

雌兔循环血容量反复增加时胎-胎盘复合体参数的变化

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

臨床前試驗是將新藥引入產科實踐的強制性階段之一，目的是研究藥物對胎兒和胎盤發育的影響。進行實驗研究時，將主要接受藥物治療的動物組與不接受藥物治療的對照組進行比較。這種情況下，受試藥物的量本身就可以顯著改變實驗動物，尤其是小動物的循環血（BCC）量，這種給藥在幾天內重複多次，可以累積這種效果。對胎兒的功能狀態有不利影響。使用在懷孕第18天通過將1/3胎盤血管結紮在一個子宮角中而在雌性兔子中產生的慢性胎盤功能不全模型，對正常發育和發育遲緩的多胎胎兒的大腦和胎盤發育產生影響每天（懷孕19–28天）向雌性體內注入生理鹽水，其量等於動物BCC的6%，與臨床實踐中用於治療胎盤功能不全的藥物的體積相當（雌性實驗組）。已經確定，在懷孕的後半段每天重複給雌性兔子每天施用生理溶液，大約是BCC的6%，會破壞其正常發育的胎兒的功能狀態，甚至破壞胎兒的功能狀態。更大程度上是胎兒發育遲緩。這表現為與對照組女性相比，完整子宮角中胎兒的存活率降低了1.4倍，完整和實驗角中胎兒的腦代謝受到了更明顯的干擾。

关键词: 母兔; 兔胎兒; 胎盤功能不全; 鹽水。

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 18th 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.

由胎盤血液循環提供的胎盤的關鍵功能是母親和胎兒之間的气体交換，而導致母體血液供應增加的因素之一是通

過胎盤胎兒部分的體積血流速度[10]。如果胎盤循環的調節受到干擾，胎兒會發展為缺氧，從而導致其生長和發育滯後。

胎盘功能不全是产科急需解决的问题。其特点是普遍应对各种孕产妇疾病、妊娠产科并发症、胎儿疾病，在其发病机制中血管病变起着重要作用。胎盘功能障碍的主要表现被认为是其血液循环障碍，其结果是破坏了胎儿充足的氧气和营养供应，足以使其在妊娠的各个阶段生长发育。慢性胎儿缺氧最可怕的并发症是大脑发育受损，因此会出现严重程度不同的围产期神经系统并发症[14]。发育中的胎儿有很高的发生认知障碍的风险，甚至在学龄时就表现出来了[12]。

尽管近年来旨在纠正胎盘功能障碍的药物库显著扩大，但已批准用于产科实践的药物范围有限。新药引进的一个强制性阶段是临床前试验，其目的是研究药物对胎儿和胎盘发育的影响。进行实验研究时，将主要接受药物治疗的动物组与不接受药物治疗的对照组进行比较。这种情况下，受试药物的量本身就可以显著改变实验动物，尤其是小动物的循环血(BCC)量，这种给药在几天内重复多次，可以累积这种效果。对胎儿的功能状态有不利影响。血管内注入额外量的液体几乎总是伴随着母体的一些反射反应，包括子宫血管的反应。同时，胎儿的功能状态，特别是在妊娠合并胎盘功能不全时，会发生非常显著的变化。中型动物(例如雌性兔子)上进行的实验研究中，定义对照组时，并不总是将这种情况考虑在内。

这项研究的目的是研究多次输注生理盐水的量与用于治疗胎盘功能不全的药物量相当的作用对胎盘发育和正常发育的大脑的影响，母兔的胎儿和胎儿在下半年发育落后。

材料与方法

该研究是在21只重达3500-3800 g的雌性龙猫兔子(*Oryctolagus cuniculus*)上进行的。这些动物获自FGUP PLZH «Rappolovo»(列宁格勒地区)。所有动物都是忠实的，并保持受监管的饲养环境中FGBNU«婦產科與生殖科學研究所D.O. Otta»在标准饮食上。一天的同一时间进行雌性与雄性的交配。怀孕的第一天被认为是交配后的第二天。

