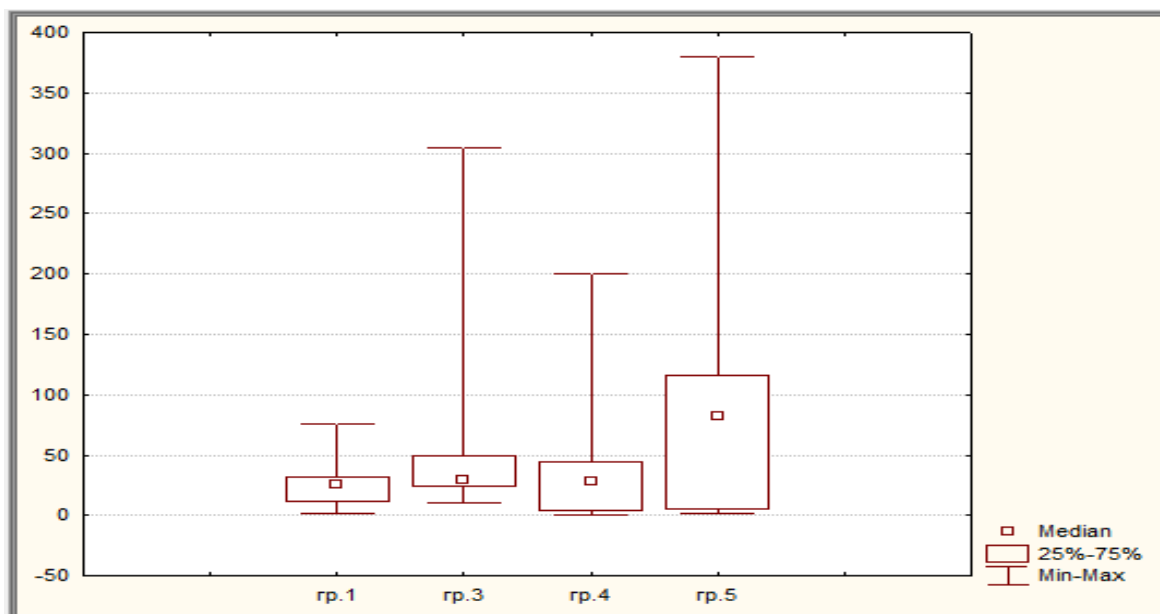


Рисунок 13 – Динамика изменений содержания С-реактивного белка у приплода интактных крыс до и после рождения

Таблица 17 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	25,00	12,00	32,00	2,00	76,00	74,00	20,00
гр.3	29,00	24,00	50,00	10,00	304,00	294,00	26,00
гр.4	28,00	4,00	44,00	0,00	200,00	200,00	40,00
гр.5	82,00	6,00	116,00	2,00	380,00	378,00	110,00

Таблица 18 – Уровень значимости различий данных при попарном сравнении

	гр.1	гр.3	гр.4	гр.5
гр.1				
гр.3	0,344705			
гр.4	0,879829	0,570751		
гр.5	0,140466	0,325752	0,185878	

Таким образом, у приплода, рожденного интактными животными, статистически значимых колебаний в уровне СРБ как во внутриутробном состоянии, так и после родов не отмечено.

4.4. Изменение содержания С-реактивного белка у приплода стимулированных крыс до и после рождения

У приплода интактных крыс накануне рождения медиана содержания С-реактивного белка составляет 25,00 нг/мл [12,00; 32,00]. Диапазон значений в выборке от 2,00 нг/мл (min) до 76,00 нг/мл (max) (рисунок 14, гр. 1).

Сразу после нанесения аллогенного раздражения матери, медиана значений содержания С-реактивного белка в плазме крови составляет 29,00 нг/мл, т.е. практически не меняется. Характер ответа менее однороден, нежели до стимуляции: $Q_{0,25} = 20,00$ нг/мл, $Q_{0,75} = 116,00$ нг/мл, при этом медиана по своим значениям приближена к нижней квантили (таблица 19).

Разброс значений имеет нижнюю границу равную 2,00 нг/мл, и верхнюю – 160,00 нг/мл (рисунок 14, гр. 2).

В первые сутки после рождения у крысят медиана СРБ 39,00 нг/мл. Нижняя квантиль равна 24,00 нг/мл, а верхняя – 108,00 нг/мл. Выборка представлена значениями от 4,00 нг/мл (min) до 132,00 нг/мл (max) (рисунок 14, гр.3).

На третьи сутки медиана содержания С-реактивного белка в сыворотке крови крысят равна 30,00 нг/мл. Межквантильный интервал в пределах $Q_{0,25} = 12,00$ нг/мл – $Q_{0,75} = 62,00$ нг/мл. Диапазон значений рассматриваемой выборки от 4,00 нг/мл (min) до 280,00 нг/мл (max).

Медиана и межквантильный интервал приближены к минимальным значениям содержания СРБ в данном ряду (рисунок 14, гр.4).

На пятые сутки также не отмечается статистически значимых отличий от групп сравнения, но результаты как в межквантильном диапазоне, так и в выборке в целом не отличаются компактностью. Медиана составляет 89,00 нг/мл $Q_{0,25} = 8,00$ нг/мл, $Q_{0,75} = 308$ нг/мл. Минимальные значения в выборке равны 4,00 нг/мл, максимальные 376,00 нг/мл (рисунок 14, гр.5).

Достоверность различий приведена в таблице 20.

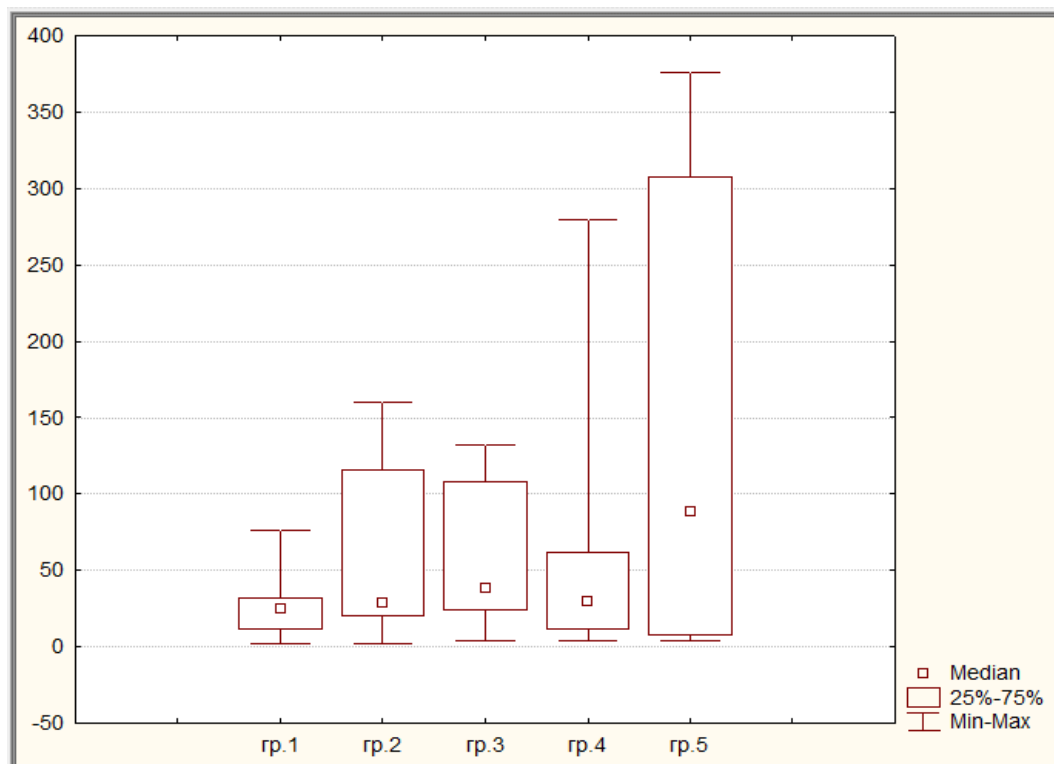


Рисунок 14 – Динамика изменения содержания С-реактивного белка у приплода стимулированных крыс до и после рождения

Таблица 19 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	25,00	12,00	32,00	2,00	76,00	74,00	20,00
гр.2	29,00	20,00	116,00	2,00	160,00	158,00	96,00
гр.3	39,00	24,00	108,00	4,00	132,00	128,00	84,00
гр.4	30,00	12,00	62,00	4,00	280,00	276,00	50,00
гр.5	89,00	8,00	308,00	4,00	376,00	372,00	300,00

Таблица 20 – Уровень значимости различий данных при попарном сравнении

	гр.1	гр.2	гр.3	гр.4	гр.5
гр.1					
гр.2	0,384674				
гр.3	0,198766	0,762369			
гр.4	0,596702	0,850107	0,596702		
гр.5	0,289919	0,405680	0,596702	0,496292	

Таким образом, ни болевое сопровождение родов, ни нормальные роды не повлияли на содержание С-реактивного белка у приплода, его следует считать стабильным. Обращает на себя внимание тот факт, что на пятые сутки

отмечается мозаичность показателей, что делает ряд наблюдений неоднородным и не позволяющим сделать сколько-нибудь определенного заключения.

Тем не менее, пренебрегать картиной мозаичности данных не следует, за ней может быть скрыта двунаправленность процесса. В целом же, убедительных данных, свидетельствующих о том, что СРБ более активен при болевом сопровождении родов у приплода и новорожденных нет, а у родильниц содержание СРБ нарастает к пятым суткам, хоть и с разной степенью интенсивности. Однако, это не дает основания связывать более значительный прирост с дородовой болевой стимуляцией. Судя по скорости наступления реакции со стороны СРБ это ответ острой фазы на морфофункциональные изменения, происходящие в рожаящей матке (ее рогах и родовых путях).

В процессе беременности, судя по данным научной литературы, уровень ИЛ-6 – индуктора выработки СРБ остается неизменным, с этим очевидно связан монотонный уровень содержания СРБ до родов и сразу после них.

Следует упомянуть относительно недавно появившиеся данные о том, что у женщин со сроком беременности 37 и более недель повышается уровень ИЛ-6 в сыворотке крови (Клигуненко Е.Н., Волков А.О., 2013). По логике это должно приводить к нарастанию уровня СРБ, однако ни тот, ни другой показатель в нашей версии эксперимента накануне родов статистически значимо не изменялся.

Общее заключение:

Изменение содержания СРБ у интактных самок и самок, получивших накануне родов электроболевою стимуляцию, после родов возрастает, у стимулированных животных прирост содержания СРБ более выражен.

У приплода до родов и после рождения содержание СРБ не меняется вне зависимости от того, получали или не получали их матери накануне родов электроболевою стимуляцию.

ГЛАВА 5

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ С3 КОМПОНЕНТА КОМПЛЕМЕНТА У КРЫС И ИХ ПОТОМСТВА ПРИ НОРМАЛЬНОМ ТЕЧЕНИИ РОДОВ И ПРЕДШЕСТВУЮЩЕЙ АЛОГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Французский исследователь Жан Борде открыл комплемент и назвал его «алексином». Современное название «комплемент» вошло в обиход благодаря Паулю Эрлиху - теоретику гуморального иммунитета.

Комплемент, а точнее система комплемента, представляет собой совокупность белков крови, являющихся глобулинами или гликопротеинами. Считается, что в норме они не активны. Выработка белков комплемента осуществляется моноцитами (макрофагами), эндотелиоцитами, хондроцитами и гепатоцитами.

В систему комплемента входит более 30 белков и белковых комплексов крови, 9 из них основные: С1-С9. Все белки в норме находятся в неактивном состоянии. Их относят к гуморальным факторам врожденного иммунитета (Титов Л.П., 2008).

Принято считать, что комплемент активируется тремя основными путями: классическим, альтернативным и лектиновым, которые приходят в движение при наличии иммунных комплексов или бактериальной агрессии.

При запуске того или иного пути вследствие ферментативной реакции запускается каскадная реакция взаимоактивирования и формирования мембрано-атакующего комплекса.

В целом комплемент является наиболее мощным из неспецифических гуморальных механизмов защиты. При его активации формируются следующие эффекты: опсонизация, хемотаксис, усиление фагоцитоза, дегрануляция тучных клеток и базофилов и лизис.

Из всех компонентов комплемента самое высокое содержание в сыворотке крови приходится на С3 фракцию (Шеплягина Л.А., Круглова И.В., 2009).

Фракция комплемента C3 при ее расщеплении выступает в роли центрального звена запуска любого пути активации комплемента и образования мембрано-атакующего комплекса (Аракелова Э.А., Овсенян М.П., Бояджян А.С., Аракелян А.А., Геворкян Л.А., Мамикоян А.А., 2011).

Можно считать доказанным, что классические представления об активации комплемента в ответ на образования иммунных комплексов или бактериальную агрессию пополнены сведениями о возможной реакции комплемента на раздражители не антигенной природы.

Еще в семидесятые годы XX века было доказано, что система комплемента отзывается на гипербарическую оксигенацию (Kierzinikowicz W., Ulewicz, 1976). Позже появилось сообщение о влиянии ряда фармакологических и биологически активных средств, например, контрастное вещество, кортикостероиды, на активность комплемента (Вавилова Л.М, Голосова Т.В, 1990).

Описано увеличение продукции C3 фракции комплемента при стрессе (Moon R., Pretts T.A., Parikh A.A.et al., 1999).

Позднее было показано, что активация C3 компонента комплемента наблюдается при гипоксии, гипертермии и иммобилизационном стрессе (Кузнецова Л.Н., 2009).

Тот же автор в своей работе уточняет, что гипертермия оказывает истощающее действие на комплемент, а иммобилизационный стресс может не затрагивать интересы C3 фракции комплемента (Подсеваткин В.Г., Кирюхина С.В., Блинов Д.С., Моисеева И.Я., 2007).

Реакция, безусловно, зависит от интенсивности и времени действия стрессора. Первичное, острое воздействие активирует систему, более длительное - истощает (Кузнецова Л.Н., 2009).

Общий вектор исследований Кузнецовой Л.Н. направлен на доказательство участия комплемента в формировании адаптивных реакций организма к острому стрессу.

Не вдаваясь в детали, полагаем правомерным считать, что система комплемента в целом и его C3 фракция реагирует на раздражения не антигенной природы, и боль, а ровно и сам акт родов не являются в этом отношении исключением. Именно эти посылки побуждают исследовать динамику изменения показателей, характеризующих активность комплемента, как при нормальных родах, так и при болевом воздействии на беременную самку накануне родов. Универсальные включения компонента C3 как при классическом, так и при альтернативном и лектиновом путях активации комплемента, а также самый высокий удельный вес фракции C3 в общем ансамбле составляющих систему, выступают дополнительными аргументами в пользу намеченного исследования.

5.1. Изменение содержания C3 компонента комплемента у интактных крыс до и после родов

Проведенное исследование в плане содержания C3 комплемента у интактных крыс дало следующие результаты. У интактных небеременных самок крыс медиана значений фракций C3 компонента комплемента составляет 148 мкг/мл, интерквартильный размах данных [141,50 мкг/мл; 158,50 мкг/мл] в интервале значений 138,00 мкг/мл- 171,00 мкг/мл (рисунок 15, гр.1).

У интактных беременных крыс накануне родов Me C3 фракции комплемента несколько снизилось и составило 128,50 мкг/мл, разброс значений отмечен в пределах [121,5 мкг/мл; 133,00 мкг/мл], диапазон показаний в совокупности случаев зафиксирован от 110,50 мкг/мл до 137,50 мкг/мл (рисунок 15, гр.2).

В первые сутки после родов медианное значение уровня C3 компонента комплемента продолжает снижаться, хотя не так интенсивно. Оно составило 117,00 мкг/мл, при этом значение нижней квантили $Q_{0,25}=113,00$ мкг/мл и верхней квантили $Q_{0,75}=121,50$ расположены по отношению к медиане почти симметрично. Интервал значений в данной выборке от 112,50 мкг/мл до 126,50 мкг/мл (рисунок 15, гр.4).

Значение медианы СЗ компонента комплемента на третьи сутки после родов уменьшается и по отношению к данным контрольной группы животных, и по отношению к результату, полученному в первые сутки после родов, и составляет 107,25 мкг/мл (таблица 21). Разброс данных $Q_{0,25}=105,00$ мкг/мл, $Q_{0,75}=117,00$ мкг/мл. Диапазон значений в данной выборке от 100,00 мкг/мл до 115,00 мкг/мл (рисунок 15, гр. 5).

На пятые сутки после родоразрешения значения медианы СЗ компонента комплемента остается близким по отношению к результатам, зафиксированным на третьи сутки после родов и сниженным по отношению к остальным группам, она равна 104,00 мкг/мл. Разброс показателей в группе [102,00 мкг/мл; 110,00 мкг/мл]. Величина исследуемого параметра в группе распределяется в диапазоне от 101,50 мкг/мл до 122,00 мкг/мл (рисунок 15, гр.6).

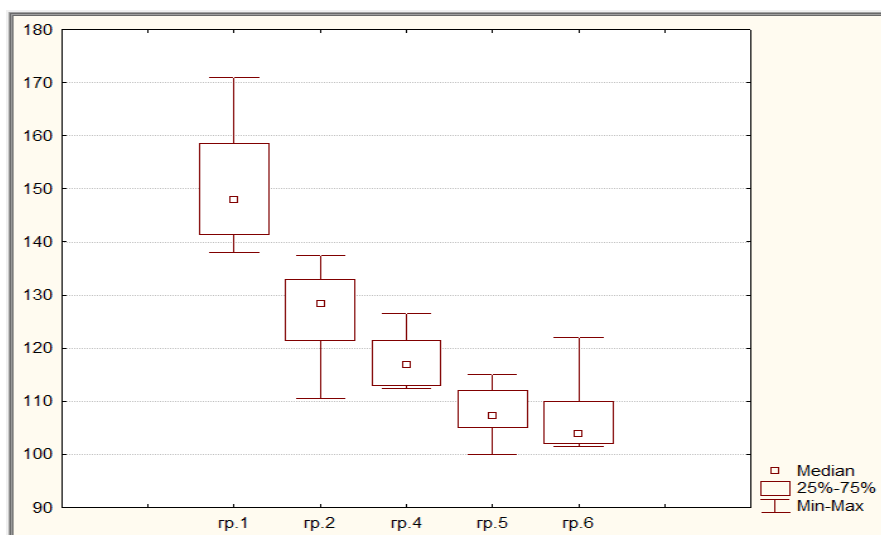


Рисунок 15 – Динамика изменения содержания СЗ фракции комплемента у интактных крыс до и после родов

Таблица 21 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	148,00	141,50	158,50	138,00	171,00	33,00	17,00
гр.2	128,50	121,50	133,00	110,50	137,50	27,00	11,50
гр.4	117,00	113,00	121,50	112,50	126,50	14,00	8,50
гр.5	107,25	105,00	112,00	100,00	115,00	15,00	7,00
гр.6	104,00	102,00	110,00	101,50	122,00	20,50	8,00

Таблица 22 – Уровень значимости различия данных при попарном сравнении групп

	гр.1	гр.2	гр.4	гр.5	гр.6
гр.1					
гр.2	0,000157				
гр.4	0,000157	0,017258			
гр.5	0,000157	0,000381	0,001315		
гр.6	0,000157	0,000507	0,004072	0,405680	

Сравнение рядов данных С3 компонента комплемента выявило, что во всех группах экспериментов отмечается снижение каждого показателя по отношению к контрольному, а так же последующего по отношению к предыдущему. Эти отличия статистически существенно и высоко значимы (таблица 22). Исключение значимости отличий наблюдается в шестой группе по отношению к пятой. Таким образом, у интактных животных уровень С3 компонента комплемента снижается накануне родов и продолжает падать вплоть до третьих суток после родоразрешения. Затем наблюдается стабилизация показателя на низких цифрах. Снижение С3 компонента комплемента накануне родов следует считать скорее закономерностью, т.к. аналогичная картина отмечается и у людей (Судоткина Л.Н., Мосина Л.М., Байтяков В.В., 2015).

5.2. Изменение содержания С3 компонента комплемента до и после родов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию на завершающем этапе беременности

Напомним, что Me С3 компонента комплемента у интактных небеременных крыс 148 мкг/мл, интерквартильный размах данных [141,50 мкг/мл; 158,50 мкг/мл] в интервале значений 138,00 мкг/мл – 171,00 мкг/мл (рисунок 16, гр. 1).

У интактных беременных крыс накануне родов медиана С3 фракции комплемента несколько снижается и составляет 128,50 мкг/мл, разброс значений в рамках нижней и верхней квантилей 121,5 мкг/мл-133,00 мкг/мл,

диапазон показателей в совокупности случаев определяется от 110,50 мкг/мл до 137,50 мкг/мл (рисунок 16, гр. 2).

После болевой стимуляции, предшествовавшей родам, медиана фрагмента компонента С3 составляет 114,50 мкг/мл, интерквартильный интервал [108,50 мкг/мл; 118,50 мкг/мл]. Выборка значений исследуемой группы находится в интервале Min – 96,50 мкг/ мл – 122,50 мкг/ мл (рисунок 16, гр. 3). Общая направленность результатов - их снижение, которое усугубляется болевой стимуляцией.

В первые сутки после родов Me С3 стимулированных крыс составляет 91,00 мкг/мл. Нижняя и верхняя квантили соответственно составляют 72,00 мкг/мл и 92,00 мкг/мл. Минимальное значение Me С3 зарегистрировано на уровне 99,00 мкг/мл. Снижение содержания С3 компонента компонента в первые сутки после родов у стимулированных животных существенно ниже, чем у не стимулированных (91,00 мкг/мл против 117,00 мкг/мл) (рисунок 16, гр. 4).

На третьи сутки после родов медиана С3 компонента компонента практически не меняется и составляет 91,75 мкг/мл. Интерквартильный интервал – от 84,00 мкг/мл до 93,50 мкг/мл. Значение данной выборки сосредоточены между 80,50 мкг/мл и 97,00 мкг/мл (рисунок 16, гр.5).

Результаты медианы С3, полученные сразу через 5 суток у стимулированных крыс, не имеют существенных отличий от результатов, наблюдаемых в первые и третьи сутки после родов и составляют 95,25 мкг/мл. Нижняя квантиль составляет 91,50 мкг/мл, а верхняя - 96,50 мкг/мл. Разброс значений совокупности результатов лежит в пределах 86,50 мкг/мл – 101,50 мкг/мл (рисунок 16, гр. 6). Следует отметить, что в трех последних случаях, т.е. после родов медиана по своим значениям приближена к верхней квантили.

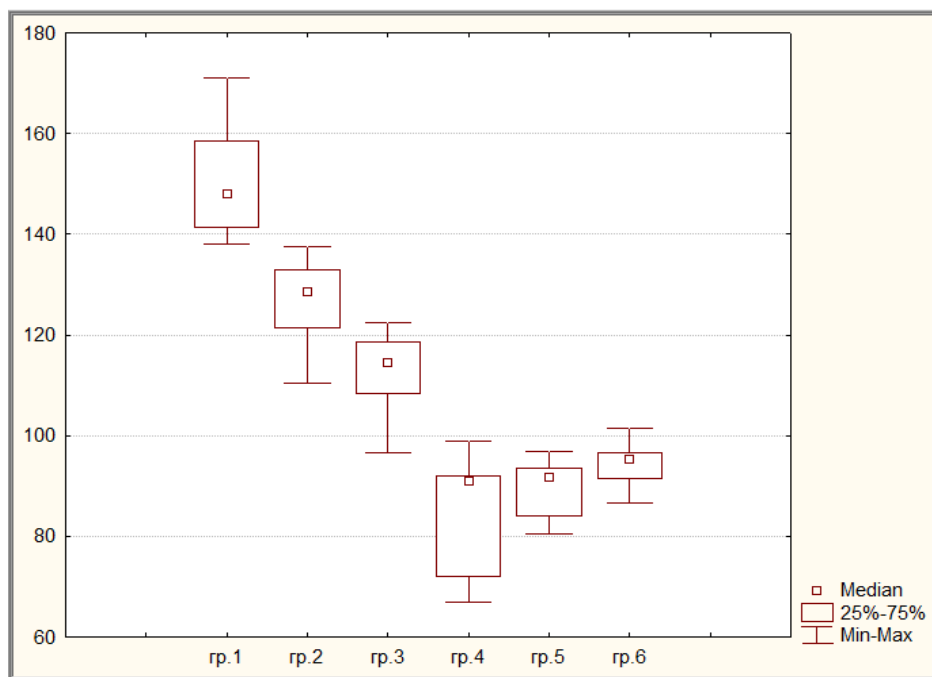


Рисунок 16 – Динамика изменения содержания С3 фракции компонента у стимулированных крыс до и после родов

Таблица 23 – Результаты статистического анализа

	Me	Q ₂₅	Q ₇₅	Min	Max	Max- Min	Q ₇₅ -Q ₂₅
гр.1	148,00	141,50	158,50	138,00	171,00	33,00	17,00
гр.2	128,50	121,50	133,00	110,50	137,50	27,00	11,50
гр.3	114,50	108,50	118,50	96,50	122,50	26,00	10,00
гр.4	91,00	72,00	92,00	67,00	99,00	32,00	20,00
гр.5	91,75	84,00	93,50	80,50	97,00	16,50	9,50
гр.6	95,25	91,50	96,50	86,50	101,50	15,00	5,00

Таблица 24 – Уровень значимости различия данных при попарном сравнении групп

	гр.1	гр.2	гр.3	гр.4	гр.5	гр.6
гр.1						
гр.2	0,000157					
гр.3	0,000157	0,003611				
гр.4	0,000108	0,000108	0,000143			
гр.5	0,000157	0,000157	0,000246	0,275064		
гр.6	0,000157	0,000157	0,000381	0,020137	0,112412	

Сравнение данных всех исследуемых групп в данной серии экспериментов выявило, что содержание С3 компонента компонента по сравнению с контрольной группой снижается перед родами, это падение

усугубляется болевой стимуляцией и достигает минимума на первые сутки после родов. Снижение очевидно и статистически высоко значимо (таблица 23).

Низкие цифры С 3 компонента комплемента после родов сохраняются до конца эксперимента и не имеют значительного различия между собой ($p>0,01$) (таблица 24).

Таким образом, и в первой, и во второй серии экспериментов отмечается снижение уровня С3 компонента комплемента перед родами и оно продолжается и после родов.

Отличие заключается в том, что диаграмма снижения субстрата у не стимулированных животных пологая (литическая) и уровень снижения также умеренный и продолжается вплоть до третьих суток, после чего стабилизируется.

У стимулированных животных падение содержания С3 носит критический, обвальный характер, достигает минимума уже на первые сутки после родов и это снижение носит стабильный характер вплоть до конца эксперимента. У не стимулированных животных минимальный уровень С3 компонента комплемента достиг значения 104,00 мкг/мл на пятые сутки после родов, у стимулированных – 91,00 мкг/мл, на первые сутки и это отличие статистически существенно значимо ($p<0,01$).

5.3. Изменение содержания С3 компонента комплемента у приплода интактных крыс до и после рождения

У приплода, находящегося в чреве интактных крыс накануне родов, медиана С3 компонента комплемента имела значение 63,25 мкг/мл. Она смещена в сторону нижней квантили. Это более чем вдвое меньше, чем у половозрелых особей.

Сам факт, очевидно, должен быть воспринят как закономерный. По данным литературы содержание С3 компонента комплемента у новорожденных в 1,5- 2 раза ниже, чем у матери, а активность в сыворотке крови составляет 50-

80% активности взрослых. (Титова Н.Д., 2007). Межквантильный диапазон ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) ограничен значениями 55,00 мкг/мл – 91,00 мкг/мл. Показатели содержания С3 в плазме крови для данной выборки находятся в диапазоне Min – 40,00 мкг/мл – Max- 108,50 мкг/мл (рисунок 17, гр. 1).

После родоразрешения медиана значений С3 компонента комплемента у новорожденных увеличивается до 71,00 мкг/мл и занимает положение близкое к середине между нижней и верхней квантилями. Интерквантильный диапазон находится в рамках $Q_{0,25}$ -58,00 мкг/мл; $Q_{0,75}$ -91,50 мкг/мл (таблица 25). Разброс показателей данной выборки от 46,50 мкг/мл до 99,00 мкг/мл (рисунок 17, гр. 3).

На третьи сутки после рождения медиана С3 компонента комплемента остается без изменений – 71,00 мкг/мл. Нижняя квантиль имеет значение 57,50 мкг/мл, а верхняя 91,50 мкг/мл. Значение С3 распределились между min=44,00 мкг/мл и max=91,50 мкг/мл (рисунок 17, гр. 4).

Картина не меняется и на пятые сутки после рождения. Ме С3 компонента комплемента составляет 72,25 мкг/мл. Нижняя квантиль – 61,50 мкг/мл, верхняя 86,00 мкг/мл. Результаты в выборке рассредоточены между нижним значением 47,00 мкг/мл и верхним 97,00 мкг/мл (рисунок 17, гр.5).

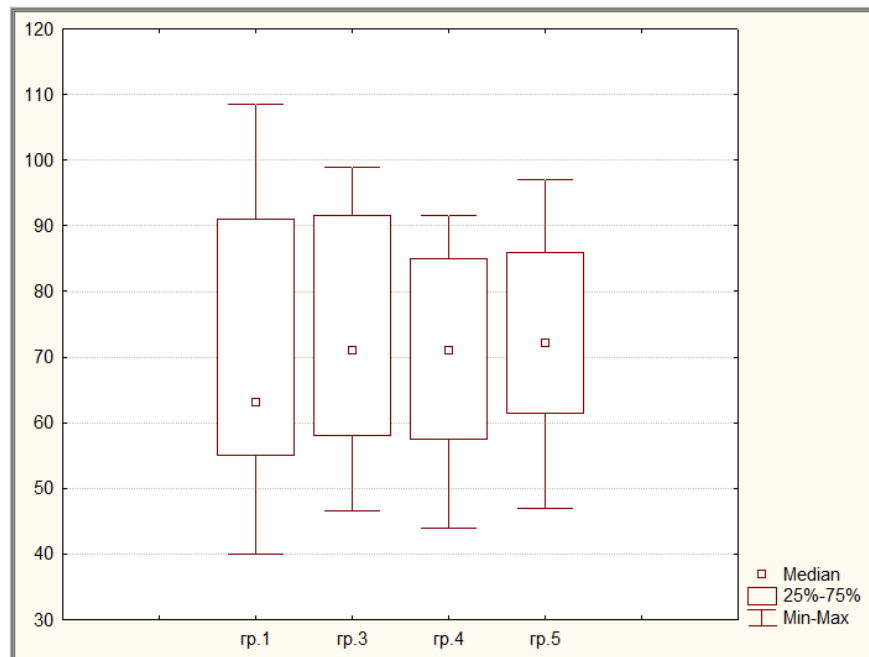


Рисунок 17 – Динамика изменения содержания С3 компонента комплемента у приплода интактных крыс

Таблица 25 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} -Q _{0,25}
гр.1	63,25	55,00	91,00	40,00	108,50	68,50	36,00
гр.3	71,00	58,00	91,50	46,50	99,00	52,50	33,50
гр.4	71,00	57,50	85,00	44,00	91,50	47,50	27,50
гр.5	72,25	61,50	86,00	47,00	97,00	50,00	24,50

Таблица 26 – Уровень значимости различия данных при попарном сравнении групп

	гр.1	гр.3	гр.4	гр.5
гр.1				
гр.3	0,705457			
гр.4	0,650148	0,791337		
гр.5	0,545350	0,820596	0,596702	

Сравнение рядов данных С3 компонента комплемента у приплода интактных крыс не выявило статистически значимого различия между ними, как в сравнении с первой группой, так и между собой (таблица 26).

Не подтвержденное статистически увеличение медианы С3 компонента комплемента после родов может быть реальным, т.к. по данным литературы эта субстанция после рождения достаточно быстро количественно стремится к значениям характерным для взрослых особей (Гришина Т.И., Филатова Г.А., 2013).

5.4. Изменение содержания С3 компонента комплемента у приплода до и после родов от крыс, подвергнутых аллогенному воздействию

У приплода, находящегося в чреве беременных крыс накануне родов, медиана значений С3 компонента комплемента равна 63,25 мкг/мл. Интерквартильный диапазон ограничен значениями 55,00 мкг/мл – 91,00 мкг/мл. Диапазон распределения показателей содержания С3 компонента комплемента в данной выборке от min- 40,00 мкг/мл – max -108,50 мкг/мл (рисунок 18, гр.1).

После нанесения аллогенного раздражения беременным самкам крыс накануне родов медиана значений С3 компонента комплемента равна 74,75 мкг/мл. Нижняя квантиль равна 71,00 мкг/мл, верхняя - 82,00 мкг/мл.

Значения в данной выборке распределены в диапазоне 57,50 мкг/мл – 87,50 мкг/мл (рисунок 18, гр.2).

После родоразрешения медиана значений С3 компонента комплемента снижается по отношению к результатам предыдущего исследования и составляет 62,75 мкг/мл. Интерквартильные значения распределены достаточно компактно $Q_{0,25}=57,00$ мкг/мл – $Q_{0,75}=66,50$ мкг/мл (таблица 27). Минимальный уровень С3 в данной выборке – 44,50 мкг/мл, максимальный – 93,50 мкг/мл (рисунок 18, гр. 3).

На третьей сутки у новорожденных медиана С3 компонента комплемента составляет 74,25 мкг/мл. Нижняя квантиль имеет значение 59,00 мкг/мл, верхняя – 83,50 мкг/мл (рисунок 18, гр. 4).

Достаточно стабильной остается картина у крысят на пятые сутки после рождения. Медиана уровня С3 компонента комплемента составляет 70,50 мкг/мл; $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ ограничены соответственно значениями 62,00 мкг/мл – 78,00 мкг/мл. В исследуемой выборке значения распределились от 57,50 мкг/мл до 89,00 мкг/мл (рисунок 18, гр.5).

