

ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВНУТРИУТРОБНОЙ ГИПОКСИИ ПЛОДА (экспериментальное исследование)

Проведено изучение влияния перфторорганических соединений на течение и исход беременности в эксперименте. Доказана эффективность применения перфторана в дозе 10 мг/кг массы для лечения хронической внутриутробной гипоксии плода. Отмечен благоприятный эффект на состояние перекисного окисления липидов, а также родившихся плодов и обоснован механизм реализации данного эффекта.

В настоящее время гипоксия плода продолжает занимать ведущее место в структуре перинатальной смертности, являясь в 40–70% случаев причиной мертворождений и ранней детской смертности. Патологические изменения, которые приводят к летальным исходам, в 55–63% случаев возникают в антенатальном периоде и только в 18–21% - во время родов [6, 8, 11].

Перинатальная гипоксия является причиной 31–88% поврежденной центральной нервной системы у плода и новорожденного, которые в свою очередь приводят к нарушениям соматического и нервно-психического развития детей. Установлено, что степень выраженности этих патологических отклонений зависит от длительности и тяжести внутриутробной гипоксии [5, 8, 10].

Следовательно, перинатальная патология в значительной степени предопределяет постнатальное развитие ребенка, а затем и взрослого человека. Это ставит гипоксию плода за рамки чисто медицинских проблем и придает ей глубокий социальный смысл [2].

Определенная стабилизация цифр перинатальной заболеваемости и смертности, наблюдаемая в последние годы у нас в стране и за рубежом [9], свидетельствует о том, что существующие методы профилактики и лечения гипоксии плода не всегда позволяют достичь желаемого результата. В связи с этим изыскание новых подходов к терапии кислородного голодания плода является важной задачей практического здравоохранения [1, 6].

Решение этой актуальнейшей для акушерства проблемы дикту-

ет необходимость поиска новых подходов в диагностике и лечении данной патологии.

Целью настоящего исследования является изучение возможности применения в эксперименте перфторорганических соединений для лечения внутриутробной гипоксии плода.

Перфторуглероды обладают рядом уникальных свойств, которые предопределяют их более широкое применение в различных отраслях медицины (хирургия, офтальмология, травматология, трансплантология и др.). Одним из наиболее изученных представителей данного класса веществ является отечественный препарат Перфторан, который по ряду параметров превосходит зарубежные аналоги.

По своим химико-физическим свойствам перфторан представляет собой суспензию голубого цвета. Он состоит из двух совместимых перфторуглеродов, стабилизатора эмульсии, солей, глицерина и воды. Ядром микрочастицы является углеродосодержащий комплекс, способный связать и транспортировать кислород и углекислый газ. Комплекс окружен поверхностно-активным веществом. Диаметр частицы в среднем равен 0,3 мкм. Это примерно в 50 раз меньше эритроцита, что позволяет доставлять кислород к тем тканям, куда он не может проникнуть обычным путем. Онкотическое давление частиц эмульсии - 25 мм вод.ст., осмолярность - не более 320 мОсм/л, рН - 7,4, кислородная емкость P_{O_2} , 760 мм.рт.ст. при температуре 20 градусов Цельсия - 7 об %, растворимость углекислого газа при тех же условиях - 60 об % [3].

Доклинические исследования показали, что перфторан:

а) осуществляет кислородо-транспортную функцию на уровне микроциркуляции, то есть снабжает кислородом ткани через наиболее мелкие капилляры, увеличивая тем самым эффективную площадь сосудов и минутный объем кровотока;

б) создает условия для более быстрого и полного освобождения кислорода из эритроцитов в результате большего значения константы диффузии для кислорода и углекислого газа в эмульсии и путем сдвига кривой диссоциации оксигемоглобина;

в) уменьшает вязкость системы «эритроциты - плазма - эмульсия», увеличивая тем самым минутный объем кровотока;

г) осуществляет протекторную функцию – стабилизирует трансмембранный градиент K^+ , Ca^{++} , H^+ и воды, повышает устойчивость клеточных мембран к действию осмотических, механических и химических повреждающих агентов, уменьшает гемолиз и степень агрегации эритроцитов и, как следствие, улучшает реологические свойства системы «эритроциты- плазма- эмульсия».

