

© М. М. Габаева¹, Л. А. Назарова¹,
А. А. Яковлева¹, Е. В. Базиян¹,
А. В. Пастушенков²,
Н. Н. Константинова¹,
В. Л. Пастушенков², Н. Г. Павлова¹

¹ НИИ акушерства и гинекологии

им. Д. О. Отта СЗО РАМН

² Военно-медицинская академия

им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург

РЕАКЦИИ НОРМАЛЬНО РАЗВИТЫХ И ОТСТАВШИХ В РАЗВИТИИ ПЛОДОВ НА СОКРАЩЕНИЯ МАТКИ ПРИ ИНДУКЦИИ РОДОВ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

УДК: 618.33-07:618.414.1-085-092.9

■ В статье представлены физиологические и биохимические реакции нормально развитых и отставших в развитии плодов самки кролика на индуцированные окситоцином сокращения матки в конце беременности. Показано, что на фоне маточных сокращений у плодов развивались характерные для родового акта реакции сердечного ритма. При этом отсутствовали выраженные метаболические нарушения в плацентах и мозгу плодов.

■ **Ключевые слова:** плод; плацента; мозг; плацентарная недостаточность; метаболический ацидоз.

Известно, что одной из наиболее частых причин оперативного родоразрешения является острая гипоксия плода, которая возникает в 2,0–10,5 % случаев всех родов [4].

В настоящее время одним из основных методов оценки функционального состояния плода в родах является кардиотокография (КТГ). Именно этот метод является методом первой очереди, доступным и безопасным, «золотым стандартом» слежения за функциональным состоянием плода в родах. Чувствительность КТГ достигает 100 %, однако специфичность составляет только 50–75 %. Низкая специфичность метода обуславливает высокое число ложноположительных результатов мониторинга, что приводит к росту числа оперативных родоразрешений в интересах плода [3, 9].

В родах для выбора рациональной акушерской тактики большинство авторов рекомендуют оценивать функциональное состояние плода на основании комплексного обследования. Оно, в том числе, включает проведение пробы Залинга и определение содержания в крови плода лактата. Однако выполнение этих исследований, требующих забора крови у плода, возможно только при определенных условиях: при головном предлежании плода, отсутствии плодного пузыря и признаков восходящей инфекции. Кроме того, результат определения кислотно-основного состояния зависит от правильной техники забора крови плода в капилляр [15]. Поэтому определение содержания в крови лактата рекомендуют применять в качестве подтверждающего метода [8]. Еще одним биохимическим маркером гипоксии может быть пируват и его доля по отношению к молочной кислоте в крови, свидетельствующая о переходе клеточного метаболизма на анаэробный путь [1, 6, 10, 18].

Поскольку причиной развития интранатальной гипоксии плода в большом числе случаев являются аномалии родовой деятельности, целью настоящей работы явилось изучение зависимости уровня биохимических маркеров гипоксии от частоты сердечного ритма у нормально развитых плодов и плодов, развивавшихся в условиях уменьшенного плацентарного кровообращения, на маточные сокращения при индукции родов у самки кролика в конце беременности.

Материал и методы исследования

Объектом экспериментального исследования являлись 16 самок кролика породы «Шиншилла» массой $4481,4 \pm 101,2$ г. В одном из рогов матки самки создавали дозированную пла-

центарную недостаточность (подопытные плоды), другой же использовали как контрольный (интактные плоды). Плацента кролика формируется по гемохориальному типу, что позволяет рассматривать результаты ее исследований аналогичными, наблюдавшимся в плаценте человека.

На 18-й день беременности в условиях асептики под эфирным масочным наркозом производили лапаротомию. В одном из рогов матки создавали плацентарную недостаточность путем перевязки около 1/3 преплацентарных маточных сосудистых ветвей у каждого второго из плодовместилищ. Второй рог оставляли интактным. Последующие 10 дней животное содержалось в клетке в естественном для себя положении.