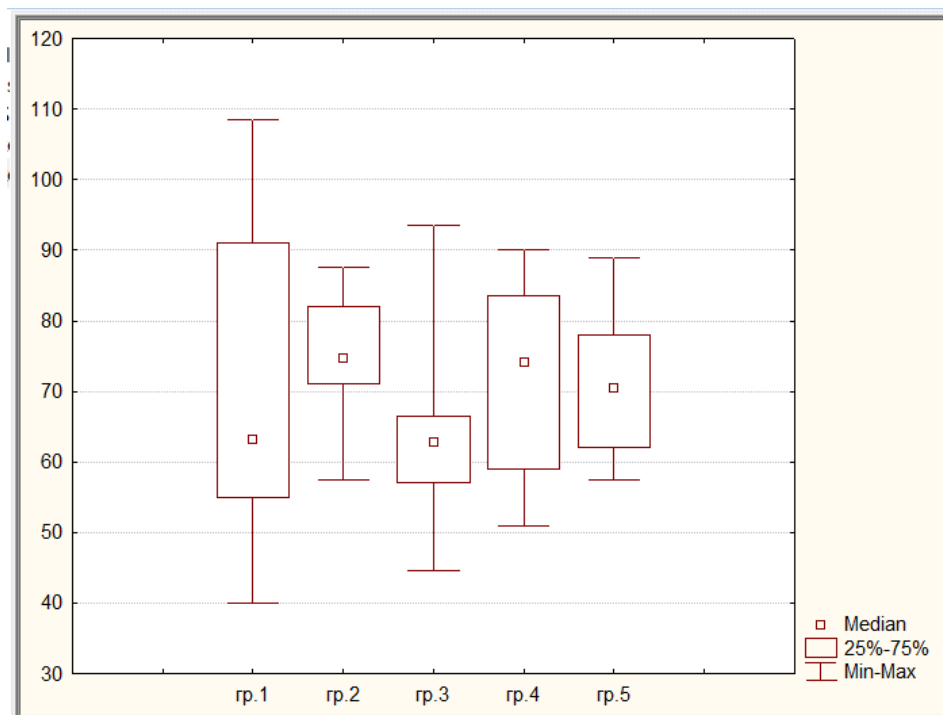


Рисунок 18 – Динамика изменения содержания С3 компонента комплемента у приплода стимулированных крыс

Таблица 27 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	63,25	55,00	91,00	40,00	108,50	68,50	36,00
гр.2	74,75	71,00	82,00	57,50	87,50	30,00	11,00
гр.3	62,75	57,00	66,50	44,50	93,50	49,00	9,50
гр.4	74,25	59,00	83,50	51,00	90,00	39,00	24,50
гр.5	70,50	62,00	78,00	57,50	89,00	31,50	16,00

Таблица 28 – Уровень значимости различия данных при попарном сравнении групп

	гр.1	гр.2	гр.3	гр.4	гр.5
гр.1					
гр.2	0,344705				
гр.3	0,791337	0,021135			
гр.4	0,850107	0,677585	0,325752		
гр.5	0,597407	0,259876	0,169707	0,888000	

Сопоставление рядов данных содержания СЗ компонента комплемента у крысят, рожденных от крыс, получивших аллогенную стимуляцию накануне родов, не выявило статистически значимых различий как в сравнении с первой группой, так и между собой. Однако нельзя не обратить внимание на тот факт, что после стимуляции у приплода содержание СЗ компонента комплемента несколько повышается (оно не имеет статистически значимого отличия от контрольного значения), а после родов снижается по отношению к предыдущему исследованию, и это снижение статистически значимо ($p < 0,05$) (таблица 28). Это значит, что содержание СЗ объективно становится ниже после родов по отношению к показателям, имевшим место сразу после болевой стимуляции. Надо полагать, что болевой сигнал транслируется плоду путем трансплацентарного перемещения катехоламинов. Однако реакция не носит стойкий характер и нивелируется к 3 суткам от момента рождения. Комплемент достаточно быстро синтезируется 0,5-1,0 мкг на 1 кг веса за час и пополняет базальный уровень. Его уровень сохраняется неизменным и в последующем - на пятые сутки после рождения.

Безусловно, требует объяснения механизм реакции C3 компонента комплемента в ответ на аллогенное воздействие.

Достаточно стойким и обоснованным является представление о том, что фракция C3 компонента комплемента участвует в активации всей системы комплемента вне зависимости от того классический это путь, альтернативный или лектиновый. Ее роль заслуживает внимания тем, что активированные компоненты C3 в реакциях воспаления, опсонизируют чужеродный материал для его последующего фагоцитоза. Реакция направлена на уничтожение микроорганизмов и различных клеток как мутантных, так и поврежденных. В настоящее время появились многочисленные исследования, расширяющие наши представления о комплементе и путях его активации (Bulga-Pioskonska G., Doroszkiewicz W., 2006; Bonaparte R.S., Hair P.S., Banthia D. Et al, 2008; Granoff D.M., 2009). В частности имеются сообщения о том, что C3 компонент комплемента может активироваться трипсином, плазмином, лизосомальными протеазами (Атаман А.В., 2000).

Интересным представляется факт, описанный в восьмидесятые годы XX века факт возможности активации системы комплемента за счет влияния на его компоненты контактных факторов свертывания крови (Chebrehiwet В., Silverberg M., Kaplan A.P., 1981; DiScipio R.G., 1982). В известном смысле это объясняет, почему хронический стаз крови повышает активность C3 компонента комплемента.

Через 30 лет с помощью математического анализа и построения математической модели Шавлюгин Е.А. и Ханин М.А. доказали, что возможен путь активации комплемента контактной системой гемостаза крови: фактором Хагемана и калликреином. При их активации происходит вовлечение в каскадный процесс C3 компонента комплемента, при этом на процесс активации C3 компонента комплемента особенно влияет калликреин (Шавлюгин Е.А., Ханин М.А., 2012).

Хрестоматийным является представление о том, что острый стресс сопровождается выбросом катехоламинов, а они в свою очередь мобилизуют

систему гемостаза. Вот почему можно рассматривать острую боль, нанесенную беременным крысам накануне родов, как стрессор, активирующий по обозначенной цепочке C3 компонент комплемента (Moon R., Pretts T.A., Parikh A.A. и др., 1999).

К этому следует добавить, что накануне родов активируются все факторы врожденного иммунитета (Казимирко Н.К., Акимова Е.Е., Завицкий В.Н., Поляков А.С., Татарченко Д.П., 2014).

В частности, у женщин во время нормальной беременности отмечено увеличение гемолитической активности комплемента, что связывают с влиянием гормонов на синтез белков комплемента (Васильева З.Ф., 1984; Packard B.D., Weller J.M., 1983).

Приведенные факты позволяют объяснить, почему у беременных крыс накануне родов, вне зависимости нормальные они или им предшествует болевая стимуляция, снижается уровень C3 компонента комплемента, что мы трактуем, как вовлечение его в каскадный процесс активации. Кроме того, это позволяет объяснить причины более выраженного и более стойкого снижения уровня C3 комплемента, и почему под влиянием боли это снижение более выраженное и более стойкое.

ГЛАВА 6

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ КРЫС И ИХ ПОТОМСТВА В УСЛОВИЯХ НОРМАЛЬНЫХ РОДОВ И ПРИ БОЛЕВОЙ СТИМУЛЯЦИИ НАКАНУНЕ РОДОВ

Социальный заказ стимулирует систему здравоохранения на отработку технологии обезболивания родов. Изучение биологической роли болевого сопровождения родов практически не проводится.

Лишь в отдельных работах встречается оценка позитивного влияния компонента боли. Она стимулирует выработку эндорфинов и энкефалинов, концентрация которых в крови родильниц многократно возрастает, что позволяет эмоционально позитивно воспринимать рождение ребенка. Боль является индикатором позитивной динамики родов (Рутковская Е.А., Сидоренко В.Н., Трухановец О.В., 2009).

У детей, рожденных без анестезии, раньше формируются рефлекс, обеспечивающие акт питания (Ransjo-Arvidson A.V. et al, 2001).

Имеются и другие сведения, но они в большей мере носят популярный характер, нежели научный.

Практически отсутствует информация о влиянии боли в родах на врожденный иммунитет, его клеточные механизмы.

Настоящая глава посвящена изучению влияния болевой стимуляции самок накануне родов на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови до и после родов.

6.1. Фагоцитарная активность нейтрофилов у интактных крыс до и после родов

6.1.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у интактных крыс до родов и после родоразрешения

Исследован процент активных нейтрофилов после одночасовой экспозиции периферической крови интактных крыс с культурой микроорганизмов (ПАНф-1).

У интактных небеременных крыс медиана значений ПАНф-1 при одночасовой экспозиции с культурой бактерий составила 83,00%, интерквартильный размах данных [74,00%; 91,00%], в интервале значений (65,00%-93,00%) (рисунок 19, гр. 1).

У интактных беременных крыс накануне родов Ме ПАНф-1 составила 81,00%. Разброс значений отмечен в пределах [76,00%; 91,00%], диапазон показаний в совокупности случаев (58,00%, 99,00%) (рисунок 19, гр. 2).

Медиана ПАНф-1 после родов несколько снизилась и составила 75,00%, при этом отмечается уменьшение значения нижней квантили $Q_{0,25} = 67,00\%$ и увеличение значения верхней квантили $Q_{0,75} = 95,00\%$, интервал значений выборки в данной группе (56,00%-99,00%) (рисунок 19, гр. 4).

Медианное значение ПАНф-1 на третьи сутки после родов у интактных крыс увеличивается и приближается к значению верхней квантили Ме = 90,00%. Разброс данных $Q_{0,25} = 73,00\%$; $Q_{0,75} = 92,00\%$. Диапазон значений выборки в данной группе от 64,00% до 94,00% (рисунок 19, гр. 5).

На пятые сутки после родоразрешения значение медианы ПАНф-1 снижается, приближаясь к значению медианы ПАНф-1 контрольной группы, и равно 79,00%. Разброс показателей в группе [73,00%; 85,00%] (таблица 29). Величины исследуемого параметра в группе распределяются в диапазоне от 65,00% до 86,00% (рисунок 19, гр. 6).

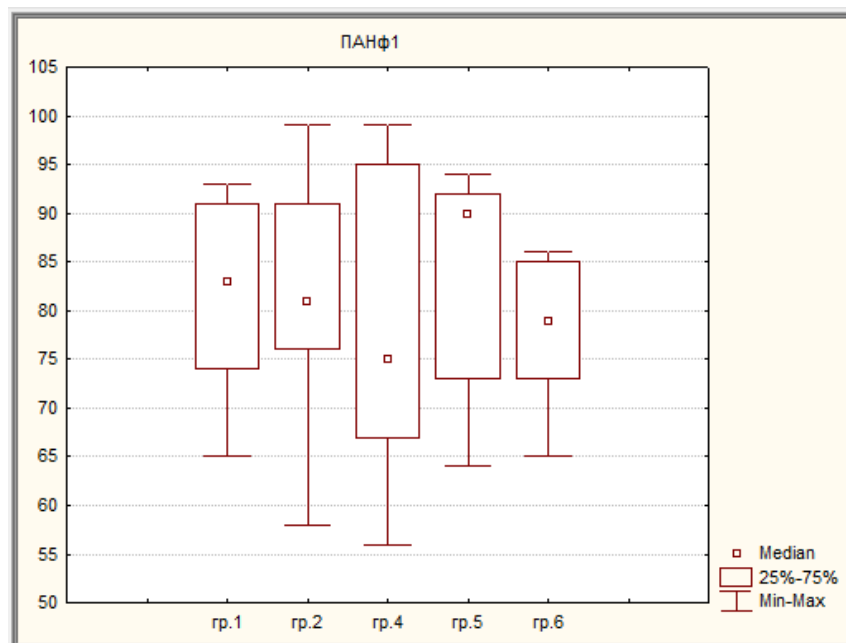


Рисунок 19 – Динамика ПАНФ-1 у интактных крыс до и после родов

Таблица 29 – Результаты статистической обработки

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	83,00	74,00	91,00	65,00	93,00	28,00	17,00
гр.2	81,00	76,00	91,00	58,00	99,00	41,00	15,00
гр.4	75,00	67,00	95,00	56,00	99,00	43,00	28,00
гр.5	90,00	73,00	92,00	64,00	94,00	30,00	19,00
гр.6	79,00	73,00	85,00	65,00	86,00	21,00	12,00

Таблица 30 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНФ-1 у интактных крыс до и после родов.

Группы	1	2	4	5	6
1					
2	0,849716				
4	0,805324	0,778196			
5	0,622066	0,378739	0,693589		
6	0,374260	0,563575	0,934192	0,075849	

Сравнение рядов данных ПАНФ-1 в различных группах интактных крыс не выявило статистически значимых различий, ($p > 0,05$). Однако для групп 5 и 6 можно говорить о тенденции различий, т.к. $p < 0,1$ (таблица 30).

После четырехчасовой экспозиции той же взвеси крови и микробных тел у интактных небеременных крыс медиана ПАНФ-4 составила 71,00%. Разброс значений в данной группе $Q_{0,25}-Q_{0,75}$ [63,00%; 79,00%], значения величины в

данном ряду группировались от минимального-54,00%, до максимального - 88,00% (рисунок 20, гр. 1).

У беременных интактных крыс накануне родов значение медианы равно 75,50%. Интерквартильный размах данных [62,00%;86,00%]. Минимальное значение показателя в данной группе - 59,00%, максимальное - 93,00% (рисунок 20, гр. 2).

В первые сутки после родов медиана ПАНф-4 немного снижена и составляет 65,00%, расширены границы нижней и верхней квантилей [53,00%; 86,00%] (таблица 31). Диапазон значений в совокупности случаев (46,00%, 89,00%) (рисунок 20, гр. 4).

На третьи сутки после родов значение Ме ПАНф-4 резко увеличивается, по сравнению с Ме ПАНф-4 на первые сутки после родов, до 81,00%, нижняя квантиль равна $Q_{0,25}=63,00\%$, верхняя квантиль - $Q_{0,75}=86,00\%$, диапазон значений представлен величинами (47,00%, 88,00%) (рисунок 20, гр 5).

Значения ПАНф-4 на пятые сутки после родов у интактных крыс максимально приближены к значениям ПАНф-4 в группе интактных небеременных крыс. Медиана равна 79,00% [73,00%; 85,00%], данные распределены в интервале (49,00%, 86,00%) (рисунок 20, гр. 6).

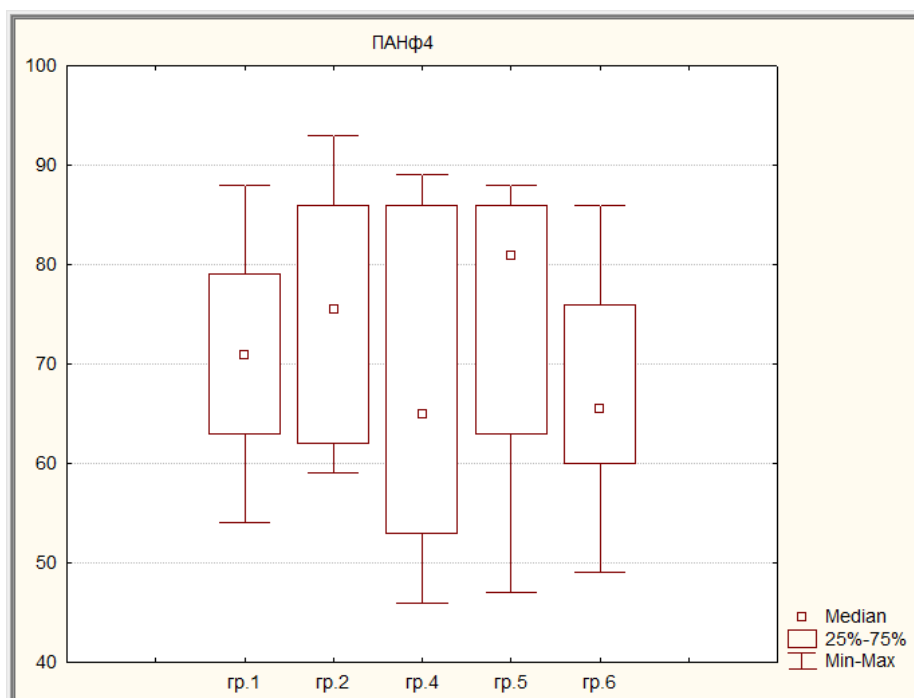


Рисунок 20 – Динамика ПАНф-4 у интактных крыс до и после родов

Таблица 31 – Результаты статистической обработки

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	71,00	63,00	79,00	54,00	88,00	34,00	16,00
гр.2	75,50	62,00	86,00	59,00	93,00	34,00	24,00
гр.4	65,00	53,00	86,00	46,00	89,00	43,00	33,00
гр.5	81,00	63,00	86,00	47,00	88,00	41,00	23,00
гр.6	65,50	60,00	76,00	49,00	86,00	37,00	16,00

Таблица 32 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНФ-4 у интактных крыс до и после родов.

Группы	1	2	4	5	6
1					
2	0,570751				
4	0,647157	0,275064			
5	0,341787	0,751335	0,357934		
6	0,789810	0,423902	0,804354	0,148455	

Сравнение рядов данных в группах интактных крыс не выявило статистически значимых различий ($p > 0,05$) (таблица 32). Процент активных нейтрофилов после четырехчасовой экспозиции ПАНФ-4 сохраняет стабильность.

6.1.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у интактных крыс до родов и после родоразрешения

Как и в предыдущей серии экспериментов, исследования проводились через 1 час после инкубации крови крыс с бактериальной культурой и далее по прошествии еще 3-х часов. В первом случае определялось ФЧ-1, во втором ФЧ-4, фагоцитарное число, показатель, характеризующий активность захвата микроорганизмов нейтрофилами, участвующими в фагоцитозе.

У интактных небеременных животных медиана ФЧ-1 – 3,66. Интерквартильный размах в данной группе [3,28; 4,23], Минимальный ФЧ-1 зарегистрирован на отметке 2,98, а максимальный 5,02 (рисунок 21, гр. 1).

У беременных интактных самок накануне родов медиана ФЧ-1 соответствует уровню 4,03. В сравнении с первой группой, увеличен

интерквартильный разброс значений [2,37; 5,83], и расширен диапазон значений (1,90; 6,90) (рисунок 21, гр. 2).

В первые сутки после родов медиана ФЧ-1 этого ряда составляет 3,73 [3,35; 7,59] (таблица 33). Захват микробных тел у животных этой серии экспериментов весьма неоднороден. Его минимальные значения – 2,67, а максимальные - 9,79 (рисунок 21, гр. 4).

На третьи сутки после родов Ме ФЧ-1 равен 4,38, интерквартильный разброс значений [3,95; 5,96] и диапазон значений (2,14-7,93) резко снижен (рисунок 21, гр. 5).

Медиана ФЧ-1 на пятые сутки исследования составляет 3,72 [2,47; 4,63]. Диапазон значений в пределах от 2,01 до 5,91 (рисунок 21, гр.6).

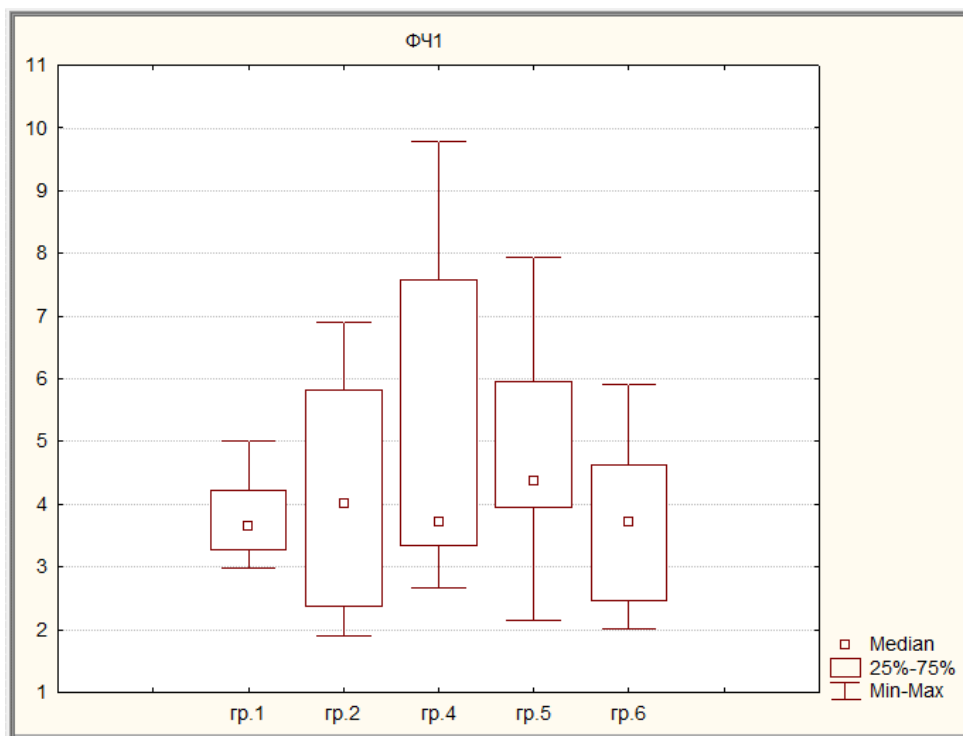


Рисунок 21 – Динамика ФЧ-1 у интактных крыс до и после родов

Таблица 33 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0.25}	Q _{0.75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0.75} - Q _{0.25}
гр.1	3,66	3,28	4,23	2,98	5,02	2,04	0,95
гр.2	4,03	2,37	5,83	1,90	6,90	5,00	3,46
гр.4	3,73	3,35	7,59	2,67	9,79	7,12	4,24
гр.5	4,38	3,95	5,96	2,14	7,93	5,79	2,01
гр.6	3,72	2,47	4,63	2,01	5,91	3,90	2,16

Таблица 34 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-1 у интактных крыс до и после родов

Группы	1	2	4	5	6
1					
2	1,000000				
4	0,324207	0,324207			
5	0,044760	0,398103	0,532748		
6	0,929199	0,656854	0,363723	0,363723	

Сравнение рядов данных в группах интактных крыс выявило статистически значимые различия ($p < 0,05$) в группах 1 и 5 ($p = 0,0448$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 34).

После пролонгированной экспозиции крови с культурой микробных тел значение медианы ФЧ-4 составило 2,72 [2,53; 3,12]. По сравнению с ФЧ-1 ряд более компактен: $\min = 2,18$, $\max = 3,27$ (рисунок 22, гр. 1).

Накануне родов ФЧ-4 $Me = 2,79$ [1,91; 3,94]. В анализируемом ряду значения распределены от 1,66 до 4,08 (рисунок 22, гр. 2)

В первые сутки после родов медианное значение ФЧ-4 равно 1,81, это самое низкое значение в исследуемых группах. Me стремится к нижней квантили. Расширен разброс данных [1,41; 7,00], и диапазон значений (1,24; 8,37) (рисунок 22, гр.4)

Медиана ФЧ-4 на третьи сутки после родов зарегистрирована на уровне 3,70 Интерквартильный размах [2,534; 5,12] (таблица 35). Значения ФЧ-4 в этой группе распределены в интервале от 1,46 до 6,87 (рисунок 22, гр. 5)

На пятые сутки после родов медиана ФЧ-4 равна 2,43 [1,66; 4,62]. Исследуемые показатели расположены на шкале данных между отметками 1,23 и 4,91 (рисунок 22, гр. 6).

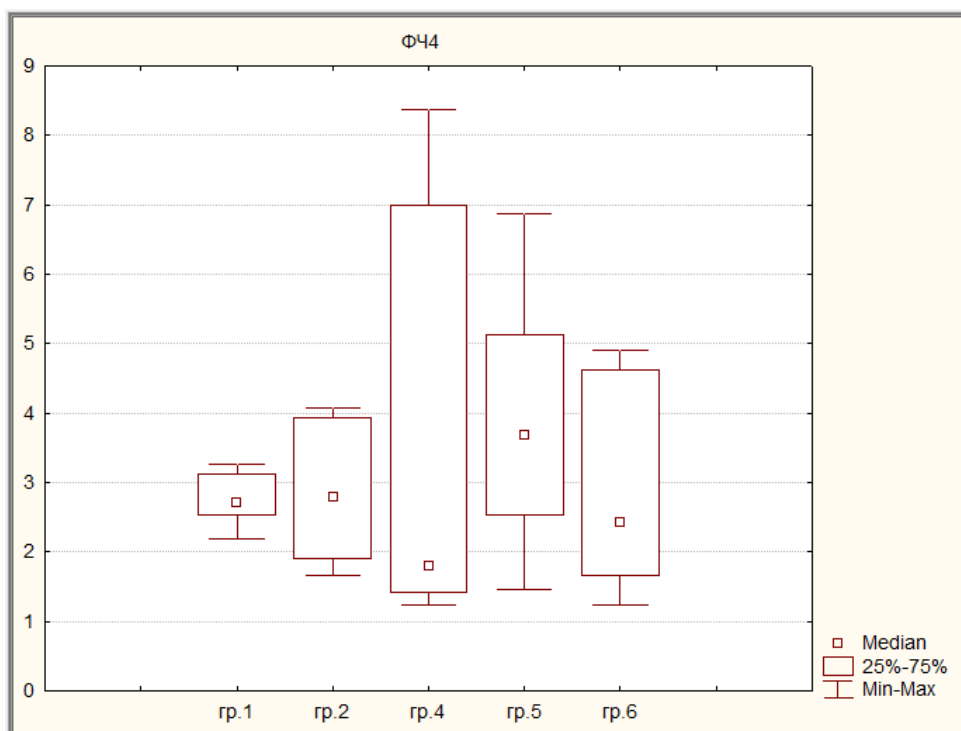


Рисунок 22 – Динамика ФЧ-4 у интактных крыс до и после родов

Таблица 35 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	2,72	2,53	3,12	2,18	3,27	1,09	0,59
гр.2	2,79	1,91	3,94	1,66	4,08	2,42	2,03
гр.4	1,81	1,41	7,00	1,24	8,37	7,13	5,59
гр.5	3,70	2,53	5,12	1,46	6,87	5,41	2,59
гр.6	2,43	1,66	4,62	1,23	4,91	3,68	2,96

Таблица 36 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-4 у интактных крыс до и после родов.

Группы	1	2	4	5	6
1					
2	0,879829				
4	0,724771	0,943861			
5	0,037772	0,091023	0,532748		
6	1,000000	0,964565	0,967068	0,321751	

Сравнение рядов данных в группах интактных крыс выявило статистически значимые различия ($p < 0,05$) в группах 1 и 5 ($p = 0,038$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$). Для

групп 2 и 5 можно говорить о тенденции различий показателей ($p < 0,10$) (таблица в 36).

6.1.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у интактных крыс до родов и после родоразрешения

Математическая обработка вышеуказанных данных позволила определить индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) характеризующий переваривающую активность нейтрофилов. У интактных небеременных крыс медиана в этой серии экспериментов составила 0,25 [0,23; 0,32]. Значения в выборке распределены от 0,16 до 0,35 (рисунок 23, гр. 1).

Накануне родов медиана индекса завершенности фагоцитоза $Me = 0,28$ [0,20; 0,32]. Исследуемые данные находятся в диапазоне от 0,05 (min значение) до 0,40 (max значение) (рисунок 23, гр. 2).

В первые сутки после родов Me ИЗФ зарегистрирована на уровне 0,47 [0,02; 0,59]. Минимальные значения результатов выборки отмечается на уровне $-0,08$, максимальные 0,66 (рисунок 23, гр. 4.).

На третьи сутки величина медианы ИЗФ равна 0,16. Это значение следует расценивать как тенденцию снижения ИЗФ, по сравнению с контрольными значениями. $Q_{0,25} = 0,13$, $Q_{0,75} = 0,32$ (таблица 37). Распределение данных лежит в интервале между отметками 0,03 и 0,38 (рисунок 23, гр. 5).

Медиана ИЗФ на пятые сутки после родов определена следующими значениями: 0,27 [0,16; 0,33] (таблица 37). Распределение показателей ИЗФ регистрируется от 0,02 до 0,47 (рисунок 23, гр. 5).

Полученные данные в своей общей направленности согласуются со сведениями о том, что у животных с момента рождения фагоцитарная активность нейтрофилов возрастает (Карамева А.С., Зайцева В.В., 2010).

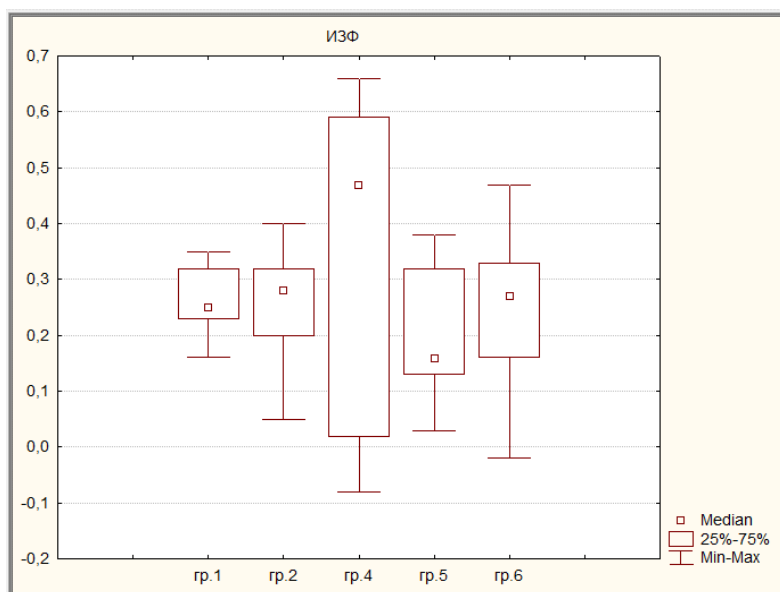


Рисунок 23 – Динамика ИЗФ у интактных крыс до и после родов

Таблица 37 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	0,25	0,23	0,32	0,16	0,35	0,19	0,09
гр.2	0,28	0,20	0,32	0,05	0,40	0,35	0,12
гр.4	0,47	0,02	0,59	-0,08	0,66	0,74	0,57
гр.5	0,16	0,13	0,32	0,03	0,38	0,35	0,19
гр.6	0,27	0,16	0,33	-0,02	0,47	0,49	0,17

Таблица 38 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ИЗФ у интактных крыс до и после родов

Группы	1	2	4	5	6
1					
2	0,909722				
4	0,724771	0,573202			
5	0,078333	0,204970	0,430709		
6	0,656854	0,789810	0,432785	0,741182	

Сравнение рядов данных ИЗФ в различных группах интактных крыс не выявило статистически значимых отличий, т.к. $p > 0,05$, но для групп 1 и 5 можно говорить о тенденции различий ($p < 0,01$) (таблица 38).

6.2. Фагоцитарная активность нейтрофилов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов

6.2.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов

Повторимся, что у интактных небеременных крыс Ме ПАНф-1 = 83,00%. Разброс данных отмечен в пределах [74,00%;91,00%], при интервале значений 65,00%-93,00% (рисунок 24, гр. 1).

Накануне родов процент активных нейтрофилов у интактных крыс медиана ПАНф-1 равна 81,00%. Значения квантилей $Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$ [76,00%; 91,00%] Диапазон значений в совокупности случаев 58,00%-99,00% (рисунок 24, гр. 2).

После болевой стимуляции, предшествовавшей родам, медиана ПАНф-1 составила 87,50% Интерквартильный размах [83,00%;92,00%]. Выборка более компактна, чем в двух предыдущих наблюдениях: минимум=79,00%, максимум=93,00% (рисунок 24, гр. 3).

В первые сутки после родов медиана ПАНф-1 принимает значение 81,50%. Нижняя и верхняя квантили составили 78,00% и 84,00% соответственно. Минимальный ПАНф-1 зарегистрирован на отметке 76,00%, а максимальный 90,00% (рисунок 24, гр. 4).

На третьи сутки после родов медиана ПАНф-1 практически не изменилась – 80,00% [78,00%; 85,00%] (таблица 39). Разброс значений находится в интервале 69,00%-88,00% (рисунок 24, гр. 5).

Финальные изменения на пятые сутки после родов медиана ПАНф-1 = 85,50%. Разброс значений отмечен в пределах [83,00%; 90,00%]. Полученные результаты колеблются между 78,00% и 94,00% (рисунок 24, гр. 6).

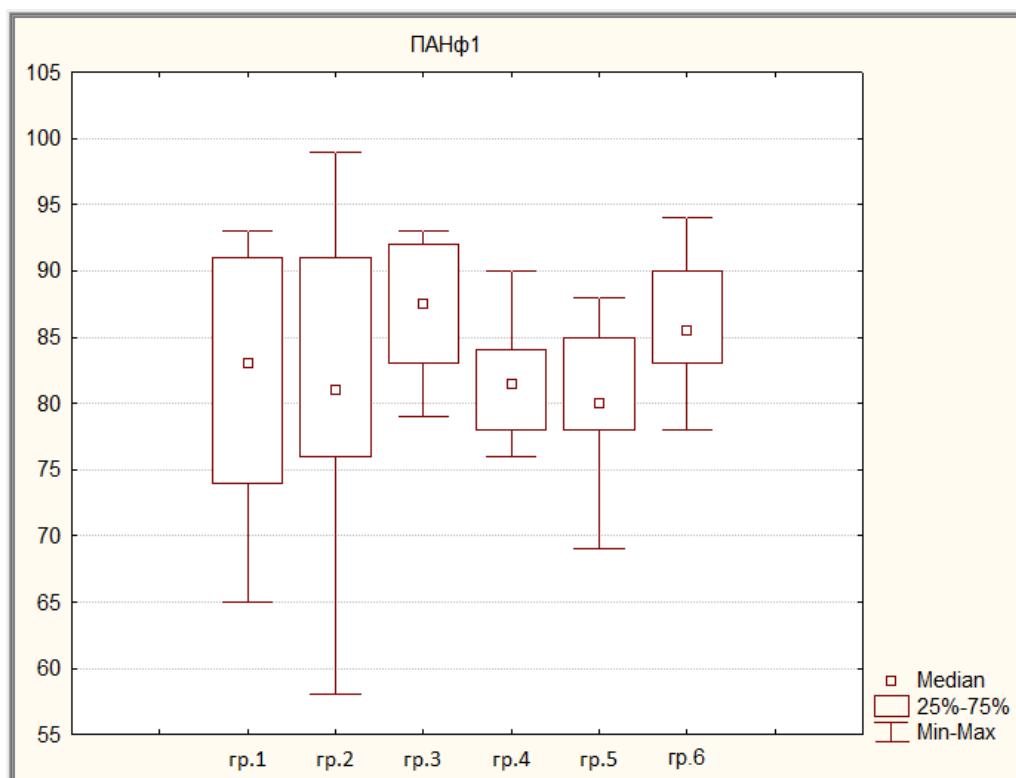


Рисунок 24 – Динамика ПАНф-1 до и после родов у крыс, получивших аллогенное воздействие накануне родов

Таблица 39 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	83,00	74,00	91,00	65,00	93,00	28,00	17,00
гр.2	81,00	76,00	91,00	58,00	99,00	41,00	15,00
гр.3	87,50	83,00	92,00	79,00	93,00	14,00	9,00
гр.4	81,50	78,00	84,00	76,00	90,00	14,00	6,00
гр.5	80,00	78,00	85,00	69,00	88,00	19,00	7,00
гр.6	85,50	83,00	90,00	78,00	94,00	16,00	7,00

Таблица 40 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНф-1 до и после родов у крыс получивших аллогенное воздействие накануне родов

Группы	1	2	3	4	5	6
1						
2	0,850107					
3	0,325752	0,173618				
4	0,820596	0,879829	0,031210			
5	0,545350	0,705457	0,014020	0,705457		
6	0,480796	0,385547	0,664390	0,082663	0,073507	

Сравнение рядов данных ПАНф-1 у крыс, получивших болевую стимуляцию, выявило статистически значимые различия, ($p < 0,05$) в группах 3 и 4 ($p = 0,031$), а также 3 и 5 ($p = 0,014$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$), но для групп 4 и 6 ($p = 0,083$), а также 5 и 6 ($p = 0,074$) выявляется тенденция различий (таблица 40).

Медиана ПАНф-4 у интактных небеременных крыс составляет 71,00% [63,00%; 79,00%], интервал значений заключен в пределах 54,00%- 88,00% (рисунок 25, гр. 1).

