

УДК 615.254.1:612.63-092.4

## ВЛИЯНИЕ ФУРОСЕМИДА НА ОБЪЕМ И СОСТАВ АМНИОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ КРОЛЬЧИХ НА 27-28-Е СУТКИ БЕРЕМЕННОСТИ

<sup>1</sup> Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул<sup>2</sup> ООО «НПФ «Хеликс», г. Санкт-ПетербургШабалина Ю.В.<sup>1</sup>, Поповцева А.В.<sup>2</sup>, Сузопов Е. В.<sup>1</sup>, Дегтярева Ю.В.<sup>1</sup>, Замятина С.В., Брюханов В.М.<sup>1</sup>, Жариков А.Ю.<sup>1</sup>, Кореновский Ю.В.<sup>1</sup>

*Цель исследования:* Изучение влияния фуросемида на объем и состав амниотической жидкости крольчих на поздних сроках беременности.

*Методика:* Крольчихи на сроке 27-28 недель были случайно разделены на опытную (n=6) и контрольную группы (n=11). Определяли объем амниотической жидкости (АЖ), ее осмоляльность, концентрацию и содержание электролитов – Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, неорганического фосфата (P<sub>γ</sub>), Ca<sup>2+</sup> и органических компонентов (креатинин, мочевины, лактат) в амниотической жидкости.

*Результаты:* Под действием фуросемида повышается объем амниотической жидкости, содержание органических (лактат, креатинин) и неорганических (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, P<sub>γ</sub>, Ca<sup>2+</sup>) компонентов.

*Заключение:* Описанные изменения параметров АЖ обусловлены повышением ее объема, увеличением неорганических (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, P<sub>γ</sub>, Ca<sup>2+</sup>), органических (лактата, креатинина) за счет снижения реабсорбции в почках плода.

**Ключевые слова:** амниотическая жидкость, беременность, плод, фуросемид, кролики.

*Research objective:* the influence of furosemide on the volume and composition of amniotic fluid (AF) of first-pregnant rabbits on the last gestation days was investigated.

*Material and methods:* an experimental (11 pregnant rabbits) and control (6 rabbits) group were used in this study. Volume of amniotic fluid, osmolality and concentration of electrolytes – Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, non-organic phosphate (P<sub>γ</sub>), Ca<sup>2+</sup> and organic components (creatinine, urea, lactate) in AF were measured.

*Results:* it was found that furosemide caused an increase in volume of AF, as well as an increase in AF's electrolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, P<sub>γ</sub>, Ca<sup>2+</sup>) and organic (lactate, creatinine) components.

*Conclusion:* changes in AF parameters are associated with increasing of AF volume, electrolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, P<sub>γ</sub>, Ca<sup>2+</sup>) and organic (lactate, creatinine) components, which were caused by deceleration of water resorption in fetus kidneys.

**Key words:** amniotic fluid, pregnancy, fetus, furosemide, rabbits.

Амниотическая жидкость (АЖ) – биологически активная жидкая среда, находящаяся внутри плодных оболочек во время беременности [1]. АЖ окружает плод и является его естественной средой, играя при этом существенную роль в обеспечении его жизнедеятельности. К самым важным функциям АЖ относятся ее роль в процессе обмена веществ плода, а также защита плода от всяческих внешних воздействий [2]. От нормативного состояния амниотической жидкости зависит благополучное течение беременности [2].

АЖ отражает гомеостаз как плодов, так и материнского организма [3]. Определение нормальных биохимических параметров АЖ необходимо для изучения регуляции ее ионного состава, объема и механизма образования, что позволит разработать действующую модель для исследования фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных препаратов в беременных организмах [4].

В физиологической регуляции объема амниотической жидкости (АЖ) и ее состава многое

остаётся неясным, что связано с двумя факторами: 1) существуют различные потенциальные пути формирования и оттока АЖ (моча плода, интрамембранный путь, заглатывание, секрет легких, секрет носоглотки, трансмембранный и чрескожный пути, а также перенос через поверхность пуповины); 2) скорость перехода воды и растворенных веществ через большинство из этих путей редко измеряется одновременно [5].