До последнего времени данных о применении перфторуглеродов в акушерской и гинекологической практике в доступной отечественной литературе мы не нашли. В зарубежных изданиях встречаются лишь единичные сообщения, посвященные этой проблеме, однако по ним не представляется возможным глубоко и всесторонне изучить данный вопрос.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на беременных половозрелых крольчихах породы шиншилла массой 2.8-3.9 кг. Выбор данного вида животных обусловлен наличием у них гемохориального типа строения плаценты аналогично человеческому.

Всего в эксперименте использовали 12 беременных крольчих, которые были распределены на 3

группы по 4 животных в каждой.

В I группе (основная) - лечение внутриутробной гипоксии проводили перфтораном; во II - (группа сравнения) вместо перфторана вводили физраствор по аналогичной методике; в III - (контрольная группа) лечение внутриутробной гипоксии плодов не проводили.

Известно, что у самок кролика плацента начинает формироваться с 10-го дня беременности и процесс этот, в основном, завершается к 18-20-му дню. Нарушение маточно-плацентарного кровотока в этот период приводит к гипоксии плода и относительно устойчивому отставанию плодов в развитии. В связи с этим для создания у самок кролика плацентарной недостаточности и хронической гипоксии плодов мы производили нарушение маточно-плацентарного кровотока путем перевязки около 30 % преплацентарных сосудов каждого плодово-места на 18-й день беременности во время лапаротомии. Чревосечение производили в асептических условиях под внутривенной анестезией тиопенталом натрия из расчета 1 мг/кг массы тела животного. В операционную рану выводили оба рога матки с плодами. После подсчета количества плодов и их визуальной оценки производили перевязку плацентарных сосудов у всех плодово-места в одном роге матки. Интактные плоды второго рога матки составляли контрольную группу. Это давало возможность у одного и того же животного изучать реакции плодов одного помета, как находившихся в условиях хронической гипоксии, так и нормально развивающихся.

Для лечения внутриутробной гипоксии плодов на 21-е, 24-е и 27-е сутки беременности крольчихам в краевую вену уха вводили эмульсию перфторана из расчета 10 мг/кг массы тела. Для повышения эффективности действия препарата животные параллельно с его введением в течение 2-х часов дышали увлажненным кислородом. О функциональном состоянии плодов мы судили по изменениям их сердечной деятельности. Состояние самок оценива-

ли по их поведенческим реакциям, динамике массы тела, данным ЭКГ. На 28-й день беременности под общей внутривенной тиопенталовой анестезией проводили ре-лапаротомию и имплантацию серебряных электродов всем плодам по методике, разработанной Н.Н. Константиновой [4]. Электрод из пластинчатого серебра в форме «копья» размером 5x2 мм после вскрытия полости матки и амниотомии вводили под визуальным контролем в межлопаточную область плода и фиксировали его к коже. Плодные оболочки и матку ушивали кистным швом.

На следующий день в течение 30 минут производили непрерывную синхронную запись ЭКГ самок и плодов. По окончании записи под общей внутривенной тиопенталовой анестезией самок выполняли третью лапаротомию, извлекали плоды и плаценты, измеряли, взвешивали и фиксировали в жидком азоте. Параллельно производили забор венозной крови, части печени крольчихи и смешанной крови плодов для биохимических исследований. После забора проб для исследований животных усыпляли введением тиопентала натрия.

В исследуемых образцах (кровь и печень матери; мозг, печень плода и ткань плаценты) определяли содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) - малонового альдегида (МДА), а также уровни восстановленного глутатиона (G-SH) и активность антиперекисных ферментов – глутатионредуктазы (ГР), глутатионпероксидазы (ГП) и каталазы (К).

Математическую обработку результатов исследования проводили по общеизвестным методам вариационной статистики. Достоверность полученных результатов определяли с помощью таблиц Фишера-Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при $p < 0.05$ - $p < 0.001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате исследования получены новые данные о влиянии перфторуглеродов на внутриут-

Исход беременности и состояние родившихся плодов.