У интактных беременных крыс накануне родов медиана ПАНф-4 расположена на уровне 75,50% [62,00%;86,00%]. Разброс значений отмечен в пределах 59,00%-93,00% (рисунок 25, гр. 2).

Накануне родов у крыс получивших аллогенную стимуляцию, медиана ПАНф-4 равна 72,50% [68,00%;79,00%]. Значения ПАНф-4 колеблются от 62,00% до 84,00% (рисунок 25, гр. 3).

В первые сутки после родов Ме ПАНф-4 равна 69,50% [63,00%; 75,00]. Разброс значений ПАНф-4 от 59,00% до 77,00% (рисунок 25, гр. 4).

На третьи сутки после родоразрешения медиана ПАНф-4 64,00% [61,00%; 71,00%] (таблица 41). Отсчет показателей начинается с 54,00% и завершается 77,00% (рисунок 25, гр. 5).

Исследования, проведенные в этой серии экспериментов, на пятые сутки после родов выявили значение медианы ПАНф-4: 72,50% [71,00%; 77,00%], т.е. половина значений сгруппирована достаточно компактно. В данной группе $\min = 61,00\%$, а $\max = 86,00\%$ (рисунок 25, гр. 6).

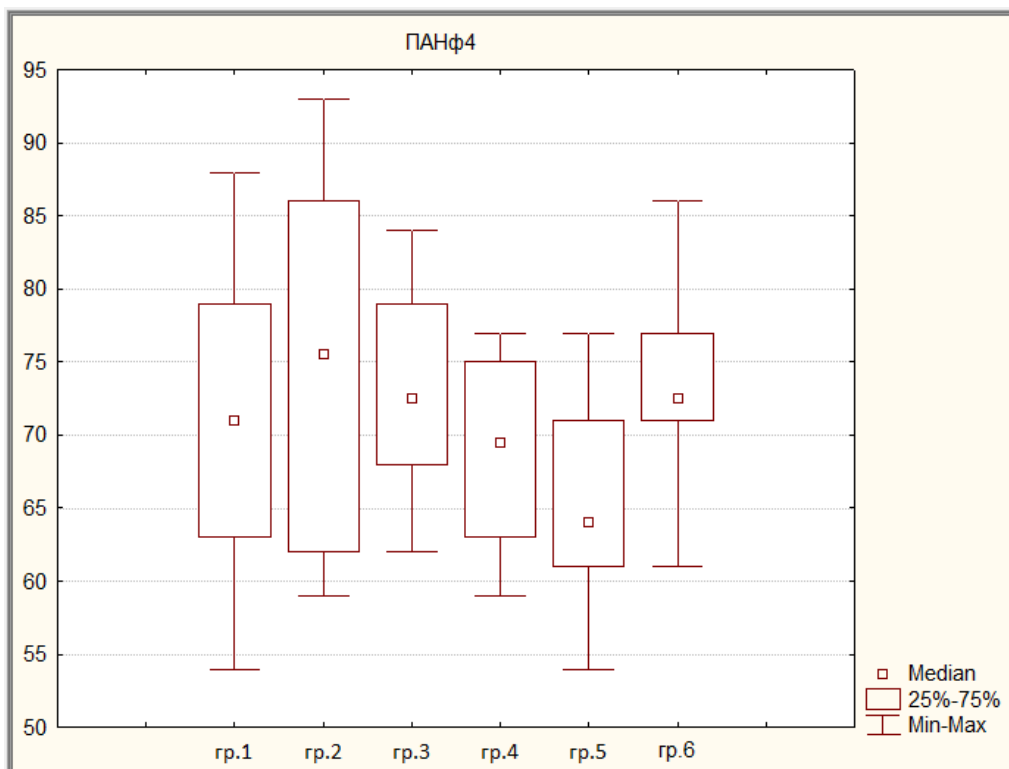


Рисунок 25 – Динамика ПАНф-4 до и после родов у крыс получивших аллогенное воздействие накануне родов

Таблица 41 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	71,00	63,00	79,00	54,00	88,00	34,00	16,00
гр.2	75,50	62,00	86,00	59,00	93,00	34,00	24,00
гр.3	72,50	68,00	79,00	62,00	84,00	22,00	11,00
гр.4	69,50	63,00	75,00	59,00	77,00	18,00	12,00
гр.5	64,00	61,00	71,00	54,00	77,00	23,00	10,00
гр.6	72,50	71,00	77,00	61,00	86,00	25,00	6,00

Таблица 42 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНф-4 до и после родов у крыс получивших аллогенное воздействие накануне родов

Группы	1	2	3	4	5	6
1						
2	0,570751					
3	0,791337	0,733730				
4	0,605426	0,325752	0,273037			
5	0,185878	0,130571	0,034294	0,241322		
6	0,587594	0,744882	0,447700	0,128886	0,039319	

Сравнение рядов данных ПАНф-4 в группах крыс получивших аллогенное воздействие выявило статистически значимые различия ($p < 0,05$) в группах 3 и 5 ($p = 0,034$), так и в группах 5 и 6 ($p = 0,039$). Между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 42).

Таким образом, болевая стимуляция не вызвала значимых колебаний ПАНф-4 на протяжении всего эксперимента.

6.2.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов

Медиана ФЧ-1 у контрольной группы животных имеет значение 3,66 [3,28;4,23%], разброс полученных результатов колеблется между 2,98 и 5,02 (рисунок 26, гр. 1).

Накануне родов до нанесения аллогенного воздействия медиана ФЧ-1 соответствует уровню 4,03 [2,37%; 5,83%]. Показатель ФЧ-1 колеблется от 1,90 до 6,90 (рисунок 26, гр. 2).

Накануне родов после нанесения аллогенного воздействия медиана ФЧ-1 составляет 5,13 [4,87; 5,41]. Разброс значений в пределах 4,74-5,67. Как хорошо видно на рисунке 26, гр.3, после болевой стимуляции значения приобретают более однородный характер. Сужен диапазон минимальных и максимальных значений, более компактным выглядит интервал $Q_{0.25}-Q_{0.75}$. Распределение значений характеризующих медиану, симметричное. Очевидно, что клеточный фактор врожденного иммунитета отреагировал на болевое воздействие (рисунок 26, гр. 3).

Судя по дальнейшим результатам, эта реакция носила кратковременный характер.

На первые сутки после родов у животных, испытавших болевое воздействие, Ме ФЧ-1 составляет 4,14 [3,52;4,35] (таблица 43). Результаты фиксируются в пределах 3,38 - минимальное, 5,71 – максимальное (рисунок 26, гр. 4).

На третьи сутки после родов медиана ФЧ-1 равно 3,94 [3,12;4,17]. Распределение значений наблюдается в пределах 2,80-4,32 (рисунок 26, гр. 5).

В завершение эксперимента на пятые сутки медиана ФЧ-1 составляет 3,42 [3,08; 3,88]. На шкале результатов разброс значений ФЧ-1 колеблется от 3,01 до 4,02 (рисунок 26, гр. 6).

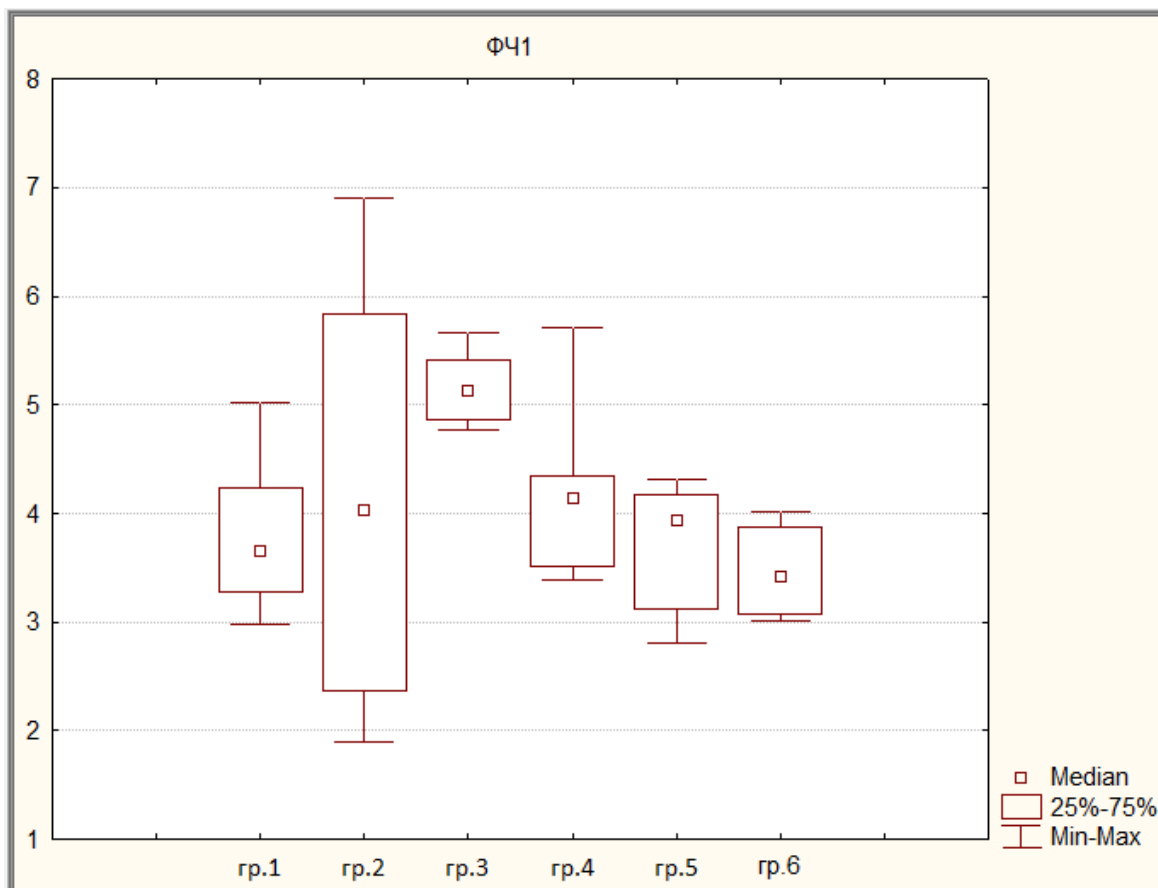


Рисунок 26 – Динамика ФЧ-1 до и после родов у крыс получивших аллогенное воздействие накануне родов

Таблица 43 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	3,66	3,28	4,23	2,98	5,02	2,04	0,95
гр.2	4,03	2,37	5,83	1,90	6,90	5,00	3,46
гр.3	5,13	4,87	5,41	4,77	5,67	0,90	0,54
гр.4	4,14	3,52	4,35	3,38	5,71	2,33	0,83
гр.5	3,94	3,12	4,17	2,80	4,32	1,52	1,05
гр.6	3,42	3,08	3,88	3,01	4,02	1,01	0,80

Таблица 44 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-1 до и после родов у крыс, получивших аллогенное воздействие накануне родов

Группы	1	2	3	4	5	6
1						
2	1,000000					
3	0,000507	0,705457				
4	0,173618	0,879829	0,002497			
5	0,762369	0,939743	0,000157	0,130571		
6	0,587594	1,000000	0,001138	0,128886	0,515182	

Сравнение рядов данных ФЧ-1 в группах крыс получивших аллогенное воздействие, выявило статистически высокозначимые различия в группах 1 и 3 ($p < 0,001$), в группах 5 и 3 ($p < 0,001$), существенно значимые в группах 4 и 3 ($p < 0,001$), 6 и 3 ($p < 0,05$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 44). Таким образом, в данной серии экспериментов обнаружено, что комбинация соматической и висцеральной боли вызвала всплеск значений ФЧ-1. Он был непродолжительным и не обнаруживался после родов.

После дополнительной трехчасовой экспозиции крови с культурой микробных тел у интактных небеременных крыс медиана ФЧ-4 равна 2,72 [2,53; 3,12]. Разброс значений колеблется от 2,18 до 3,27 (рисунок 27, гр. 1).

Накануне родов до болевой стимуляции ФЧ-4 медиана 2,79 [1,91; 3,94]. Диапазон величин характеризующих ФЧ-4 в эксперименте расположен между значениями 1,66 и 4,08 (рисунок 27, гр. 2).

Выполненная болевая стимуляция накануне родов приводит в движение систему фагоцитоза. Медиана ФЧ-4 равна 3,44 [3,18; 3,86]. Минимальное значение ФЧ-4 в этой серии экспериментов 3,06, максимальное 4,01 (рисунок 27, гр. 3).

После родов, в первые сутки, ФЧ-4 Ме равна 2,89 [2,45; 3,65]. Результаты в выборке разнятся от 1,85 до 4,31 (рисунок 27, гр. 4).

На третьи сутки после родов медиана ФЧ-4 – 2,72[2,18; 2,97]. Результаты измерений сосредоточены от 1,77 до 3,28 (рисунок 27, гр. 5).

На пятые сутки после родов цифровое значение Me ФЧ-4 снижается до 2,1[2,0; 2,3] (таблица 45). Результаты фиксируются в пределах 1,61 - min, 2,8 – max. Уменьшение показателя ФЧ-4 свидетельствует об активации дезинтеграции бактерий, т.е. об активации фагоцитоза (рисунок 27, гр. 6).

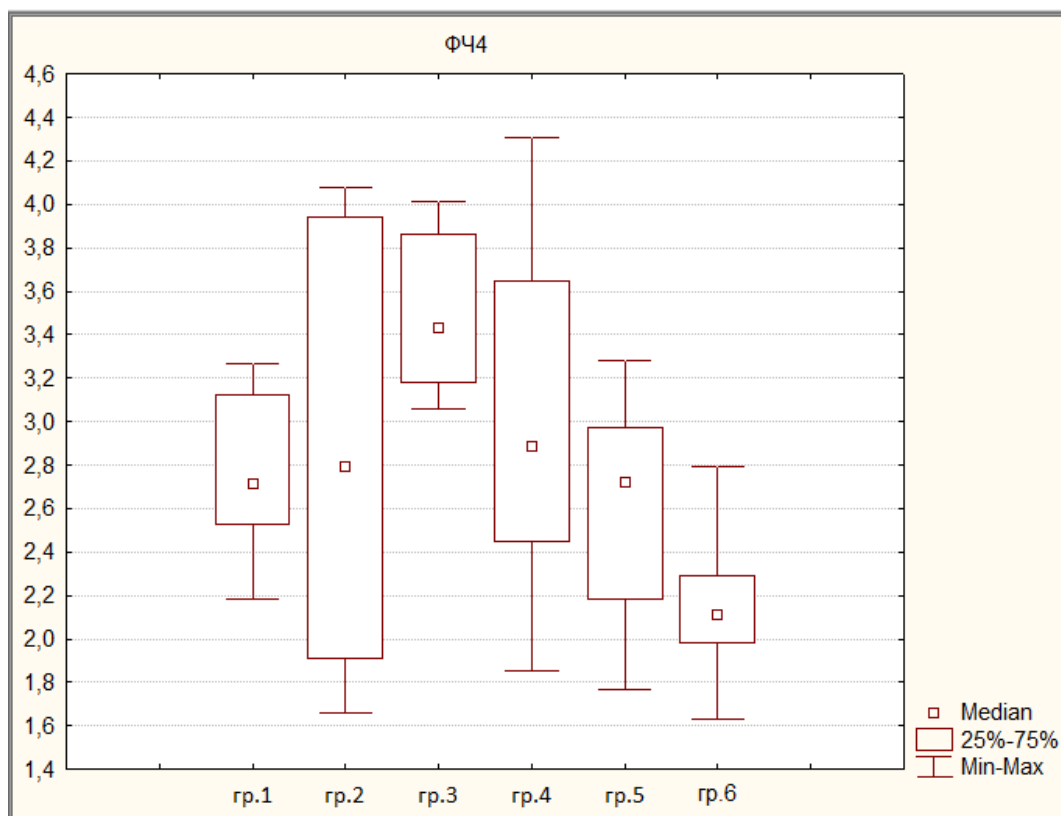


Рисунок 27 – Динамика ФЧ-4 до и после родов у крыс получивших аллогенное воздействие накануне родов

Таблица 45 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	2,72	2,53	3,12	2,18	3,27	1,09	0,59
гр.2	2,79	1,91	3,94	1,66	4,08	2,42	2,03
гр.3	3,44	3,18	3,86	3,06	4,01	0,95	0,68
гр.4	2,89	2,45	3,65	1,85	4,31	2,46	1,20
гр.5	2,72	2,18	2,97	1,77	3,28	1,51	0,79
гр.6	2,12	1,98	2,29	1,63	2,79	1,16	0,31

Таблица 46 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-4 до и после родов у крыс получивших аллогенное воздействие накануне родов

Группы	1	2	3	4	5	6
1						
2	0,879829					
3	0,003197	0,364347				
4	0,545350	0,677585	0,082100			
5	0,449692	0,623177	0,000507	0,325752		
6	0,022741	0,515182	0,001138	0,030060	0,158526	

Сравнение рядов данных в группах крыс, получивших аллогенное воздействие, выявило статистически значимые различия в группах 3 и 6 ($p < 0,05$); существенно значимые в группах 1 и 3 ($p < 0,01$), высоко значимые в группах 3 и 5, 3 и 6 ($p < 0,001$), между остальными группами различия статистически не значимы (таблица 46).

Таким образом, болевая стимуляция накануне родов приводит к увеличению захвата микробных тел нейтрофилами, однако о повышении киллинговой активности это не свидетельствует. Далее, вплоть до пятых суток после родов, ФЧ-4 статистически не имеет различий с контрольными значениями, а на пятые сутки ФЧ-4 падает, что свидетельствует об активации киллинга.

6.2.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов

В контрольной серии экспериментов медиана ИЗФ 0,25[0,23; 0,32]. Значения в выборке распределены от 0,16 до 0,35 (рисунок 10, гр. 1).

Накануне родов Ме индекса завершенности фагоцитоза составляет 0,28 [0,20;0,32]. Значения ИЗФ прослеживаются в этой серии экспериментов в пределах 0,05 – 0,40 (рисунок 28, гр. 2)

После аллогенного воздействия накануне родов медиана ИЗФ изменяется, ее значение - 0,33 [0,29;0,37] (таблица 47). Диапазон величин расположен в пределах от 0,22 до 0,40 (рисунок 28, гр. 3).

На первые сутки после родов у крыс, подвергнутых аллогенному воздействию, Ме ИЗФ равна 0,25, т.е. не отличается от контрольной группы. $Q_{0,25}=0,15$, $Q_{0,75}=0,38$. Разброс данных отмечен от 0,15 до 0,58 (рисунок 28, гр. 4).

На третьи сутки после родов значение медианы ИЗФ следующее: 0,30 [0,24; 0,34], а диапазон колебаний зарегистрированных результатов расположен между 0,23 и 0,44 (рисунок 28, гр. 5).

Через пять суток Ме ИЗФ имеет значение: 0,38, что свидетельствует о его увеличении. Различие статистически значимо относительно контрольной группы ($p=0,017$). Нижняя квантиль равна 0,35; верхняя квантиль - 0,38. Разброс показателей колеблется от 0,28 до 0,55 (рисунок 28, гр. 6)

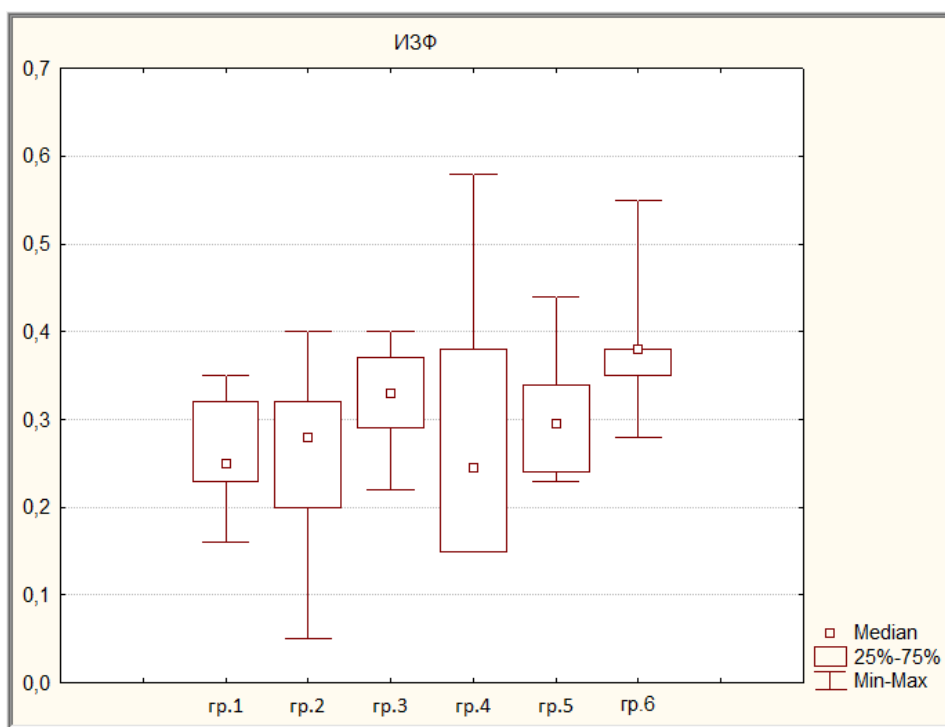


Рисунок 28 – Динамика ИЗФ до и после родов у крыс получивших аллогенное воздействие накануне родов

Таблица 47 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	0,25	0,23	0,32	0,16	0,35	0,19	0,09
гр.2	0,28	0,20	0,32	0,05	0,40	0,35	0,12
гр.3	0,33	0,29	0,37	0,22	0,40	0,18	0,08
гр.4	0,25	0,15	0,38	0,15	0,58	0,43	0,23
гр.5	0,30	0,24	0,34	0,23	0,44	0,21	0,10
гр.6	0,38	0,35	0,38	0,28	0,55	0,27	0,03

Таблица 48 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ИЗФ до и после родов у крыс, получивших аллогенное воздействие накануне родов

Группы	1	2	3	4	5	6
1						
2	0,909722					
3	0,069643	0,130571				
4	0,705457	1,000000	0,173618			
5	0,364347	0,520523	0,384674	0,364347		
6	0,017022	0,073507	0,302814	0,103743	0,115779	

Сравнение рядов данных ИЗФ в группах крыс получивших аллогенное воздействие выявило статистически значимые различия ($p < 0,05$) в группах 1 и 6 ($p < 0,05$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$), но для групп 1 и 3, а также 2 и 6 выявляется тенденция различий ($p < 0,1$) (таблица 48).

Таким образом, при сопоставлении результатов эксперимента с данными контрольной группы можно констатировать, что сразу после аллогенного воздействия отмечается тенденция увеличения ИЗФ, которая сохраняется до 5 суток. На пятые сутки ИЗФ статистически значимо увеличился, что свидетельствует о повышении фагоцитарной активности нейтрофилов, в частности их способности к дезинтеграции микробных тел.

При сравнении полученных показателей в опытах с интактными животными и с животными, получившими аллогенное воздействие накануне родов, с аналогичными показателями зарегистрированными в контрольной группе установлено, что ПАНф-1 и ПАНФ-4 не изменяются на всем протяжении опытов. ФЧ-1 и ФЧ-4 у интактных животных практически остается неизменным, у стимулированных животных ФЧ-1 остается неизменным, а ФЧ-4 снижается на 5-е сутки. ИЗФ свидетельствует об активации фагоцитоза после болевой стимуляции и уже на 1-е сутки не отличается от контрольных значений.

Исключения составляют пятые сутки. У животных, получивших болевую стимуляцию, ИЗФ повышается.

Если же провести сравнения результатов в каждой серии экспериментов между собой, а также однотипных параметров между первой и второй группами экспериментов, то оказывается, что палитра результатов несравненно богаче и указывает на ряд особенностей изменения фагоцитарной активности у интактных и стимулированных животных.

Судя по полученным результатам (рисунок 24) процент активных нейтрофилов (ПАНф-1) после часовой их экспозиции с микроорганизмами как у интактных крыс, у интактных беременных крыс накануне родов так и у крыс после родоразрешения сохраняется на базисном уровне и не имеет статистически значимых отличий от контрольных значений. Тем не менее, в послеродовом периоде ПАНф-1 не остается монотонным, прослеживается некоторое нарастание активности нейтрофилов на третьи сутки и ее снижение на пятые сутки. Различие значений ПАНф-1 на 3-и и ПАНф-1 на 5-е сутки статистически значимо ($p=0,075$)

В первые сутки медианное значение ПАНф-1 снижается на графике (рисунок 24) видно, что ПАНф-1 после родов приобретает характер волны с пиком значений на третьи сутки.

В той же серии экспериментов изменения ПАНф-4 сохраняют волновой характер после родов, но ни в одной группе опытов нет статистически значимых отличий, как при сравнении с контрольными значениями, так и между собой ($p>0,05$).

По сравнению с результатами, полученными у контрольной группы животных, фагоцитарное число ФЧ-1 у интактных крыс возрастает на третьи сутки после родоразрешения ($p<0,05$).

Второе измерение (через 4 часа) также свидетельствует о том, что ФЧ-4 возрастает на третьи сутки после родов. Это увеличение статистически значимо в сравнении с результатами определения ФЧ-4 у контрольной группы ($p<0,05$),

и свидетельствует о том, что переваривающая активность нейтрофилов снижена. Что и подтверждает высказанное выше заключение.

После родов ИЗФ у интактных крыс характеризуется большим разбросом показателей. На третьи сутки после родов индекс завершенности фагоцитоза имеет тенденцию к осложнению ($p < 0,01$), по сравнению с контрольным, а к пятым суткам возвращается к контрольным значениям.

Анализ результатов ПАНф-1 у животных, получивших болевую стимуляцию, не обнаруживает статистически значимых различий между контрольными и опытными значениями. Тем не менее, картина эксперимента меняется. После болевого воздействия снижается разброс значений ПАНф-1, показатели ПАНф-1 приобретают более компактные очертания и сохраняют их до конца эксперимента.

Наиболее высокие значения ПАНф-1, наблюдаются сразу после стимуляции. В послеродовой период по сравнению с этим уровнем имеет место статистически значимое снижение на первые сутки ($p < 0,05$) и на третьи сутки ($p < 0,05$).

Отмечается тенденция повышения уровня ПАНф-1 на пятые сутки по сравнению с первыми сутками ($p < 0,1$) и по сравнению с третьими сутками ($p < 0,1$). В отличие от ПАНф-1 интактных животных между третьими и пятыми сутками после родов показатель у исследуемой группы не снижается, а возрастает.

После болевой стимуляции, как и при исследовании ПАНф-1 отмечается формирование более компактного ряда значений и более рельефная конфигурация динамики изменения ПАНф-4 после родов. На третьи сутки, после родов ПАНф-4 статистически значимо падает, по сравнению с результатами зафиксированными сразу после аллогенного воздействия ($p < 0,05$). На пятые сутки после родов значения ПАНф-4 возрастают, по сравнению с предыдущим сроком исследования ($p < 0,05$).

Иными словами на третьи сутки после родов процент активных нейтрофилов уменьшается, и к концу эксперимента повышается, т.е. активность нейтрофилов в динамике эксперимента приобретает фазный характер.

В целом же, в течение всего эксперимента не наблюдается статистически значимых изменений ПАНф-4, по сравнению с контрольными значениями.

Сразу после болевого воздействия ФЧ-1 возрастает и это отличие по сравнению с контрольными значениями, у интактных небеременных крыс высокозначимо ($p < 0,001$).

Отмеченное увеличение ФЧ-1 непродолжительно. Уже на первые сутки после родов ФЧ-1 снижается по отношению к имевшему место всплеску ($p < 0,01$), эта же картина сохраняется и на третьи ($p < 0,01$), и на пятые сутки ($p < 0,01$).

Следует иметь виду, что объективно это не снижение ФЧ-1, а возврат к значениям контрольной группы.

При четырехчасовой экспозиции фагоцитов с культурой микроорганизмов, как и в предыдущей серии опытов, ФЧ-4 статистически существенно значимо ($p < 0,01$) возрастает сразу после аллогенного воздействия.

После родов наблюдается снижение уровня ФЧ-4 по сравнению с показателями, зарегистрированными сразу после болевого воздействия, на первые сутки как тенденция ($p < 0,1$), а на третьи сутки ($p < 0,001$) и на пятые сутки ($p < 0,05$) статистически соответственно высоко и существенно значимо. Кроме этого уровень ФЧ-4 статистически значимо ниже на пятые сутки по сравнению с третьими сутками ($p = 0,030$), что свидетельствует о прогрессивном увеличении киллирной активности нейтрофилов, которая достигает своего пика на пятые сутки.

При болевой стимуляции отмечаются колебания значений ИЗФ у животных, но они статистически не значимы. Такая картина сохраняется до пятых суток. На пятые сутки ИЗФ растет в сравнении с контрольной группой и различие статистически значимо ($p < 0,05$), а в сравнении с показателями

накануне родов перед болевым воздействием отмечается лишь тенденция роста ($p < 0,1$).

Если сравнить результаты исследований группы животных, получивших аллогенное воздействие, с теми же показателями и в те же сроки, что получены у интактных животных, то обнаруживается общая направленность динамики показателей у обеих групп подопытных животных. Но ПАНф-4 у животных, подвергнутых болевому воздействию, уменьшается существенно, у стимулированных крыс, это следует трактовать как более активную дезинтеграцию микробов в процессе фагоцитоза. Выявленная закономерность подтверждается и сопоставлением ИЗФ. Названный показатель выше у стимулированных животных, чем у интактных ($p < 0,05$).

Этот факт особенно убедительно находит свое подтверждение на пятые сутки после родов у стимулированных животных. ИЗФ повышается, тогда, как у интактных возвращается к контрольным значениям.

Иными словами переваривающая активность нейтрофилов у животных получивших болевую стимуляцию накануне родов выше, особенно на пятые сутки.

Таким образом, в динамике всего эксперимента процент активных нейтрофилов остается неизменным как у интактных животных, так и у получивших электроболевою стимуляцию накануне родов.

Фагоцитарное число и ФЧ-1, и ФЧ-4 увеличивается у всех животных вне зависимости от болевого сопровождения после родов.

Отличие заключается в том, что у стимулированных животных на пятые сутки ФЧ-1 приближается к контрольным значениям, и ФЧ-4 снижается. Снижение высокозначимо, что свидетельствует о более активной дезинтеграции микроорганизмов по сравнению с другими сроками.

В последние годы накоплены сведения о том, что боль затрагивает интересы факторов врожденного иммунитета. Так показано, что острая соматическая боль повышает фагоцитарную активность лейкоцитов (Овсянников В.Г., 2003).

Несколько позже было показано, что висцеральная боль активирует кислородзависимые и кислороднезависимые механизмы киллинга при фагоцитозе (Овсянников В.Г, Бойченко А.Е., Алексеева Н.С., Алексеев В.В., 2011).

Авторы, проводившие указанные исследования, изучали наиболее ранние механизмы боли и расценивали их как краткосрочную перестройку врожденного иммунитета, направленную на мобилизацию потенциала неспецифической защиты. В проведенных нами экспериментах наблюдается повышение фагоцитарной активности в послеродовом периоде, что, очевидно, следует связывать с самим актом родов. У интактных животных оно не продолжительно. Вместе с тем, если родам предшествует болевая атака, наблюдаемые явления отслеживаются на третьи и на пятые сутки после родов.

Более развернутый анализ показал, что у животных, получивших накануне родов электроболевою стимуляцию, фагоцитарная активность не только выше, но и носит фазный, а не монотонный однонаправленный характер.

6.3. Фагоцитарная активность нейтрофилов у приплода интактных крыс до и после родов

6.3.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

В данном разделе приведены исследования активности нейтрофилов (в процентах) после одночасовой экспозиции периферической крови приплода крыс с культурой микроорганизмов (ПАНф-1).

У приплода, находящегося в чреве интактных крыс накануне родов медиана ПАНф-1 имела значение 56,50, интерквартильный разброс данных [52,00; 61,00]. Диапазон значений анализируемой выборки от 43 до 70 (рисунок 29, гр. 1).

Процент активных нейтрофилов у приплода после родоразрешения несколько повысился и Ме ПАНф-1 имела значение 60,00, интерквартильный

интервал значений [57,00; 66,00]. Диапазон разброса показателей так же несколько снизился. Его минимальные значения составили 53, а максимальные -71,00. При том, что статистический анализ не выявил значимых изменений, нельзя проходить мимо того фактора, что сам акт родов так или иначе несколько повысил процент активных нейтрофилов, а разброс показателей принял более компактный характер. К сожалению, казалось бы, очевидный факт не нашел статистического подтверждения (рисунок 29, гр. 3).

Медиана (ПАНф-1) у приплода на третьи сутки после родов интактными крысами составила 58,0, Интерквартильный размах [53,00; 62,00]. Компактность ряда ниже, чем в предыдущем исследовании. Ее минимальные значения составляют 48,00, и максимальные 74,00 (рисунок 29, гр. 4).

На пятые сутки после рождения интактными крысами у приплода медиана ПАНф-1 достигает минимума 50,00 и, по сути, занимает симметричную позицию между $Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$ [46,00; 57,00] (таблица 49). Распределение показателей зафиксировано между 44 и 63 (рисунок 29, гр. 5).

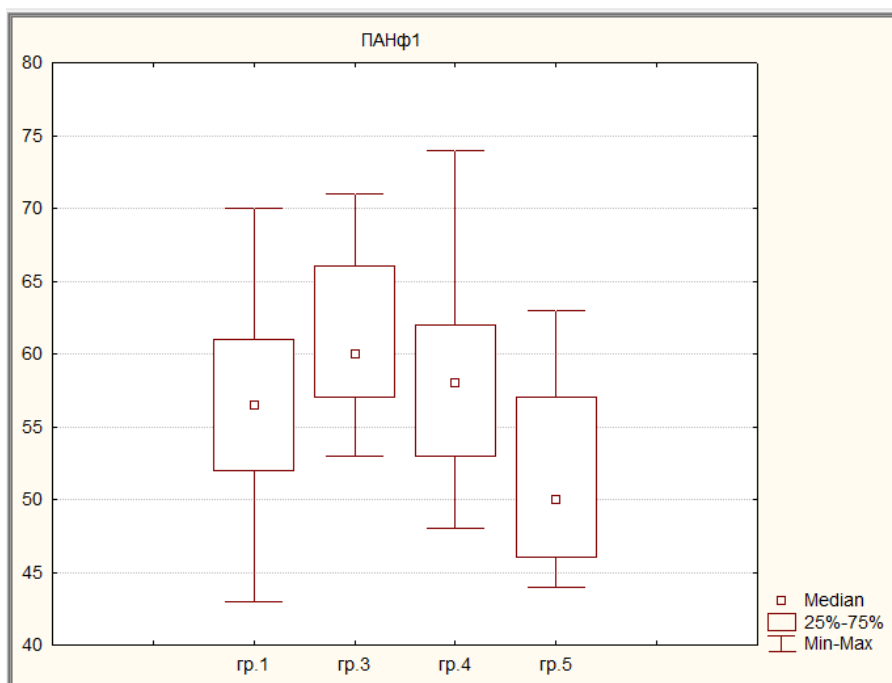


Рисунок 29 – Динамика ПАНф-1 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Таблица 49 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	56,50	52,00	61,00	43,00	70,00	27,00	9,00
гр.3	60,00	57,00	66,00	53,00	71,00	18,00	9,00
гр.4	58,00	53,00	62,00	48,00	74,00	26,00	9,00
гр.5	50,00	46,00	57,00	44,00	63,00	19,00	11,00

Таблица 50 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНф-1 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Группы	1	3	4	5
1				
3	0,140466			
4	0,596702	0,364347		
5	0,150928	0,005796	0,049367	

Сравнение рядов данных ПАНф-1 в группах у приплода интактных крыс выявило статистически существенно значимые различия ($p < 0,01$) в группах 5 и 3, а также тенденцию между группами 5 и 4 ($p < 0,1$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 50).

