

DOI: <https://doi.org/10.17816/PED11637-44>

## ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ПЛОДОВО-ПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСА ПРИ НЕОДНОКРАТНОМ УВЕЛИЧЕНИИ ОБЪЕМА ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ КРОВИ У САМКИ КРОЛИКА

© Н.Г. Павлова, А.А. Яковлева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования  
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Павлова Н.Г., Яковлева А.А. Изменение параметров плодово-плацентарного комплекса при неоднократном увеличении объема циркулирующей крови у самки кролика // Педиатр. – 2020. – Т. 11. – № 6. – С. 37–44. <https://doi.org/10.17816/PED11637-44>

Поступила: 20.10.2020

Одобрена: 18.11.2020

Принята к печати: 23.12.2020

Одним из обязательных этапов внедрения новых препаратов в акушерскую практику являются доклинические испытания, цель которых — изучить влияние лекарственных средств на развитие плодов и плацент. При проведении экспериментальных исследований основную группу животных, получающих лекарственный препарат, сопоставляют с контрольной группой животных, лекарственных средств не получающих. При этом объем испытуемого лекарственного средства, сам по себе, может значительно менять объем циркулирующей крови (ОЦК) экспериментального животного, особенно мелкого, а такое введение, повторенное многократно в течение нескольких дней, может кумулировать этот эффект, оказывая неблагоприятное влияние на функциональное состояние плода. На модели хронической плацентарной недостаточности, созданной на 18-й день беременности у самок кролика путем перевязки 1/3 преплацентарных сосудов в одном роге матки, изучено влияние на развитие мозга и плацент нормально развитых и отставших в развитии плодов многократных ежедневных (19–28-й день беременности) инфузий самкам физиологического раствора в объеме, составляющем 6 % ОЦК животного, и сопоставимом с объемом лекарственных препаратов, используемых при лечении плацентарной недостаточности в клинической практике (опытная группа самок). Установлено, что многократное ежедневное введение самке кролика во второй половине беременности физиологического раствора, составляющего около 6 % ОЦК, вызывает нарушение функционального состояния как нормально развитых ее плодов, так и, в еще большей степени, отставших в развитии. Это проявляется пониженной в 1,4 раза выживаемостью плодов в интактном роге матки и более выраженным нарушением метаболизма мозга у плодов интактного и подопытного рога по сравнению с таковыми плодов контрольной группы самок.

**Ключевые слова:** самки кролика; плод; плацентарная недостаточность; физиологический раствор.

## FETOPLACENTAL COMPLEX PARAMETERS' CHANGES DURING REPEATED INCREASE OF THE BLOOD VOLUME IN FEMALE RABBITS

© N.G. Pavlova, A.A. Yakovleva

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

For citation: Pavlova NG, Yakovleva AA. Fetoplacental complex parameters' changes during repeated increase of the blood volume in female rabbits. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2020;11(6):37-44. <https://doi.org/10.17816/PED11637-44>

Received: 20.10.2020

Revised: 18.11.2020

Accepted: 23.12.2020

One of the mandatory stages of introducing new drugs into obstetric practice is preclinical trials, the purpose of which is to study the effect of drugs on the development of fetuses and placentas. When conducting experimental studies, the main group of animals receiving the drug is compared with the control group of animals that do not receive drugs. At the same time, the volume of the test drug itself can significantly change the blood volume (BV) of an experimental animal, especially a small one, and such administration repeated repeatedly over several days can accumulate this effect, having an adverse effect on the functional state of the fetus. A model of chronic placental insufficiency created on the 18<sup>th</sup> day of pregnancy in female rabbits by ligating 1/3 of the preplacental vessels in one uterine horn was used to study the effect on the development of the brain and placenta of normally developed and retarded fetuses of multiple daily (19–28 days of pregnancy) infusions of saline solution to females in a volume of 6% of the animal's BV and comparable to the volume of medications used in the treatment of placental insufficiency in clinical practice (main group of rabbits). It was found that repeated daily administration of saline solution to a female rabbit in the second half of pregnancy, which is about 6% of the BV, causes a violation of the functional state of her normally developed and, to an even greater extent, retarded fetuses. This is manifested by a 1.4-fold reduced survival rate of fetuses in the intact horn of the uterus and a more pronounced violation of brain metabolism in fetuses of the intact and experimental horns compared to those of the control group of females.