Во второй половине беременности амниотическая жидкость представляет собой мочу плода и секрет легких [6]. Амниотическая жидкость заглатывается плодом, а также через амнион поступает в кровотоки плода. Объем амниотической жидкости зависит от степени гидратации плода [6]. Поскольку вся вода плода поступает от матери, то плацентарный ток воды является важным фактором, определяющим объем амниотической жидкости [7].

Однако эта концепция не объясняет механизм регуляции объема амниотической жидкости во время беременности, механизмы умень-

шения объема амниотической жидкости при переносенной беременности или при остром олигогидрамнионе [3]. Поскольку основным путем образования АЖ является моча плода, то интерес представляет восприимчивость почек плода к диуретикам, в частности к фуросемиду. Полученные результаты настоящего исследования позволят выявить степень и характер изменения объема и состава амниотической жидкости в модели [8].

Целью настоящего исследования было изучение влияния петлевого диуретика фуросемида на объем и состав амниотической жидкости крольчих на поздних сроках беременности.

### Материалы и методы

В клиническое исследование было включено 17 первобеременных крольчих и 104 их плода. Оплодотворение проводили разными случайно выбранными самцами, после чего крольчихи находились в одиночных клетках на свободном питании. Все испытуемые были разделены на 2 группы (опытную и контрольную). В опытной группе было 6 крольчих и 31 плод. В контрольной группе – 11 крольчих и 73 плода. Крольчихам опытной группы вводился диуретик фуросемид в дозе 2,9 мг на кг массы тела. Инъекцию фуросемида производили в краевую ушную вену, которая проходит по тонкому краю уха на наружной его поверхности. По ходу вены выстригали шерсть. Ухо слегка массировали и протирали спиртом для создания усиленного кровообращения. Пережимали вену у основания уха, брали ухо кролика и вводили иглу шприца в полость сосуда. Прокол вены начинали ближе к верхушке уха. После прокола вены иглу, находящуюся в сосуде, фиксировали. После этого прекращали сдавливать вену и, держа шприц в правой руке, производили инъекцию. Контрольной группе крольчих диуретик не вводился. Критериями включения испытуемых животных является: срок беременности 27-28 сутки (при нормальной беременности – 31 сутки), масса крольчих 3-4 кг. Критерий исключения плодов из исследования – вес плода менее 20 г.

В ходе эксперимента определяли: массу плода, массу плаценты, объем и осмоляльность амниотической жидкости. В амниотической жидкости определяли концентрацию и содержание органических (лактат, креатинин, мочевины) и неорганических (ионы натрия, хлора, калия, кальция и фосфатов) веществ.

Для исследования через 15 минут после введения препарата проводилась цервикальная дислокация и срединная лапаротомия с экстирпацией матки. Из полости матки выделяли и извлекали амниотические мешки с плодами и разделяли материнскую и плодную части плаценты, не нарушая целостности амниотического мешка. Одноразовым шприцем из амни-

отического мешка извлекалась амниотическая жидкость. Образцы амниотической жидкости центрифугировали в течение 15 мин, помещали в микропробирки по 200 мкл и замораживали при температуре -20°C до проведения биохимического исследования. Биохимические исследования проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Dimension Xpand (Siemens, Германия). Концентрацию ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> определяли потенциометрическим методом с использованием модуля QuikLyte Integrate Multisensor (Siemens, кат. № S600, США); общую концентрацию Ca<sup>2+</sup> – колориметрическим методом набором реагентов CA Calcium Flex reagent cartridge (Siemens, кат. № EA4164, США); концентрацию P<sub>i</sub> – колориметрическим методом набором реагентов PHOS Phosphorus Flex reagent cartridge (Siemens, кат. № EA4172, США). Осмоляльность АЖ определяли при помощи осмометра Vapro (Wescor, США). Концентрацию креатинина в АЖ определяли модифицированным методом Яффе реагентами CREA Creatinine Flex reagent cartridge (Siemens, кат. № DA4254, США); концентрацию мочевины – кинетическим ферментативным (уреазным) методом реагентами BUN Urea Nitrogen Flex reagent cartridge («Siemens», кат. № EB4309, США); концентрацию лактата определяли энзиматическим, амперометрическим методом с использованием анализатора глюкозы и лактата «Biosen C line» фирмы «EKF» (Германия).

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России.

При статистическом анализе результатов исследования с использованием программы SigmaPlot 11.0 рассчитывали медиану, 25 и 75 перцентили, достоверность межгрупповых различий по критерию Манна-Уитни. В качестве критического уровня для всех использованных критериев принимали достоверность p<0,05.