Таким образом, процент активных нейтрофилов на их начальном исследовании остается практически неизменным как до родов, так и после них.

Тем не менее, вообще пренебрегать фактом (хотя и не подтвержденным) повышения процента нейтрофилов участвующих в фагоцитозе не следует. Требуется дополнительные исследования.

После пролонгирования экспозиции, взятой для исследования крови у приплода с микробной культурой еще на 3 часа медиана ПАНф-4 у животных находящихся в чреве матери, не получившей аллогенного воздействия Me составила 46,50, интерквартильный размах [40,00;51,00]. Интервал данных распределен между 38,00 и 55,00 (рисунок 30, гр. 1).

В первые сутки после родов Me ПАНф-4 у приплода равна 50,0, что свидетельствует об увеличении процента активных нейтрофилов, но еще не является показателем увеличения переваривающей способности изучаемых фагоцитов. Интерквартильный разброс данных [48,00;57,00] (таблица 51). Минимальное значение показателя в данной группе - 46,00, максимальное - 64,00 (рисунок 30, гр. 3).

Через трое суток после родов уровень медианы ПАНф-4 находится на отметке 45,00, распределение данных $Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$ [44,00;51,00]. Диапазон значений ПАНф-4 от 41,00 до 61,00 (рисунок 30, гр. 4).

На пятые сутки медиана ПАНф-4 составила 41,50. Интерквартильный размах данных [38,00; 48,00]. Диапазон значений отмечен в пределах (36,00, 57,00) (рисунок 30, гр. 5).

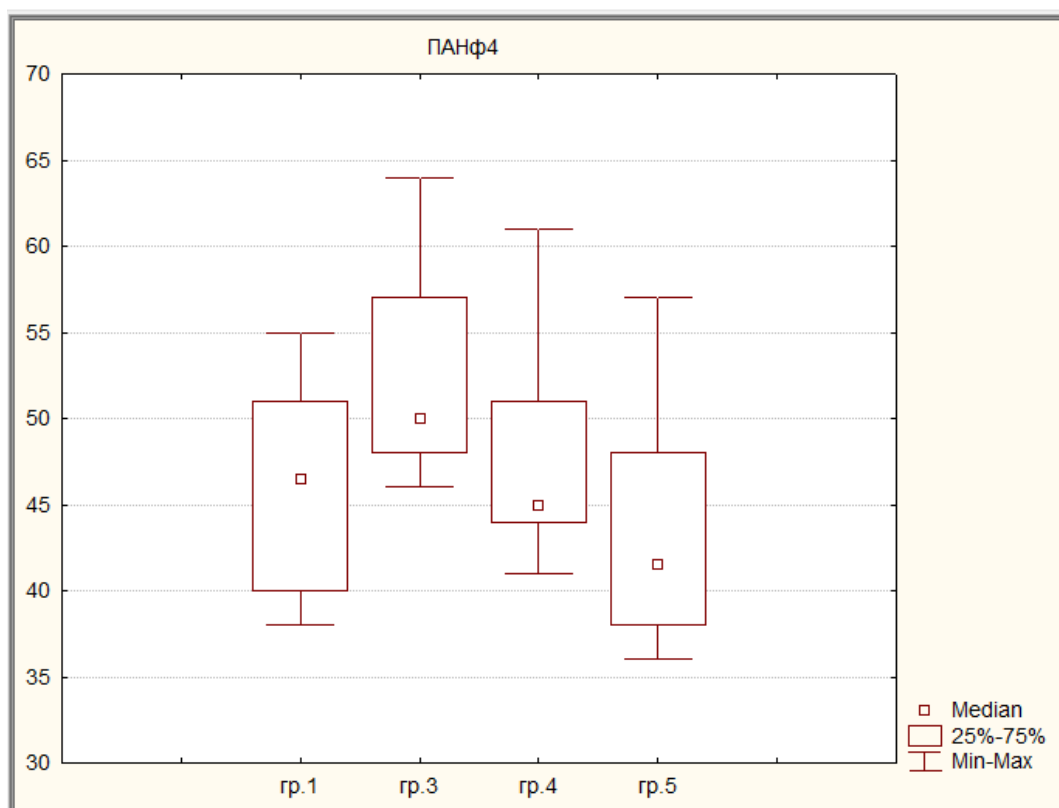


Рисунок 30 – Динамика ПАНф-4 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Таблица 51 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	46,50	40,00	51,00	38,00	55,00	17,00	11,00
гр.3	50,00	48,00	57,00	46,00	64,00	18,00	9,00
гр.4	45,00	44,00	51,00	41,00	61,00	20,00	7,00
гр.5	41,50	38,00	48,00	36,00	57,00	21,00	10,00

Таблица 52 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНф-4 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения.

Группы	1	3	4	5
1				
3	0,088974			
4	0,570751	0,045155		
5	0,273037	0,008151	0,082100	

Сравнение рядов данных ПАНф-4 в группах у приплода интактных крыс выявило статистически значимые различия ($p < 0,05$) в группах 3 и 4 и существенно значимые ($p < 0,01$), 3 и 5 ($p = 0,008$), для групп 1 и 3 ($p = 0,1$), а также 4 и 5 ($p = 0,1$) выявляется тенденция различий между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 52).

Таким образом, после родов процент участвующих в фагоцитозе нейтрофилов увеличивается, но является ли это показателем увеличения киллинговой активности, покажут следующие исследования.

6.3.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Как и в предыдущей серии экспериментов, определения активности нейтрофилов проводились в смеси крови приплода с микроорганизмами. Первое измерение проводилось через 1 час после начала инкубации, второе тремя часами позже, т.е. через четыре часа после инкубации.

У приплода находящегося в чреве матери, накануне родов медиана ФЧ-1 равна 3,10 разброс данных ФЧ [2,91; 3,20]. Диапазон значений, выявленных в процессе исследования, колеблется от 2,86 до 3,51 (рисунок 31, гр. 1).

В первые сутки после родов приплода интактными крысами Ме ФЧ-1 равна 2,97, разброс $Q_{0.25}-Q_{0.75}$ [2,67; 3,17] (таблица 53). Диапазон наблюдений колеблется от минимума - 2,11 до максимума - 3,54 (рисунок 31, гр. 3).

На третьи сутки после родов Ме ФЧ-1 имеет величину 2,63 ($p=0,004$). Интерквартильный размах данных ФЧ-1 [2,34; 2,96], при этом поглотительная активность фагоцитов в отдельных опытах колеблется в весьма широком диапазоне (0,48, 3,11) (рисунок 31, гр. 4).

На пятые сутки показатель медианы ФЧ-1 составляет 2,69. Разброс значений ФЧ-1 [2,34; 2,86] при этом диапазон значений в сравнении с предыдущим исследованием сократился, стал более компактным. Минимальные значения составили 2,11, а максимальные 3,01 (рисунок 31, гр. 5).

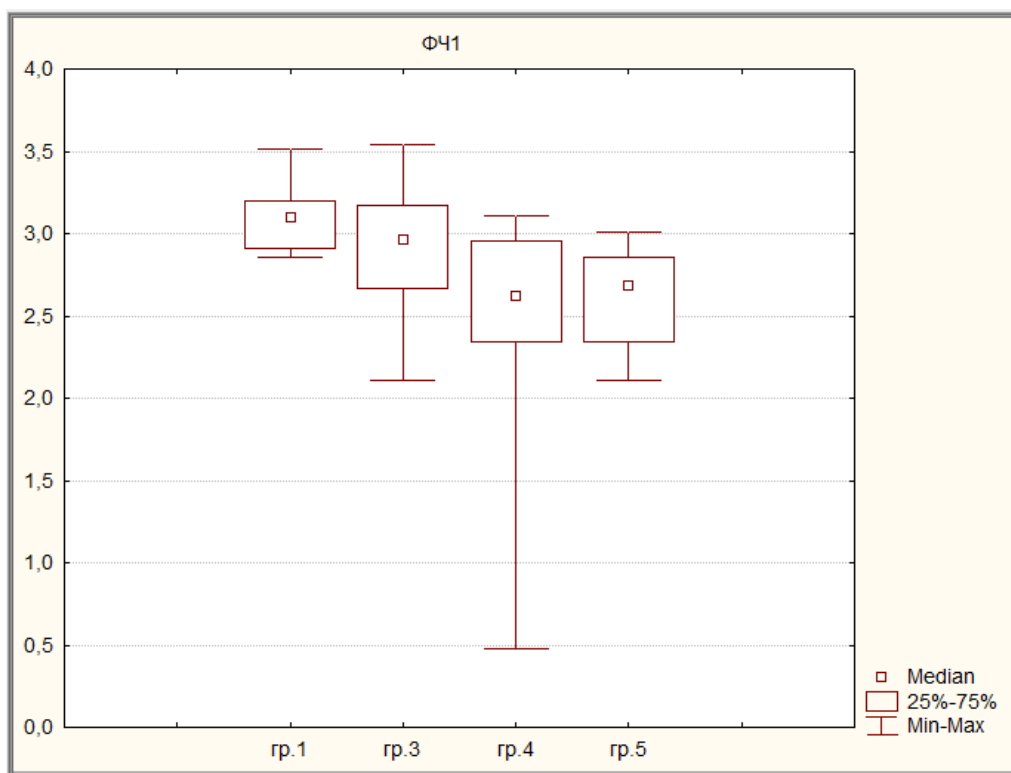


Рисунок 31 – Динамика ФЧ-1 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Таблица 53 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	3,10	2,91	3,20	2,86	3,51	0,65	0,29
гр.3	2,97	2,67	3,17	2,11	3,54	1,43	0,50
гр.4	2,63	2,34	2,96	0,48	3,11	2,63	0,62
гр.5	2,69	2,34	2,86	2,11	3,01	0,90	0,52

Таблица 54 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-1 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения.

Группы	1	3	4	5
1				
3	0,405680			
4	0,004072	0,121225		
5	0,001008	0,069643	0,939743	

Сравнение рядов данных ФЧ-1 в группах у приплода интактных крыс выявило статистически существенно значимые различия в группах 1 и 4 ($p < 0,01$), высоко значимые в группах 1 и 5 ($p < 0,001$), в группах 5 и 3 выявляется тенденция различий ($p < 0,1$), между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$).

Таким образом, после родов показатель ФЧ-1 снизился и это снижение на 3-и и 5-е сутки находит статистическое подтверждение, различие высоко значимо (таблица 54), по сравнению с внутриутробным периодом жизни приплода, но оно свидетельствует, что на 3-е и 5-е сутки после родов нейтрофилы приплода менее активно захватывают микробные тела, нежели до родов.

Второе измерение, проведенное тремя частями позже, показало, что медиана ФЧ-4 у животных, находящихся в чреве беременной самки накануне родов составляет 2,75. Интерквартильный размах данных [2,44; 2,90], интервал распределения показателей наблюдений находится между 2,39 и 3,16 (рисунок 32, гр. 1).

После родов, в течение первых 24 часов Me ФЧ-4 составляет 2,49. Разброс значений отмечен в пределах [2,14; 2,73] (таблица 55). Диапазон наблюдений представлен (1,98, 2,92) (рисунок 32, гр. 3).

На третьи сутки медиана ФЧ-4 у приплода равна 2,05 [1,96; 2,18], при распределении значений от минимум -1,69 до максимум - 2,74 (рисунок 32, гр. 4).

На пятые сутки картина сохраняется, значение медианы ФЧ-4 2,13. Разброс значений ФЧ-4 отмечен в пределах [1,97; 2,26] распределение близко к симметричному, диапазон колеблется от 1,49 (минимум) до 2,78 (максимум) (рисунок 32, гр 5).

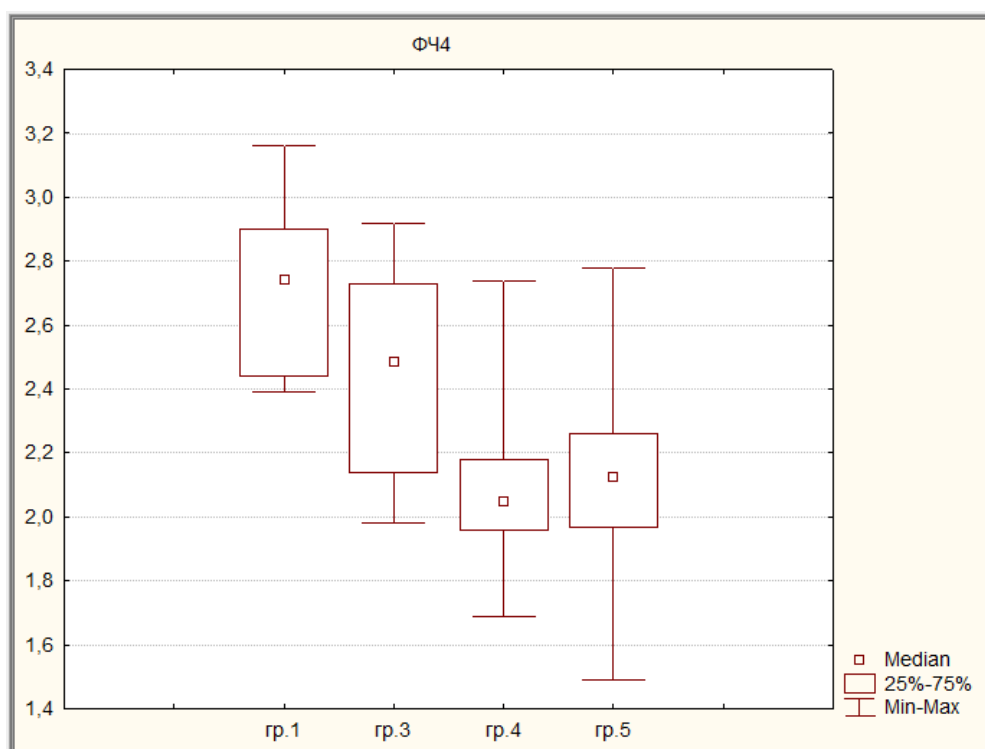


Рисунок 32 – Динамика ФЧ-4 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Таблица 55 – Результаты статистического анализа

	Me	Q ₂₅	Q ₇₅	Min	Max	Max- Min	Q ₇₅ -Q ₂₅
гр.1	2,75	2,44	2,90	2,39	3,16	0,77	0,46
гр.3	2,49	2,14	2,73	1,98	2,92	0,94	0,59
гр.4	2,05	1,96	2,18	1,69	2,74	1,05	0,22
гр.5	2,13	1,97	2,26	1,49	2,78	1,29	0,29

Таблица 56 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-4 у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Группы	1	3	4	4
1				
3	0,075662			
4	0,001152	0,045155		
5	0,000670	0,064023	0,705457	

Сравнение рядов данных ФЧ-4 в группах у приплода интактных крыс выявило статистически высоко значимые различия в группах 1 и 4 ($p < 0,001$), а так же 1 и 5 ($p < 0,001$), тогда как между остальными группами 1 и 3, а также 3 и 4, 3 и 5 выявляется тенденция различий ($p < 0,1$).

Иными словами ФЧ-4 после родов статистически значимо снизилось (таблица 56), по сравнению с внутриутробным периодом жизни приплода, что можно расценивать как повышение киллинговой активности нейтрофилов. Результаты данного исследования интересны, если их сравнивать с фагоцитарным индексом крыс, участвующих в родах. Сам акт родов у них практически не изменил киллинговую активность нейтрофилов, тогда как у приплода, после его рождения способность дезинтеграции микробов возрастает.

6.3.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у приплода интактных крыс до родов и после родов

Находясь в утробе матери, медиана ИЗФ составляет 0,12. Разброс значений ИЗФ [0,10; 0,15], диапазон показателей колеблется от 0,06 до 0,21 (рисунок 33, гр. 1)

После родов Ме ИЗФ у приплода значительно выше в сравнении с Ме ИЗФ контрольной группы и равна 0,17. Интерквартильный размах [0,14; 0,18]. Интервал значений ИЗФ, также увеличен (0,05, 0,26) (рисунок 33, гр. 3).

На третьи сутки медианное значение ИЗФ продолжило увеличиваться 0,18,и расширился разброс значений $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$ [0,15; 0,26]. Показатели занимают диапазон от 0,11 до 0,32 (рисунок 33, гр. 4).

Аналогичные показатели прослеживаются и на пятые сутки после родов. Ме ИЗФ=0,19. Интерквартильный размах [0,16; 0,22] (таблица 57). Диапазон данных составил минимум-0,08, максимум-0,19 (рисунок 33, гр. 5).

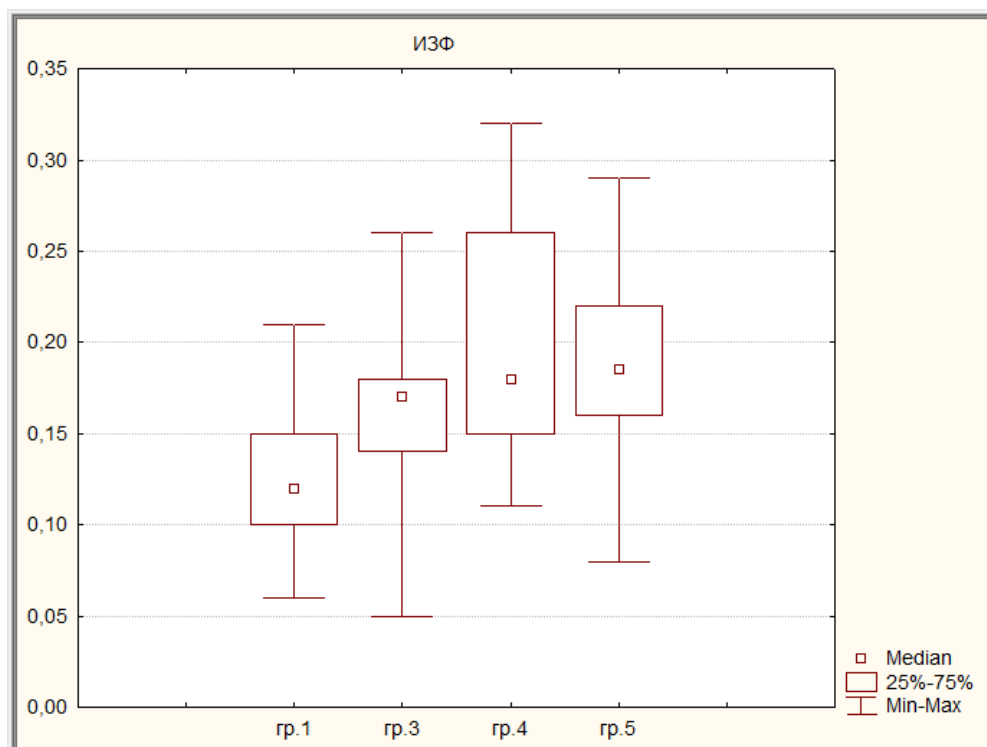


Рисунок 33 – Динамика ИЗФ у приплода интактных крыс до родов и после родов

Таблица 57 – Результаты статистического анализа

	Me	$Q_{0,25}$	$Q_{0,75}$	Min	Max	Max- Min	$Q_{0,75} - Q_{0,25}$
гр.1	0,12	0,10	0,15	0,06	0,21	0,15	0,05
гр.3	0,17	0,14	0,18	0,05	0,26	0,21	0,04
гр.4	0,18	0,15	0,26	0,11	0,32	0,21	0,11
гр.5	0,19	0,16	0,22	0,08	0,29	0,21	0,06

Таблица 58 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ИЗФ у приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения

Группы	1	3	4	5
1				
3	0,104111			
4	0,019111	0,364347		
5	0,028366	0,384674	0,791337	

Сравнение рядов данных ИЗФ в различных группах приплода интактных крыс до родов и после родоразрешения выявило статистически значимые различия значений ИЗФ в группах 1 и 4 ($p < 0,05$), а так же 1 и 5 ($p < 0,05$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 58).

Таким образом, сам акт родов коррелирует с увеличением поглотительной и киллинговой активности нейтрофилов у приплода и, очевидно, напрямую связан с ним как средство превентивной защиты от возможной инфекции.

6.4. Фагоцитарная активность нейтрофилов у приплода крыс, подвергнутых аллогенному воздействию

6.4.1. Процент активных нейтрофилов (ПАНф) у приплода до родов и в раннем послеродовом периоде, матери которых накануне родов подверглись болевому воздействию

Напомним, что накануне родов у приплода, находящегося в чреве интактной матери медианное значение процента активных нейтрофилов ПАНф-1 составляет 56,50, а интерквартильный размах в пределах [52,00; 61,00]. Диапазон данных колеблется от 43,00 (минимум), до 70,00 (максимум) (рисунок 34, гр. 1).

После нанесения болевого раздражения самке находящейся накануне родов медиана ПАНф-1 резко выросла и составила 81,50. Разброс значений

отмечен в пределах [74,00; 85,00]. Диапазон показателей сужен и сосредоточен в пределах (70,00-87,00) (рисунок 34, гр. 2).

В дальнейшем, сразу после родов и в течение следующих пяти суток ПАНф-1 плавно снижается, но не достигает контрольных цифр.

Медианное значение ПАНф-1 сразу после родов у стимулированной самки составляет 77,50. Разброс значений ПАНф-1 [73,00; 83,00]. Интервал данных (69,00-86,00) (рисунок 34, гр. 3).

Третьи сутки Ме ПАНф-1 равен 73. Разброс показателей ПАНф-1 [70,00; 76,00]. Диапазон данных минимум 63,00 – максимум 83,00 (рисунок 34, гр. 4).

На пятые сутки медиана ПАНф-1 примерно на прежнем уровне и равна 72,50. Разброс $Q_{0.25}$ - $Q_{0.75}$ [68,00; 78,00]. Данные распределены в диапазоне (54,00, 88,00) (рисунок 34, гр. 5).

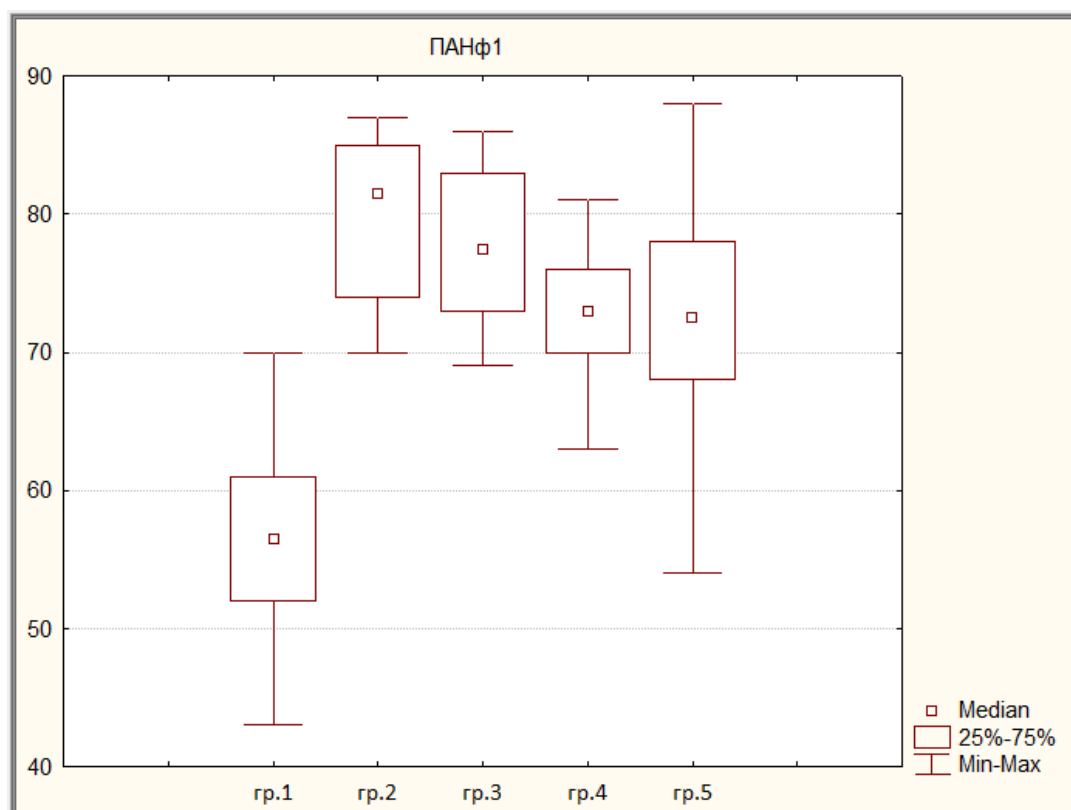


Рисунок 34 – Динамика ПАНф-1 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Таблица 59 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	56,50	52,00	61,00	43,00	70,00	27,00	9,00
гр.2	81,50	74,00	85,00	70,00	87,00	17,00	11,00
гр.4	77,50	73,00	83,00	69,00	86,00	17,00	10,00
гр.5	73,00	70,00	76,00	63,00	81,00	18,00	6,00
гр.6	72,50	68,00	78,00	54,00	88,00	34,00	10,00

Таблица 60 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНф-1 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Группы	1	2	3	4	5
1					
2	0,000183				
3	0,000212	0,496292			
4	0,000381	0,028366	0,104111		
5	0,005796	0,064023	0,161973	0,879829	

Сравнение рядов данных ПАНф-1 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию выявило высоко статистически высоко значимые различия в группах 1 и 2 ($p < 0,001$), а так же 1 и 3 ($p < 0,001$), 1 и 4 ($p < 0,001$), между группами 1 и 5 существенно значимые ($p < 0,001$), 2 и 4 значимые различия ($p < 0,05$), между группами 2 и 5 выявлена тенденция различий, между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 60).

Таким образом, болевая стимуляция беременной самки привела к вовлечению в процесс большего числа нейтрофилов, однако, это еще не говорит об эффективности фагоцитоза.

Пролонгирование экспозиции крови животных с культурой микроорганизмов на 3 часа показало, что медиана ПАНФ-4 у приплода, находящегося в чреве беременной самки, составляет 46,50. Показатели Q_{0,25}-Q_{0,75}[40,00;51,00]. Цифровой материал распределен между 38,00 и 55,00 (рисунок 35, гр. 1).

После электролевой стимуляции беременной самки накануне родов у приплода Me ПАНф-4 возрастает до 68,00. Различие с предыдущим показателем статистически высокозначимо ($p=0,0003$). Разброс значений ПАНф-4 отмечен в пределах [62,00; 76,00]. Значения рассредоточены между минимальным 51,00 – и максимальным 78,00 (рисунок 35, гр. 2).

Далее на протяжении всего эксперимента ПАНф-4 продолжает оставаться повышенной по отношению к первому измерению (в чреве беременной, нестимулированной самки накануне родов).

Так на первые сутки после родов медиана ПАНф-4 у приплода составляет 69,00, Интерквартильный размах сужен [63,00; 71,00]. Значения, полученные в этой серии экспериментов, колеблются между 58,00 и 81,00 (рисунок 35, гр. 3).

На третьи сутки после родов медиана ПАНф-4 у приплода имеет значение 68,00, разброс показателей ПАНф-4 [64,00; 73,00]. Интервал значений распределен между (58,00;73,00) (рисунок 35, гр. 4).

На пятые сутки после родов медианное значение ПАНф-4 у новорожденных крысят, рожденных стимулированными крысами, составляет 62,00, а разброс $Q_{0.25}-Q_{0.75}$ достаточно широк по сравнению с другими эпизодами [51,00;67,00] (таблица 61). Диапазон значений так же достаточно велик (48,00, 75,00) (рисунок 35, гр 5).

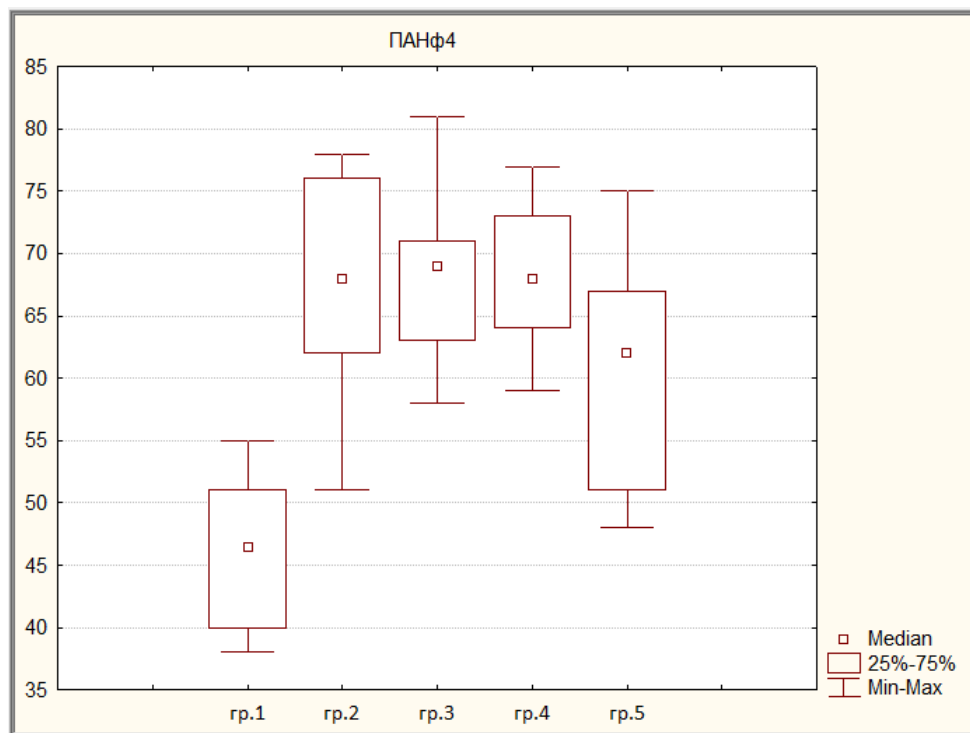


Рисунок 35 – Динамика ПАНф-4 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Таблица 61 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	46,50	40,00	51,00	38,00	55,00	17,00	11,00
гр.2	68,00	62,00	76,00	51,00	78,00	27,00	14,00
гр.4	69,00	63,00	71,00	58,00	81,00	23,00	8,00
гр.5	68,00	64,00	73,00	59,00	77,00	18,00	9,00
гр.6	62,00	51,00	67,00	48,00	75,00	27,00	16,00

Таблица 62 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ПАНф-4 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Группы	1	2	3	4	5
1					
2	0,000381				
3	0,000157	0,939743			
4	0,000157	0,879829	0,969850		
5	0,004587	0,096305	0,064023	0,034294	

Сравнение рядов данных ПАНф-4 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию, выявило статистически высокосignимые различия, в группах 1 и 2 ($p < 0,001$), а так же 1 и 3 ($p < 0,001$), 1 и 4 ($p < 0,001$), между группами 1 и 5 существенно значимые различия ($p < 0,01$), значимые – между группами 4 и 5 ($p < 0,05$), а также выявлена тенденция различий между группами 2 и 5; 3 и 5 ($p < 0,1$), между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 62).

Таким образом, электроболевая стимуляция беременных крыс привела к всплеску активности нейтрофилов, точнее увеличению их участия в процессе фагоцитоза. Надо заметить, что статистически высоко значимые отклонения в сторону повышения коснулись как ПАНф-1, так и ПАНф-4. Это свидетельствует об активации нейтрофилов, но отнюдь не о повышении их переваривающей способности. В последнем случае ПАНф-4 должно было бы снижаться, т.е. за дополнительные 3 часа, во многих нейтрофилах микробы могли быть разрушены. Более ясной картина станет при изучении ФЧ-1, ФЧ-4 и ИЗФ.

6.4.2. Фагоцитарное число (ФЧ) у приплода крыс подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов

У приплода, находящегося в чреве беременной, не стимулированной крысы Ме ФЧ-1 равна 3,10, разброс данных [2,91; 3,20]. Показатели находятся в пределах минимальный - 2,86, максимальный - 3,51 (рисунок 36, гр. 1).

После аллогенного воздействия на беременную крысу накануне родов медиана ФЧ-1 приплода равна 3,40, но 50% результатов имеют очень большой разброс $Q_{0.25} = 2,83$; $Q_{0.75} = 4,55$. Интервал значений так же велик (2,52; 4,84). Создается впечатление, что аллогенное воздействие, транслированное нейтрофилам, вызвало весьма неоднородную реакцию, а в целом не привело к смещению средних показателей ФЧ-1 (рисунок 36, гр. 2).

После родов Ме ФЧ-1 у новорожденных составила 3,29. Разброс значений ФЧ-1 снизился [3,16; 3,65] Результаты разместились в более компактном диапазоне 2,59 – минимум, и 3,85 - максимум (рисунок 36, гр. 3).

На третьи сутки после родов медиана ФЧ-1 составляет 3,09. Интерквартильный размах [2,97; 3.17]. Диапазон разброса данных (2,77;3,09) (рисунок 36, гр.4).

На пятые сутки существенных изменений поглотительной способности нейтрофилов также не произошло. Ме=3,20. Разброс значений отмечен в пределах [2,98; 3,42] (таблица 63). Распределились данные эксперимента между минимальным 2,88 и максимальным 3,42 (рисунок 36, гр.5).

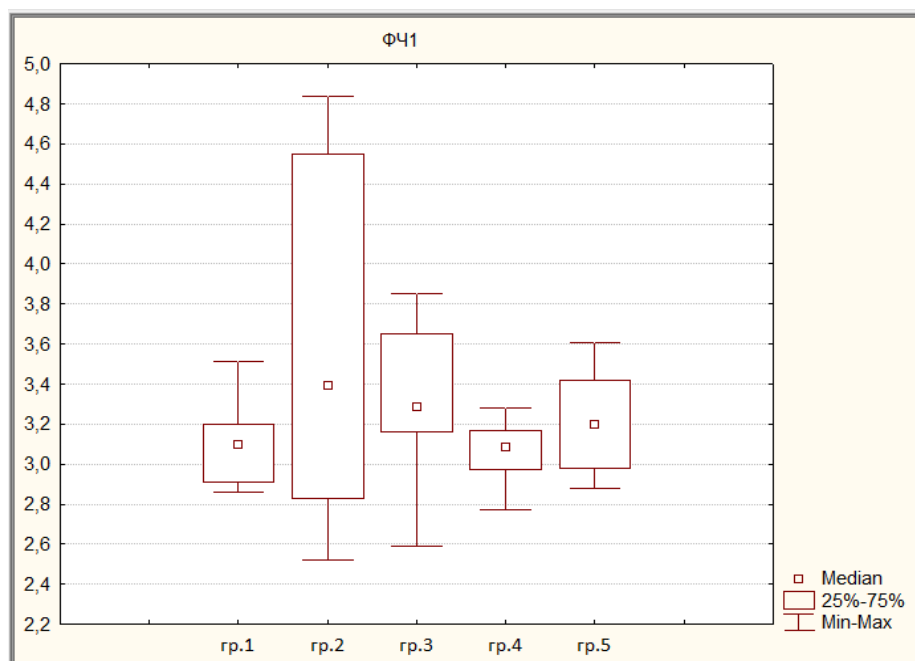


Рисунок 36 – Динамика ФЧ-1 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Таблица 63 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	3,10	2,91	3,20	2,86	3,51	0,65	0,29
гр.2	3,40	2,83	4,55	2,52	4,84	2,32	1,72
гр.4	3,29	3,16	3,65	2,59	3,85	1,26	0,49
гр.5	3,09	2,97	3,17	2,77	3,28	0,51	0,20
гр.6	3,20	2,98	3,42	2,88	3,61	0,73	0,44

Таблица 64 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-1 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Группы	1	2	3	4	5
1					
2	0,325752				
3	0,140466	0,650148			
4	0,733730	0,150928	0,096305		
5	0,325752	0,596702	0,449692	0,173618	

Сравнение рядов данных ФЧ-1 в различных группах интактных крыс не выявило статистически значимых различий, ($p > 0,05$), однако для групп 3 и 4 можно говорить о тенденции различий, т.к. $p < 0,1$ (таблица 64).