**Keywords:** rabbit female; fetus; placental insufficiency; blood volume.

Ключевая функция плаценты, которая обеспечивается плацентарным кровообращением, — это газообмен между матерью и плодом, а одним из факторов, способствующим увеличению поступления материнской крови к плоду, является объемная скорость кровотока через фетальную часть плаценты [10]. При нарушении регуляции плацентарного кровообращения у плода развивается гипоксия, приводящая к отставанию его роста и развития.

Плацентарная недостаточность является актуальной проблемой акушерства. Она характеризуется как универсальная реакция на различные заболевания матери, акушерские осложнения беременности, заболевания плода, в патогенезе которых играют важную роль сосудистые нарушения. Основным проявлением дисфункции плаценты считают расстройство ее кровообращения, в результате которого нарушается адекватное снабжение плода кислородом и питательными веществами, достаточное для его роста и развития в различные сроки беременности. Наиболее грозное осложнение хронической гипоксии плода — нарушение развития мозга, вследствие которого развиваются перинатальные неврологические осложнения различной степени тяжести [14]. У отстающих в развитии плодов имеется большой риск развития когнитивных нарушений, проявляющихся даже в школьном возрасте [12].

Несмотря на то что в последние годы значительно расширился арсенал лекарственных средств, направленных на коррекцию плацентарной дисфункции, спектр уже разрешенных к применению в акушерской практике препаратов ограничен. Одним из обязательных этапов внедрения новых препаратов являются доклинические испытания, цель которых — изучить влияние лекарственных средств на развитие плодов и плацент. При проведении экспериментальных исследований основную группу животных, получающих лекарственный препарат, сопоставляют с контрольной группой животных, лекарственных средств не получающих. При этом объем испытуемого лекарственного средства, сам по себе, может значительно менять объем циркулирующей крови (ОЦК) экспериментального животного, особенно мелкого, а такое введение, повторенное многократно в течение нескольких дней, может кумулировать этот эффект, оказывая неблагоприятное влияние на функциональное состояние плода. Внутрисосудистое введение дополнительного объема жидкости почти всегда сопровождается рядом рефлекторных реакций в материнском организме, в числе которых реакции сосудов матки. При этом функциональное состояние плодов, особенно при беременности,

осложненной плацентарной недостаточностью, может меняться весьма значительно. Это обстоятельство не всегда учитывают, определяя контрольную группу в экспериментальных исследованиях, проводимых на некрупных животных, например самках кролика.

*Цель настоящего исследования* — изучить влияние многократных инфузий физиологического раствора в объеме, сопоставимом с объемом лекарственных препаратов, используемых при лечении плацентарной недостаточности, на развитие плацент и мозга нормально развитых и отстающих в развитии плодов самок кролика во второй половине беременности.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 21 самке кролика породы Шиншилла (*Oryctolagus cuniculus*) массой 3500–3800 г. Животные получены из ФГУП ПЛЖ «Рапполово» (Ленинградская область). Все животные были вергильными и содержались в регламентированных условиях вивария ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта» на стандартном рационе питания. Спаривание самок с самцами проводили в одно и то же время дня. Первым днем беременности считался следующий день после спаривания.

Для создания плацентарной недостаточности, сопровождающейся задержкой развития плодов, всем животным на 18-й день беременности, соответствующий началу второй половины беременности у человека, под эфирным масочным наркозом в условиях асептики осуществляли чревосечение. Матку с плодами выводили в операционную рану, подсчитывали количество плодов в обоих рогах матки, после чего один рог (интактный) погружали в брюшную полость, а в другом роге производили перевязку примерно 1/3 преплацентарных сосудов у каждого второго плодовместилища. Брюшную полость ушивали, животные самостоятельно выходили из наркоза. В последующем самок содержали в стандартных условиях.