### Результаты и обсуждение

Масса плода не влияла на подбор групп животных. Значимые различия наблюдались по массе плаценты, объему и осмоляльности амниотической жидкости. Фуросемид – петлевой диуретик. Нарушает реабсорбцию ионов натрия, хлора в восходящей части петли Генле. Вследствие увеличения выделения ионов натрия происходит вторичное (опосредованное осмотически связанной водой) усиленное выведение воды и увеличение секреции ионов калия в дистальной части почечных канальцев [9]. Поэтому введение фуросемида опытной группе животных привело к изменению общих показателей. В табл. 1 представлены характеристики исследования общих показателей.

В ходе проведенного исследования состава амниотической жидкости, определяли неорганические и органические компоненты (табл. 2, 3). В амниотической жидкости крольчих опытной группы содержание ионов (натрия, калия, хлора, кальция и фосфатов) достоверно выше, чем у крольчих контрольной группы, что свидетельствует о действии фуросемида на состав амниотической жидкости. Концентрация ионов (натрия, калия, хлора, фосфатов) не меня-

ется, что говорит о разбавлении мочи. При введении фуросемида увеличивается содержание ионов (натрия, калия, хлора, кальция, фосфатов) в амниотической жидкости, повышается диурез, увеличивается скорость движения мочи по канальцам почек, что свидетельствует о недостаточной реабсорбции лактата и креатинина. Вследствие повышенного диуреза содержание мочевины снижается из-за разбавления мочи.

Таблица 1

*Определение общих показателей (масса плода, масса плаценты, осмоляльность, объем) амниотической жидкости по критерию Манна-Уитни*

Показатель	Фуросемид	Контроль	P
масса плода, г	24,9; 26,6; 31,3	26,6; 31,0; 34,2	0,108
масса плаценты, г	3,9; 4,2; 4,6	2,7; 3,2; 3,7	0,008
объем амниотической жидкости, мл	0,4; 3,3; 4,2	0,3; 0,6; 1,0	0,037
осмоляльность, мОсмоль/кг	289,0; 303,0; 314,0	223,0; 231,0; 245,0	<0,001

Примечание: данные представлены в виде 25 перцентилей, медиана, 75 перцентилей

Таблица 2

*Определение неорганических компонентов (ионов) в амниотической жидкости по критерию Манна-Уитни*

Показатель	Фуросемид	Контроль	P
Na, ммоль/л	115,0; 138,5; 142,0	129,0; 132,0; 135,0	0,325
Na, мкмоль	62,5; 496,1; 583,8	43,8; 85,1; 114,40	0,037
K, ммоль/л	5,6; 7,5; 20,1	6,5; 7,2; 8,3	0,981
K, мкмоль	12,8; 20,3; 28,0	3,06; 4,7; 9,5	<0,001
Cl, ммоль/л	94,0; 102,5; 108,0	100,0; 102,0; 106,0	0,981
Cl, мкмоль	45,0; 366,1; 432,6	33,9; 67,5; 90,4	0,042
Ca, ммоль/л	2,4; 3,6; 5,3	2,04; 2,1; 2,3	<0,001
Ca, мкмоль	2,3; 12,7; 14,2	0,6; 1,3; 2,9	0,015
P, ммоль/л	1,4; 1,5; 2,1	0,9; 1,0; 1,1	0,010
P, мкмоль	2,1; 3,4; 5,6	0,3; 0,7; 1,3	<0,001

Примечание: данные представлены в виде 25 перцентилей, медиана, 75 перцентилей

Таблица 3

*Определение органических компонентов амниотической жидкости (лактат, креатинин, мочевина) по критерию Манна-Уитни*

Показатель	Фуросемид	Контроль	P
Лактат, ммоль/л	16,8; 20,3; 25,4	11,7; 12,3; 15,0	0,003
Лактат, мкмоль	9,0; 48,4; 117,3	4,0; 8,0; 18,0	0,009
Креатинин, ммоль/л	0,1; 0,1; 0,2	0,1; 0,1; 0,1	0,007
Креатинин, мкмоль	0,2; 0,5; 0,8	0,06; 0,09; 0,19	0,001
Мочевина, ммоль/л	4,2; 4,2; 6,5	6,1; 6,5; 7,1	0,027