На 28-й день беременности под внутривенным тиопенталовым наркозом самкам проводили повторную операцию для введения электродов с целью одновременной регистрации электрической и механической активности матки, ЭКГ интактных ($n=15$) и подопытных ($n=12$) плодов. [5]. Для биполярной регистрации электрической активности матки в дистальную часть матки вводили два серебряных электрода на расстоянии 0,5 см относительно друг друга. Для регистрации ЭКГ вводили копьевидные серебряные электроды толщиной 1 мм и длиной 0,5 см в шейные мышцы плодов, и фиксировали их лигатурой к их коже.

На 30-й день беременности проводили синхронную регистрацию сократительной активности матки и электрокардиограмм плодов в режиме реального времени на компьютере посредством компьютерного электроэнцефалографического комплекса «Диамант». Во время исследования самки находились в естественном для них положении.

Активные сокращения матки вызывали внутривенным введением окситоцина в краевую вену уха самки в дозе 1МЕ. Эпизодами возникающих сокращений матки считали те, при которых амплитуда электрического сигнала увеличивалась более чем в 3 раза по отношению к ее базовой величине. Анализировали количество сокращений, продолжительность одного сокращения матки за весь период наблюдения и каждый 5-минутный интервал. При анализе ЭКГ плодов подсчитывали среднюю частоту сердечных сокращений (ЧСС) за каждый 10-минутный интервал. Продолжительность исследования составляла 60 минут.

После завершения опыта животных выводили из эксперимента путем воздушной эмболии. Извлекали плоды и плаценты, проводили их взвешивание. Фрагменты тканей плодов замораживали *ex tempore* в жидком азоте для проведения биохимических исследований.

В плацентах и мозгу плодов определяли содержание лактата и пирувата, а также их соотношение. Пировиноградную кислоту (пируват) определяли в гомогенатах тканей плацент и мозга плодов модифицированным методом Умбрайт [2]. В основе метода лежит взаимодействие пировиноградной кислоты с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием окрашенного гидразона в щелочной среде, интенсивность которого пропорциональна концентрации пирувата в анализируемой пробе. Гомогенат тканей получали в присутствии ингибитора гликолиза фториде калия или натрия. Осаждение белка из гомогената осуществляли 0,5 мл -10% ТХУ. Осадок отделяли и немедленно центрифугировали в течение 5 мин при 6000 об/мин. Супернатант инкубировали в течение 10 мин 0,15 раствором ДНФГ при 37°C. Измерение величины оптической плотности осуществляли при $\lambda=505$ нм и сравнивали с контрольной пробой, содержащей вместо гомогената буфер для его приготовления. В качестве калибратора использовали раствор лактата лития с концентрацией 3,34 ммоль/л. Концентрацию молочной кислоты в полученном супернатанте определяли с помощью набора реагентов фирмы Ольвекс Диагностикум энзиматическим колориметрическим методом.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием методов параметрической (t-критерий Стьюдента) и непараметрической (критерий U (Вилкоксона–Манна–Уитни)) статистики.

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе нашего исследования мы оценили, насколько разработанная нами модель адекватна для изучения характерных реакций сердечного ритма, развивающихся в родах у нормально развитых и отстающих в развитии плодов.

При сопоставлении масс плодов, развивавшихся в условиях нормального (интактные плоды) и нарушенного (подопытные плоды) плацентарного кровообращения, было выявлено, что масса интактных плодов была достоверно больше таковой подопытных плодов ($42,77 \pm 1,99$ г и $36,34 \pm 1,96$ г соответственно; $p < 0,05$). Следовательно, создаваемая нами в подопытном роге матки самки кролика дозированной плацентарной недостаточности приводила к развитию в нем хронической плацентарной недостаточности, сопровождавшейся задержкой массы плодов.