Рандомизацию животных осуществляли методом последовательных номеров, представляющим собой метод простой случайной выборки (интернет-руководство по статистике для медико-биологических исследований). Все животные были пронумерованы по порядку. Затем с помощью функции Excel «СЛУЧМЕЖДУ» беременные самки кролика были разделены на 2 группы. Самки I группы ( $n = 9$ ) после перевязки преплацентарных сосудов до конца беременности оставались интактными. Животным II группы ( $n = 12$ ) с 19-го по 28-й дни беременности (10 дней) в одно и то же время суток в латеральную

ушную вену медленно одномоментно вводили 14,0 мл 0,9 % раствора хлорида натрия, составляющего 6 % ОЦК самки кролика. Инфузии физиологического раствора производили животным, находящимся в естественном положении (сидя).

На 29-й день беременности под внутривенным тиопенталовым наркозом путем воздушной эмболии производили эвтаназию животных с последующим подсчетом выживших интактных и отставших в развитии плодов, взвешиванием плацент и плодов и забором биологического материала (ткани мозга плодов и плацент) для биохимических исследований.

В тканях мозга и плацент определяли уровень белка, общую антиоксидантную активность (ОАА), свободнорадикальное окисление (СРО), активность глутатионпероксидазы (ГП). В ткани мозга плодов исследовали специфические для мозга ферменты — ВВ-изоформу креатинкиназы (ВВ-КК) и нейроспецифическую енолазу. Определение содержания общего белка в пробах осуществляли на автоматическом биохимическом анализаторе Alcyon 300 (фирмы Abbott, США) с использованием тест-систем фирмы Thermoscientific (Финляндия). Для изучения интенсивности СРО был использован метод хемилюминесценции. Интенсивность СРО оценивали по величине  $H_2O_2$  — индуцируемой хемилюминесценции, измеряемой на хемилюминометре Emilite-1105 (Россия). Для оценки состояния антиоксидантной системы использовали определение общей антиоксидантной активности (ОАА) в гомогенатах тканей плодов, отражающей способность тормозить СРО субстрата в модельной системе [2]. ОАА тканей мозга определяли методом хемилюминесценции в системе, содержащей гомогенат тканей плодов, фосфатный буфер (Ph 7,4) и 1,01 мМ раствор  $FeSO_4$ . Инициацию процесса вызывали 2 % раствором  $H_2O_2$ . Антиоксидантный потенциал пробы коррелировал с величиной тангенса угла наклона кривой на стадии максимального убывания вспышки и измерялся в условных единицах. Принцип метода определения ГП в тканях плацент и мозга плодов заключался в способности фермента окислять восстановленный глутатион в присутствии гидроперекиси третичного бутила. Активность фермента выражали в мМоль восстановленного глутатиона в минуту на 1 мг белка [4]. Определение активности ВВ-КК в центрифугате тканей мозга осуществляли на автоматическом биохимическом анализаторе Alcyon 300 (фирмы Abbott, США) с использованием тест-систем СК-MB FS фирмы DiaSys (Германия). Количественное опре-

деление содержания нейроспецифической енолазы в ткани мозга плодов кролика осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием набора CanAg NSE EIA (Швеция), предназначенного для количественного определения нейроспецифической енолазы (NSE) в человеческой сыворотке [3, 6].

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica v. 10.0. Данные приводили в виде  $M \pm SE$  (средняя арифметическая  $\pm$  ошибка средней арифметической), а в ряде случаев, в виде  $Me$  (медианы). Проверку характера распределения данных производили путем расчета критерия Колмогорова–Смирнова и Лиллиефорса. Сравнение данных зависимых выборок проводили при помощи  $T$ -критерия Стьюдента, критериев знаков и Вилкоксона. Сравнение независимых выборок осуществляли при помощи  $U$ -критерия Манна–Уитни.

Критический уровень достоверности нулевой гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным вероятности не менее 95 % ( $p \leq 0,05$ ), что принято считать стандартом в медико-биологических исследованиях.

Научно-исследовательская работа проведена в соответствии с Федеральным законом от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»<sup>1</sup>, «Правилами лабораторной практики»<sup>2,3</sup>, Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию вивариев<sup>4</sup> и решением Локального этического комитета ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта», регламентирующими проведение научно-исследовательских работ с использованием лабораторных животных<sup>5</sup>.

Этические принципы обращения с лабораторными животными соблюдались в соответствии с European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (1996) [11]. Перед началом исследования его план и стандартные операционные процедуры были рассмотрены и утверждены Этическим комитетом ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта».