为了造成胎盘供血不足，并伴随胎儿发育的延迟，所有的动物在怀孕的第18天，对应于人类怀孕的下半年开始，都在无菌条件下在乙醚面罩麻醉下进行了麻醉。将带胎儿的子宫取出到手术伤口中，计算两个子宫角中的胎儿数，然后将一个(完整的)角浸入腹腔中。在另一个角中每隔一个胎儿会结扎约1/3的胎盘血管。缝合腹腔，使动物从麻醉中独立出来。随后，将雌性饲养在标准条件下。

使用序号方法将动物随机化，序号方法是一种简单的随机抽样方法(生命科学在线统计指南)。所有动物都按顺序编号。然后，使用Excel函数«RANDBETWEEN»将怀孕的母兔分为2组。结扎胎盘血管直至妊娠结束的第一组女性($n=9$)保持原样。妊娠的第19天至第28天(10天)的第II组动物($n=12$)，在同一天的同一时间注射14.0 ml的0.9%氯化钠溶液，相当于雌性兔子的BCC的6%。对处于自然姿势(坐着)的动物进行盐水注入。

怀孕的第29天，在空气栓塞下进行的硫喷妥钠静脉麻醉下，对动物实施

安乐死, 然后计数存活和发育迟缓的胎儿, 称量胎盘和胎儿, 并取生物材料(胎儿脑组织和胎盘)进行生化研究。

测定了脑组织和胎盘中的蛋白质水平, 总抗氧化剂活性(OAA), 自由基氧化(FRO)和谷胱甘肽过氧化物酶(GP)活性。胎儿脑组织中, 研究了大脑特异性酶-肌酸激酶的BB同工型(BB-KK)和神经特异性烯醇化酶。使用来自Thermoscientific (Finland)的测试系统, 在自动生化分析仪Alcyon 300 (美国阿伯特)上进行样品中总蛋白质含量的测定。为了研究FRO的强度, 使用了化学发光法。FRO的强度由 H_2O_2 诱导的化学发光值评估, 该值在Emilitle-1105化学发光仪(俄罗斯)上测量。为了评估抗氧化剂系统的状态, 我们使用了胎儿组织匀浆中总抗氧化剂活性(TAA)的测定, 这反映了模型系统中抑制底物FRO的能力[2]。包含胎儿组织匀浆, 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)和1.01 mM $FeSO_4$ 溶液的系统中, 通过化学发光法测定脑组织的TAN。该过程始于2% H_2O_2 溶液。爆发的最大减少阶段, 样品的抗氧化剂电位与曲线的斜率值相关, 并以任意单位进行测量。测定胎盘和胎儿脑组织中HP的方法的原理是在叔丁基过氧化氢存在下, 酶氧化还原型谷胱甘肽的能力。酶活性以每1 mg蛋白质每分钟还原的谷胱甘肽的mmol表示[4]。使用来自DiaSys (德国)的CK-MV FS测试系统, 在自动生化分析仪Alcyon 300 (Abbott, 美国)上测定脑组织离心物中BB-KK的活性。使用CanAg NSE EIA试剂盒(瑞典)通过酶免疫法对兔胎儿脑组织中神经特异性烯醇化酶含量进行定量测定, 旨在定量测定人血清中的神经特异性烯醇化酶(NSE) [3, 6]。

统计数据处理使用Statistica v. 10.0。数据以 $M \pm SE$ (算术平均值 \pm 算术平均误差)表示, 在某些情况下以 Me (中位数)的形式表示。通过计算Kolmogorov-Smirnov和Lilliefors检验来检查数据分布的特征。使用学生 T 检验, 体征和Wilcoxon检验对这些相关样本进行比较。独立样本的比较使用Mann-Whitney U 检验进行。

无效假设的关键可靠性水平(大约没有差异和影响)被认为等于至少95%的概率($p \leq 0.05$), 这被认为是生物医学研究的标准。

研究工作是根据2010年4月12日第61-FZ号联邦法律«药品流通»¹, «实验室操作规则»^{2,3}, 动物饲养场的设计⁴, 设备和维护卫生规则进行的, 并和地方道德委员会的决定FSBSI «NIIAGiR D.O. Otta», 就规范使用实验动物进行研究工作的方式⁵。