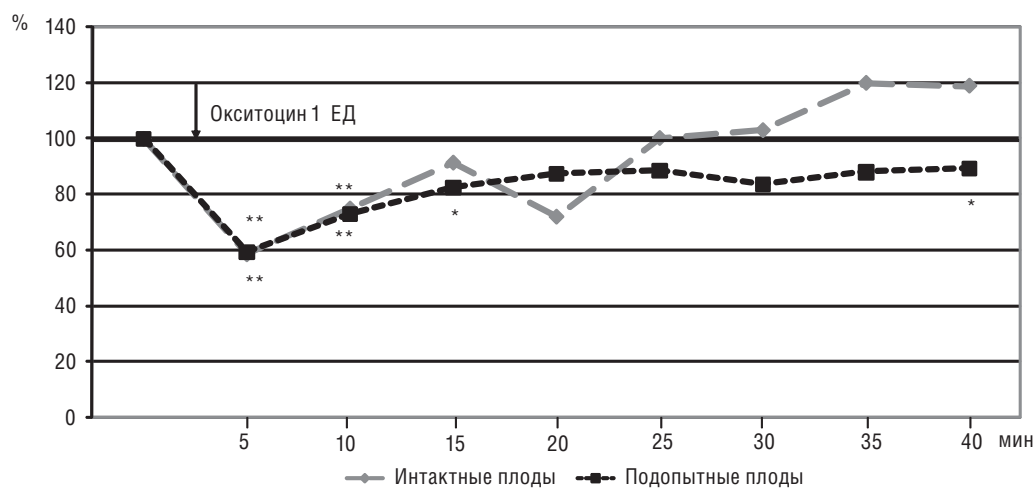
Анализ сердечного ритма нормально развитых и отстающих в развитии плодов на фоне индуцированных окситоцином сокращений матки представлен на рисунке 1.

Таблица 1

Содержание лактата и пирувата (ммоль/литр гомогената) и их соотношение (Л/П) в тканях плодов, развивавшихся при нормальном (интактных) и нарушенном (подопытных) плацентарном кровообращении

Ткань	Интактные плоды, n=15			Подопытные плоды, n=12		
Плацента	Лактат	Пируват	Л/П	Лактат	Пируват	Л/П
	0,28±0,04, n=9	0,08±0,01, n=9	4,92±1,37, n=9	0,27±0,06, n=9	0,10±0,01, n=9	3,01±0,66 n=9
Мозг	1,45±0,18, n=9	0,16±0,01, n=9	10,77±2,46, n=9	1,48±0,18, n=9	0,22±0,02*, n=9	7,35±1,40 n=9

Примечание: p<0,05 дано по сравнению с содержанием пирувата в мозгу интактных плодов.



Примечание: ** — p 0,001, * — p 0,05 — дано по сравнению с исходными значениями

Рис. 1. Динамика ЧСС (% от исходного) нормально развитых (интактные) и отставших в развитии (подопытные) плодов на индуцированные окситоцином (1ЕД) сокращения матки

Как видно из рисунка 1, сразу после введения самкам окситоцина изменения сердечного ритма у интактных и подопытных плодов были однонаправленными. И у тех, и у других возникала брадикардия. Так, на 5-й минуте после введения окситоцина ЧСС у всех плодов равнозначно снижалась на 59% (p<0,01) по сравнению с исходными данными. В дальнейшем как у интактных, так и у подопытных плодов степень брадикардии постепенно уменьшалась.

При этом у интактных плодов ЧСС достоверно отличалась от исходных значений до 15-й минуты наблюдения, а на 25-й минуте исследования она восстанавливалась до исходных величин. В последующем сердечный ритм этих плодов носил нарастающий тахисистолический характер, превышая в конце 60-минутного периода наблюдения исходные величины на 19% (p<0,01).

У подопытных плодов брадикардия, возникшая после введения окситоцина, сохранялась до конца эксперимента. При этом в течение первых 15 минут наблюдения снижение частоты сердцебиения, выраженное в процентах, по отношению к исходным ее величинам было достоверным (на 17,5%; p<0,05). К концу эксперимента ЧСС подопытных плодов была в 1,2 раза (p<0,01) меньше, чем у интактных плодов.