группы животных	количество животных	исход доношенн.	исход недоношенн.	количество крольчат	из них	
					живых	мертвых
Основная группа	4	4	–	17	15	2
Группа сравнения	4	2	2	17	9	8
Контрольная	4	3	1	18	4	14

робную гипоксию плодов. В данной работе мы приводим лишь некоторые из них.

Так, при анализе функционального состояния плодов установлено, число сердечных сокращений (ЧСС) и флюктуация сердечного ритма (ФСР) нормально развивающихся плодов при применении перфторана и физиологического раствора достоверно не отличались. Перевязка преплацентарных сосудов приводила к урежению ЧСС (на 17.4%) и увеличению ФСР (на 87.9%). На фоне лечения гипоксии перфтораном наблюдалась нормализация сердечного ритма плодов, отмечалось незначительное уменьшение ЧСС крольчат (на 8.8%).

В основной группе животных после извлечения плодов из плододоместилицы на 29-й день беременности обнаружено, что 15 крольчат из 17 были живыми. Все они по своим весовым характеристикам соответствовали гестационному сроку, были доношенными, активными, без видимых пороков развития и уродств. 2 крольчонка из этой группы были мертвыми. Причем характер изменений в них свидетельствовал о том, что летальный исход наступил вскоре после нарушения маточно-плацентарного кровообращения в плододоместилице (плоды были мацерированы, с тенденцией к лизису) (таблица).

В отличие от них, в группе сравнения указанным способом извлечено 17 крольчат, однако живых среди них было только 9. Выжившие крольчата по сравнению с крольчатами основной группы животных были меньше по весу, слабыми, хилыми, малоактивными, погибали вскоре после извлечения из матки, однако видимых пороков развития у них также не наблюдалось.

В контрольной группе извлече-

но 18 крольчат, из которых 14 были мертвыми и только 4 живыми. Выжившие крольчата также отставали в своем развитии, были значительно меньше по своим размерам, с признаками недоношенности и погибли вскоре после рождения.

Характеристика плодов свидетельствует о том, что перевязка преплацентарных сосудов приводила к их отставанию в развитии. На 29-й день беременности масса плодов, развивавшихся в условиях хронической гипоксии, была на 34.9%, масса плацент – на 28.6%, а длина – на 20.3% меньше аналогичных показателей нормально развивавшихся плодов. Имели меньшую массу и отдельные органы плодов (мозг – на 20.9%, печень – на 15.7%). Смертность плодов при плацентарной недостаточности без лечения была в 3 раза выше, чем у интактных плодов.

Внутривенное введение перфторана самкам привело к увеличению выживаемости плодов в 4 раза по сравнению с плодами, матери которых получали физиологический раствор. Показатели смертности: массы плодов и их плацент не отличались достоверно от аналогичных показателей интактных плодов. При лечении гипоксии перфтораном отмечали увеличение массы плодов на 31,6%, в том числе массы печени – на 20.2%, массы мозга – на 13.5% и длины плодов – на 21.2%.

В качестве критерия эффективности применения ПФУ для лечения внутриутробной гипоксии определяли интенсивность реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также содержание восстановленного глутатиона в печени и плаценте.

Так, выявленные нами различия в оценке крольчат (жизнеспособность, вес, доношенность) полу-

лучавших и не получавших перфторан коррелируют с результатами биохимических исследований в этих группах.

Результаты исследования интенсивности реакций ПОЛ при гипоксии показали, что в клетках печени плодов группы сравнения уровень МДА был на 14-17% выше, чем в гепатоцитах основной группы. Такие изменения продуктов ПОЛ свидетельствуют о более высокой интенсивности реакций свободнорадикального окисления (СРО), вызванных деструктивным действием гипоксии. Средняя концентрация восстановленного глутатиона в органах плодов, для лечения которых применялся перфторан, выше (в печени – 1.54 мкмоль/г; в плаценте – 2.15 мкмоль/г), чем в контрольной группе (соответственно – 1.48 и 1.67 мкмоль/г).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что данная модель хронической гипоксии позволяет изучать в эксперименте особенности течения беременности, состояние внутриутробного развития плода и оценивать эффективность проводимой терапии.