Таким образом, электроболевая стимуляция беременных самок накануне родов не привела к изменению поглотительной способности нейтрофилов приплода.

При более длительной экспозиции крови приплода с микроорганизмами медиана ФЧ-4 равна 2,75. Речь идет о приплоде, матери которого не получали электроболевою стимуляцию. Интерквартильный размах в пределах [2,44; 2,90]. Диапазон разрыва показателей от (2,39, 3,16) (рисунок 37, гр. 1).

Последовавшая накануне родов электроболевая стимуляция беременных самок привела к снижению медианы ФЧ-4 у приплода до 2,49. Но это снижение не находит статистического подтверждения ($p = 0,496$) по сравнению с данными первой группы исследований. Разброс показателей ФЧ-4 [3,01; 3,41]. Распределились значения эксперимента между минимальным 2,00 и максимальным 3,60 (рисунок 37, гр. 2).

После же родов медиана ФЧ-4 увеличилась до 3,07, принимает значение, близкое к нижней квантили. Интерквартильный разброс данных ФЧ-4 [3,01; 3,41]. Диапазон выявленных показателей весьма велик 1,07 минимум - 3,63 максимум. Последний показатель как раз свидетельствует о весьма переменном ответе на болевую стимуляцию, а сам факт повышения ФЧ-4

свидетельствует о низкой переваривающей способности нейтрофилов (рисунок 37, гр.3).

На третьи сутки после родов картина меняется. Медиана ФЧ-4 составляет 2,31. Интерквартильный размах минимален [2,28; 2,37], и диапазон значений так же весьма компактен: (2,18;2,31) (таблица 65). В этой серии экспериментов именно на 3-й день после родов стимулированными крысами ФЧ-4 снижается по сравнению с ФЧ-1. Это может говорить об активации киллинговой активности (рисунок 37, гр.4).

Реакция непродолжительна. Уже на 5 сутки после родов ФЧ-4 статистически не отличается от первоначальных значений. Медиана равна 2,83. Разброс значений: [2,49;2,98]. Минимальный ФЧ-4 зарегистрирован на отметке 2,16, а максимальный 3,21 (рисунок 37, гр.5).

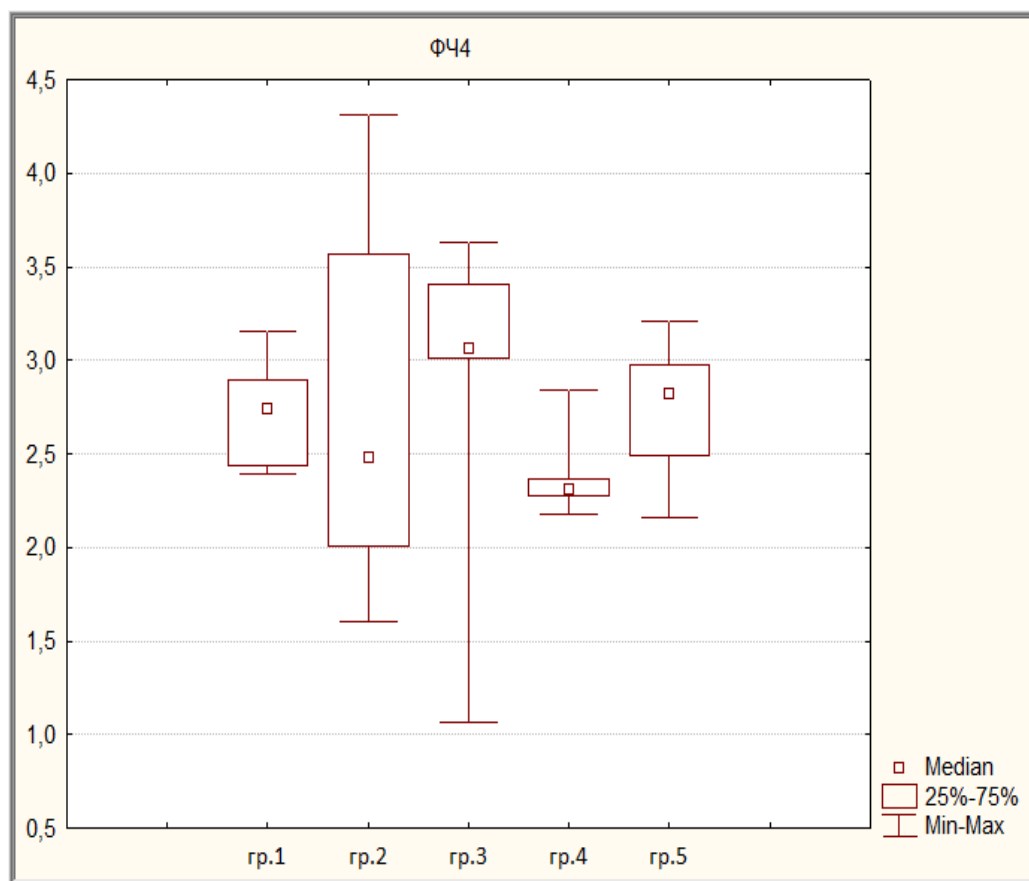


Рисунок 37 – Динамика ФЧ-4 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Таблица 65 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	2,75	2,44	2,90	2,39	3,16	0,77	0,46
гр.2	2,48	2,01	3,57	1,60	4,31	2,71	1,56
гр.4	3,07	3,01	3,41	1,07	3,63	2,56	0,40
гр.5	2,31	2,28	2,37	2,18	2,84	0,66	0,09
гр.6	2,83	2,49	2,98	2,16	3,21	1,05	0,49

Таблица 66 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ФЧ-4 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Группы	1	2	3	4	5
1					
2	0,496292				
3	0,069643	0,496292			
4	0,002497	0,705457	0,023343		
5	0,791337	0,405680	0,121225	0,045155	

Сравнение рядов данных ФЧ-4 у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию выявило статистически значимые различия в группах 1 и 4 ($p < 0,05$), а так же 3 и 4 ($p < 0,05$), 5 и 4 ($p < 0,05$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$), но для групп 1 и 3 ($p < 0,1$) выявляется тенденция различий (таблица 66).

Таким образом, в динамике эксперимента ФЧ-4 возрастал после болевой стимуляции и лишь на третьи сутки, имело место статистически значимое снижение этого показателя. Сама реакция носила не стойкий характер.

6.4.3. Индекс завершенности фагоцитоза (ИЗФ) у приплода крыс подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов

ИЗФ у приплода интактных самок накануне родов $Me = 0,12$, разброс данных $[0,10; 0,15]$. Интервал значений имеет границы от минимального показателя 0,06, до максимального 0,21 (рисунок 38, гр.1)

После аллогенного раздражения самок накануне родов, медиана ИЗФ их потомства изменила свое значение в сторону увеличения $Me = 0,22$.

Интерквартильный размах расширен [0,17; 0,38]. Значения показателей весьма разбросаны и колеблются от 0,05, до 0,54, т.е. разнятся друг от друга в значительной степени (рисунок 38, гр.2).

Казалось бы, логичным было ожидать сохранение ИЗФ после родов, но значение медианы снижено и она смещена к показателю нижней квантили. $Me=0,06$. Разброс данных ИЗФ [0,04; 0,18] (таблица 67). Интервал значений от 0,03 минимальное до 0,25 максимальное (рисунок 38, гр.3).

На третьи сутки после родов у крысят, рожденных стимулированными самками, картина меняется. Медиана ИЗФ смещена к значениям верхней квантили. $Me=0,24$ [0,18;0,27]. Расширен диапазон показателей (0,07;0,24) (рисунок 38, гр.4).

Таким образом, на третьи сутки отмечается наибольшая киллинговая активность нейтрофилов, но она непродолжительна, и на пятые сутки стихает. Me ИЗФ незначительно отличается от первоначальных значений -0,14. Интерквартильный размах в пределах [0,11; 0,21]. Диапазон данных несколько расширен (0,07;0,39) (рисунок 38, гр.5).

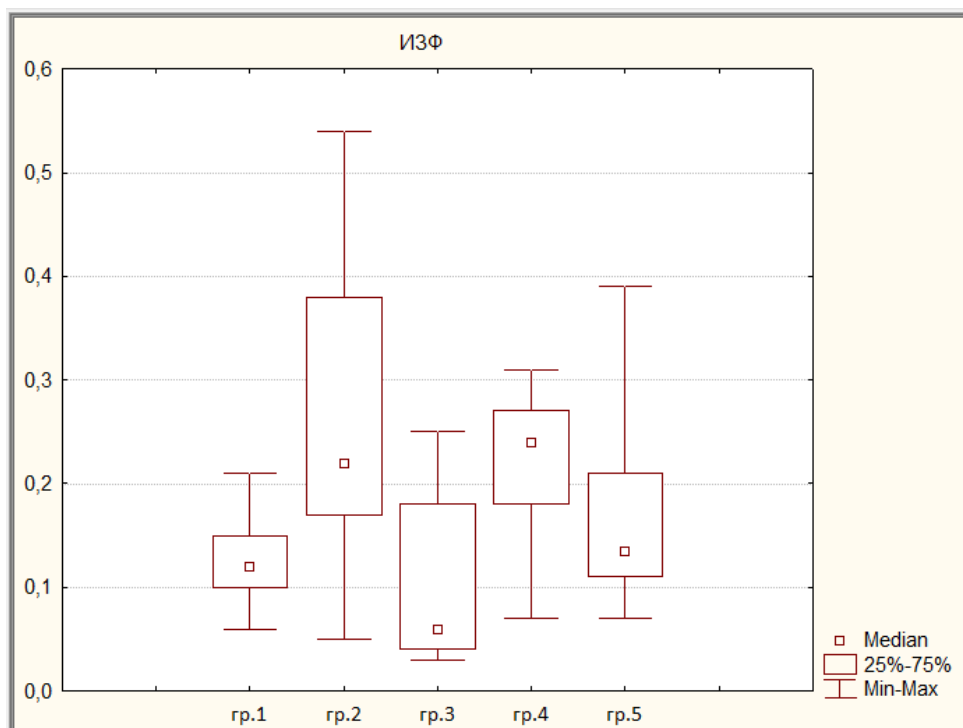


Рисунок 38 – Динамика ИЗФ у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Таблица 67 – Результаты статистического анализа

	Me	Q _{0,25}	Q _{0,75}	Min	Max	Max- Min	Q _{0,75} - Q _{0,25}
гр.1	0,12	0,10	0,15	0,06	0,21	0,15	0,05
гр.2	0,22	0,17	0,38	0,05	0,54	0,49	0,21
гр.4	0,06	0,04	0,18	0,03	0,25	0,22	0,14
гр.5	0,24	0,18	0,27	0,07	0,31	0,24	0,09
гр.6	0,14	0,11	0,21	0,07	0,39	0,32	0,10

Таблица 68 – Значения уровней значимости различия исследуемых рядов ИЗФ у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию

Группы	1	2	3	4	5
1					
2	0,021135				
3	0,150928	0,017258			
4	0,004587	0,820596	0,005796		
5	0,273037	0,185878	0,037636	0,150928	

Сравнение рядов данных ИЗФ у приплода до и после родов крысами, получившими болевую стимуляцию, выявило статистически существенно значимые различия в между группами 1 и 4, а также 3 и 4, где $p < 0,01$, статистически значимые различия в группах 1 и 2 ($p < 0,05$), 2 и 3 ($p < 0,05$), 3 и 5 ($p < 0,05$), тогда как между остальными группами различия статистически не значимы ($p > 0,05$) (таблица 68).

В общей структуре эксперимента прослеживается факт активации нейтрофилов у приплода в ответ на болевое раздражение беременной самки. Сама болевая информация явно транслируется приплоду, повышается значение исследуемых показателей, но оно не отражает эффективности процесса, его профилактической направленности. Единственное исключение – это увеличение киллинговой активности нейтрофилов на третьи сутки после родов и как следствие повышение ИЗФ. Является ли такая редуцированная реакция фактом физиологической настройки (тренинга), которые могут пригодиться в последующем, в случае развития инфекции или носят случайный характер – сказать трудно.

Более глубокий анализ обнаруживает, что в динамике эксперимента

показатели существенно меняют значения по отношению друг к другу. Так ПАНф-1 к пятым суткам после родов имеет тенденцию к снижению по отношению к моменту болевой стимуляции ($p < 0,01$).

Показатели ПАНф-4 во все временные этапы исследования хотя и остаются более высокими по отношению к контрольной группе, но и сохраняют стабильность сразу после болевого воздействия, на 1-е и 3-е сутки после родов, и только на пятые сутки снижаются, что само по себе свидетельствует лишь о более высокой поглотительной активности, но отнюдь не о переваривающей способности (рисунок 34). В динамике ФЧ-1 и ФЧ-4 так же отмечаются статистически значимые колебания по отношению друг к другу, главным образом на третьи сутки после родов.

ИЗФ повышался только после болевой стимуляции беременных самок и на третьи сутки после родов (рисунок 38), различия этих групп с ИЗФ у приплода интактных самок накануне родов статистически значимы (рисунок 38). Однако, именно, ИЗФ характеризуется своей нестабильностью. Если обратиться к таблице 67 и таблице 68, то можно констатировать наличие выраженных размахов показателей, их статистически значимое отличие друг от друга в динамике всего эксперимента. Поэтому болевая стимуляция скорее вызывает десинхронизацию фагоцитарного процесса, нежели его целенаправленную динамику.

Если отвлечься от описанных выше фрагментарных результатов общего исследования, посвященного фагоцитарной активности нейтрофилов крыс и их потомства в условиях нормальных родов и при их превентивной болевой стимуляции, и постараться построить панорамный образ всего исследования, то открывается картина, заслуживающая дополнительного описания и трактовки.

Во-первых, статистический анализ убедительно показал, что в отсутствие беременности, в ее поздние сроки у интактных крыс и ранний послеродовой период сохраняются все параметры, характеризующие фагоцитарную активность нейтрофилов и представляют ее монотонной и практически неизменной.

Вполне логично предположить, что по мере приближения родов и уж тем более после родов фагоцитарная активность должна повышаться, т.к. весьма вероятно инфицирование рогов матки и родовых путей. Но этого не происходит. Понимание этого факта приходит при анализе биомеханизмов вынашивания беременности и осуществления родов. Основная направленность биологической регуляции беременности имеет своим вектором сохранения покоя матки, ингибирование маточного тонуса через активацию β -адренорецепции (Циркин В.И., Дворянский С.А., 1997.)

Составляющими β -адренорецепторного ингибирующего механизма являются миоциты матки, имеющие в обилии β -адренорецепторы и лиганды β -адренорецепторов: катехоламины, селективный эндогенный β -адреномиметик и ряд других. (Сизова Е.Н., 2005; Сизова Е.Н., Циркин В.И., 2006).

Особо следует подчеркнуть, т.к. это коснется и нейтрофилов, во время беременности в миоцитах матки возрастает популяция β_2 -адренорецепторов. Им отводится основная ингибирующая функция (Дмитриева С.Л., Хлыбова С.В., Циркин В.И., Родина И.Г., Ходырев Г.Н., 2011).

Накануне родов ингибирующий сокращения матки эффект снижается и создаются условия для обеспечения родовой активности. Важно заметить, что реализация механизма обеспечивается за счет десенситивности β_2 -адренорецепторовмиоцитов.

Актуально, что β_2 -адренорецепторы нейтрофилов при этом сохраняют свою высокую активность и тем самым тормозят их фагоцитарную активность (Шилов Ю.И., Орлов Е.Г., Ланин Д.В., 2004).

С современных позиций это выглядит как механизм, повышающий иммунологическую толерантность матери к плоду (Хлыбова С.В., 2007).

Таким образом, становится объяснимым, почему до родов (нормальных) и после них фагоцитарная активность нейтрофилов остается стабильно сниженной. Даже на третьи сутки после родов, когда поглотительная активность изучаемых клеток повысилась, это не привело к окончательному эффекту – индекс завершенности фагоцитоза даже снизился.

Несколько иная картина прослеживается после болевой стимуляции беременной самки накануне родов, но только со стороны фагоцитов. Сама болевая стимуляция не приблизила время родоразрешения. А в поведении нейтрофилов не определилась какая-то однонаправленная линия поведения. Сразу после болевого воздействия индекс завершенности фагоцитоза возрос, но ненадолго, уже на 1-ые и 3-и сутки после родов он соответствовал ИЗФ небеременных самок и только на пятые сутки регистрируется увеличение этого показателя.

Болевая атака скорее отразилась на проценте активных нейтрофилов. Но сама реакция напоминала маятникообразный характер, когда количество активных нейтрофилов повышалось, а повышение сменялось падением. При этом колебания не сказывались на конечном результате ИЗФ, если не считать пятые сутки после родов. Создается впечатление, что превентивное болевое раздражение десинхронизировало процесс управления фагоцитарной активностью нейтрофилов, лишила ее какой-то определенной направленности. Сделанное заключение находит подтверждение в трудах Чернышова В.А., который наблюдал нарушения функционирования нейтрофилов уже через 6 часов после стресса (Чернышов В.А., 2011).

В понимании механизма повышения ИЗФ интересно сообщение, сделанное Шиловым Ю.И. и Орловой Е.Г. Оно же логично укладывается в концепцию изменения адренорецепции накануне родов.

В экспериментах на крысах установлено участие адренергических механизмов в регуляции фагоцитарной функции нейтрофилов при остром стрессе. Введение экспериментальным животным β -адреноблокаторов существенно модифицировало ответ. Фагоцитарная активность нейтрофилов возрастала уже через 30 минут после стрессового воздействия и достигала пика на 2^е сутки. Тогда как при отсутствии блокады β – адренорецепторов, судя по НТС – тесту, активность нейтрофилов повышалась лишь на 3^е сутки (Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., 2002).

Несколько иная реакция наблюдается у новорожденных крысят. По

определению, у них фагоцитарная активность ниже, чем у взрослых животных, кроме того их β -адренорецепторы слабее реагируют на адекватные раздражители (Леви Д., 1999). Если рассматривать этот феномен с позиции вышеизложенных взглядов относительно обеспечения иммунологической толерантности по оси мать-дитя, такой уровень ответа представляется обоснованным.

Но, как только разрывается связь плода с материнским организмом при условии нормальных родов, фагоцитарная активность у новорожденных начинает прогрессивно расти, причем растет переваривающая способность. Достаточно повторить результаты ИЗФ, они очень наглядны: перед родами-0,13, 1-е сутки после родов-0,16, третьи сутки после родов 0,20, пятые сутки-0,19, что практически повторяет предыдущий результат. Итак, в результате нормальных родов киллинговая активность нейтрофилов у новорожденных крысят прогрессивно растет и это следует расценивать как формирование самостоятельного механизма врожденного иммунитета.

Подобный же результат отмечается у новорожденных крысят, матери которых имели болевую стимуляцию накануне родов. У плода в ответ на болевое раздражение матери повышается и поглотительная и переваривающая способность нейтрофилов. Но она не стойкая, уже после родов ИЗФ ниже, чем до болевой стимуляции. На третьи сутки ИЗФ вновь повышается, а на пятые падает. Повторяется тот же эффект маятника, что и у стимулированных крыс. Как в том, так и в другом случаях, несмотря на высокую лабильность происходящих процессов, нет определенно ориентированного на конкретный результат эффекта. Т.е. болевая стимуляция приводит к десинхронизации механизмов клеточного врожденного иммунитета. Болевой стимул активизирует нейтрофилы, эффект приобретает характер выраженный и непродолжительный. На третьи сутки картина повторяется. У крыс рожденных крысами испытывавшими боль, ответ выраженный, он быстро истощается, вновь повторяется и опять теряет свой потенциал.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Факторы врожденного иммунитета имеют вполне определенное предназначение: оперативное, практически незамедлительное, реагирование на внедрение в организм хозяина или появление в нем субстанций, несущих генетически чужеродную информацию. Это эволюционно древний механизм, работающий по сути неспецифически, по принципу «свой - чужой». Как и каждый механизм, он регулируется и подвержен регуляторным влияниям и только при нормальном функциональном состоянии способен реагировать адекватным объемом, скоростью и интенсивностью.

Нет необходимости доказывать, что беременность - явление нормальное, физиологическое, приводит к перестройке многих систем организма, например, нервной, эндокринной, сердечнососудистой и др.

Акт родов - заключительный аккорд беременности, так же накладывает свой отпечаток на функцию всех органов и систем.

Он требует от роженицы, а в последующем от родильницы мобилизации физических сил, резко повышает активность жизненно важных систем организма.

Вполне уместно рассматривать роды у человека как стресс или состояние близкое к стрессу. Гормоны стресса активно влияют на факторы врожденного иммунитета. Это в частности показано еще в пятидесятые годы Голодец Г.Г. (Голодец Г.Г., Пучкова Н.В., 1948; Гордиенко А.Н., 1949).

Авторы установили, что введение адреналина дозозависимо влияет на фагоцитоз у лягушек. Физиологические дозы активируют фагоцитоз, введение в больших дозах его угнетает.

У людей родовая деятельность сопровождается болевым компонентом. Боль - существенный фактор в механизме родов. Как было показано в тексте настоящей работы со ссылкой на конкретных авторов, природа не ошиблась. Боль позволяет контролировать динамику родовой деятельности, формирует

эндорфиновый потенциал, что позитивно окрашивает восприятие рождения ребенка на фоне негативных компонентов родовой деятельности.

По мере развития анестезиологии с родовой болью стали бороться. Вначале для предотвращения дискоординации родовой деятельности и достигли при этом вполне определенных успехов.

Сам факт того, что можно нивелировать или снять болевой компонент оказался весьма привлекательным. По мере того, как анестезиологическое пособие приняло почти ювелирный характер, борьба с родовой болью обрела содержание социального заказа.

Доминирует, и видимо справедливо, при данном уровне развития цивилизации взгляд на необходимость исключения болевого компонента из акта родов. Обезболивание заняло свое прочное место в акушерской практике. На сегодняшний день нет научных работ, где бы доказательно рассматривались отдаленные возможные негативные последствия обезболивания родов.

Имеются указания на то, что обезболивание родов имеет в ряде случаев побочный эффект для матери: тошноту, рвоту, гипотензию, угнетение дыхания, атонию гладкой мускулатуры (Рутковская Е.А., Сидоренко В.Н., Трухановец О.В., 2009).

Не менее важно, что дети, родившиеся при обезболивании родов, уступают своим сверстникам в формировании некоторых рефлексов, направленных на адаптацию к жизни вне организма матери. (Rilay E.T., 1999; Шибалов Н.Г., 2004; Царегородцев И.С., 2008).

Установлено также, что уже через неделю после родов дети, рожденные при болевом сопровождении или с обезболиванием, не уступают друг другу по своему психофизиологическому развитию. И, тем не менее, остается недостаточно изученной «цена вопроса». При обезболивании женщина обретает комфорт – это факт, но что она теряет? Такие исследования практически не проводятся.

Нами предпринята попытка сопоставить реакцию ряда факторов врожденного иммунитета на роды, протекающие без боли в привычном для человека понимании, и при предшествующей им болевой стимуляции.

Избранная модель - это не болевое сопровождение родов, это болевой компонент, присутствующий в периоде ожидания родов. В литературе мы не встретили упоминаний о болевом компоненте родов у животных, если это не генномодифицированные особи, когда плод неадекватен родовым путям. Наблюдения за крысами позволяют говорить, что они рожают без боли. Отсутствуют признаки боли, описанные Вальдманом А.В. (1976), Овсянниковым В.Г. (1990).

Исследованием установлено, что у крыс контрольной группы активность лизоцима накануне родов не отличается от таковой у интактных крыс: 0,255 ед против 0,259 ед при $p > 0,1$.

То же можно сказать и о С-реактивном белке. У интактных крыс контрольной группы его содержание 412,00 нг/мл, непосредственно перед родами -434,00 нг/мл при $p > 0,1$.

По-иному реагирует С3 компонент комплемента. Непосредственно перед родами его содержание падает и это падение статистически значимо. У контрольной группы медианные значения С3 компонента комплемента 148,00 нг/мл, а у животных перед родами – 128,5 мкг/мл при $p < 0,001$.

Оценивая фагоцитарную активность, следует отметить, что ПАНф-1 остается неизменным. У контрольных животных эта величина равна 83,00%, а перед родами 81,00%, $p = 0,849\%$. ПАНф-4 у интактных животных 71,00%, накануне родов 75,50%, $p > 0,1$. Иными словами процент активных нейтрофилов остается неизменным.

Фагоцитарное число ФЧ-1 составляет у интактных крыс 3,66, а накануне родов у беременных самок - 4,03 $p > 0,1$. ФЧ-4 у интактных небеременных крыс равен 2,72, накануне родов – 2,79 ($p > 0,1$).

Интегральный показатель, характеризующий эффективность фагоцитоза, ИЗФ в контрольной группе – 0,25, у беременных накануне родов – 0,28 ($p > 0,1$).

Таким образом, сам процесс беременности в наших экспериментах знаменуется снижением уровня С3 компонента комплемента, остальные, из изученных гуморальных факторов врожденного иммунитета, сохраняют стабильность. Неизменными остаются и показатели, характеризующие фагоцитарную активность нейтрофилов.

После родов, на первые сутки медианные значения активности лизоцима составляют 0,310 ед. Это выше, чем у интактных крыс и беременных крыс накануне родов и описанное отличие статистически высоко значимо ($p < 0,001$).

Содержание С-реактивного белка увеличилось и составило 510,00 нг/мл. Это увеличение статистически значимо по отношению к контрольным значениям ($p < 0,001$) и высоко статистически значимо по отношению к сроку, предшествующему родам ($p < 0,001$).

С3- компонент комплемента в первые сутки после родов продолжает снижаться, достигнув 117,00 мкг/мл. Снижение статистически значимо по отношению к результатам, полученным в предыдущие сроки.

Значения ПАНф-1, ПАНф-4, ФЧ-1 и ФЧ-4 в первые сутки после родов не претерпели сколько-нибудь статистически значимых изменений. ИЗФ также не изменялся.

Таким образом, сам акт родов привел к активации исследуемых гуморальных факторов врожденного иммунитета, а клеточные - не изменили своей активности.

На третьи сутки изменения показателей, характеризующих состояние исследуемых гуморальных факторов врожденного иммунитета, претерпевают максимальные изменения, которые можно характеризовать как «пиковые». Активность лизоцима составила 0,378 ед ($p < 0,001$), СРБ – 584,00 нг/мл ($p < 0,001$), С3 компонент комплемента минимален по сравнению с предыдущими сроками – 107,25 мкг/мл ($p < 0,001$). Процент активных нейтрофилов остался прежним, а ФЧ-1 возросло: 4,38 ($p < 0,1$). То же произошло с фагоцитарным числом-4: 3,70 ($p < 0,05$). Медианные значения ИЗФ обрели тенденцию к снижению, составив 0,16 ($p < 0,1$).

Таким образом, на третьи сутки после родов процент активных нейтрофилов остается неизменным, поглотительная способность несколько увеличивается, однако из этого не следует, что повысилась киллинговая активность. ИЗФ даже снизился, расценивать это снижение можно лишь как тенденцию.

На пятые сутки после родов активность лизоцима периферической крови крыс, содержание С-реактивного белка и все исследуемые показатели, касающиеся активности нейтрофилов вернулись к контрольным значениям. Исключение составил С3 компонент комплемента, его уровень остается сниженным, но по сравнению с предыдущим сроком исследования уровень С3 остается неизменным, т.е. произошла стабилизация.

Обобщая анализ динамики показателей, можно заключить, что роды приводят в движение исследуемые гуморальные факторы врожденного иммунитета, они достигают своей максимальной активности на третьи сутки после родов. Клеточные факторы, а точнее фагоцитарная активность нейтрофилов практически не изменяется.

Что касается С3 компонента комплемента, то его уровень снижается уже до родов и этот факт следует отнести к самой беременности.

Основанием связывать снижение уровня С3 компонента комплемента с беременностью является результат контрольных опытов. У небеременных крыс через 21 день после контрольного исследования исследуемый субстрат в количественном отношении остается неизменным.

У животных, накануне родов получивших болевую стимуляцию, активность лизоцима стремительно растет и составляет 0,377 ед. Величина прироста активности лизоцима статистически высоко значима и по отношению к контрольным значениям ($p < 0,001$) и по отношению к моменту, непосредственно предшествовавшему аллогенному воздействию ($p < 0,001$). Всплеск активности лизоцима находит свое развитие. После родов, эта величина равна 0,425 ед, через трое суток – 0,486 ед. Оба показателя имеют

статистически высоко значимое отличие от результатов, зафиксированных в более ранние сроки.

На пятые сутки активность лизоцима начинает снижаться. Его уровень составляет 0,386. Это существенно значимое отличие по отношению к предыдущему сроку ($p < 0,01$), но отнюдь не к показателям, выявленным накануне родов.

Таким образом, активность лизоцима и у интактных, и у стимулированных крыс после родов возрастает, но у стимулированных животных этот показатель растет стремительно и весьма существенно. Достигнув своего пика, он на пятые сутки начинает снижаться, но не достигает, как у интактных животных контрольных значений, а продолжает сохраняться на повышенном уровне.

Содержание С-реактивного белка в периферической крови крыс после стимуляции накануне родов возрастает до 490,00 нг/мл, но это увеличение не подтверждено статистическим анализом ($p > 0,1$) и в лучшем случае может расцениваться как тенденция к увеличению.

После родов, на первые и третьи сутки, имеется прогрессивное нарастание содержания С-реактивного белка, соответственно до 564,00 нг/мл ($p < 0,01$) и 624,00 нг/мл ($p < 0,001$). На пятые сутки содержание СРБ падает и обретает значение ниже, чем в контрольной группе 378,00 нг/мл ($p < 0,1$).

Динамика изменения СРБ как в одной, так и в другой серии исследований практически тождественна. Однако у стимулированных животных увеличение содержания СРБ более выражено, чем у интактных, а на пятые сутки уровень СРБ стремительно падает ниже контрольных значений, тогда как у интактных животных приобретает исходные значения.

Содержание фракции С3 комплемента накануне родов снижается, болевое раздражение усугубляет это снижение, оно достигает своего максимума 91,00 мкг/мл. Это ниже, чем у интактных крыс и стабилизируется на низких значениях до конца эксперимента, тогда как у интактных крыс стабилизация наступила только на третьи сутки после родов. Во все сроки

зарегистрированное снижение статистически высоко значимо по отношению к контрольным значениям.

После болевой стимуляции, предшествующей родам, медиана ПАНф-1 равна 81%; на третьей – 80,00% и в конце опыта – 85,50 %.

Описанные показатели не имеют статистически значимых отличий от таковых в контрольной группе и в группе накануне родов. Но делать выводы о монотонности картины преждевременно. Изменения ПАНф-1 имеют место и они носят колебательный характер. После стимуляции интерквартильный интервал сузился в направлении увеличения поглотительной активности нейтрофилов, через сутки и через трое суток ПАНф-1 снижается по отношению к уровню, достигнутому после стимуляции ($p < 0,05$), а на пятые сутки отмечается новый подъем по отношению к результатам, зафиксированным на 1^е и 3^и сутки ($p < 0,1$), но это скорее тенденция.

ПАНф-4 также не имеет статистически значимых отклонений на всем протяжении эксперимента по отношению к контрольной группе. Наблюдаются те же колебания, которые мы наблюдали при изучении ПАНф-1. Следует отметить, что хоть графики колебания уровня активности нейтрофилов в первом и во втором случае практически тождественны по форме, но не тождественны по количественной характеристике: ПАНф-4 имеет несколько меньшие значения в динамике эксперимента, нежели ПАНф-1, однако однозначные ряды в обеих сериях экспериментов при сравнении не имеют статистически значимых отличий.

В отличие от предыдущей серии экспериментов после болевой стимуляции увеличивается захват микробных тел нейтрофилами ($p < 0,001$). Судя по резкому сближению интерквартильных границ, реакция не вызывает сомнения и может характеризоваться как резкое увеличение поглотительной способности нейтрофилов. Следует отметить, что эта реакция непродолжительна. После родов ФЧ-1 возвращается к контрольным значениям и сохраняется на таком уровне до конца эксперимента.

В отличие от показателя ФЧ-1, ФЧ-4 более динамичен. После болевой стимуляции ФЧ-4 увеличивается, а затем начинается прогрессивное снижение этого показателя. К пятым суткам ФЧ-4 по отношению к контрольным значениям снижается и это снижение существенно значимо ($p < 0,01$), иными словами киллинговый потенциал нарастает. В пользу сделанного заключения свидетельствует интегральный показатель – индекс завершенности фагоцитоза. Он имеет два пика, в первом случае киллинговая активность возрастает сразу после электроболевой стимуляции ($p < 0,1$). Наибольшей дезинтеграции микробные тела подвергаются на пятые сутки после родов ($p < 0,01$).

Проведенное сравнение показывает, что нормальные роды сопровождаются повышением активности лизоцима, увеличением содержания С-реактивного белка и снижением уровня С3 компонента комплемента. Эти изменения непродолжительны, к пятым суткам нивелируются или стабилизируются. Т.е. гуморальные факторы врожденного иммунитета при нормальных родах активируются, эта активность носит умеренный и непродолжительный характер. Что касается клеточных факторов (нейтрофилов), они в процесс не вовлекаются.

После электроболевой стимуляции активность лизоцима повышается, содержание СРБ возрастает, уровень С3 компонента комплемента падает. Казалось бы, картина повторяется, но изменения после аллогенного воздействия более выражены.

Болевая стимуляция приводит в движение клеточные факторы – нейтрофилы. Увеличивается их поглотительная способность и, самое главное, возрос ИЗФ сразу после болевого воздействия и наиболее рельефно на пятые сутки после родов.

Основным стимулятором биосинтеза С-реактивного белка является ИЛ-6 (Bataile R., Klein B., 1992).

По данным Рождественской Т.А. у женщин после родов уровень СРБ втрое выше, чем до родов (Рождественская Т.А., 2013).