根据 European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (1996)遵守了实验动物治疗的伦理原则[11]。研究开始之前, 伦理委员会审查并批准了其计划和标准操作程序FSBSI«NIIAGiR D.O. Otta»。

¹ 2010年4月12日第61号联邦法律—关于«药品流通»的联邦法律。

² 俄罗斯联邦卫生与社会发展部2010年8月23日第708n号«关于批准实验室操作规范»。

³ 2009年12月2日№544st号联邦技术监管和计量局命令, 俄罗斯联邦国家标准GOST R53434-2009«良好实验室规范的原则»。

⁴ 饲养箱的设计, 设备和维护的卫生规则。州首席卫生医生于1973年6月6日第1045-73号批准。

⁵ 2014年1月4日64号协议。

结果与讨论

图1显示了接受 (II组) 和不接受 (I组) 生理盐水的女性完整和实验胎儿的存活率。第一组动物实验子宫角中胎儿的存活率比完整子宫角中胎儿的存活率低29.3% ($p < 0.05$), 在第二组动物中, 它们的存活率是相同的。同时, 到研究结束时, 第二组女性完整的角中存活的胎儿比例比第一组女性的1.4倍 ($p < 0.01$) 少, 而第一组女性中大多数胎儿存活。两组女性实验角中存活胎儿的比例没有差异。

第一组女性的实验性胎儿中, 结扎胎盘前血管的1/3导致胎盘功能不全的发展: 它们落后于完整胎儿重11.8% ($p < 0.05$), 尽管它们的胎盘和大脑的质量是相等的 (表2)。第二组女性完整和实验性子宫角中胎儿, 其大脑和胎盘的重量没有差异。

图3显示了表征在对照组和主要组的女性的完整和实验胎儿的脑组织中观察到的代谢过程的生化参数。

表1 / Table 1

第一组和第二组的女性在正常 (完好) 和胎盘血液循环减少 (实验性) 的条件下发育的胎儿的存活率
Survival rate of fetuses that developed under normal (intact) and reduced (experimental) placental circulation in group I and II rabbit females

动物群 / Groups of animals	鲜果数量 / Number of live fetuses			
	完整, n=100 / intact		测试对象, n=24 / experimental	
	第18天 / Day 18	第29天 / Day 29	第18天 / Day 18	第29天 / Day 29
I组 / Group I	39	34	19	11*
II组 / Group II	61	39**	23	16

*與完整胎兒相比, $p < 0.05$; **與組I相比, 給出 $p < 0.05$ 。

* $p < 0.05$ for the comparison with the intact fetuses; ** $p < 0.01$ given in comparison with intact fetuses of group I.

表2 / Table 2

I和II组女性完整和实验性子宫角中胎盘, 胎儿和胎儿脑的重量
Placental, fetal and fetal brain weight in intact and experimental uterine horn in group I and II rabbit females

体重 / Weight	I组 / Group I		II组 / Group II	
	完整的 / intact	作实验用 / experimental	完整的 / intact	作实验用 / experimental
胎儿, 克 / Fetuses, g	45.20±1.35 (n=14)	39.89±1.77* (n=11)	41.26±1.60 (n=16)	36.41±2.31 (n=15)
胎盤, 克 / Placenta, g	5.96±0.28 (n=14)	5.21±0.29 (n=11)	5.43±0.22 (n=16)	4.85±0.28 (n=15)
腦, 克 / Brain, g	1.13±0.02 (n=14)	1.07±0.02 (n=11)	1.07±0.03 (n=16)	1.03±0.03 (n=15)

*與完整胎兒相比, $p < 0.05$ 。

注意。n—胎兒数

* $p < 0.05$ given in comparison with intact fetuses.

Note. n – number of rabbit fetuses.