<sup>1</sup> Федеральный закон от 12.04.2010 №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

<sup>2</sup> Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»..

<sup>3</sup> Приказ Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 02 декабря 2009 г. № 544-ст. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

<sup>4</sup> Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев. Утверждены Главным Государственным санитарным врачом 06.04.1973 № 1045-73.

<sup>5</sup> Протокол № 64 от 01.04.2014.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведена выживаемость интактных и подопытных плодов самок, получавших (II группа) и не получавших (I группа) физиологический раствор. Выживаемость плодов в подопытном роге матки у животных I группы была на 29,3 % меньше, чем в интактном роге матки ( $p < 0,05$ ), а у II группы животных их выживаемость была равнозначной. При этом доля выживших плодов к концу исследования в интактном роге самок II группы была в 1,4 раза меньше ( $p < 0,01$ ), чем таковая самок I группы, у которых выжило большинство плодов. Доля выживших плодов в подопытном роге обеих групп самок не различалась.

У подопытных плодов самок I группы перевязка  $1/3$  преплацентарных сосудов вызывала развитие плацентарной недостаточности: они отставали по массе от интактных плодов на 11,8 % ( $p < 0,05$ ), хотя массы их плацент и мозга были равнозначны (табл. 2). Массы плодов, их мозга и плацент в интактном и подопытном роге матки самок II группы не различались.

В табл. 3 приведены биохимические показатели, характеризующие процессы метаболизма, наблюдающиеся в ткани мозга интактных и подопытных плодов самок контрольной и основной групп.

Известно, что развитие плацентарной недостаточности может сопровождаться развитием у плодов, в том числе в ткани их мозга, окислительного стресса, который может быть связан с нарушением баланса свободно-радикальных процессов и эффективности антиоксидантной защиты [1]. Окислительный стресс в зависимости от интенсивности и длительности воздействия повреждающего фактора может вызывать, на первом этапе, формирование адаптивных механизмов, заключающихся в появлении нового соотношения между процессами свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты, а в дальнейшем, гибель клеток. При этом значительная роль в системе антиоксидантной защиты принадлежит ее глутатионзависимому звену [5].

Активность ГП у подопытных плодов самок I группы была почти в 2 раза выше ( $p < 0,05$ ) по сравнению с таковой в мозге интактных плодов. Известно, что при окислительном стрессе, который наблюдается у подопытных плодов, нарушается баланс между про- и антиоксидантными системами биологического объекта как за счет неферментативного звена антиоксидантной защиты, о котором можно судить по значениям интегральных показате-

Таблица 1 / Table 1

Выживаемость плодов, развивавшихся в условиях нормального (интактные) и уменьшенного (подопытные) плацентарного кровообращения, самок I и II групп

Survival rate of fetuses that developed under normal (intact) and reduced (experimental) placental circulation in group I and II rabbit females

Группы животных / Groups of animals	Количество живых плодов / Number of live fetuses			
	интактные, $n = 100$ / intact		подопытные, $n = 24$ / experimental	
	18-й день / Day 18	29-й день / Day 29	18-й день / Day 18	29-й день / Day 29
I группа / Group I	39	34	19	11*
II группа / Group II	61	39**	23	16

\*  $p < 0,05$  дано по сравнению с интактными плодами; \*\*  $p < 0,01$  дано по сравнению с интактными плодами I группы.

\*  $p < 0,05$  for the comparison with the intact fetuses; \*\*  $p < 0,01$  given in comparison with intact fetuses of group I.

Таблица 2 / Table 2

Массы плацент, плодов и мозга плодов в интактном и подопытном роге матки у самок I и II групп

Placental, fetal and fetal brain weight in intact and experimental uterine horn in group I and II rabbit females

Масса / Weight	I группа / Group I		II группа / Group II	
	интактные / intact	подопытные / experimental	интактные / intact	подопытные / experimental
Плодов, г / Fetuses, g	$45,20 \pm 1,35$ ( $n = 14$ )	$39,89 \pm 1,77^*$ ( $n = 11$ )	$41,26 \pm 1,60$ ( $n = 16$ )	$36,41 \pm 2,31$ ( $n = 15$ )
Плацент, г / Placenta, g	$5,96 \pm 0,28$ ( $n = 14$ )	$5,21 \pm 0,29$ ( $n = 11$ )	$5,43 \pm 0,22$ ( $n = 16$ )	$4,85 \pm 0,28$ ( $n = 15$ )
Мозга, г / Brain, g	$1,13 \pm 0,02$ ( $n = 14$ )	$1,07 \pm 0,02$ ( $n = 11$ )	$1,07 \pm 0,03$ ( $n = 16$ )	$1,03 \pm 0,03$ ( $n = 15$ )

\*  $p < 0,05$  дано по сравнению с интактными плодами.