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что на фоне индуцированных маточных сокращений у интактных и подопытных плодов развивались типичные реакции сердечного ритма, характерные для острой интранатальной гипоксии, в том числе развивающейся на фоне хронической плацентарной недостаточности. При этом у интактных плодов брадикардия в конце эксперимента сменялась компенсаторной тахисистолической реакцией сердечного ритма. В то время как у подопытных брадикардия была стойкой, и сердцебиение плодов не выравнивалось до исходного уровня до конца эксперимента.

На втором этапе исследования мы сопоставили среднюю частоту сердечного ритма, наблюдавшуюся у плодов в течение эксперимента, с содержанием лактата и пирувата, а также их соотношением (Л/П) в мозгу и плацентах нормально развитых и отставших в развитии плодов.

В таблице 1 представлены содержание лактата, пирувата, а также их соотношение в плацентах и мозгу интактных и подопытных плодов.

По данным разных авторов, перестройка клеточного метаболизма на анаэробный путь характеризуется увеличением соотношения Л/П более

10–25 [14, 16, 17]. Интерпретацию результатов нашего исследования мы основывали как на различиях уровней лактата и пирувата в крови интактных и подопытных животных, так и на анализе их соотношений

Как видно из таблицы 1, содержание лактата и пирувата, а также их соотношение в плацентах интактных и подопытных плодов не различались, а последнее не превышало 5. Полученные нами данные согласуются с опубликованными ранее и свидетельствуют о том, что индуцированная сократительная активность матки, вызванная введением самке кролика 1 ЕД окситоцина, не вызывает метаболического ацидоза в плацентах как у интактных, так и у подопытных плодов.

При анализе таких же показателей и их соотношения в мозгу интактных и подопытных плодов было выявлено, что у подопытных плодов содержание пирувата было выше в 1,4 раза ($p < 0,05$), чем у интактных плодов. При этом содержание лактата и соотношение лактат/пируват в мозгу у этих плодов не различались. Однако величина соотношения лактат/пируват в мозгу интактных и подопытных плодов была равнозначно больше (в 2,5 раза) по сравнению с этими же соотношениями в плацентах тех и других плодов.

Особенностью метаболических процессов происходящих в головном мозгу в отличие от плаценты является интенсивное потребление глюкозы и высокая скорость тканевого дыхания. Ни один другой орган не поглощает глюкозу с такой скоростью и в таких количествах, как мозг. И не для одной ткани организма не отмечено такой острой потребности в этом субстрате, необходимом для поддержания нормального функционального состояния организма. Головным мозгом потребляется до 70% глюкозы, образующейся в печени и выделяющейся из нее в кровотока [13]. Необычайная зависимость функционирования головного мозга от постоянного притока глюкозы из крови объясняется прежде всего тем, что собственные запасы данного углевода в мозговой ткани чрезвычайно малы по сравнению с высокой интенсивностью его окисления [12]. В настоящее время считается, что основное количество глюкозы изначально поступает в астроциты. Доминирующим процессом, обеспечивающим образование АТФ в астроцитах, является гликолиз. Утилизация одной молекулы глюкозы приводит к образованию двух молекул пирувата и двух молекул АТФ. АТФ используется для поддержания трансмембранных ионных градиентов, обеспечивая работу АТФ-зависимых ионных помп (в основном K^+Na^+ -АТФазы). Основное количество пирувата, образующегося в результате гликолиза в астроцитах, в дальнейшем не поступает в цикл трикарбоновых кислот и не подвергается окислительному

фосфорилированию в этих клетках, а преобразуется в лактат, который выделяется в интерстициальное пространство и поступает в нейроны [7].