表3 / Table 3

I和II组女性完整和实验胎儿的脑组织中自由基氧化的指标

Indicators of free radical oxidation in the brain tissue of intact and experimental fetuses of female groups I and II

生化指标 / Biochemical parameters	I组 / Group I		II组 / Group II	
	完整的 / intact	作实验用 / experimental	完整的 / intact	作实验用 / experimental
蛋白质, mg/ml / 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)
一般抗氧化活性, rel. units / 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)
自由基氧化, 相对单位/毫克蛋白质 / 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)
谷胱甘肽过氧化物酶活性, μMGS (最小/微克蛋白) / Glutathione peroxidase activity, mcg MGS 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)
肌酸激酶的BB同工型活性, U/mg蛋白 / BB-KK activity, U/protein mg	7.41±0.41 (n=14)	7.57±0.27 (n=11)	7.6±0.20 (n=16)	6.48±0.28*** (n=15)
烯醇酶含量, 微克/毫克蛋白质 / Enolasecontent, mcg/protein mg	2.10±0.11 (n=14)	2.06±0.10 (n=11)	2.09±0.11 (n=15)	2.06±0.11 (n=16)

*与完整胎儿相比, $p < 0.05$; **与组I相比, 给出 $p < 0.05$ 。

注意。n—胎兒数

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

Note. n – number of fetuses.

众所周知, 胎盘功能不全的发展可能伴随着胎儿, 包括其脑组织中的氧化应激的发展, 这可能与自由基过程的不平衡和抗氧化保护的有效性有关[1]。氧化应激, 取决于暴露于损伤因子的强度和持续时间, 可在第一阶段导致适应性机制的形成, 包括自由基氧化和抗氧化保护过程之间出现新的关系, 随后导致细胞死亡。同时, 在抗氧化防御系统中的重要作用属于其谷胱甘肽依赖环节[5]。

与完整胎儿的大脑相比, 第一组女性实验胎儿的GP活性几乎高出2倍 ($p < 0.05$)。众所周知, 在实验胎儿中观

察到的氧化应激下, 由于抗氧化保护的非酶联作用, 生物物体的前和抗氧化系统之间的平衡受到干扰, 这可以通过值来判断。OAA和FRO的整体指标以及酶促链接的一个重要代表就是GP。本例中, 实验果实GP活性的增加表明抗氧化剂保护酶环节活性的改变。抗氧化剂防御的谷胱甘肽依赖性连接的激活促进了FRO过程的正常化, 而FRO过程的强度没有改变, 而OAA指标也没有改变。因此, 我们使用的实验模型中的实验胎儿显示出中等氧化应激的发展, 并伴有谷胱甘肽依赖性抗氧化防御酶在其脑组织中的代偿性激活。

BB-KK是大脑特有的一种酶,主要存在于星形胶质细胞和神经元中[13]。许多作者认为,在缺氧的背景下,观察到了IV-CC从脑组织到普通血流的转变[17]。这一事实表明,胎儿/新生儿血液中BB-KK活性的增加是脑细胞受损的标志,而BB-KK的活性则下降。神经元损伤的另一个标志物可以是神经特异性烯醇化酶,在缺氧条件下血液中烯醇化酶的含量会增加[9]。我们的研究中,I组女性实验和完整胎儿的大脑组织中的等效BB-KK活性和烯醇酶含量表明,在给定的缺氧程度下,实验胎儿在脑中无脑细胞损伤(表3)。

因此,通过将两组雌性兔子宫的一个角上的1/3胎盘血管结扎而建立的慢性胎盘功能不全的实验模型是足够的,从而重现了慢性胎盘功能障碍的情况,从而导致胎盘功能不全的形成。在临床实践中胎儿发育滞后。与完整的实验胎儿相比,该蛋白的含量降低了(11.8%),而脑组织中HP的活性增加了2倍,而BB-CK的活性与烯醇化酶的含量相当。对照组女性完整和实验性胎儿的脑组织,这表明它们的脑细胞没有受损。

人们对胎儿的BCC改变时发生的改变的发病机理了解甚少。这项研究[15]研究了BCC升高对妊娠晚期的早产儿胎儿的影响,将右旋糖酐(20 ml的6%溶液的剂量)直接引入胎儿进入下腔静脉引起的。作者在一项慢性实验中研究了导管插入的绵羊胎儿在正常氧和缺氧期间的脑血流量和新陈代谢。胎儿在正常状态下BCC的快速增加导致血红蛋白浓度降低,因此导致胎儿动脉中的氧含量降低。同时,胎脑中的血压和血流量没