Примечание.  $n$  — количество плодов.

\*  $p < 0,05$  given in comparison with intact fetuses.

Note.  $n$  — number of rabbit fetuses.



Таблица 3 / Table 3

Показатели свободнорадикального окисления в ткани мозга интактных и подопытных плодов самок I и II групп  
 Indicators of free radical oxidation in the brain tissue of intact and experimental fetuses of female groups I and II

Биохимические показатели / Biochemical parameters	I группа / Group I		II группа / Group II	
	интактные / intact	подопытные / experimental	интактные / intact	подопытные / experimental
Белок, мг/мл / Protein, mg/ml	4,18 ± 0,11 (n = 14)	4,38 ± 0,12 (n = 10)	4,40 ± 0,12 (n = 15)	4,41 ± 0,12 (n = 14)
Общая антиоксидантная активность, отн. ед. / Total antioxidant activity, rel. units	0,38 ± 0,01 (n = 13)	0,41 ± 0,03 (n = 11)	0,45 ± 0,03** (n = 16)	0,45 ± 0,03 (n = 15)
Свободнорадикальное окисление, отн. ед/мг белка / Free radical oxidation, rel. units/protein mg	23,10 ± 1,60 (n = 14)	20,89 ± 0,50 (n = 9)	27,03 ± 1,66 (n = 15)	29,38 ± 1,52** (n = 14)
Активность глутатионпероксидазы, мк MGSN в мин/мкг белка / Glutathione per- oxidase activity, mcg MGSN min/protein mg	2,45 ± 0,59 (n = 14)	4,81 ± 1,07* (n = 11)	1,53 ± 0,28 (n = 15)	1,16 ± 0,23** (n = 14)
Активность ВВ-изоформы креатинкиназы, ЕД/мг белка / ВВ-КК activity, U/proteinmg	7,41 ± 0,41 (n = 14)	7,57 ± 0,27 (n = 11)	7,6 ± 0,20 (n = 16)	6,48 ± 0,28*,** (n = 15)
Содержание енолазы, мкг/мг белка / Enolasecontent, mcg/proteinmg	2,10 ± 0,11 (n = 14)	2,06 ± 0,10 (n = 11)	2,09 ± 0,11 (n = 15)	2,06 ± 0,11 (n = 16)

\*  $p < 0,05$  дано по сравнению с интактными плодами; \*\*  $p < 0,05$  дано по сравнению с I группой.

Примечание. n — количество плодов

\*  $p < 0.05$  for the comparison with the intact fetuses; \*\*  $p < 0.05$  for the comparison with the I group.

Note. n – number of fetuses.

телей ОАА и СРО, так и ферментативного звена, важным представителем которого является ГП. Увеличение активности ГП у подопытных плодов в нашем случае говорит об изменении активности ферментативного звена антиоксидантной защиты. Активация глутатионзависимого звена антиоксидантной защиты способствовала нормализации процессов СРО, интенсивность которых в тканях мозга подопытных плодов не изменилась, так же как показатель ОАА. Таким образом, у подопытных плодов в используемой нами экспериментальной модели наблюдалось развитие умеренного окислительного стресса, сопровождавшегося компенсаторной активацией в тканях их мозга ферментов глутатионзависимого звена антиоксидантной защиты.