Установлено, что острое болевое воздействие сопровождается активацией ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , которые в свою очередь усиливают продукцию ИЛ-6 (Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Бликян М.В. и др. 2013).

Известно, что сама беременность сопровождается нарастанием содержания СРБ в крови (Николаев А.А., Ахушкова Л.М., 2013).

При анализе результатов, полученных в настоящем исследовании установлено, что родоразрешение сопровождается увеличением содержания С-реактивного белка в периферической крови вне зависимости от того предшествовало ли родам болевое воздействие или рожали интактные животные. Разница заключается в том, что на первые сутки уровень СРБ у стимулированных крыс был выше, чем у интактных (Ме стим.=564,00 нг/мл; Ме инт.=510,00 нг/мл). Это различие особенно заметно и статистически подтверждено на 3 сутки после родов. У интактных крыс медианные значения СРБ составляют 584,00 нг/мл, а у животных, получивших алгогенную стимуляцию – 624,00 нг/мл. Серии экспериментов отличаются друг от друга только один нюанс в их постановке – болевое воздействие. Именно с нею следуют связывать активацию СРБ по изложенной выше схеме.

Обращает на себя внимание и еще один факт. При нормальных родах на пятые сутки уровень СРБ снижается и принимает значения, полученные в контрольных экспериментах. После болевой стимуляции на пятые сутки после родов содержание СРБ снижается и становится ниже, чем в контрольных опытах и это различие существенно значимо.

В настоящей работе показано, что на пятые сутки после родов у животных, подвергнутых болевой стимуляции, увеличивается поглотительная и переваривающая способность нейтрофилов. Именно в эти сроки падает уровень СРБ. Алексеева Н.С. в своей диссертационной работе полагает, что происходит захват молекул СРБ активированными нейтрофилами (Алексеева Н.С., 2009), а П.Г. Назаров трактует падение уровня СРБ после его выраженного увеличения в периферической крови, как механизм ограничения потенциала врожденного иммунитета, когда в нем нет объективной потребности. (Назаров П.Г., 2006).

Истины ради анализ динамики комплемента следует начать с относительно недавно выполненной статьи, выполненной в Самарской ГСХА. Исследователями установлено, что у новорожденных телят комплимент активность выражена слабо, причем она остается неизменной в раннем послеродовом периоде (Карамева А.С., Зайцева В.В., 2010). Возможно выявлена видовая особенность.

Нами отслежен С3 компонент комплемента в динамике эксперимента и картина представляется несколько иной.

Отмечается снижение его уровня и при нормальных родах и при родах, которым предшествовало болевое раздражение, причем во втором случае изменения были наиболее рельефны.

Есть как минимум две точки зрения.

Одна – это результат вступления С3 компонента комплемента в каскад активации комплемента, благодаря чему концентрация исследуемого субстрата падает (Шеховцова Н.В., 2009). Другая точка зрения заключается в том, что при стрессе (а боль является стрессором) происходит сброс глюкокортикоидов, которые приводят к катаболизму белка, в частности, изучаемого субстрата, что и приводит к снижению его уровня (Кузнецова А.М., 2009, Мельников В.И., 2011).

Уменьшение содержания С3 компонента комплемента в результате болевой атаки (стресса) может быть связано с выделением из надпочечников аскорбиновой кислоты и связывание ею С3 (Кузнецова А.М., 2009).

Есть и третья точка зрения. Во время беременности с целью сохранения плода мобилизованы механизмы, обеспечивающие толерантность матери к плоду.

При родах, наоборот, активированы механизмы иммунологического контроля, направленные на отторжение плода, разрешение беременности. В этом отношении комплемент не является исключением. (Казимирко Н.К., Акимова Е.Е., Завацкий В.Ю., Поляков А.С., Татаренко Д.П., 2014).

Такая точка зрения может рассматриваться в нашем случае, т.к. первые признаки снижения C3 наблюдаются перед родами, а далее при болевой стимуляции они усугубляются.

Очевидно, все точки зрения правомерны. Но в нашем случае предпочтение следует отдать первой.

Во-первых, мы определяли фагоцитарную активность нейтрофилов *in vitro*. Установлено, что при болевой стимуляции ФЧ и ИЗФ возрастают в динамике эксперимента. Известно, что при активации C3 компонента, происходит фрагментирование его на C3a, который уходит в кровоток и свободно циркулирует, и фрагмент C3b, который опсонизирует бактерии, благодаря чему фагоциты становятся не только более активными, но и более эффективными. (Шеховцова Н.В., 2009; Кузник Б.И., 2010; Kastl S.P., Speidl W.S., Kaun C. et al., 2008).

Во-вторых, при болевой стимуляции, стабилизация уровня C3 компонента комплемента наступает раньше, чем при нормальных родах, хотя вполне логично ожидать снижение содержания C3 по мере реализации катаболического эффекта стероидных гормонов.

Вышеизложенное позволяет полагать, что C3 компонент комплемента вступает в каскадную реакцию активации системы комплемента, что и приводит к снижению его содержания.

Как указывалось выше механизм активации комплемента через посредство компонентов системы свертывания крови объясняет почему правомерно считать, что уменьшение концентрации C3 компонента комплемента есть результат его вступления в механизм защиты, а не результат катаболического эффекта стероидов и выведения из организма фрагментов белковых молекул почками.

Есть и другие основания полагать, что происходит именно активация C3 компонента комплемента.

Установлено, что на процесс активации или торможения активности C3 компонента комплемента может влиять нарастание концентрации СРБ (Remso

Nijmeijer et al., 2003; Jan Torzewski, Michael Torzewski, David E., Bowyer et al., 1998) и активности лизоцима.

Лизоцим лимитирует активность комплемента (Ogundele M.O., 1998).

Есть указания на возможность неспецифической активации комплемента трипсином, плазмином, бактериальными ферментами.

Эти данные мы приводим, чтобы показать, что активация комплемента происходит не только классическим, альтернативным, лектиновым путями, но и за счет других механизмов. К этому следует добавить свойства калликринина и лизосомальных протеаз (Василенко И.А., Рустамбекова С.А., 2011), последние могут секретироваться при боли (Овсянников В.Г., Алексеева Н.С., Алексеев В.В., 2011; Шестопалов А.В., Овсянников В.Г., Алексеева Н.С., 2009).

Остается не ясным, СРБ и лизоцим непосредственно влияют на динамику активности комплемента или это совершается за счет других механизмов.

Обращают на себя внимание сведения о том, что в условиях стресса активность комплемента падает более чем в два раза (Подсеваткин В.Г., Кирюхина С.В., Бликов И.Я., Моисеева И.Я., 2007).

Подобная информация содержится в работе Сажиной Н.В. и Грязных А.В. (2011).

Однако в наших экспериментах эта точка зрения не нашла подтверждения. Когда авторы декларируют падение активности комплемента, возможно, они имеют в виду снижение его уровня.

Анализ полученных результатов позволяет сделать вполне определенное заключение. Акт родов приводит в движение гуморальные факторы врожденного иммунитета как минимум те, которые мы исследовали. Отличие заключается в том, что при нормальных родах ответная реакция со стороны гуморальных факторов умеренная и краткосрочная. При болевой стимуляции накануне родов реакция сохраняет свою направленность, при этом носит более выраженный и более продолжительный характер.

Иная картина отмечена со стороны реакции нейтрофилов – представителей клеточного звена врожденного иммунитета.

Следует отметить, что среди исследователей нет единого взгляда по вопросу о влиянии самой беременности и акта родов на клеточные звена врожденного иммунитета, в частности на защитные свойства нейтрофилов.

Существуют полярные точки зрения.

Первая сводится к тому, что в динамике беременности, особенно накануне родов, повышается фагоцитарная активность нейтрофилов (Luppi P., Haluszczak C., Betters D. et al., 2002; Зайчева О.О., Худяков А.Н., Соломина О.Н., 2015).

Прогестерон и эстрогены вступают в контакт с ядерными и мембранными рецепторами нейтрофилов и повышают их активность (Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В. и др., 2015).

И не только повышают активность фагоцитов, но и конкретно их киллинговый потенциал (Ширшев С.В., Куклина Е.М., Бессонова И.В., 2004; Ширшев С.В., Куклина Е.М., Баженова А.В., 2008; Петров С.В., Серегин С.П., Новикова А.В., Агарков Н.М., 2014).

Имеются сведения о влиянии прогестерона на хемотаксис нейтрофилов, образование свободных радикалов (Bouman A., Heineman M.J., Faas M.M., 2005).

Нормальная функция репродуктивной системы обеспечивается наличием иммунологических барьеров и нормальным функционированием иммунной системы, которая контролируется эстрагенами, прогестероном, глюкокортикоидами (Алешкин В.А., 2004).

Под влиянием прогестерона нейтрофилы образуют внеклеточные ловушки для микроорганизмов (Долгушин И.И., Смирнова Т.Г., Савочкина А.Ю., Шишкова Ю.С., Долгушина В.Ф., Курносенко И.В., 2012).

Механизмы активации нейтрофилов под влиянием прогестерона подтверждены и другими исследованиями. В частности показано, что при беременности увеличено число НСТ-позитивных фагоцитирующих нейтрофилов, количество таких нейтрофилов особо высоко в родах (Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1993).

Увеличение в нейтрофилах маркерных ферментов азурофильных гранул так же трактуется, как увеличение киллингового потенциала этих клеток (Олемпиева Е.В., Коваленко Т.Д., Нешин С.Г., 2012).

Недавно, в результате комплексного исследования установлено, что при беременности возрастает уровень ИЛ-8, что свидетельствует об активации гранулоцитов. Подтверждением этому тезису является выявленная повышенная способность нейтрофилов к более активному поглощению частиц латекса, увеличение продукции в названных клетках активных форм кислорода, увеличение интенсивности окислительного взрыва (Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В. и др., 2015).

Заслуживает внимания взгляд, основанный на том, что при беременности снижается адаптивный иммунитет. В порядке компенсации для поддержания способности матери и плода противостоять инфекции, активируются факторы врожденного иммунитета, в частности фагоцитоз (Shynlova O., Nedd – Roderique T., Li , Dorogin A., Lye S., 2013; Schumacher M., Mattern C., Ghomazi A. et al., 2014).

Альтернативный взгляд так же основывается на фактах.

Эстрадиол, хорионический гонадотропин в III триместре беременности оказывает супрессивное влияние на нейтрофилы (Ширшев С.В, Куклина Е.М., Гурвич А.М., 2008; Ширшев С.В., Куклина Е.М., Гудина У.С., 2008; Заморина С.А., Ширшев С.В., 2013). Снижение фагоцитарной активности нейтрофилов рассматривается, как необходимый механизм защиты плода за счет повышения материнской иммуносупрессии (Bjorksten B., Soderstrom T., Daber M. et al., 1978).

Увеличение активности фагоцитов во время беременности может быть причиной выкидыша или преждевременных родов (Судоткина Л.Н., Мосина Л.М., Байтяков В.В. и др., 2015).

При более обстоятельном анализе литературы становится понятным, что вышеприведенные альтернативные сведения не противоречат друг другу, а являются обоюдодополняющими.

Дело в том, в какие сроки беременности изучался врожденный иммунитет, какие методики использовались, каков субъект исследования, человек или экспериментальное животное и пр. Исследователи подчеркивают, что именно в финале беременности возрастает поглотительная активность нейтрофилов (Хлыбова С., 2007), а переваривающая способность остается неизменной (Виксман М.Е., Маянский А.Н., 1977).

Наиболее взвешенный взгляд декларирует Циркин В.И. с соавторами. По мнению авторов при беременности все же врожденный иммунитет активируется, как средство защиты матери и плода, но при этом активация лимитирована с тем, чтобы не повлиять на сам процесс беременности (Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В. и др., 2015) и, конечно же, к моменту родоразрешения, как излагалось выше, активация иммунитета – это и способ защиты, и механизм способствующий изгнанию плода. Изложенное является основой в трактовке нами изменений со стороны факторов врожденного иммунитета, выявленных в проведенных экспериментальных исследованиях.

В наших экспериментах показано, что при нормальных родах активация фагоцитоза не отмечается. Более того на третьи сутки после родов поглотительная активность нейтрофилов даже краткосрочно снижается.

После болевой стимуляции отмечается две волны активации фагоцитоза.

Первая - сразу после болевой стимуляции и вторая - на пятые сутки после родов. Полученный результат требует своего объяснения. В лаборатории изучения боли на кафедре патологической физиологии было показано, что при нанесении аллогенного воздействия в течение первых трех часов наблюдается непродолжительная активация и поглотительной, и переваривающей способности нейтрофилов. Причем этот феномен наблюдался как при соматической боли (Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Николаев В.Е., Бардюшков Ю.Н., Алексеев В.В., Алексеева Н.С., 2012), так и при висцеральной (Шестопапов А.В. и др., 2009). Авторы на основе анализа литературы, сопоставления фактов и данных расценивают эту реакцию, как реакцию превентивной готовности системы к отражению антигенной атаки на

случай, если таковая наступит. Организм мобилизует потенциал и готов при достаточной мотивации реализовывать этот уровень защиты. Это экстренное увеличение бактерицидного потенциала крови, но так как болевое воздействие не повлекло за собой ни разрушение тканей, ни их инфицирование, всплеск активности претерпевает свое обратное развитие.

Аналогичную картину мы наблюдаем и в наших экспериментах. Сразу после болевого воздействия возрастает переваривающая способность фагоцитов и, самое главное, возрастает индекс завершенности фагоцитоза. Мы также трактуем наблюдаемое, как реакцию на боль и не связываем с самим актом родов.

Вторая волна активности прослеживается на пятые сутки после родов, а рост ИЗФ, свидетельствует о повторной активации фагоцитарной активности нейтрофилов.

Для объяснения этого феномена обратимся к фактам, изложенным в литературе. С одной стороны увеличение активности лизоцима – есть результат активации или распада клеток-продуцентов (Jessup W., Leoni P., Dean R.T., 1985; Баранов А.А., Дорофейчук В.Г., 1999).

С другой стороны, по мере активации лизоцима, увеличения его продукции, активизируется фагоцитоз. Именно лизоцим стимулирует фагоцитоз. На это указывают Бухарин О.В., Васильев Н.В.; (1974), Klokars M., Roberts P. (1976); Покровский В.И., Авербах М.М, Литвинов В.И., Рубцов И.В. (1979); Вершигора А.Е. (1980); Стрелец Е.В., Егорова Е.Н., Чернин В.В., Червинец В.М., Базлов С.Н. (2001). На третьи сутки после родов нами зарегистрирована максимальная активность лизоцима. В хронологическом порядке выражено возрастает индекс завершенности фагоцитоза. Нельзя не принимать во внимание установленные факты, свидетельствующие о том, что фагоцитарная активность нейтрофилов повышается под влиянием СРБ. Об этом свидетельствуют труды Kindmark C (1971); Gravagna P., Geanazza E., Armand P. et al. (1982); Полевщиков А.В., Назаров П.Г., Берестовая Л.К. (1994); Pepys M.V., Hirschfield G.M. (2003).

Не следует забывать и об упомянутых выше эффектах С3 компонента комплемента. Он активирует фагоцитоз (Назаренко Г.И., 2006).

Таким образом, вторая волна активации фагоцитоза индуцирована гуморальными факторами врожденного иммунитета, а их активация, в свете данной нами трактовки, связана с аллогенным воздействием, нанесенным беременным крысам накануне родов.

Прежде, чем анализировать результаты, характеризующие состояние факторов врожденного иммунитета у приплода, их реакцию на роды и на болевое раздражение матери накануне родов, обратимся к уже имеющимся и описанным фактам.

У взрослых особей гуморальные факторы врожденного иммунитета доминируют (по крайней мере, во временном отношении) над клеточными. У плода до рождения и сразу после рождения, наоборот, доминируют в механизмах неспецифической защиты клеточные факторы (Морозов В.Н., Карасева Ю.В., Морозова В.И., 2007).

Понятие «доминируют» весьма относительно. Доминируют над тем, что слабо выражено. В действительности у новорожденных имеется фагоцитарная недостаточность. Она частичная. Поглотительная способность нейтрофилов у новорожденных сформирована почти полностью. Биосинтез же ферментов еще не достиг должного уровня (Шейбак Л.Н., Горецкая М.В., Мороз В.Л., Шейбак В.М., 2004). Поэтому следует ожидать проявления незавершенного фагоцитоза, снижения такого информативного показателя, как ИЗФ.

Кроме того у новорожденных миграция лейкоцитов, в т.ч. и нейтрофилов ослаблена. Механизмы хемотаксиса реализуются слабо. Это связано с низкими опсонизирующими свойствами сыворотки, в частности, с низким уровнем С3 компонента комплемента и его активированных фракций, обуславливающих дефицит опсонизации (Шейбак В.М., Тис А.А., Шейбак Н.Л., 2005; Титова Н.Д., 2007).

Следует подчеркнуть, что у людей восстановление опсонизирующих свойств крови наступает уже на пятый день после рождения, что влечет за

собой восстановление поглотительной и переваривающей функции нейтрофилов (Скляднева К.А., 2014).

Ниже в таблице приведены значения активности лизоцима и содержания активности СРБ, и С3 компонента комплемента у интактных самок и приплода накануне родов (таблица 69).

Таблица 69 – Активность лизоцима, уровень СРБ и С3 компонента комплемента у беременных самок и приплода накануне родов

	Беременные самки	Приплод
Лизоцим	0,259 ед	0,171 ед
СРБ	412 нг/мл	25 нг/мл
С3 компонент комплемента	148 нг/мл	63 нг/мл

Столь низкое содержание и активность названных субстратов позволяют понять, почему у приплода клеточные механизмы врожденного иммунитета, как до рождения, так и после доминируют над гуморальными. Относительно доминируют.

С этих позиций следует трактовать результаты исследования, проведенного на приплоде крыс.

У приплода, находящегося в чреве матери, активность лизоцима составляет 0,171 ед (медианное значение). Это ниже, чем у беременных самок накануне родов, у них активность лизоцима 0,255 ед. В первые сутки после родов у новорожденных медианные значения активности лизоцима составляют 0,222 ед, а у самок в тот же период – 0,310 ед.

Как до родов, так и в первые сутки после них, активность лизоцима у приплода ниже, чем у матери. Выявленный факт, по-видимому, обусловлен возрастными особенностями животных.

По данным Зайцева В.В. с соавторами в периоде новорожденности активность лизоцима минимальна (работа выполнена на хряках) (Зайцев В.В., Сергеева С.А., Зайцева Л.М., 2008). Есть и другая информация. К моменту

рождения уровень лизоцима выше, чем у взрослого (Гришина Т.И., Филатова Г.А., 2013). Эти сведения относятся к человеку и, возможно, являются видовой особенностью.

Болевая стимуляция беременных самок приводила к скачкообразному повышению активности лизоцима у них. У приплода находящегося в чреве матери после ее болевой стимуляции активность лизоцима осталась неизменной. Иными словами аллогенное воздействие не транслировалось плоду, либо плод оказался к нему толерантен. На третьи и пятые сутки у приплода в обеих сериях экспериментов активность лизоцима прогрессивно росла и ни одна группа животных не имела в этом отношении преимуществ.

Представляется вполне обоснованным связывать увеличение активности лизоцима с его поступлением в организм новорожденных с молоком матери (Мазурин А.В., 2000).

Годом позже этот факт подтвержден А.С. Карамаевой и В.В. Зайцевым. Они декларируют, что у новорожденных телят в раннем послеродовом периоде повышается активность лизоцима и связано это с потреблением молозива (Карамаева А.С., Зайцев В.В., 2010).

Интересен тот факт, что в отличие от приплода у стимулированных взрослых самок на пятые сутки после родов отмечается снижение активности лизоцима, хотя она и остается высокой.

У взрослых животных динамика изменения активности лизоцима является следствием болевой стимуляции (болевого стресса). Этот факт был убедительно доказан в опытах на собаках, подвергнутых болевому воздействию. (Беловолова Р.А., 1992). Снижение активности лизоцима лишь подтверждает выдвинутый тезис. Падение активности лизоцима после его повышения в ответ на боль можно объяснить тем, что он сорбируется на эндотелии сосудов и готовит его и сам сосуд к экстравазации, к эмиграции лейкоцитов в зону возможного повреждения – триггер боли (Морозов В.И., Петрова Т.Н., 1993). Хотя нельзя исключать факт снижения активности

лизоцима в плазме крови с высокой скоростью его катаболизма (Hansen N.E., Karle H., Andersen V., Olgaard K., 1972).

Такая трактовка вполне укладывается в механизмы стресса и является лишним аргументом в пользу того, что активация лизоцима есть следствие болевой стимуляции, проведенной накануне родов.

Обобщая анализ динамики активности лизоцима, следует заключить, что у самок болевая стимуляция повышает активности лизоцима. У приплода активность лизоцима остается стабильной независимо от того, имела ли место болевая стимуляция беременных самок накануне родов или нет.

Как до рождения, так и после рождения содержание СРБ и СЗ компонента комплемента в периферической крови крысят не имеет статистически значимых различий с контрольными значениями. Это касается и потомства интактных крыс, воспроизведенного в нормальных родах, и от крыс, получивших накануне родов болевое воздействие. Возможно, не следует пренебрегать тем фактором, что у второй группы животных амплитуда колебаний содержания СРБ и СЗ-компонента комплемента от исследования к исследованию была более высокой, однако, подчеркнем еще раз, эти колебания не отличались существенно друг от друга и от контрольных значений.

Это позволяет сделать вывод о том, что гуморальная система врожденного иммунитета новорожденных крысят недостаточно функционально лабильна и состоятельна, чтобы ответить на сигналы, транслируемые от матери при ее болевой стимуляции.

И второе, что очевидно, активность лизоцима и содержание СРБ и СЗ компонента комплемента к рождению у крысят значительно ниже, чем у матери.

Нейтрофилы, как представители клеточных факторов врожденного иммунитета оказались более лабильными. Эта лабильность проявляет себя сразу после рождения. ПАНф-1 у крысят, рожденных в нормальных родах, колеблется в значениях фоновых показателей.

У приплода, полученного от стимулированных крыс, показатель активности нейтрофилов ПАНф-1 возрастает сразу после болевой стимуляции и оставался на повышенных цифрах в течение всего эксперимента, что находит подтверждение при статистическом анализе. ПАНф-4 повышается сразу после родов ($p < 0,1$) интактными крысами и возвращается вслед за этим к контрольным значениям, у группы сравнения ПАНф-4 не только повышается, но и остается на высоких цифрах до конца эксперимента ($p < 0,001$).

Поглотительная активность нейтрофилов крысят, появившихся на свет при нормальных родах, снижается к третьим суткам и сохраняется до конца опыта. У группы сравнения ФЧ-1 сохраняет свои значения неизменными в динамике всего эксперимента.

ФЧ-4 у животных, рожденных при нормальных родах, после рождения снижается и остается на сниженном уровне до конца эксперимента. Это говорит о том, что при нормальных родах нейтрофилы способны к дезинтеграции микроорганизмов.

После болевой стимуляции беременной самки ФЧ-4 у приплода обретает нестабильность. Он повышен при рождении и только на третьи сутки падает ($p < 0,01$), что свидетельствует об активации киллинговой активности, но эта активация непродолжительна.

Интегральный показатель эффективности фагоцитоза ИЗФ у приплода интактных крыс возрастает после рождения и остается повышенной до конца эксперимента.

В группе сравнения ИЗФ повышается после болевой стимуляции матери, снижается в первые сутки после рождения, вновь возрастает на третьи сутки ($p < 0,01$) и вновь падает на пятые сутки до уровня контрольных значений.

В отличие от гуморальных факторов врожденного иммунитета, нейтрофилы более лабильны. Именно они берут на себя функцию антимикробной защиты при рождении. У животных, рожденных от интактных крыс, ИЗФ возрастает от минимальных значений 0,12 до максимума 0,19. Лабильность сохраняется и у животных, рожденных от стимулированных самок.

Но в этом случае фагоцитоз менее эффективен. Аллогенный сигнал стимулирует ресурсы, но они в этом случае оказываются быстро истощаемыми.

Колебания уровня СРБ отмечены как в сторону активизации, до $ИЗФ=0,24$, так и в сторону депрессии $ИЗФ=0,06$. Активация сменяется депрессией и наоборот.

Эволюционный подход предполагает, что гуморальные факторы врожденного иммунитета имеют приоритет перед клеточными, в том смысле, что раньше последних должны активироваться при антигенной агрессии и обеспечивать защиту.

То же можно ожидать и при неантигенной стимуляции врожденных факторов иммунитета и при реакции на изменение функционального состояния организма.

Анализ результатов показывает, что это именно так.

Уже непосредственно перед родами у взрослых самок снижается уровень СЗ компонента комплемента. На первый день после родов активируется лизоцим и увеличивается концентрация СРБ. И далее направленность реакции сохраняется. Клеточные же факторы, какими являются нейтрофилы, только на третьи сутки повышают свою поглотительную активность, эта реакция не позволяет говорить об активации киллинговой активности так, как $ИЗФ$ даже снижается.

Если кратко и без деталей – в динамике нормальных родов у крыс и в послеродовой периоде у рожениц и родильниц гуморальные факторы врожденного иммунитета активируются, а клеточные, в конечном счете, остаются не мобилизованными.

Та же направленность ответа прослеживается после болевой стимуляции, только она более выражена и более продолжительна.

У приплода картина выглядит как раз наоборот. Гуморальные факторы остаются неизменными как перед родами, так и после них. Исключение составляет лизоцим, но повышение его активности мы связываем с поступлением в организм с молоком матери.

Клеточные факторы в послеродовом периоде увеличивают свою активность. ИЗФ нейтрофилами возрастает на третьи сутки и сохраняется повышенными на пятые сутки.

После стимуляции беременных самок накануне родов уровень активности или содержания гуморальных факторов врожденного иммунитета у их приплода практически не отличается от такового у крысят, рожденных интактными крысами.

Нейтрофилы же, после болевой стимуляции матери у крысят обретают повышенную активность. Увеличивается процент нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, и их киллинговая активность - ИЗФ возрастает на третьи сутки.

Не уточняя механизм, а только судя по результату, можно говорить, что аллогенный сигнал, а таковым могут являться катехоламины (Вартанян Э.Э., 2002), транслируется плоду и оказывает влияние на повышение защитных свойств крови новорожденного за счет активации нейтрофилов. При этом следует оговориться, что в литературе достаточно стойко отражается взгляд на то, что у новорожденных система фагоцитоза не развита (Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д., 2000; Шеплягина Л.А., Круглова И.В., 2009) или подавлена (Гришина Т.И., Филатова Г.А., 2013).

Следует иметь в виду, что в динамике беременности повышается активность β - адренорецепторов (Патурова И.Г., Худякова А.Н., Соломина О.Н., Зайцева О.О., Полежаева Т.В., 2015). Это направлено на предотвращение повышения тонуса гладкой мускулатуры и содействует сохранению беременности (Хлыбова С.В., 2007; Дмитриева С.Л., Хлыбова С.В., Циркин В.И., 2011), что касается нейтрофилов, то через β -адренорецепторы реализуется ингибирование фагоцитоза (Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., Ланин Д.В., 2004).

Непосредственно перед родами и в родах начинает превалировать α -адренорецепция, через нее осуществляется повышение активности фагоцитов (Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., Ланин Д.В., 2004). У новорожденных чувствительность β - адренорецепторов ниже, чем α - адренорецепторов (Леви Д.,

1999). Как указывалось выше, к моменту рождения и у новорожденных содержание СЗ компонента комплемента и СРБ снижено.

Таким образом, в соответствии с данными литературы выделим следующие факты, характеризующие иммунный статус новорожденных (из числа исследуемых нами):

1. Активность гуморальных факторов врожденного иммунитета у них снижена.
2. Система фагоцитоза не развита или подавлена.
3. К моменту рождения активируются α - адренорецепторы (в т.ч. и нейтрофилов).

К этому добавим, что с момента рождения новорожденные попадают в агрессивную среду чужеродных веществ (Титова Н.Д., 2007), а их барьеры далеки от совершенства, и еще лизоцим стимулирует фагоцитоз, это связано с его непосредственным влиянием на мембрану фагоцитов (Klokars M., Roberts P., 1976).

Попытаемся выстроить изложенные факты в единую логическую цепь.

Организм новорожденного атакуют бактерии. Требуется время на преодоление инерции и активацию биосинтеза СРБ и СЗ компонента комплемента. С молоком матери поступает лизоцим, его активность нарастает, следовательно и нарастает и стимулирующий эффект на нейтрофилы и почва для этого эффекта благоприятная, т.к. к моменту родов превалирование β -адренорецепции сменяется доминированием α -адренорецепции.

Предположительно именно эти обстоятельства определяют, почему у новорожденных фагоцитарная активность нейтрофилов проявляет себя раньше активации гуморальных факторов врожденного иммунитета.

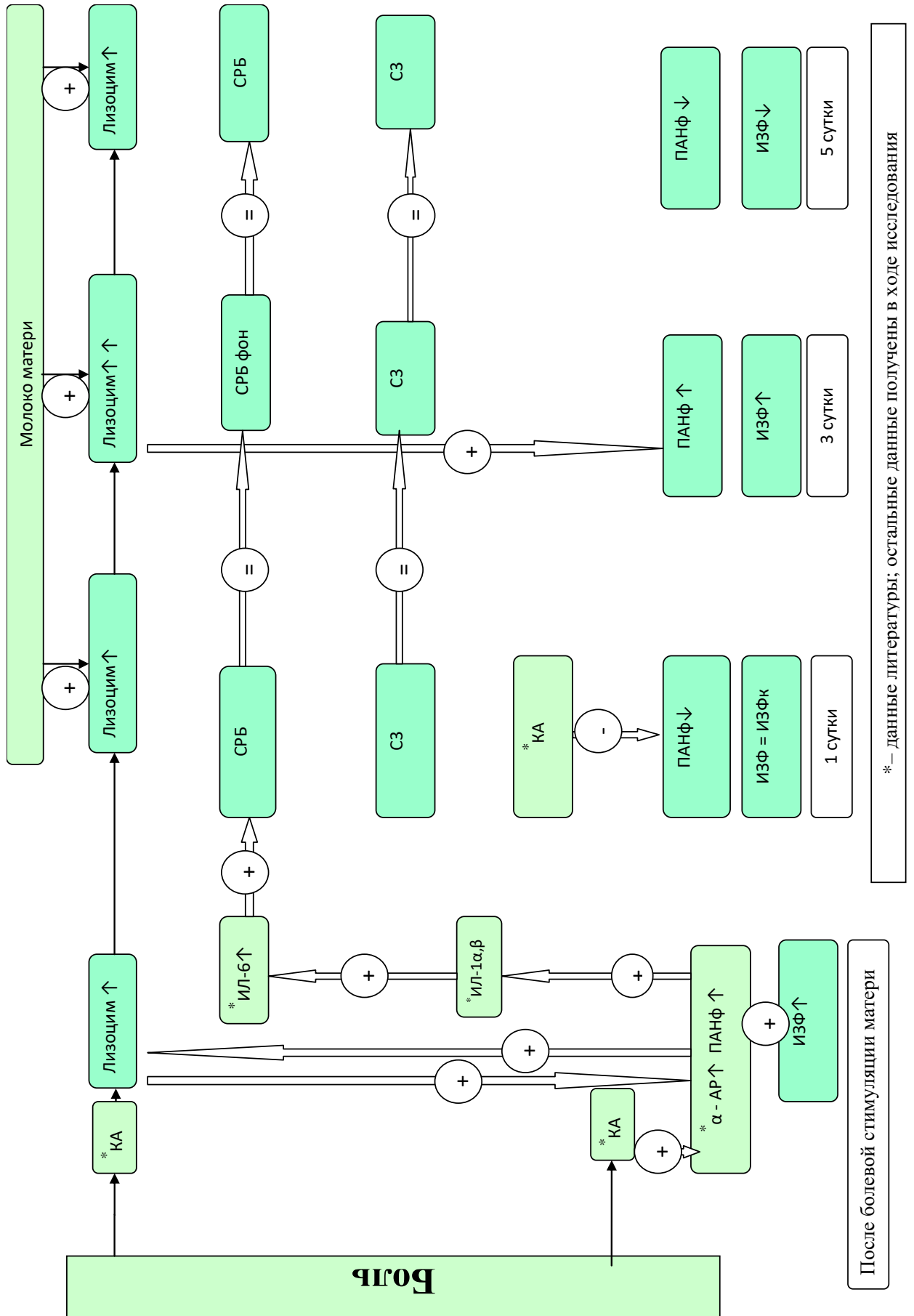


Рисунок 40 – Механизм вовлечения факторов врожденного иммунитета в аллогенный процесс у приплода

Сопоставив полученные результаты во времени, дополнив их данными из научной литературы по изучаемому вопросу, возможно построение рабочей гипотезы о механизмах болевой стимуляции факторов врожденного иммунитета у беременных самок крыс до и после родов (рисунок 39, 40).

Аллогенное воздействие активизирует симпато-адреналовое звено управления. Катехоламины повышают количество лейкоцитов и фагоцитарную активность нейтрофилов, это дает как минимум два эффекта: повышение эффективности фагоцитоза и образование нейтрофилами лизоцима. При этом сам факт активации лизоцима имеет обратную связь с нейтрофилами, повышая их активность. Стимуляция нейтрофилов сопровождается усилением продукции ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , которые влияют на усиление биосинтеза и выделения ИЛ-6, последний уже через 6 часов осуществляет усиление продукции клетками печени СРБ. Кроме перечисленного катехоламины активизируют систему прокоагулянтов крови, в частности, факторов контакта, что приводит к активации С3 компонента комплемента. Иными словами реакция гуморальных факторов иммунитета получает во времени свое развитие на первые и третьи сутки послеродового периода.

Клеточные же факторы – нейтрофилы после всплеска активности обретают рефрактерность, т.к. активность фагоцитов под влиянием катехоламинов зависит от дозы воздействующего субстрата.

На третьи сутки вовлечение гуморальных факторов в аллогенный процесс максимальное. Высокая активность лизоцима активизирует процесс диссоциации С3 фракции комплемента на С3а и С3в. Эти фрагменты обеспечивают эффект опсонизации и тем самым повышают фагоцитарную активность нейтрофилов, что как эффект (повышение ИЗФ) обнаруживает себя на пятые сутки. Процесс повышения фагоцитарной активности нейтрофилов усугубляется воздействием на нейтрофилы лизоцима и С-реактивного белка.

К пятым суткам восстанавливается потенциал нейтрофилов и они под влиянием названных факторов вступают во вторую волну повышения своей активности.

Таким образом, к пятым суткам превалируют в механизмах неспецифической защиты С3 фракция комплемента и активированные нейтрофилы, что касается лизоцима и СРБ, то эти факторы утрачивают свое доминирование. Вне зависимости от того, сопровождалась ли беременность и роды болевым стимулом или нет, общая направленность механизмов неспецифической защиты у крыс носит однонаправленный характер. Отличие заключается в том, что болевой стимул придает активности факторам врожденного иммунитета более выраженный и более продолжительный характер. Надо полагать, что именно боль, которую испытали беременные самки накануне родов инициировала активацию факторов врожденного иммунитета как у взрослых крыс, так и у их приплода.

Этой точке может быть противопоставлена альтернатива. Активация факторов врожденного иммунитета может быть сопряжена с электротермическим поражением тканей при воспроизведении боли и развитием в зоне повреждения воспаления, что вполне логично.