Исходя из приведенных выше данных видно, что в условиях экспериментальной хронической плацентарной недостаточности наблюдаются выраженные изменения показателей ПОЛ в органах и тканях плода (в первую очередь в мозге и печени), что подтверждает необходимость применения антиоксидантов в лечении гипоксии плода. Указанные изменения коррелируют с показателями крольчат в тех группах, самкам которых лечение внутриутробной гипоксии не проводилось. Применение ПФУ в дозе

10 мг/кг в условиях экспериментальной гипоксии плода приводит к нормализации состояния плода по данным ЭКГ, резкому снижению частоты внутриутробной гибели плода, увеличению массы плода и плаценты, нормализации патологических изменений в системе ПОЛ. Внутривенное применение ПФУ в эксперименте не приводило к видимым дефектам развития плода.

Биологические эффекты перфторуглеродной эмульсии во многом обусловлены ее физико-химическими свойствами. Положительное влияние перфторана при введении в кровеносное русло связано со способностью перфторуглеродов растворять кислород и углекислый газ, усиливать диффузию газа между кровью и органами. Благодаря субмикронному размеру эмульсии перфторана частицы могут глубоко проникать в гипоксическую ткань, устраняя нарушение микроциркуляции, когда часть капилляров становится непроходимой для эритроцитов.

ВЫВОДЫ

Таким образом проведенное исследование показало положительное влияние перфторуглеродов на состояние внутриутробного плода в условиях экспериментальной хронической гипоксии, что позволяет рекомендовать дальнейшее изучение применения перфторана в комплексном лечении данной патологии во время беременности. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности проведения дальнейших исследований по изучению возможности применения перфторуглеродных соединений в акушерстве и гинекологии.

Литература.

1. Абрамченко В.В., Костюшов Е.В., Щербина Л.А. Антиоксиданты и антигипоксиканты в акушерстве. - СПб. 1995. - 120с.

2. Барашнев Ю.И., Антонов А.Г., Кудашов Н.И. Перинатальная патология у новорожденных // Акушерство и гинекология. - 1994. - 4. - с. 24-31.

3. Воробьев С.И. Использование субмикронных перфторуглеродных

эмульсий, стабилизированных проксанолом, в биологии и медицине // Дисс. ... докт. мед. наук.-М., 1994. - 225с.

4. Константинова Н.Н. - Методика одноплюсного отведения биотоков сердца беременного животного и плода // Физиол. журнал СССР. - 1960. - Т. 46, №6. - с. 750-752.

5. Кулаков В.И., Червакова Т.В., Болдин И.А., Тохиян А.А. Итоги диссертационных работ по акушерству и гинекологии, утвержденных ВАК в 1994г // Акушерство и гинекология, - 1996. - №1. - с. 54-56.

6. Савельева Г.М., Сичинава Л.Г., Дживелегова Г.Д., Шалина Г.И. Перинатальные гипоксические поражения центральной нервной системы у новорожденных // Вестник РАМН. - 1994. - №1. - с. 20-23.

7. Савельева Г.М., Сичинава Л.Г. Гипоксические перинатальные повреждения центральной нервной системы и пути их снижения // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. - 1995. - Т. 40. №3. - с. 19-23.

8. Сидорова И.С., Макаров И.О. Акушерские факторы гипоксических повреждений плода и тактика родоразрешения // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. - Т. 40, 1995. - №2. - с. 25-31.

9. Сидорова И.С., Полубенцев Д.Ю. Состояние новорожденных в зависимости от пренатальных показателей фето-плацентарного и маточно-плацентарного кровотока // Рос. вестник перинатологии и педиатрии. - Т. 40. 1995. - №4. - с. 14-17.

10. Стрижаков А.Н., Мусаев З.М. Клинико-диагностическое значение оценки кровотока в системе мать - плацента - плод при ОПГ-гестозе // Акушерство и гинекология - 1993. - №3. - с. 12-14.

11. Фролова О.Г., Николаева Е.И., Токова З.З. Медико-социальные аспекты здоровья матери и новорожденного // Акушерство и гинекология. - 1994. - №4. - с. 34-37.