Специфичный для мозга фермент, содержащийся главным образом в астроцитах и нейронах, — ВВ-КК [13]. Многочисленные авторы считают, что на фоне гипоксии наблюдается переход ВВ-КК из мозговой ткани в общий кровоток [17]. Этот факт дает основание считать, что увеличение активности ВВ-КК в крови плодов/новорожденных является маркером повреждения клеток мозга, где активность ВВ-КК снижается. Другим маркером повреждения нейронов может быть нейроспецифическая енолаза, содержание которой в крови

в условиях гипоксии повышено [9]. Равнозначные активности ВВ-КК и содержания енолазы в тканях мозга подопытных и интактных плодов самок I группы, полученные в наших исследованиях, свидетельствуют об отсутствии повреждений клеток мозга у подопытных плодов при данной степени созданной у них гипоксии (табл. 3).

Таким образом, экспериментальная модель хронической плацентарной недостаточности, созданная путем перевязки 1/3 преплацентарных сосудов в одном роге матки самок кролика обеих групп, является адекватной, воспроизводящей условия хронической плацентарной дисфункции, приводящей к формированию отставания в развитии плодов в клинической практике. Это подтверждается как меньшей (на 11,8 %) по сравнению с интактными массой подопытных плодов, так и увеличением в 2 раза активности ГП в ткани их мозга при равнозначной активности ВВ-КК и содержании енолазы в тканях мозга интактных и подопытных плодов контрольной группы самок, что свидетельствует об отсутствии повреждений у них клеток мозга.

Патогенез изменений, происходящих у плодов при изменении у них ОЦК, мало изучен. В исследовании [15] было изучено влияние увеличения ОЦК на недоношенный плод овцы в III триместре беременности, вызванного введением декстрана

(в дозе 20 мл 6 % раствора) непосредственно плоду в нижнюю полую вену. Авторы исследовали в хроническом опыте церебральный кровоток и метаболизм катетеризированных плодов овцы при их нормоксии и гипоксии. Быстрое увеличение ОЦК при нормоксии у плода вызывало уменьшение концентрации гемоглобина и, следовательно, содержания кислорода в артериях плода. При этом артериальное давление и кровоток в мозге плода не изменялись. Авторы полагают, что быстрое увеличение ОЦК вызывает анемию у плода за счет гемоделиции, при которой не успевает развиться компенсаторное увеличение церебрального кровотока, что ведет к развитию гипоксии мозга. При наличии же гипоксии увеличение ОЦК еще больше нарушает снабжение плода кислородом и утяжеляет степень его гипоксии.

У плодов самок, которым производили инфузии физиологического раствора (II группа), отставания в росте подопытных плодов по сравнению с интактными плодами не было (табл. 2). У подопытных и интактных плодов масса тела, плацент и мозга были равнозначными. Не было различий в этой группе и между выживаемостью подопытных и интактных плодов (табл. 1). Однако функциональное состояние этих плодов значительно различалось, показателем чего было их выживание в конце опыта. Так, выживаемость интактных плодов самок II группы была в 1,4 раза меньше таковой у интактных плодов самок I группы ( $p < 0,01$ ).

Активность ВВ-КК в ткани мозга подопытных плодов самок II группы была на 14,6 % меньше, чем у интактных плодов ( $p < 0,01$ ), что по данным литературы может быть связано со снижением скорости метаболических процессов в мозговой ткани плодов, развивающихся в условиях хронической плацентарной недостаточности [16].

В тканях мозга интактных плодов II группы самок значения ОАА были выше по сравнению с таковыми интактных плодов самок I группы ( $p < 0,01$ ), что свидетельствует, что многократное введение животным жидкости в объеме 14,0 мл приводило к изменению активности неферментативного звена антиоксидантной защиты и было значимым для метаболизма мозговой ткани интактных плодов II группы. Значения СРО в ткани мозга подопытных плодов самок II группы были в 1,4 раза выше, а активность ГП в 4,1 раза ниже по отношению к таковой подопытных плодов самок I группы. Следовательно, в ткани мозга подопытных плодов II группы окислительный стресс сопровождался подавлением активности ГП и увеличением СРО, что свидетельствует о развитии

окислительного стресса большей интенсивности по отношению к таковому подопытных плодов I группы.

Активность ВВ-КК в ткани мозга подопытных плодов II группы животных была почти в 1,2 раза ниже по сравнению с таковой подопытных плодов I группы ( $p < 0,05$ ). Снижение активности ВВ-КК в тканях мозга этих плодов свидетельствует о срыве адаптивно-приспособительных реакций и сопровождается нарушением метаболизма клеток мозга. Содержание енолазы в тканях мозга подопытных и интактных плодов самок I и II группы не различалось (табл. 3).