有变化。作者认为,BCC的快速增加是由于血液稀释引起的贫血,其中补给性的脑血流没有时间发展,从而导致脑缺氧的发展。缺氧的情况下,BCC的增加会进一步破坏胎儿的氧气供应,并使缺氧的程度增加。

注入了生理盐水的雌性胎儿中(第II组),与完整胎儿相比,实验胎儿的生长没有滞后(表2)。实验和完整的胎儿中,身体,胎盘和脑的重量相等。实验组和完整胎儿的存活率之间没有差异(表1)。但是,这些胎儿的功能状态发生了显著变化,实验结束时它们的存活率证明了这一点。因此,第二组女性完整胎儿的存活率是第一组女性完整胎儿的1.4倍($p < 0.01$)。

II组女性实验胎儿脑组织中BB-CK的活性比完整胎儿低BB-CK($p < 0.01$),据文献报道,这可能与代谢率降低有关在慢性胎盘功能不全的情况下胎儿脑组织中的发育过程[16]。

第II组雌性完整胎儿的脑组织中,TAA值高于第I组雌性完整胎儿的脑组织($p < 0.01$),这表明向动物重复施用14.0 ml液体导致动物抗氧化保护的非酶连接的活性发生变化,对于第二组完整胎儿的脑组织代谢具有重要意义。II组女性实验胎儿大脑组织中的FRO值高1.4倍与第I组雌性的实验胎儿相比,GP的活性低4.1倍。因此,在II组实验胎儿的脑组织中,氧化应激伴随着HP活性的抑制和FRO的增加,这表明与I组实验胎儿相比,氧化应激的发展强度更大。

II组动物实验胎儿脑组织中的BB-CC活性几乎比I组动物实验胎儿的

脑组织低1.2倍 ($p < 0.05$)。这些胎儿的脑组织中BB-CK活性的降低表明适应性反应性反应的崩溃,并伴有脑细胞代谢的破坏。I和II组雌性的实验和完整胎儿的脑组织中的烯醇化酶含量没有差异(表3)。

众所周知,随着包括生理盐水在内的大量液体的引入,它们从血管床上的排泄速率相对较低[8]。现有文献中,没有关于长期经验中引入少量液体导致血液循环显著变化的数据。根据E. M. Shifman和A. D. Tikanadze [7]在一项急性实验中研究了小剂量穿孔和生理溶液(6%BCC)的引入对大鼠飞溅物微脉管系统中发生的过程的影响,结果表明在稳定的背景下引入这些解决方案后的血压指示剂,1在第1分钟,观察到动脉的血流有短期增加,在第5分钟,其体积速度恢复到初始水平,随后在第5分钟恢复一致。两组均占给药后25-30分钟内初始值的一半左右。这些研究表明,随着BCC的微小变化,其恢复速度相当快。但是我们的研究表明,即使每天服用相对少量的盐水,也可以显著改变完整胎儿和实验胎儿的大脑代谢。

结论

因此,在怀孕的下半年,每天重复施用生理盐水(相当于雌性兔的BCC的6%)会导致正常发育和发育迟缓的胎儿的功能状态受到侵犯,这可以通过改变胎儿的状态来体现。生存和侵犯脑部新陈代谢。临床前药物认可的实验研究中,必须考虑到所获得的结果。

资金

这项研究没有赞助商的支持。

遵守道德标准。根据European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes遵守了实验动物治疗的伦理原则[11]。研究开始之前,伦理委员会审查并批准了其计划和标准操作程序FSBSI«NIIAGiR D.O. Otta»。

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 1998. – № 7. – С. 43–51. [Vladimirov JuA. 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 глутатионзависимых 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 ге-

- матознцефалического 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. Immunofermentnyj analiz NSE i GFAP kak kriterij dinamicheskoy ocenki pronicaemosti gematocencefalicheskogo 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. Infuzionnaja 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 7th 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>.

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.

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.1spbgmu@yandex.ru.