В противовес этой альтернативе следует привести следующие аргументы. Первый: исследования проведены на модели аллогенного воздействия, используемой на кафедре патологической физиологии РостГМУ в течение двадцати лет.

Проведенные контрольные эксперименты с гистологическим исследованием тканей, непосредственно входивших в контакт с электродами, показало, что разрушения тканей нет, но есть признаки их раздражения.

Предварительная анестезия зоны электрораздражения исключала вовлечения факторов врожденного иммунитета и их регуляторов в аллогенный процесс, тогда как без анестезии такая реакция наблюдалась (Алексеева Н.С., 2009; Бликян М.В., 2013)

В качестве третьего аргумента следует принять во внимание, что факторы врожденного иммунитета у самок крыс активируются как при нормальных родах, так и при родах, которым предшествовала болевая стимуляция

тождественно по вектору и в основном по времени, по интенсивности ответная реакция у стимулированных крыс была выраженнее.

Таким образом следует вернуться к сделанному выше заключению: именно боль, которую испытали беременные самки накануне родов, инициировала активацию факторов врожденного иммунитета как у взрослых крыс, так и у их приплода.

ВЫВОДЫ

1. Перед родами активность лизоцима и содержание С – реактивного белка у беременных крыс, не подвергнутых болевому воздействию, остается неизменными по отношению к небеременным животным контрольной группы. Уровень С3 – компонента комплемента падает. Поглощительная активность нейтрофилов возрастает, их переваривающая способность остается на контрольных значениях.
2. У интактных крыс в раннем послеродовом периоде вплоть до 3х суток активность лизоцима возрастает, С3 компонента комплемента снижается, уровень СРБ повышается. Фагоцитарная активность нейтрофилов остается неизменной.
3. У крыс, подвергнутых аллогенному воздействию, вектор изменения изученных гуморальных факторов врожденного иммунитета соответствует направленности зарегистрированной у интактных беременных крыс, но изменения носят более выраженный характер. Возрастает поглощительная, а также переваривающая активность нейтрофилов.
4. У приплода интактных крыс активность лизоцима повышается на первый, третий и пятый день после рождения. СРБ и С3 фракция комплемента не изменяются. Поглощительная активность нейтрофилов повышается сразу после родов, а переваривающая активность достигает максимума на третьи сутки.
5. У приплода крыс, получивших аллогенный стимул накануне родов, активность лизоцима возрастает после болевой стимуляции самки и продолжает расти на первый, третий и пятый день после родов. СРБ и С3 фракция комплемента не изменяются. Как и у приплода интактных крыс нарастает поглощительная и переваривающая способность нейтрофилов, но это увеличение у приплода стимулированных крыс более выражено.
6. У самок крыс после аллогенного воздействия до родов и после них превалирует реакция со стороны гуморального звена врожденного иммунитета, а у приплода крыс, получивших накануне родов аллогенное раздражение,

превалирует реакция со стороны клеточного звена врожденного иммунитета - нейтрофилов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные данные об активации факторов врожденного иммунитета с первыми аккордами родовой боли целесообразно доводить до сведения беременных женщин при их психопрофилактической подготовке к родам в школах будущих матерей при учреждениях родовспоможения.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ПАНф – 1 – показатель поглотительной активности нейтрофилов в результате одночасовой экспозиции исследуемой крови и содержащихся в ней микробных тел.

ПАНф – 4 - показатель поглотительной активности нейтрофилов в результате четырехчасовой экспозиции исследуемой крови и содержащихся в ней микробных тел.

ФЧ – 1 – среднее количество микробных тел, обнаруженное в нейтрофилах в результате одночасовой экспозиции крови и микробных тел.

ФЧ – 4 - среднее количество микробных тел, обнаруженное в нейтрофилах в результате четырехчасовой экспозиции крови и микробных тел.

ИЗФ – индекс завершенности фагоцитоза.

ИЛ – интерлейкин.

С3 – С3 фракция комплемента.

СРБ – С-реактивный белок.

ТНФ- α – фактор некроза опухоли α .

Ig – иммуноглобулин.

ИФН γ – интерферон γ .

нг – нанограмм.

мкг - микрограмм

Me – медиана

Q_{0.25} – нижняя квантиль.

Q_{0.75} – верхняя квантиль

КА – катехоламины

АР - адренорецепторы

Трактовка понятий, используемых в контексте диссертации

Интактные крысы – крысы, не подвергнутые аллогенному воздействию.

Накануне родов – 20 день от предполагаемого срока зачатия.

Крысы, подвергнутые алгогенному воздействию -подразумевается, что воздействие выполнено накануне родов.

Ранний послеродовой период – время между первыми и пятыми сутками после родов, ограниченное условиями эксперимента.

Бинарная боль – боль, имеющая своим содержанием соматическую и висцеральную боль.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов, Ю.Б. Иммунные аспекты центральных механизмов боли / Ю.Б. Абрамов // Боль. – 2009. – № 4. – С. 2-8.
2. Абрамов, Ю.Б. Ноцицептивные реакции при стимуляции иммунитета у крыс с различной индивидуальной устойчивостью к стрессу / Ю.Б. Абрамов, А.Ю. Козлов, О.С. Синельщикова // Рос.физиол. журн. – 2002. – № 6. – С. 699
3. Абрамченко В.В. Обезболивание родов / В.В. Абрамченко. - Н. Новгород: Издательство НГМА, 1999. – 171 с.
4. Авдеев, С.Н. С-реактивный белок – новый или старый маркер бронхолегочных инфекций / С.Н. Авдеев, Г.Е. Баймаканова // Пульмонология и аллергология. – 2008. – № 4. – С. 26-32.
5. Адо, А.Д. Патофизиология фагоцитов: (Краткий очерк истории и современного учения о фагоцитозе) / А.Д. Адо. - М.: Медгиз, 1961. – 295 с.
6. Алексеев, В.В. Онтогенетические аспекты изменения фагоцитарной активности лейкоцитов при острой соматической боли различной интенсивности: автореф. дис. канд. мед.наук: 14.00.16 / В.В. Алексеев. – Ростов н/Д., 2008. – 22 с.
7. Алексеева, Н.С. Механизмы изменения фагоцитарной активности лейкоцитов при острой висцеральной боли: автореф. дис. ... канд. мед.наук: 14.00.16 / Н.С. Алексеева. – Ростов-н/Д., 2009. – 21 с.
8. Алешкин, В.А. Иммунология репродукции / В.А. Алешкин, А.Н. Ложкина, Э.Д. Загородняя. – Чита, 2004. – 79 с.
9. Аннагельдыева А.Г. Очерки о нейрогуморальной регуляции фагоцитоза: монография / А. Г. Аннагельдыева. - Ашхабад : Ылым, 1974. - 128 с.
10. Аракелова, Э.А. Мембраноатакующий комплекс как показатель гиперактивации комплемента при сахарном диабете 2 типа / Э.А. Аракелова, М.Р. Овсенян, А.С. Бояджян, А.А. Аракелян, А.А. Геворкян, А.А. Мамиконян // Сахарный диабет. – 2011. - №3. - С. 17-21.

11. Атаман А.В. Патологическая физиология в вопросах и ответах / А.В. Атаман. – Киев: Вища школа, 2000. - 608 с.
12. Ахматова, Н.К. Врожденный иммунитет: противоопухолевый и противои инфекционный / Н.К. Ахматова, М.В., Киселевский – М.: Практическая медицина, 2008. – 256 с.
13. Бабаян, С.С. Количественное определение лизоцима в сыворотке крови / С.С. Бабаян, Т.Н. Журавлева, Л.А. Лебедева // II Бюлл. exper. биол. мед. - 1979.- Т.87, №5. - С.432-433.
14. Бабкин, П.С. Особенности родовой деятельности и неврологического статуса родившегося ребенка в случаях родов, сопровождающихся эпидуральной анестезией / П.С. Бабкин, А.М. Синченко // Электронный научно-образовательный вестник здоровье и образование в XXI веке. - 2008. – Т.10, №4. - С. 171-172.
15. Балич, Э.Я. Оценка операционно-анестезиологического стресса при кесаревом сечении с помощью исследования гипофизарно-надпочечниковой системы / Э.Я. Балич, В.А. Зигизмунд, В.А. Соيفер, Л.Г. Рзянина и др. // Анестезиология и реаниматология. – 1990. - № 1. – С. 28-30.
16. Баранов, А.А. Лизоцим: теория и практика / А.А. Баранов, В.Г. Дорофейчук. - Москва-Нижний Новгород, 1999. – 126 с.
17. Белорободов А.И., Карпенко М.А. Обезболивание в родах: от давних времен до наших дней. Электроанальгезия // Вестник Совета молодых ученых и специалистов Челябинской области №4 (15). Т. 3. – 2016. – С. 118-120
18. Бликян, М.В. Роль гуморальных факторов неспецифической резистентности в механизмах формирования острой соматической боли : автореф. дис. ... канд. мед.наук / М.В. Бликян. - Ростов-на-Дону, 2013. - 24 с.
19. Богомаз, Т.А. Механизмы регуляции систем комплемента человека некоторыми природными факторами: дис. ... канд. мед.наук / Т.А. Богомаз. - СПб., 2006. - 119 с.

20. Боженков К.А., Густарова Т.А., Шифман Е.М. Влагалищные роды без боли у пациенток с рубцом на матке: вчера, сегодня, завтра // Ж.: Смоленский медицинский альманах. – 2017. – С.

21. Боксер, О.Я. Наука о боли: патофизиологические и медико-психологические аспекты / О.Я. Боксер, К.И. Григорьев // Медицинская сестра. – 2005. – № 8. – С. 2-5.

22. Брехман, Г.И. Существует ли природная противоболевая система защиты женщины и ребенка в родах? / Г.И. Брехман // Жіночій лікар. -2011. - №4. – С. 19-23.

23. Бухарин, О.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О.В. Бухарин, Н.В. Васильев. – Томск: Изд-во Том.ун-та, 1974. – 209 с.

24. Бычкова, С.В. Влияние анестезиологического пособия, используемого при операции кесарево сечения, на адаптацию новорожденных / С.В. Бычкова, Г.Н. Чистякова, В.В. Ковалев, И.И. Ремизова // Педиатрия и детская хирургия. - 2011. - Т.2. – С.

25. Бычкова, С.В. Клинико-иммунологические особенности адаптации новорожденных в зависимости от вида анестезии при кесаревом сечении: дис. ... канд. мед.наук / С.В. Бычкова, 2012. – 138 с.

26. Вавилова, Л.М. Система комплемента: Механизмы активации и регуляции, значение в биологии и медицине / Л.М. Вавилова, Т.В. Голосова // Итоги науки и техники. – Москва, 1990. - №24. – С.160.

27. Вальдман, А.В. Центральные механизмы боли / А.В. Вальдман, Ю.Д. Игнатов. – Л.: Наука, 1976. – 191 с.

28. Вартанян, М.М. Клиническая и физиологическая характеристика влияния гипертонической болезни матери на плод: автореф. дис. ... канд. мед.наук / М.М. Вартанян. – Ереван, 1965. – 23 с.

29. Василенко, А.М. Корреляции болевой чувствительности и гуморального иммунного ответа при термораздражении у мышей / А.М. Василенко, Л.А. Захарова, Е.Е. Метакса, О.Г. Яновский // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1995. – Т. 119, № 5. – С. 405-409.

30. Васильева З.Ф., Шабалин В.Н. Иммунологические основы акушерской патологии. – Москва: Медицина, 1984. С. 192.

31. Васильева О.А. Интеграция нервной и иммунной систем при основных нервно-психических заболеваниях / О.А. Васильева, В.Я. Семке // Бюлл. СО РАМН. – 1994. – № 4. – С. 26-30.

32. Вершигора, А.Е. Основы иммунологии / А.Е. Вершигора. – Киев: Вища школа, 1980. – 503 с.

33. Вершигора, А.Е. Основы иммунологии / А.Е. Вершигора. – Киев: Вища школа, 1980. – 503 с.

34. Виксман М.Е., Маянский А.Н. Применение реакции восстановления нитросинего тетразолия для оценки функционального состояния нейтрофилов человека // Казанский мед. журнал. – 1977. – Т. LVIII, №5. – С.99-100.

35. Володин Н.Н., Дегтярева М.В., Дегтярев Д.Н., Асмолова Г.А., Бахтиян К.К., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Долгина Е.Н., Никанкина Л.В., Бедианидзе М.А. "Особенности иммунологической адаптации у новорожденных детей в норме, при респираторном дистресс-синдроме и при пневмонии бактериальной этиологии." *Int. J. Immunorehabil.* – 1999. – Vol. 11. – P. 82-91

36. Вылегжанин, А.И. Гипертоническая болезнь и беременность / А.И. Вылегжанин // Акуш. и гинекол. – 1952. – № 6. – С. 7-13.

37. Гнездилова, А.В., Овечкин А.М., Кукушкин М.Л. // Патологическая боль : тез. докл. рос. научно-практ. конф. – Новосибирск, 1999. – С. 111-112.

38. Гнездилова, Л.А. Действие лигфола на естественную резистентность организма овец / Л.А. Гнездилова и др. // Ветеринария. - №2. – 2007. С. 10-12.

39. Голодец, Г.Г. О влиянии медиаторов на фагоцитирующую деятельность лейкоцитов. Сообщение I и II / Г.Г. Голодец, Н.В. Пучков // Физиолог. Журн. СССР. 1948. - №1. - С.135.

40. Гордиенко, А.Н. Нервная система и иммунитет / А.Н. Гордиенко. – Краснодар, 1949. – 148 с.

41. Гордиенко, А.Н. Нервнорефлекторный механизм выработки антител и регуляции фагоцитоза / А.Н. Гордиенко. – М., 1954. – 123 с.

42. Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова. -М., 1983.-267 с.

43. Гришина Т.И., Филатова Г.А. Иммунная система человека как механизм обеспечения жизнедеятельности // Вестник РГМУ. 2013. №5-6 С.96-100.

44. Гришина Т.И., Филатова Г.А. Иммунная система человека, как механизм обеспечения жизнедеятельности. //Ж. Российского государственного медицинского иммунитета, 2013. №5-6, С. 96-100.

45. Губжокова Е.Б. Состояние функционально-метаболической активности лейкоцитов при бронхолегочных заболеваниях бактериальной и вирусной этиологии: автореф. дисс. .канд. мед. наук / Е.Б. Губжокова. — Нальчик, 2004. 20 с.

46. Дегтярева М.В., Солдатова И.Г. // Неонатология: Национальное руководство. – М., 2007. – Гл. 37. – С. 631 – 642.

47. Дионесов С.М. Боль и её влияние на организм человека и животного / С.М. Дионесов. – 2 изд. – М.: Медгиз, 1963. – 359 с.

48. Дмитриева С.Л., Хлыбова С.В., Циркин В.И., Родина И.Г., Ходырев Г.Н. Показатели вариабельности сердечного ритма у женщин с физиологическим течением беременности перед родами и в послеродовом периоде // Материалы V Регионального научного форума «Мать и дитя». – Геленджик, 2011. – С. 56-57.

49. Долгушин И.И. Нейтрофилы и гомеостаз / И.И. Долгушин, А.В. Бухарин. – Екатеринбург, 2001. - 278 с.

50. Долгушин И.И., Смирнова Т.Г., Савочкина А.Ю., Шишкова Ю.С., Долгушина В.Ф., Курносенко И.В. Влияние прогестерона на фагоцитарную кислородзависимую бактерицидную функции нейтрофилов и их способность образовывать внеклеточные ловушки // Иммунология. 2012. №5. С. 243-245

51. Дорофейчук, В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г. Дорофейчук // Лабораторное дело. – 1968. – № 1 – С. 28-30.

52. Дьяченкова, С.Я., Туровский, А.В., Савалов, П.Н. Активность лизоцима в крови крыс при частичной, объемной гепатэктомии и хроническом гепатите в сравнительном аспекте / С.Я. Дьяченкова, А.В. Туровский, П.Н. Савалов // Ж. Вестник ВГУ, серия: химия, биология, фармация. - №2. – 2007. – С. 151-154.

53. Ершов, Ф.И. Интерфероны и их индукторы / Ф.И. Ершов, О.И. Киселев. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2005. – 356 с.

54. Забиров И.Ш., Абедев Х.Б. Биологическая роль лизоцима и его лечебное применение. Караганда, 1972. - 97с.

55. Зайцев В.В., Сергеева С.А., Зайцева Л.М. Динамика показателей естественной резистентности организма хряков в постнатальном онтогенезе // Университет им. В.И. Вернадского, 2008. Т.1, №1(11). - С. 97-100.

56. Заморина С.А, Ширшев С.В. Хорионический гонадотропин – фактор индукции иммунной толерантности при беременности // Иммунология. 2013. №2. С. 105-107.

57. Зеленин, В.Ф. Болезни сердечно-сосудистой системы в среднем и пожилом возрасте / В.Ф. Зеленин. – М.: Медгиз, 1959. – 236 с.

58. Зеленин, В.Ф. Гипертоническая болезнь / В.Ф. Зеленин. – М.: Медгиз, 1948. – 27 с.

59. Зильбер, А.П. Клиническая физиология в анестезиологии и реаниматологии / А.П. Зильбер. – М., 1984. – 470 с.

60. Зильбер, А.П., Шифман Е.М. Акушерство глазами анестезиолога. «Этюды критической медицины»: т.3. – Петрозаводск.: ПГУ, 1997. – 392 с.

61. Игнатов, Ю.Д. Актуальные проблемы нейрофармакологической регуляции боли / Ю.Д. Игнатов // Нейрофармакологические аспекты боли. – Л., 1982. – С. 7-18.

62. Игнатов, Ю.Д. Акупунктурная анальгезия / Ю.Д. Игнатов, А.Т. Качан, Ю.Н. Васильев. – Л.: Медицина, 1990. – 256 с.

63. Игнатов, Ю.Д. ГАМК-ергические механизмы регуляции болевой чувствительности / Ю.Д. Игнатов, Б.В. Андреев // Нейрофармакологические аспекты боли. – Л., 1982. – С. 61-81.

64. Игнатов, Ю.Д. Теоретические и прикладные аспекты боли / Ю.Д. Игнатов // Экспериментальные и клинические формы болеутоляющих веществ. – Л., 1986. – С. 14-17.

65. Йегера, Л. Клиническая иммунология и аллергология / под ред. Л. Йегера. – М.: Медицина, 1990. – Т. 1. – 528 с.

66. Казимирко Н.К., Акимова Е.Е., Завацкий В.Ю., Поляков А.С., Татаренко Д.П. Иммунология физической беременности. // Журнал «Молодой вчений», 2014 №3 (06). С. 132-138.

67. Клигуненко Е.Н. Соотношение про- и противовоспалительных цитокинов у беременных в третьем триместре / Е.Н. Клигуненко, А.О. Волков // Медицина неотложных состояний. – 2013. - №6 (53). – С.162-164.

68. Кобеляцкий Ю.Ю. Обезболивание родов в условиях новой акушерской доктрины/ Ю.Ю. Кобеляцкий, Л.В. Ефремов.// Днепропетровская медицина.-2009.- №6.- С.27-33.

69. Кокряков, В.Н. Очерки о врожденном иммунитете / В.Н. Кокряков. – СПб.: Наука, 2006. – 261 с.

70. Кольцов И.П., Дубняк И.Н., Мальцева Е.А., Дубняк Н.С., Храмова И.А., Шаронов А.С. Соотношение стабильности лизосомных мембран (СЛМ), секреции и синтеза лизоцима и уровня секреции IL-8 моноцитов крови у здоровых и больных с аллергической и холинэргической крапивницей // Дальневосточный медицинский журнал. 2010. №4 С.21-23.

71. Конке, С.В. Реакция на родовой стресс симпатико-адреналовой и гипоталамо-надпочечниковой систем молодых первородящих / С.В. Конке // Акушерство и гинекология. – 1996. - № 1. – С. 41-42.

72. Крыжановский Г.Н. Стресс и иммунитет // Вестник АМН СССР. - 1985. - № 8. - С.3-12.

73. Крыжановский Г.Н. Центральные механизмы патологической боли / Г.Н. Крыжановский // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 1999. - Т.99, №12. – С. 4-7 с.

74. Крыжановский Г.Н. Патологические интеграции в нервной системе / Г.Н. Крыжановский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. - Т.129, №2. – С. 124-128.

75. Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В. Нейроиммунопатология. – М., 1997. - 282 с.

76. Крыжановский Г.Н., Решетняк В.К., Кукушкин М.Л. Горизонтова М.П., Смирнова В.С. Влияние верапамила на развитие болевого синдрома у крыс после перерезки седалищного нерва. // Бюл. эксперим. биол. и мед.-1992.- Т. 114. №9.-С. 229-231.

77. Кузнецова Л.Н. Адаптационные реакции организма: связь с функциональной активностью комплемента, возможность коррекции. // дис.... д-ра мед. наук., Москва, 2009

78. Кузник Б.И. Клеточные и гуморальные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита. - 2010. – 821 с.

79. Кукушкин М.Л. Этиопатогенетические принципы лечения хронической боли // Русский медицинский журнал, 2007.- Т.15, №10. С. 827-835

80. Кукушкин М.Л., Табеев Г.Р., Подчуфарова Е.В. Болевой синдром: Патогенез, клиника, лечение. Под ред. акад. РАМН Яхно Н.Н. – М., 2011. - С. 72.

81. Кукушкин, М.Л. Молекулярные механизмы боли / М.Л. Кукушкин, А.А. Тихоновский // Боль. – 2006. - №1. – С.43-47.

82. Кукушкин, М.Л. Общая патология боли / М.Л. Кукушкин, Н.К. Хитров. – М. : Медицина, 2004. – 144 с.

83. Кукушкин, М.Л. Патофизиологические механизмы болевых синдромов / М.Л. Кукушкин // Боль. – 2003. - №1. – С.5-12.

84. Кукушкин, М.Л. Хроническая боль: механизмы развития / М.Л. Кукушкин // Доктор ру. – 2010. – № 4 (55). – С. 23-28.

85. Кулаков В.И., Серов В.Н., Абубакирова А.М. и др. Анестезия и реанимация в акушерстве и гинекологии / - М. : Триада-Х, 2000. - 384 с.

86. Кулаков, В.И. Обезболивание родов. / В.И. Кулаков, В.Н. Серов, А.М. Абубакирова, Т.А. Федорова, И.И. Баранов– М.: Триада – Х, 1998. – 153 с.

87. Куликов А.В., Шифман Е.М., Обезболивание родов. // Региональная анестезия и лечение острой боли, 2013. – Т.VII, №4. – С. 60-70.

88. Курочкин, В.И., Пропердин лимфы при травматическом стрессе / В.И. Курочкин, В.О. Слесарев // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1978. – № 4. – С. 403-405.

89. Леви Д. Адренорецепторы, их стимуляторы и блокаторы // В кн.: Эндокринология. Под ред. Н. Лавина. Пер. с англ. М: Практика, 1999. С.54-60.

90. Мазурин А.В. Пропедевтика детских болезней / А.В. Мазурин, И.М. Воронцов. – СПб., 2000. – 408 с.

91. Мазуркевич Г.С. Шок: Теория, клиника, организация противошоковой помощи / Г.С. Мазуркевич, С.Ф. Богненко - СПб.: Политехника, 2004. – 539 с.

92. Мальдов Д.Г., Бельков А.П., Ильичёв А.В., Асташкин Е.И. Влияние комплексного гидрофильного низкомолекулярного препарата «Стимфорте» на функциональную активность фагоцитов крови человека // Иммунология. 2009. Т. 30. № 2. С. 95-97.

93. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. Новосибирск, 1983. -254 с.

94. Маянский, А.Н. Клинические аспекты фагоцитоза / А.Н. Маянский, О.И. Пикуза. – Казань, 1993. - 290 с.

95. Медвинский И.Д., Якубович О.И., Башмакова Н.В., Цывьян П.Б., Севостьянова О.Ю., Артемьева О.Г., Кинжалова С.В., Мякишева О.А. Регионарные методы анестезии при абдоминальном родоразрешении беременных женщин с гестозом: Пособие для врачей. Екатеринбург, 1998. – 25 с.

96. Меджитов, Р. Врожденный иммунитет / Р. Меджитов, Ч. Джаневей // Казанский мед.журн. – 2004 . – Т. 85, № 3 . – С. 161-167 .

97. Мельников В.И. Уровень про- и противовоспалительных цитокинов у спортсменов водных видов спорта в период интенсивных физических нагрузок // Журнал Фундаментальные исследования, 2011. - №10. - С.122-125.

98. Мойр, Д.Д. Обезболивание родов. Пер. с англ. / Д.Д. Мойр. – М.: Медицина, 1985. – 184 с.

99. Морозов В.И., Петрова Т.Н. Выявление протеиназ нейтрофилов в скелетных мышцах крыс после мышечной деятельности//Укр. биохим, журн.- 1993.-Т.65, N4.-С.40-44.

100. Морозов В.И., Карасева Ю.В., Морозова В.И. Особенности механизмов адаптации в различные периоды нормально протекающей беременности. Ж. Вестник новых медицинских технологий. 2007, Т.14, №2, С. 79-81.

101. Морозов, В.И. Выявление миелопероксидазы нейтрофилов в скелетных мышцах крыс после мышечной деятельности / В.И. Морозов, П.В. Цыпленков, В.А. Рогозкин // Бюлл. exper. биол. мед. – 1989. – Т. 110, № 11. – С. 489-491.

102. Морозов, В.И. Механизм снижения фагоцитоза нейтрофилов крови при мышечной деятельности / В.И. Морозов, Е.В. Елхачева, С.А. Прияткии, П.В. Цыпленков // Физиологические механизмы адаптации к мышечной деятельности: тез. XIX Всес. конф. – Волгоград, 1988 – С. 243.

103. Нагоев Б.С. Модификация цитохимического метода восстановления НСТ / Б.С. Нагоев // Лабораторное дело. 1983. - № 1. - С.23-24

104. Нагоев Б.С. Очерки о нейтрофильном гранулоците / Б.С. Нагоев. — Нальчик : Эльбрус, 1986. 144 с.

105. Назаренко Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Назаренко Г.И., Кишкун А.А. – М. : Медицина, 2006. 543 с.

106. Назаров А.В. О месте образования сывороточного лизоцима // в кн. Факторы естественного иммунитета при различных физиологических и

патологических состояниях // Тез.докл. к IV научн. конф., - Челябинск, 1978. – Вып.5. – С.10-11.

107. Назаров, П.Г. Синтез С-реактивного белка лимфоидными клетками / П.Г. Назаров, Б.Н. Софронов // Медиаторы иммунного ответа в эксперименте и клинике. – М., 1983. – С. 112-113.

108. Назаров, П.Г. С-реактивный белок: фактор воспаления, связывающий и инактивирующий ацетилхолин / П.Г. Назаров, И.Б. Крылова, Н.Р. Евдокимова // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5, № 4. – С. 32-35.

109. Нануашвили, А.Ш. Диагностическая значимость С-реактивного белка в инфекционной патологии / А.Ш. Нануашвили, М.А. Махвиладзе, К.Б. Мшвидобадзе // Современная медицина. Теория и практика. – 2004. – N 3. – С. 43-45.

110. Нариндер Р. Эпидуральная аналгезия: больше не золотой стандарт послеоперационного обезболивания // Регионарная анестезия и лечение острой боли, 2012. Т.6, №4, С.29-44.

111. Наумов А.В. С-реактивный белок / А.В. Наумов, Л.Т. Арцименя, Е.Ю. Биндич, Н.В. Наумова // Журнал ГрГМУ. – 2010. - №4. – С. 3-11.

112. Николаев А.А., Ахушкова Л.М. Исследование щелочной фосфатазы в ткани плаценты при гестозах // Фундаментальные исследования, 2013. - №12. - С. 167-171.

113. Николаев, И.В. Состояние материнской и плодово-плацентарной гемодинамики в условиях: эпидуральной анестезии у беременных с плацентарной недостаточностью / И.В. Николаев. – М., 1991. – 132 с.

114. Об утверждении правил лабораторной практики : приказ М-ва здравоохранения Росс. Федерации №267 от 19 июня 2003 г. – М., 2003. – 7 с.

115. Овсянников В.Г. Возрастные особенности реактивных сдвигов катехоламинов в спинном мозге при острой соматической боли (экспериментальное исследование) / В.Г. Овсянников, А.В. Каплиев // Общая реаниматология. – 2007. – Т. 3, № 2. – С. 61-64.

116. Овсянников В.Г. Очерки патофизиологии боли. - Ростов н/Д.: Цветная печать, 2003. -159 с.
117. Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Алексеева Н.С., Алексеев В.В. Особенности кислородзависимого механизма микробицидности лейкоцитов в динамике острой висцеральной боли // Российский журнал боли. - 2011. - №2. - С.16-17.
118. Овсянников В.Г., Бойченко А.Е., Николаев В.Е., Алексеев В.В., Бликийн М.В., Алексеева Н.С., Бойченко Т.А., Алексеева НА, Котиева И.М., Лабушкина А.В., Абрамова М.В. Динамика цитокиновой активности при острой боли различной локализации // Журнал фундаментальной медицины и биологии. - 2012. - №1. - С.82-86.
119. Овсянников В.Г., Шлык С.В., Алексеев В.В., Бойченко А.Е., Бликийн, М.В., Алексеева Н.С., Абрамова Н.В. Изменение уровня лизоцима при острой соматической боли у взрослых крыс//Медицинский вестник Юга России. 2013. № 3. С.66-68.
120. Овсянников, В.Г. Боль (этиология, патогенез, принципы и механизмы лечения) / В.Г. Овсянников. – Ростов н/Д. : РГУ, 1990. – 80 с.
121. Овсянников, В.Г. Онтогенетические особенности центральных аминергических механизмов в норме и при острой соматической боли / В.Г. Овсянников. – Ростов-н/Д: Учебная типография РостГМУ, 2012. – 116 с.
122. Овсянников, В.Г. Ростовская научная школа патофизиологов / В.Г. Овсянников, А.Е. Бойченко. – Ростов н/Д, 2012. – 14 с.
123. Овсянников, В.Г., Бойченко, А.Е., Алексеев, В.В., Бликийн, М.В., Алексеева, Н.С., Бойченко, Т.А., Алексеева, Н.А. Цитокиновый ансамбль при острой соматической боли / В.Г. Овсянников, А.Е. Бойченко, В.В. Алексеев, М.В. Бликийн, Н.С. Алексеева, Т.А. Бойченко, Н.А. Алексеева // Ж.: Цитокины и воспаление. – Спб. – 2012. – Т 11., № 3. – С. 125-127.
124. Овсянников, В.Г., Бойченко, А.Е., Бликийн, М.В., Алексеев, В.В., Алексеева, Н.С., Алексеева, Н.А., Лебедев, М.А., Котиева, И.Н. С-реактивный белок при острой соматической боли / В.Г. Овсянников, А.Е. Бойченко, М.В.

Бликийн, В.В. Алексеев, Н.С. Алексеева, Н.А. Алексеева, М.А. Лебедев, И.Н. Котиева // Ж. Цитокины и воспаление. – Т.12., №1-2. – 2013. – С. 22-25.

125. Олемпиева Е.В., Коваленко Т.Д., Нешин С.Г., Гришина Л.Н., Захарова Н.И. Изменение активности лейкоцитарных ферментов у женщин с физиологическим течением беременности // Ж. здоровье и образование в XXI веке, 2012. Т.14, №2. С. 82-83.

126. Орбели, Л.А. Некоторые основные вопросы проблемы боли / Л.А. Орбели // Современные проблемы теории медицины. – Л., 1936. – Т. 1. – С. 97-117.

127. Панкова Е.В. // Вопросы охраны здоровья женщины, матери и новорожденного: сб. науч. работ кафедр. акуш. и гинек. леч. и пед. фак. Горьковского мед.ин-та. – Горький, 1960. – Вып. 2. –

128. Панкова Е.В., Тутова И.М. // Вопросы охраны здоровья женщины, матери и новорожденного: сб. науч. работ кафедр. акуш. и гинек. леч. и пед. фак. Горьковского мед.ин-та. – Горький, 1960. – Вып. 1. –

129. Патурова И.Г., Худяков А.Н., Соломина О.Н., Зайцева О.О., Полежаева Т.В. Хемилюминисцентный анализ фагоцитарной функции лейкоцитов периферической крови женщин при беременности и в родах. Ж. Вятский вестник, 2015. №2, С. 92.

130. Петров С.В., Серегин С.П., Новикова А.В., Агарков Н.М. Анализ разномодальных изменений параметров иммунитета в зависимости от клинического варианта не осложненного пиелонефрита во время беременности для его прогнозирования. //Ж. Иммунология, 2014. Т.35, №2, С. 77-79.

131. Подсевакин В.Г., Кирюхина С.В., Блинов Д.С., Моисеева И.Я. Экспериментально-клиническое обоснование применения иммунокорректоров в комплексной терапии неврастении // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2007, №1. – С.56-62

132. Покровский, В.И. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс / В.И. Покровский, М.М. Авербах, В.И. Литвинов, И.В. Рубцов. – М., 1979. – 280 с.

133. Полевщиков, А.В. С-реактивный белок модулирует адгезивную и биоцидную активность нейтрофилов / А.В. Полевщиков, П.Г. Назаров, Л.К. Берестовая // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. – 1994. – №1. – С. 69-72.
134. Полушин Ю.С. Мифы и реалии обезболивания родов / Ю.С. Полушкин, Э.К. Айламазян, Ю.М. Коростелев, А.Г. Киселев, В.А. Первак, О.И. Васильева // Журнал акушерства и женских болезней. - 2011. - Том. LX. - № 6. - С. 10-17.
135. Полушин Ю.С., Коростелев Ю.М., Вартанова И.В., Киселева А.Г., Широков Д.М. Болевой синдром после родов и его влияние на качество жизни // Анестезиология и реаниматология, 2015. №2. С. 47-50.
136. Почетный В.М., Киселев Е.В. Опыт применения наропина малой концентрации при эпидуральной аналгезии в акушерстве // Здравоохранение Югры: опыт и инновации №3. – 2017. – С. 25-26
137. Прияткин С.А. Лизоцим как биохимический показатель секреторной активности нейтрофилов крови при физической нагрузке: автореф. дис. ... канд. мед.наук: 03.00.04 / С. А. Прияткин. – СПб., 1999. – 16 с.
138. Прияткин, С.А. Влияние физической нагрузки на факторы неспецифической резистентности организма / С.А. Прияткин // Общие и частные вопросы онкоморфологии. – Л.: Медицина, 1985. – С. 89-93.
139. Пудовкин Д.Н. Иммунологические аспекты патогенеза энтерита у телят: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.02 / Д.Н. Пудовкин. – СПб., 2004. – 18 с.
140. Рахматулина Э.Х., Теплова С.Н., Альтман Д.А. Неинвазивные методы оценки стресс-индуцированных изменений гормонального и иммунного гомеостаза // Серия «Образование, здравоохранение, физическая культура», выпуск 18. Интегративная физиология. – С. 13-16
141. Рождественская Т.А. Изменение уровня молочной кислоты и белков острой фазы воспаления у беременных женщин с артериальной гипертензией // Охрана материнства и детей, 2013, №2 (22). - С. 23-27.