Известно, что при введении больших объемов жидкости, в том числе и физиологического раствора, скорость их выведения из сосудистого русла относительно небольшая [8]. В доступной литературе отсутствуют данные о значимых изменениях кровообращения при введении малых объемов жидкости в хроническом опыте. По данным Е.М. Шифмана и А.Д. Тиканадзе [7], которые изучали в остром опыте влияние введения малых доз перфорана и физиологического раствора (6 % ОЦК) на процессы, происходящие в микроциркуляторном русле брызжейки крыс, было показано, что на фоне стабильных показателей артериального давления сразу после введения этих растворов на 1-й минуте в артериях наблюдается кратковременное увеличение кровотока, объемная скорость которого к 5-й минуте возвращается к исходному уровню и в последующем конкордантно снижается в обеих группах, составляя через 25–30 мин после введения примерно половину от исходной. Эти исследования показывают, что при незначительных изменениях ОЦК его восстановление происходит довольно быстро. Однако в нашем исследовании видно, что ежедневное введение физиологического раствора, даже в относительно небольших дозах, может значимо менять метаболизм мозга как интактных, так и, еще в большей степени, подопытных плодов.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, многократное ежедневное введение физиологического раствора, составляющего 6 % ОЦК самки кролика, во второй половине беременности, вызывает нарушение функционального состояния нормально развитых и отставших в развитии плодов, что проявляется изменением их выживаемости и нарушением метаболизма мозга. Полученные результаты необходимо учитывать в экспериментальных исследованиях, направленных на доклиническую апробацию лекарственных средств.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Соблюдение этических стандартов.** Этические принципы обращения с лабораторными животными соблюдались в соответствии с European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes [11]. Перед началом исследования его план и стандартные операционные процедуры были рассмотрены и утверждены Этическим комитетом ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О. Отта».