В последнее время появляется все больше доказательств того, что лактат, а не глюкоза, является ключевым метаболитом в биоэнергетических процессах головного мозга. По мнению А. Schurr и соавторов (1999) [7], в нейроне происходит преобразование лактата в пируват, который в дальнейшем, в зависимости от потребностей ЦНС, может метаболизироваться в цикле Кребса или через глюконеогенез превращаться в глюкозу в цикле Кори для дальнейшего использования клетками головного мозга.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что индуцированные окситоцином сокращения матки не сопровождались значительными изменениями энергетического состояния в тканях интактных и подопытных плодов. При этом метаболические процессы в плаценте и мозгу этих плодов протекали по-разному. Эти данные позволяют высказать предположение о том, что несмотря на брадикардию, вызванную индуцированными сокращениями матки у интактных и подопытных плодов были компенсированы метаболические процессы связанные с потреблением глюкозы. Наши данные согласуются с опубликованными ранее свидетельствами о том, что различные органы имеют свою степень чувствительность к гипоксии [11, 19]. Вместе с тем данные, полученные в нашей работе, позволяют наметить подходы к метаболической коррекции энергетического обмена у плодов, развивающихся в условиях гипоксии, с использованием препаратов обладающих комплексным антиоксидантным и антигипоксическими действием.

Литература

1. Гипоксия плода и новорожденного / ред. Студеникин М. Я., Халлман Н. — М.: Медицина, 1984. — С. 91–115.
2. Колб В. Г., Камышиников В. С. Справочник по клинической химии. — Мн.: Беларусь, 1982.
3. Павлова Н. Г., Коган И. Ю., Константинова Н. Н. Кардиотокография: учебно-методическое пособие / ред. Айламазян Э. К. — СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. — 28 с.
4. Савельева Г. М. Справочник по акушерству, гинекологии и перинатологии. — М.: МИА, 2006. — С. 126–127.
5. Сократительная активность матки самок кролика в конце беременности и метод ее регистрации / Назарова Л. А., Константинова Н. Н., Толибова Г. Х. [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2007. — Т. 144, № 9. — С. 355–357.
6. Федорова М. В. Диагностика и лечение внутриутробной гипоксии плода. — М.: Медицина, 1982.

7. An increase in lactate output by brain tissue serves to meet the energy needs of glutamate-activated neurons / Schurr A. [et al.] // J. Neurosci. — 1999. — Vol. 19. — P. 34–39.
8. Determination of pH or lactate in fetal scalp blood in management of intrapartum fetal distress: randomized controlled multicentre trial / Wibergitzel E. [et al.] // BMJ. — 2008. — Vol. 336. — P. 1284–1287.
9. Inconsistencies in classification by experts of cardiotocograms and subsequent clinical decision / Aeres de Campos D. [et al.] // Br. J. Obstetr. Gynecol. — 1999. — Vol. 106, № 12. — P. 1307–1310.
10. Lipid-lowering drugs and mitochondrial function: effects of HMG — CoA reductase inhibitors on serum ubiquinone and blood lactate/pyruvate ratio / de Pinieux G. [et al.] // Br. J. Clin. Pharmacol. — 1996. — Vol. 42. — P. 333–337.
11. Meldrum B. S. Glutamate as neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology // J. Nutrition. — 2000. — Vol. 130, 4S, suppl. — P. 1007S–15S.
12. Neurobiology of hypoxic-ischemic injury in the developing brain / Zipursky A. [et al.] // Pediatr. Res. — 2001. — Vol. 49. — P. 735–741.
13. Postnatal hypoxic-ischemia brain injury alters mechanisms mediating neuronal glucose transport / Zovein A. [et al.] // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2004. — Vol. 286. — P. R273–R282.
14. Response of critically ill patients to treatment aimed at achieving supranormal oxygen delivery and consumption. Relationship to outcome / Hayes M. A. [et al.] // Chest. — 1993. — Vol. 103, № 3. — P. 886–895.
15. Saling E. A new method For examination of the child during labor. Introduction, teaching and principles // Arch. Gynaecol. — 1962. — Vol. 197. — P. 108.
16. Shoemaker W. C., Kram H. B., Appel P. L. Therapy of shock based on pathophysiology, monitoring and outcome prediction // Crit. Care med. — 1990. — Vol. 18. — P. 519–525.
17. Soni N., Fawcett W. G., Halliday F. C. Beyond the lung: oxygen delivery and tissue oxygenation // Anaesthesia. — 1993. — Vol. 48. — P. 704–711.
18. Utility of microdialysis to detect the lactate/pyruvate ratio in subcutaneous tissue for the reliable monitoring of hemorrhagic shock / Ohashi H. [et al.] // Smooth Muscle Res. — 2009. — Vol. 45, № 6. — P. 269–278.
19. Vanucci R. C., Brucklacher R. M., Vanucci S. J. Intracellular calcium accumulation during the evolution of hypoxic-ischemic brain damage in the immature rat // Dev. Brain Res. — 2001. — Vol. 126. — P. 117–120.