142. Ройт А., Бростофф, Мейл Д. Иммунология: пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
143. Рудик Д.В., Тихомирова Е.И. Методы изучения процесса фагоцитоза и оценки функционально-метаболической активности фагоцитирующих клеток. – Саратов:Изд-во Саратов. ун-та, 2006. – 112 с.
144. Русел, Р. Анестезиолог и устранение боли в родах / Р. Руссел // Материалы 7-го Всероссийского съезда анестезиологов реаниматологов. – Санкт-Петербург, 2000. – С. 73-78.
145. Рутковская Е.А., Сидоренко В.Н., Трухановец О.В. Современный взгляд на родовую боль // Репродуктивное здоровье в Беларуси. – 2009, №4. – С.29-33
146. Рыбников В.Н., Бровкина И.Л., Утешев Б.С. Влияние лизоцима на функционально-метаболическую активность полиморфно-ядерных лейкоцитов в условиях острой кровопотери. // Экспериментальная и клиническая фармакология, 2004, Т.67, №2, С. 45-48.
147. Рязанова О.В. Влияние анестезии при операции кесарево сечение на неврологический статус новорожденного : дис. канд. медиц. наук / О.В. Рязанова ; Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия. - Санкт-Петербург, 2012.
148. Сажина Н. В., Грязных А. В. Деятельность пищеварительных желез и иммунологический профиль здорового человека в условиях эмоционального напряжения // Фундаментальные исследования. 2011. №10-3 С.548-552.
149. Самцов В.А. Влияние боли на механизмы клеточного иммунитета / В.А. Самцов // Тез.докл. 1-й конфер. патофизиологов. – Казань, 1950. – С. 20-24.
150. Сачков В.И., Женило В.М., Абрамов Ю.Б. Устройство для моделирования висцеральной боли в эксперименте // Изобретение «1098 от 27.03.1990.
151. Сепбаева А.Д. Влияние анестезии и операционной травмы на показатели клеточного и гуморального иммунитета у новорожденных детей /

А.Д. Сепбаева, В.И. Михельсон, М.В. Дегтярева, Н.К. Матвеева, Ю.В. Жиркова, Е.А. Гордеева // Анестезиология и реаниматология. 2009. № 1. 52-55 с.

152. Сизова Е.Н. «Физиологическая характеристика эндогенных модуляторов (β -адрено- и М-холинореактивности и их участие в регуляции в регуляции деятельности различных систем организма человека и животных) //дисс. ...докт. биолог, наук.,- Киров, 2005. - 267 с.

153. Сизова Е.Н., Циркин В.И. Физиологическая характеристика эндогенных модуляторов β -адрено- и М-холинореактивности. Киров: Изд-во ВСЭИ, 2006. 183 с.

154. Складнева К.А. Клинико- иммунологические особенности ранней неонатальной адаптации детей, рожденных путем кесарева сечения // дис. ...канд. мед.наук. Воронеж, 2014. - 22 с.

155. Стрелец Е.В., Егорова Е.Н., Чернин В.В., Червинец В.М., Базлов С.Н., Журнал Микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2001, №3, С. 14.

156. Судоткина Л.Н., Мосина Л.М., Байтяков В.В., Новикова Л.В., Матвеева Л.В. Изменение врожденного иммунитета при атопическом дерматите. // Ж. Фундаментальные исследования, 2015. №1-2, С. 388-392.

157. Талаев, В.Ю. Клетки трофобласта плаценты человека угнетают способность дендритных клеток индуцировать продукцию интерферона- γ . / В.Ю. Талаев, А.В. Матвейчев, И.Е. Заиченко [и др.] // Иммунология. – 2009. – Т. 30, № 3. – С.148-152.

158. Титов, Л.П. Иммунология. Терминологический словарь / Л.П. Титов. – М.: МИА, 2008. – 512 с.

159. Титова Н.Д. Развитие системы иммунитета плода, новорожденного и детей раннего возраста // Иммунология, аллергология, инфектология, 2007, №4. – С. 38-46.

160. Тутова, И.М. Применение аэрозолей сернокислой магнезии в терапии поздних токсикозов беременности: автореф. дис. ... канд. мед.наук / И.М. Тутова. – Саратов, 1962. – 24 с.

161. Унич П.П. Чувствительные нарушения и боль при рассеянном склерозе // Новости медицины и фармации, 2011. №3(373). – С.27-28.
162. Ушаков И.Б. Реактивность и резистентность организма млекопитающих / И.Б. Ушаков. М.: Наука, 2007. - 493 с.
163. Хавинсон В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон, В.А. Баринов, А.В. Арутюнян, В.В. Малинин. – СПб., 2003. - 327 с.
164. Хаитов, Р.М. Физиология иммунной системы / Р.М. Хаитов, Р.М. Хаитов. – 2-е изд. – М.: ВИНТИ РАН, 2005. – 376 с.
165. Хитров, М.В. Влияние ГОМК на состояние плода и новорожденного при акушерском сне-отдыхе / М.В. Хитров, М.Б. Охупкин, О.Н. Бажанов, Д.М. Евдокимов // Акушерство и гинекология. – 2000. - №1. – С. 43-45
166. Хлыбова С.В. Состояние адренергического механизма и содержание свободных аминокислот при физиологическом течении гестационного процесса в ряде акушерских осложнений // Автореф. дис. ...докт. мед.наук. – Киров, 2007, 38 с.
167. Царёв В.Н. Микробиология, вирусология и иммунология / В.Н. Царёв. – М.: Практическая медицина, 2010. – 584 с.
168. Царегородцев И.С. Особенности постнатальной адаптации новорожденных, родившихся у матерей, получивших в родах эпидуральную анестезию: дис. ...канд. мед.наук. / И. С. Царегородцев. – Уфа, 2008. –176 с.
169. Царегородцев И.С., Волосников Д.К., Узлова Т.В. Анализ динамики транзиторных неврологических расстройств в раннем неонатальном периоде у новорожденных, родившихся от матерей, получивших в родах эпидуральную анестезию / Вопросы практической педиатрии. Материалы II ежегодного конгресса специалистов перинатальной медицины «Новые технологии в перинатологии», Москва, 2007, С. 43-44.
170. Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В., Зайцева О.О., Худяков А.Н., Соломина О.Н., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Попова В.С. Роль нейтрофилов при физиологическом течение беременности, родов и в ряде

акушерских осложнений // Вестник уральской медицинской академической науки, 2015. №4. С. 75.

171. Циркин В.И., Дворянский С.А. Сократительная деятельность матки (механизмы регуляции). Киров, 1997. 270 с.

172. Цывьян П.Б., Якубович О.И., Башмакова Н.В., Севостьянова О.Ю., Артемьева О.Г., Кинжачова С.В., Мякишева О.А. Эпидуральная анестезия - метод интранатальной защиты плода при абдоминальном родоразрешении беременных женщин с фетоплацентарной недостаточностью и гестозом: Методические рекомендации. Екатеринбург, 1998 -13 с.

173. Чахова, О.В. Образование лизоцима культурой гистиоцитов-макрофагов / О.В. Чахова, А.Г. Горюнова // Антибиотики. – 1965. – Т. 6. – С. 507-511.

174. Чеботарев Д.Ф. Гипертонический синдром беременных / Д.Ф. Чеботарев. – Киев, 1956. – 308 с.

175. Чернуха Е.А., Комисарова Л.М., Байбарина Е.Н. Течение послеоперационного периода и периода адаптации новорожденных в зависимости от вида обезболивания при операции кесарева сечения. Акушерство и гинекология, 2003, №3.- С. 12-15.

176. Шабалов Н.П. Неонатология : Учебн. пособие : В 2 т. / Н.П.Шабалов. — Т. I. — 3-е изд., испр. и доп. — М. : МЕДпресс-информ, 2004. — 70 с.

177. Шавлюгин Е.А., Ханин М.А. Математическая модель активации системы комплемента при участии контактной системы свертывания крови. // Фундаментальные исследования №1, 2012. С. 172-177

178. Шебалин А.И. О влиянии некоторых факторов среды на фагоцитарную реакцию организма : дис. ... канд. мед.наук / А.И. Шебалин. – М., 1954. – 297 с.

179. Шейбак В.М., Тис А.А., Шейбак Н.Л. фагоцитарная активность нейтрофилов пуповинной крови новорожденных *in vitro* в присутствии

лейцина. Ж. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2005, Т.68, С. 48-49.

180. Шейбак Л.Н., Горецкая М.В., Мороз В.Л., Шейбак В.М. иммунологические показатели пуповинной крови новорожденных детей. Ж. Иммунология, аллергология, инфектология, 2004. №2, С. 44-48.

181. Шеплягина Л.А., Круглова И.В. Возрастные особенности иммунитета у детей. // РМЖ. 2009. Т.23. – С. 1564-1569.

182. Шестопалов А.В., Овсянников В.Г., Алексеева Н.С. Структурно-цитохимические критерии активации нейтрофилов в ответ на острую висцеральную боль // Кубанский научный медицинский вестник. - 2009. -№5. - С.148-152.

183. Шеховцова Н.В. Основы иммунологии. Ярославль: ЯрГУ, 2009.

184. Шилов Ю.И., Орлова Е.Г., Ланин Д.В. Адренергические механизмы регуляции фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови при стрессе и введении гидрокортизола // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. 2004. №3. С. 8-13

185. Широкинская О.Н. Нефропатия беременных и плод: автореф. дис. ... канд. мед.наук / О.Н. Широкинская. – М., 1967. – 21 с.

186. Ширшев С.В., Куклина Е.М., Баженова А.В. Влияние прогестерона на фагоцитарную и окислительную активность моноцитов и нейтрофилов.// Ж. Вестник Пермского университета. Серия: Биология, 2008. №9, С. 87-90.

187. Ширшев С.В., Куклина Е.М., Бессонова И.В. Влияние репродуктивных гормонов на основные функции нейтрофилов человека. // Ж. Вестник Пермского университета. Серия: Биология, 2004. №2, С. 174-176.

188. Ширшев С.В., Куклина Е.М., Гугович А.М. Влияние хорионического гонадотропина на фагоцитарную и окислительную активность моноцитов и нейтрофилов. // Ж. Вестник Пермского университета. Серия :Биология. 2008. №9, С. 91-95.

189. Ширшев С.В., Куклина Е.М., Гудина У.С. Влияние эстрадиола на фагоцитарную и окислительную активность моноцитов и нейтрофилов. // Ж. Вестник Пермского университета. Серия :Биология. 2008. №9, С. 96-99.
190. Шифман, Е.М. Новые Методы суб- и эпидуральной анальгезии / Е.М. Шифман // Материалы научной конференции «Актуальные проблемы медицины критических состояний.» Петрозаводск : Изд-во. Петрозаводского университета, 1997. – С. 6-30.
191. ШифманЕ.М. Преэклампсия, эклампсия, HELLP-синдром. Петрозаводск, 2002. С. 353-375.
192. Энкин М., Кейрс М., Нейлсон Д., Краутер К., Дьюли Л., Ходнет Э., Хофмеер Д. Руководство по эффективной помощи при беременности и рождении ребенка. / Пер. с англ. под ред. А.В. Михайлова. СПб.: Петрополис, 2003. - 480 с.
193. Abbott A. Laboratory animals: the Renaissance rat / Nature, 2004. Vol.428.P. 464-466
194. Akata, K.T. Beta-amyloide stimulation of inducible nitric-oxide synthase in astrocytes is interleukine-1 beta and tumor necrosis factor-a (TNFa) – dependent and involves a TNFa receptor-associated factor and NFkb-kinase dependent signaling mechanism / K.T. Akata, L.G. Van Eldic // J.Biolog. Chemistry. – 2000. – Vol. 275, N 11. – P. 7913-7924.
195. Armstrong S., Fernando R. Side Effects and Efficacy of Neuraxial Opioids in Pregnant Patients at Delivery: A Comprehensive Review //Drug safety, 2016. Vol.39, N.5. P. 381-399.
196. Bacigalupo G., Riese S., Rosendahl H., Sating E. Quantitative relationships between pain intensities during labor and beta-endorphin and cortisol concentrations in plasma. Decline of the hormone concentrations in the early postpartum period //Journal of perinatal medicine, 1990. Vol. 18, №4. P. 289-296.
197. Bakheit K.H., Bayoumi N.K., Adam I. Peripheral, placental and cord cytokines profile in spontaneous labor and elective caesarean section // Iran J Immunol., 2008. Vol.5, N.3. P. 185-188.

198. Bataile, R. C-reactive protein levels as a direct indicator of interleukin-6 levels in humans in vivo / R. Bataile, B. Klein // *Arthritis Rheum.* – 1992. – Vol. 35, N 8. – P. 982-984.
199. Bergqvist L.L., Katz-Salamon M., Hertegard S., Anand K.J.S., Lagercrantz H. Mode of delivery modulates physiological and behavioral responses to neonatal pain // *Journal of Perinatology*, 2009. Vol.29. P. 44-50
200. Bjorksten B., Soderstrom T., Damber M., von Schoultz D., Stigbrand T. Polymorphonuclear leucocyte function during pregnancy // *Scand. J. Immunol.* 1978. Vol. 8, №3. – P.257-262.
201. Bonaparte RS; Hair PS; Banthia D. et al.// *J Virol.* Human astrovirus coat protein inhibits serum complement activation via C1, the first component of the classical pathway. -2008 Jan. -82 (2). -. 817-827.
202. Bouman A., Heineman M. J., Faas M.M. Sex hormones and the immune response in humans // *Hum. Reprod. Update.* 2005. – Vol. 11. – P. 411-423.
203. Brack, A. Potential links between leukocytes and antinociception / A. Brack, C. Stein // *Pain.* – 2004. – Vol. 111, Issues 1-2. – P. 1-2.
204. Brinsmead M., Smith R., Singh B., Lewin T., Owens P. Brinsmead M., Smith R., Singh B., Lewin T., Owens P. Peripartum concentrations of beta endorphin and cortisol and maternal mood states // *Australian and New Zealand journal of obstetrics and gynaecology*, 1985. Vol. 25, №3, P. 194-197
205. Bruno, P.P. An overview on immune system and migraine / P.P. Bruno, F. Carpino, G. Carpino, A. Zicari // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sei.* -2007. Vol, 11. - P. 245-248:
206. Buchta, R. Binding of C- reactive protein to human neutrophils / R. Buchta, M. Pontet, M. Fradkin // *FEBS Lett.* – 1987. – Vol. 211, N 2. – P. 165-168.
207. Bugla-Pioskońska G., Doroszkiewicz W. Bactericidal activity of normal bovine serum (NBS) directed against some Enterobacteriaceae with sialic acid-containing lipopolysaccharides (LPS) as a component of cell wall // *Pol. J. Microbiol.* -2006. -55 (3). -P.169-174

208. Cave M.C., Hurt R.T., Frazier T.H. et al. Obesity, inflammation, and the potential application of pharmaconutrition // *NutrClinPract* 2008; 23: 1: 16-34
209. Craig A.D. New and old thoughts on the mechanisms of spinal cord injury pain. In *Spinal Cord Injury Pain: Assessment, Mechanisms, Management*. Edited by Yeziarski R.P., Burchiel K.J. Seattle: IASP Press; 2002. P.237-264.
210. Craig A.D. Pain mechanisms: labeled lines versus convergence in central processing // *Annu Rev Neurosci.*, 2003. Vol. 26. P. 1-30.
211. Dermitzaki E, Androulidaki A, Tsatsanis C, Gravanis A, Margioris AN (2009) Corticotrophin Releasing Factor affects the expression of TLR4 receptor in adipocytes.
212. DiScipio R.G. The activation of the alternative pathway C3 convertase by human plasma kallikrein // *Immunology*. –1982. – №45. – P. 587–595.
213. Dolhain, R. Increased expression of interferon (IFN)-gamma together with IFN-gamma receptor in the rheumatoid synovial membrane compared with synovium of patients with osteoarthritis / R. Dolhain, N. ter Haar, S. Hoefakker [et al.,] // *Br. J. Rheumatol.* – 1996. – Vol. 35, N 1. – P. 24-32.
214. Donaldson, D. Interrelationship between serum beta-lysozyme, lysozyme and antibody-complement system in killing *Escherichia coli* / D. Donaldson, R. Roberts, H.S. Larsen, J. Tew // *Infect. and Immunity*. – 1974. – Vol. 10, N 3. – P. 657-666.
215. Elovainio M, Keltikangas-Jarvinen L, Pulkki-Raback L, Kivimaki M, Puttonen S, Viikari L, Rasanen L, Mansikkaniemi K, Viikari J, Raitakari OT. Depressive symptoms and C-reactive protein: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study // *Psychol Med*. 2006;1-9
216. Fink, M.E. Serum muramidase and granulocyte turnover / M.E. Fink, S.C. Finch // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1968. – Vol. 127, N 2. – P. 365-367.
217. Folsom A.R., Golden S.H., Boland L.L., Szklo M. Association of endogenous hormones with C-reactive protein, fibrinogen, and white blood count in post-menopausal women // *Eur J Epidemiol*. 2005 ;20(12):1015-22
218. Gewurz, H. Structure and function of the pentraxin / H. Gewurz, X.H. Zhang, T.F. Lint // *Curr. Opin. Immunol.* – 1995. – Vol. 7, N 1. – P. 54-64.

219. Ghebrehiwet B., Silverberg M., Kaplan A.P. Activation of the classic pathway of complement by Hageman factor fragment // *J. Exp. Med.* – 1981. – №153. – P. 665–676.
220. Gilkey, S.J. Headache and ischemic stroke ; role of anticardiolipin antibodies / S.J. Gilkey, N.M. Ramadan, L.R. Shultz, Welch K.M.A. // 9th Mi- graine Trust Symp. – London, 1992. – P. 58-59.
221. Gomez-Ambrosi J, Salvador J, Silva C, Pastor C, Rotellar F, Gil MJ, Cienfuegos JA, Fruhbeck G. Increased cardiovascular risk markers in obesity are associated with body adiposity: Role of leptin // *ThrombHaemost.* 2006; 95(6):991-996
222. Granoff D.M. Relative importance of complement-mediated bactericidal and opsonic activity for protection against meningococcal disease / *Vaccine.* -2009 Jun 24. – 27,Suppl 2. – P. 117-125
223. Gravagna P. Modulation of the immune response by plasma protease inhibitors II. Alpa2-macroglobulin subunits inhibit natural killer cell cytotoxicity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity / P. Gravagna, E. Geanazza, P. Armand et al., // *Scand. J. Immunol.* – 1982. – Vol. 15. – P. 115.
224. Greenfield J.R., Samaras K., Jenkins A.B., Kelly P.J., Spector T.D., Gallimore J.R., Pepys M.B., Campbell L.V. Obesity is an important determinant of baseline serum C-reactive protein concentration in monozygotic twins, independent of genetic influences // *Circulation.* 2004;109(24):3022-3028
225. Han T.S., Sattar N., Williams K .et al. Prospective study of C-reactive protein in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in the Mexico City Diabetes Study. // *Diabetes Care.*2002. 25. - 2016-21
226. Hansen, N.E. Lysozyme turnover in man / N.E. Hansen, H. Karle, V. Andersen, K. Olgaard // *J. Clin. Invest.* – 1972. – Vol. 51, N 5. – P. 1146-1155.
227. Hayashi M. et al. // *Circulation.* 2003. V. 107. N.18 P 2525. J Eduardo Sousa, Patrick W Serruys, Marco A Costa // *Circulation* 06/2003; 107(18):2383-9. ·
228. Herrera – Gomez A., Garcia-Martinez O., Ramos-Torrecillas J., De Luna-Bertos E., Ruiz C., Ocana-Peinado F.M. Retrospective study of the association

between epidural analgesia during labour and complications for the newborn. // *Midwifery*, 2015. – Vol 31, N. 6. P. 613-616.

229. Hewitt, D.J. Pain syndromes and etiologies in ambulatory AIDS patients / D.J. Hewitt, M. McDonald, P.K. Portenoy, Rosenfeld B., Passik S., Breitbart W. // *Pain*. – 1997. – Vol. 7, N 2-3. – P. 243-254.

230. Hoefnagel A., Yu A., Kaminski A. Anesthetic complications in pregnancy // *Critical care clinics*, 2016. Vol.32, N.1. – P. 1-28.

231. Hoffman-Goetz, L. Exercise and the immune system: a model of the stress response? / L. Hoffman-Goetz, B.K. Pedersen // *Immunol.Today*. – 1994. – Vol. 15, N 8. – P. 382-387.

232. Impey, L. Epidural analgesia ned not increase operative delivery rates / L. Impey, K. MacQuillan, M. Robson // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2000. – Vol. 182, №2. – P. 358-363.

233. Jessup, W. Constitutive and triggered lysozomal enzyme secretion / W. Jessup, P. Leoni, R.T. Dean // *Developments in Cell Biology. I. Secretary Processes* / ed. by R.T. Dean, P. Stahl. – Butterworths, 1985. – P. 38-57.

234. Jones, A.K.P. Pain mechanisms and their disorders Imaging in clinical neuroscience / A.K.P. Jones, B. Kulkarni, S.W.G. Derbyshire // *Br. Med. Bull.* – 2003. – Vol.65, N 1. – P. 83-93.

235. Kastl S.P., Speidl W.S., Kaun C. et al. In human macrophages the complement component C5a induces the expression of oncostain M via AP-1 activation // *Arterioscler. Tromb. Vase. Biol.* -2008 Mar. -28 (3). – P. 498-503.

236. Kierzinikowicz B., Ulewich K. Influence of oxygen hyperbaria on the activity of complement in human's sera. // *Acta Physiol Pol* – July 1, 1976; 27(4); 409-11.

237. Kindmark C. Stimulating effect of C-Reactive protein on phagocytosis of various species of pathogenic. // *J Clinical and Experimental Immunology*, 1971, Vol.6, №8, P. 941-948.

238. King D., Mainous A., Egan B. et al. Effect of Psyllium Fiber Supplementation on C-Reactive Protein: The Trial to Reduce Inflammatory Markers (TRIM) // *Annals of Family Medicine* 2008; 6: 100–106.
239. Kjerulff K., Zhu J. Epidural Analgesia use during Labor and Adverse Maternal and Neonatal Outcomes: A Large-Scale Observational Study // APHA 142nd Annual Meeting & Expo, New Orleans, LA, 2014.
240. Klokars M., Roberts P. Stimulation of Phagocytosis by Human Lysozyme // *J Acta Haematologica*, 1976, Vol. 5, №55, P. 289-295.
241. Kolb-Bachofen, V. A review on the biological properties of C-reactive protein / V. Kolb-Bachofen // *Immunobiology*. – 1991. – Vol. 183, N 1-2. – P. 133-145.
242. Lakoski S.G., Brosnihan B., Herrington D.M. Hormone therapy, C-reactive protein, and progression of atherosclerosis: data from the Estrogen Replacement on Progression of Coronary Artery. Atherosclerosis (ERA) trial // *Am Heart J*. 2005;150(5):907-911
243. Liguori, G.A. Transient neurologic symptoms after spinal anesthesia with mepivacaine and lidokaine / G.A. Liguori, V.M. Zayas, M.F. Chisholm // *Anesthesiology*. – 1998. – Vol. 88 – P. 619-623.
244. Littleford J. Effects on the fetus and newborn of maternal analgesia and anesthesia: a review // *Canadian Journal of Anesthesia*, 2004. Vol. 51. P. 586–609.
245. Loo C.C., Dahlgren G., Irestend L. Neurological complications in obstetric regional anaesthesia // *Int. J. Obstet. Anesth*. 2000. – Vol.9.-P.99-124
246. Luppi P., Haluszczak C., Betters D. et al. Monocytes are progressively activated in the circulation of pregnant women // *J Leukoc Biol*. 2002; Vol. 72, №5. P. 874-884.
247. Manoj K., Sue Ch., Zainab I., Ambikaipakan S. Epidural analgesia in labour and neonatal respiratory distress: a case-control study // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2014; 99(2):P.116-9.
248. Marchand F., Perretti M., McMachon S.B. Role of the immune system in chronic pain // *Nat. Rev. Neurosci*. – 2005. – Vol.6, №7. – P.521-532.

249. Moon R., Pretts T.A., Parikh A.A. et al. Stress response decreases the interleukin-1 beta-induced production of complement component C3 in human intestinal epithelial cells // *Clin. Sei. (Lond)*. -1999 Sep. -97 (3). –P. 331-337.
250. Nandhra T.S., Carson R.J. beta-endorphin inhibits the production of interleukin-8 by human chorio-decidual cells in culture // *Molecular Human reproduction*, 2000. Vol.6, №6. P. 555-560.
251. Nieman, D.C. Prolonged aerobic exercise, immune response, and risk of infection / D.C. Nieman // *Exercise and Immune Function* / ed. by L. Hoffman-Goetz. – Boca Raton: CRC Press, 1996. – P. 143-161.
252. Ogundele M.O. A novel anti- inflammatory activity of lysozyme: modulation of serum complement activation // *Mediators of inflammation*, №7, N5. - P.363-365.
253. Ong, B. Temporary back and leg pain after bupivacaine and morphine spinal anesthesia / B. Ong // *Can. J. Anaesth.* – 1995. – Vol. 42. – P. 805-807.
254. Packard B.D., Weller J.M. Steroids inhibit activation of alternative-ampification pathway of complement // *Infect. Immun.* – 1983. – Vol.40, N.3. – P. 1011-1014.
255. Pepys, M.B. C-reactive protein: a critical update / M.B. Pepys, G.M. Hirschfield // *J. Clin. Invest.* – 2003. – Vol. 111, N 12. – P. 1805-1812.
256. Philipsen, T. Epidural block or parenteral pethidine as analgesic in labour; a randomized study concerning progress in labour and instrumental deliveries / T. Philipsen, N.H. Jensen // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 1989 – Vol. 30. – P. 27-33.
257. Räisänen I., Paatero H., Salminen K., Laatikainen T. Pain and Plasma [beta]-Endorphin Level During Labor // *Obstetrics & Gynecology?* 1984. - Vol.64, №6, 1984, P.783-786.
258. Ransjo-Arvidson, A.B. Material analgesia during labor disturbs newborn behavior: effects on breastfeeding, temperature, and crying / A.B. Ransjo-Arvidson, A.S. Matthiesen, G. Lilja, E. Nissen, A.M. Widstrom, K. Uvnas-Moberg. // *Birth.* – 2001. – Vol. 28, №1. – P. 5-12.

259. Ranta, P. Parturients assessment of water block, pethidine, nitrous oxide, paraservical and epidural block in labour / P. Ranta, P. Jouppila, M. Spalding et al. // *Int J Obstet Anesthesiology*. – 1994. – Vol. 3. – P. 193-198.

260. Remco Nijmeijer, Wim K. Lagrand, Yvonne T.P. Lubbers, Cees A. Visser, Chris J.L.M. Meijer, Hans W. M. Niessen, C. Erik Hack. C-Reactive Protein Activates Complement in Infarcted Human Myocardium.// *The American Journal of Pathology*, №163, P. 269-275.

261. Rilay, E.T. Fetal heart rate after Combined Spinal/Epidural – selection bias may contribute to incidence of fetal bradycardia / E.T. Rilay, T.M. Vogel, Y.Y. El-Sayed et al. // *SOAP 31st Annual Meeting* May 19-22, 1999; A40.

262. Rilay, E.T. Fetal heart rate after Combined Spinal/Epidural – selection bias may contribute to incidence of fetal bradycardia / E.T. Rilay, T.M. Vogel, Y.Y. El-Sayed et al. // *SOAP 31st Annual Meeting* May 19-22, 1999; A40.

263. Roberts, SW. Fetal acidemia associated with regional anesthesia for elective cesarean delivery / S.W. Roberts, K.J. Leveno, J. Sidawi, et. al. // *Obstet. Gynecol.* – 1995. – Vol. 85. – P. 79.

264. Scanlon, J. W., Ostheimer, G. W., Lurie, A. O., Brown, W. U. Jr., Weiss, J. B., Alper, M. H. Neurobehavioral responses and drug concentration in newborns after maternal epidural anesthesia with bupivacaine // *Anesthesiology*, 1976. Vol.45, N.4. P. 400-405.

265. Scanlon, J. W., Ostheimer, G. W., Lurie, A. O., Brown, W. U. Jr., Weiss, J. B., & Alper, M. H. Neurobehavioral responses and drug concentration in newborns after maternal epidural anesthesia with bupivacaine // *Anesthesiology*, 1976. – Vol.45, N.4. – P. 400-405.

266. Schumacher M., Mattern C., Ghomari A., Oudinet J., Lierre P., Labombarda F., Revisiting the roles of progesterone and allopregnanolone in the nervous system: resurgence of the progesterone receptors // *ProgNeurobiol.* 2014. Vol. 113. P. 6-39.

267. Sepkoski, C.M. The effects of maternal epidural anesthesia on neonatal behavior during the first month / C.M. Sepkoski, B.M. Lester, G.W. Ostheimer, T.B. Brazelton // *Dev. Med. Child. Neurol.* – 1992. – Vol. 34, N.12. – P. 1072-1080.

268. Shoelson S.E., Lee J., Goldfine A.B. Inflammation and insulin resistance // *J. Clin. Invest.* 2006; 116 (7): 1793–1801.

269. Shrestha B., Devgan A., Sharma M. Effects of maternal epidural analgesia on the neonate - a prospective cohort study // *Italian journal of pediatrics*, 2014. – Vol.40, №1, P. 33-41.

270. Shynlova O., Nedd-Roderique T., Li Y., Dorogin A., Lye S. Myometrial immune cells contribute to term parturition, preterm labour and post-partum involution in mice // *J Cell Mol Med.* 2013; Vol. 17, №1. – P.90-102.

271. Silliman C. Presence of the M-type sPLA2 receptor on neutrophils and its role in elastase release and adhesion / C. Silliman, E. Moore, G. Zallen, R. Gonzalez, J.L. Johnson, D.J. Elzi, X. Meng, K. Hanasaki, J. Ishizaki, H. Arita, L. Ao, K.M. England, A. Banerjee // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2002. – Vol. 283. – P. 1102-1113.

272. Smith, J.A. Exercise immunology and neutrophils / J.A. Smith // *Int. J. Sports. Med.* – 1997. – Vol. 18, Suppl. 1. – P. S46-S55.

273. Takebayashi K., Suetsugu M., Matsutomo R., et al. Correlation of high-sensitivity C-reactive protein and plasma fibrinogen with individual complications in patients with type 2 diabetes // *SouthMed J.* 2006; 99: 23-27

274. Teran E., C-reactive protein during normal pregnancy and preeclampsia / E. Teran, C. Escudero, A. Calle // *International Journal of gynecology and obstetrics*, 2005. – Vol.89. – P.299-300.

275. Tilg H., Moschen A.R. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance // *MolMed* 2008;14(3-4):222–231

276. Tillett, W.S. Serological reaction in pneumonia with a non -protein somatic fraction of pneumococcus / W.S. Tillett, T.J. Francis // *J. Exp. Med.* – 1930. – Vol. 52, N 4. – P. 561-571.

277. Torzewski J., Torzewski M., Bowyer D.E., Frohlich M., Koenig W. et al. C-Reactive Protein Frequently Colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries // *Arterioscler Thromb Vas Biol*, 1998. 18. – P.1386-1392.

278. Vancey, M.K. Epidural analgesia and fetal head malposition at vaginal delivery / M.K. Vancey, J. Zhand, D.L. Schweitzer // *Obstet. Gynecol.* – 2001. – Vol. 97, №4. – P. 608-612.

279. vanRooijen M., Hansson L.O., Frostegard J., Silveira A., Hamsten A., Bremme K. Treatment with combined oral contraceptives induces a rise in serum C-reactive protein in the absence of a general inflammatory response // *J Thromb Haemost.* 2006; 4(1): 77-82.

280. Viscomi C.M. Анестезия в акушерстве. // в кн. Региональная анестезия: самое необходимое в анестезиологии. М., 2013. - С. 221-236.

281. Walker, N.C. The relationship between method of pain management during labor and birth outcomes / N.C. Walker, B. O'Brien // *Clinical Nursing Research.* – 1999. – Vol. 8, №2. - P. 119-134.

282. Watkins, L.R. Glia: a novel drug discovery target for clinical pain / L.R. Watkins, S.F. Maier // *Nature Rev. Drug. Discovery.* – 2003. – Vol. 2. – P. 973-985.

283. Wilder, R.L., Elenkov, IJ. (2001) Ovarian and sympathoadrenal hormones, pregnancy, and autoimmune disease// *Immunology*, 3rd ed, SanDiego, C, 2001. P. 421—431.

284. Writer, W.D. Neonatal outcome and mode of delivery after epidural analgesia for labour with ropivacaine and bupivacaine: a prospective metaanalysis / W.D. Writer, R. Stienstra, J.M. Eddleston, S.P. Gatt et al. // *British journal of anaesthesia.* – 1998. – Vol. 81, Issue 5. – P. 713-717.

285. Zanardo V., Nicolussi S., Giacomini C., Faggian D., Favaro F., Plebani M. Labor pain effects on colostrum milk beta-endorphin concentrations of lactating mothers // *Neonatology*, 2001. Vol.79, №2, P. 87-90.

286. Zulet M.A., Puchau B., Navarro C. et al. Inflammatory biomarkers: the link between obesity and associated pathologies // *NutrHosp* 2007; 22 (5): 511-527

ПРИЛОЖЕНИЯ


УТВЕРЖДАЮ
Ректор
ФГБОУ ВО РостГМУ
Минздрава России
проф. С.В. Шляк




АКТ

об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: Комплексная оценка динамики ряда факторов врожденного иммунитета при измененном функциональном состоянии организма у самок крыс и их потомства, подвергнутого аллогенному воздействию накануне родов.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация «Факторы врожденного иммунитета у самок крыс и их потомства при нормальных родах и болевой стимуляции».
3. Исполнитель: аспирант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России М. В. Абрамовой.
4. Дата использования предложения: с сентября 2015 года
5. Эффективность внедрения:
Сведения о реакции факторов врожденного иммунитета на острую боль на фоне измененной реактивности организма расширяют представления обучаемых о патогенезе этого патологического процесса.

Зав. кафедрой микробиологии и вирусологии №2
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России  Г.Г. Харсеева

Автор предложения

 М.В. Абрамова



АКТ

об использовании предложения в учебном процессе

1. Наименование предложения: Комплексная оценка динамики ряда факторов врожденного иммунитета при измененном функциональном состоянии организма у самок крыс и их потомства, подвергнутых аллогенному воздействию накануне родов.
2. Наименование научно-исследовательской работы, в рамках которой разработано предложение: кандидатская диссертация «Факторы врожденного иммунитета у самок крыс и их потомства при нормальных родах и болевой стимуляции».
3. Исполнитель: аспирант кафедры патологической физиологии ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России М. В. Абрамовой.
4. Дата использования предложения: с сентября 2015 года
5. Эффективность внедрения:
Сведения о реакции факторов врожденного иммунитета на острую боль на фоне измененной реактивности организма расширяют представления обучаемых о патогенезе этого патологического процесса.

Зав. кафедрой анестезиологии и реаниматологии
ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России


В.М. Женило

Автор предложения


М.В. Абрамова