## ЛИТЕРАТУРА

1. Владимир Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 1998. – № 7. – С. 43–51. [Vladimirov YuA. Svobodnye radikaly i antioksidanty. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 1998;(7): 43-51. (In Russ.)]
2. Практикум по свободнорадикальному окислению: учебно-методическое пособие / под ред. Н.Д. Ещенко, М.Н. Масловой. – СПб., 2006. [Praktikum po svobodnoradikal'nomu okisleniju: Uchebno-metodicheskoe posobie. Eshhenko ND, Maslova MN, eds. Saint Petersburg; 2006. (In Russ.)]
3. Кашуро В.А., Батоцыренова Е.Г., Елаева Н.Л., и др. Динамика содержания нейротрофических факторов головного мозга при экспериментальной коме у крыс // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94 – № 5. – С. 695–699. [Kashuro VA, Batotsyrenova EG, Elaeva NL, et al. Neurotrophic factors concentration in rat brain at the experimental coma. *Kazan Medical Journal*. 2013;94(5):695-699. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17816/KMJ1922>.
4. Моин И.М. Простой и чувствительный метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах // Лабораторное дело. – 1986. – Т. 65. – № 12. – С. 724–727. [Moin IM. Prostoi i chuvstvitel'nyi metod opredeleniya glutathionperoksidazy v ehritrotsitakh. *Laboratornoe delo*. 1986;65(12):724-727. (In Russ.)]
5. Прокопенко В.М., Павлова Н.Г. Роль глутатион-зависимых ферментов антиоксидантной защиты в функциональной активности плаценты человека // Акушерство и гинекология. – 2014. – № 11. – С. 62–67. [Prokopenko VM, Pavlova NG. The role of glutathione-dependent antioxidant defense enzymes in the functional activity of the human placenta. *Obstetrics and gynecology*. 2014;(11):62-67. (In Russ.)]
6. Чехонин В.П., Лебедев С.В., Дмитриева Т.Б., и др. Иммуноферментный анализ NSE и GFAP как критерий динамической оценки проницаемости гематоэнцефалического барьера крыс при перинатальном гипоксически-ишемическом поражении ЦНС // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – Т. 136. – № 9. – С. 299–303. [Chekhonin VP, Lebedev SV, Dmitrieva TB, et al. Immunofermentnyy analiz NSE i GFAP kak kriterij dinamicheskoy ocenki pronicaemosti gematoencefalicheskogo bar'era krys pri perinatal'nom gipoksicheski-ishemicheskom porazhenii CNS. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2003;136(9):299-303. (In Russ.)]
7. Шифман Е.М., Тиканадзе А.Д. Инфузионная терапия периоперационного периода: что, кому и сколько? – Петрозаводск: ИнтелТек; 2001. – 40 с. [Shifman EM, Tikanadze AD. Infuzionnaya terapija perioperacionnogo perioda: chto, komu i skol'ko? Petrozavodsk: IntelTek; 2001. – 40 s. (In Russ.)]
8. Altschule MD, Gilligan D. The effects on the cardiovascular system of fluids administered intravenously in man. II. The dynamics of the circulation. *J. Clin. Invest.* 1938;17(4):401-411. <https://doi.org/10.1172/JCI100966>.
9. Andronikou S, Bairaktari E, Vasiliadou AD, et al. Clinical significance of creatine kinase isoenzymes for fetal asphyxia in women at labor. *Fetal Diagn. Ther.* 1995;10(1):1-6. <https://doi.org/10.1159/000264182>.
10. Assali NS, Vaughn DL. Blood volume in pre-eclampsia: fantasy and reality. *Am. J. Obstet. Gynec.* 1977;129(4):355-359. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(77\)90576-2](https://doi.org/10.1016/0002-9378(77)90576-2).
11. European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123, Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. Washington, D.C. 1996. Available from: <https://www.coe.int/ru/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/123>.
12. Figueroa-Diesel H, Hernandez-Andrade E, Acosta-Rojas R, et al. Doppler changes in the main fetal brain arteries at different stages of hemodynamic adaptation in severe intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;30(2):297-302. <https://doi.org/10.1002/uog.4084>.
13. Hemmer W, Zanolla E, Furter-Graves EM. Creatine Kinase Isoenzymes in Chicken Cerebellum: Specific Localization of Brain-type Creatine Kinase in Bergmann Glial Cells and Muscle-type Creatine Kinase in Purkinje Neurons. *Eur. J. Neurosci.* 1994;6(4): 538-549. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1994.tb00298.x>.
14. Jensen A, Garnier Y, Middelani J, Berger R. Perinatal brain damage-from pathophysiology to prevention. *Europ J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;110:70-79. [https://doi.org/10.1016/s0301-2115\(03\)00175-1](https://doi.org/10.1016/s0301-2115(03)00175-1).
15. Mayock DE, Gleason CA. Cerebrovascular effects or rapid volume expansion in preterm fetal sheep. *Pediatric Res.* 2004;55(3):395-399. <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000111284.29388.E7>.
16. Pavlova NG. Fetal neurological tests. Proceeding of the 7<sup>th</sup> World Congress of Perinatal Medicine

- [abstract]. *J Perinat Med.* 2005;33(suppl 1):33 (WS\_06\_03).
17. Weiss E, Ulrich S, Berle P, Picard-Maureau A. CK-BB as indicator of perinatal brain-cell injury in fetuses with absent or reverse end-diastolic flow velocities of the umbilical arteries. *J. Perinatal. Med.* 1994;22(3): 219-226. <https://doi.org/10.1515/jpme.1994.22.3.219>.

---

◆ Информация об авторах

Наталья Григорьевна Павлова — д-р мед. наук, профессор, профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии. ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург. E-mail: [ngp05@yandex.ru](mailto:ngp05@yandex.ru).

Анастасия Александровна Яковлева — канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии Научно-образовательного института биомедицины. ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава РФ, Санкт-Петербург. E-mail: [biomed.1spbgbmu@yandex.ru](mailto:biomed.1spbgbmu@yandex.ru).

---

◆ Information about the authors

Nataliya G. Pavlova — MD, PhD, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Medicine. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [ngp05@yandex.ru](mailto:ngp05@yandex.ru).

Anastasiya A. Yakovleva — PhD, Senior (Junior) Researcher, Laboratory of Pathophysiology of the Biomedical Research and Education Institute. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [biomed.1spbgbmu@yandex.ru](mailto:biomed.1spbgbmu@yandex.ru).