Статья представлена В. М. Прокопенко,
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта,
Санкт-Петербург

THE RESPONSE OF NORMALLY DEVELOPED AND RESTRICTED FETUSES TO UTERINE CONTRACTION AT DELIVERY INDUCTION (EXPERIMENTAL STUDY)

Gabayeva M. M., Nazarova L. A., Yakovleva A. A.,
Baziyan Ye. V., Pastushenkov A. V., Konstantinova N. N.,
Pastushenkov V. L., Pavlova N. G.

■ **Summary:** The article presents the physiological and biochemical reactions of normally developed and restricted rabbit fetuses on the induced with oxytocin uterine contractions in the late pregnancy. It was shown that on the uterine contractions developed delivery specific heart rate reaction of in the fetuses. At the same time there were no marked metabolic disturbances in their placentas and fetal brains.

■ **Key words:** fetus; placenta; brain; placental insufficiency; metabolic acidosis.

■ Адреса авторов для переписки

Базиян Елена Владимировна — научный сотрудник лаборатории физиологии и патофизиологии плода с отделением ультразвуковой диагностики.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Габаева Мадина Магаметовна — аспирант кафедры акушерства и гинекологии.

СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.
197022 ул. Льва Толстого, 6/8. Санкт-Петербург, Россия.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Константинова Наталья Николаевна — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и патофизиологии плода с отделением ультразвуковой диагностики.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Baziyan Elena Vladimirovna — the research assistant of laboratory of physiology and a pathophysiology of a fetus with unit of ultrasonic diagnostics.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Gabaeva Madina Magametovna — the post-graduate student of chair of obstetrics and gynecology.

State Medical University named after Pavlov I. P.
197022, Sankt-Peterburg, st. Leo Tolstoy, 6/8.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Konstantinova Natalia Nikolaevna — MD The professor the leading research assistant of laboratory of physiology and a pathophysiology of a fetus with unit of ultrasonic diagnostics.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.
Mendeleevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.
E-mail: iagmail@ott.ru.

Назарова Людмила Анатольевна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патофизиологии плода с отделением ультразвуковой диагностики.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Павлова Наталия Григорьевна — д. м. н., профессор, руководитель лаборатории физиологии и патофизиологии плода с отделением ультразвуковой диагностики.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Пастушков Алексей Владимирович — врач-интерн кафедры психиатрии Военно-медицинской академии.

194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Яковлева Анастасия Александровна — научный сотрудник лаборатории физиологии и патофизиологии плода с отделением ультразвуковой диагностики.

НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН.
199034 Менделеевская линия, д. 3. Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Nazarova Lyudmila Anatolievna — the senior research assistant of laboratory of physiology and a pathophysiology of a fetus with unit of ultrasonic diagnostics.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.
Mendelevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Pavlova Natalia Grigorievna — MD The professor the principal of laboratory of physiology and a pathophysiology of a fetus with unit of ultrasonic diagnostics.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.
Mendelevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Pastushkov Alexey Vladimirovich — the post-graduate student of chair of phsyhyathery Military Medical Academy.

St.-Petersburg, st. Akademika Lebedeva, 6.

E-mail: iagmail@ott.ru.

Jakovleva Anastasia Aleksandrovna — the research assistant of laboratory of physiology and a pathophysiology of a fetus with unit of ultrasonic diagnostics.

D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology.
Mendelevskaia Line, 3. 199034 Russia St.-Petersburg.

E-mail: iagmail@ott.ru.