Примечание: данные представлены в виде 25 перцентилей, медиана, 75 перцентилей

При определении органических компонентов амниотической жидкости крольчих (лактат, креатинин и мочевина) были выявлены достоверные различия между опытной и контрольной группами. Содержание лактата в контрольной группе составила 8,0 мкмоль, а в опытной – 48,4 мкмоль, в то же время содер-

жание креатинина в опытной группе в 5,5 раза превышает содержание креатинина контрольной группы. Содержание мочевины в опытной группе животных ниже, чем в контрольной группе. Это доказывает влияние фуросемида на состав амниотической жидкости.

### Заключение

В ходе проведенного эксперимента показано, что изменения параметров АЖ обусловлены повышением ее объема, увеличением неорганических ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{P}_i$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) и органических (лактата, креатинина) компонентов за счет снижения реабсорбции в почках плода.

### Список литературы

1. Magann EF, Sandlin AT, Ounpraseuth ST. Amniotic fluid and the clinical relevance of the sonographically estimated amniotic fluid volume: oligohydramnios. *J. Ultrasound Med.* 2011; 30(11): 1573-1585.
2. Beall MH, van den Wijngaard JP, van Gemert MJ, Ross MG. Amniotic fluid water dynamics. *Placenta.* 2007; 28: 816-823.
3. Кореновский Ю.В., Лытарь И.А., Бурякова С.И., Поповцева А.В., Сузопов Е.В., Обухова Л.Е., Буркова Т.В., Барсукова Н.И., Ремнёва О.В., Фадеева Н.И. Регуляция объема амниотической жидкости. *Акушерство и гинекология.* 2016; (2): 44-48.
4. Сузопов Е.В., Лытарь И.А., Поповцева А.В., Кореновский Ю.В. Референтные пределы концентрации электролитов в амниотической жидкости крольчих на сроке 27-28 сут беременности. *Нефрология.* 2017; 21(1); 68-72.
5. Brace RA, Cheung CY. Regulation of amniotic fluid volume: evolving concepts. *Adv Exp Med Biol.* 2014;814:49-68.
6. Thurlow RW, Brace RA. Swallowing, urine flow and amniotic fluid volume responses to prolonged hypoxia in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 189: 601-608.
7. Mann SE, Nijland MJ, Ross MG. Ovine adaptations to chronically reduced urine flow: preservation of amniotic fluid volume. *J Appl Physiol.* 1996; 81: 2588-2594.
8. Manikandan K, Raghavan S. Amniotic fluid volume changes in response to furosemide induced maternal fluid shifts. *J Pharmacol Pharmacother.* 2014; 5(2): 153-154.
9. Смирнов И.В., Бондарев А.А., Брюханов В.М., Постников П.С., Филимонов В.Д. К механизму диуретической активности фуросемида. Роль гидрофобного сегмента молекулы. *Сибирский медицинский журнал.* 2011; 26(1-1): 123-126.

### Контактные данные

Автор, ответственный за переписку: Шабалина Юлия Вадимовна, старший преподаватель кафедры общей и биологической химии, клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.  
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.  
Тел.: (3852) 566938.  
Email: shabalinajv@gmail.com

### Информация об авторах

Поповцева Анна Валентиновна, врач клинической лабораторной диагностики в медицинской лаборатории, диагностический центр ООО «НПФ «Хеликс»», г. Санкт-Петербург.  
190000, г. Санкт-Петербург, Набережная реки Карповки, 5.  
Тел. : (800)7000303.  
Email: popovceva@gmail.com

Сузопов Егор Валерьевич, лаборант кафедры общей и биологической химии, клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.  
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.  
Тел.: (3852) 241392.  
Email: suzopov1egor@gmail.com

Дегтярева Юлия Владимировна, к.б.н., доцент кафедры общей и биологической химии, клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.  
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.  
Тел.: (3852) 241392.  
Email: juliadegt@gmail.com

Замятина Светлана Владимировна, к.м.н., доцент кафедры общей и биологической химии, клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.  
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.  
Тел.: (3852) 241392.  
Email: zamyatina\_s\_v@mail.ru

Брюханов Валерий Михайлович, д.м.н., профессор, профессор кафедры фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.  
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.  
Тел.: (3852) 566812.  
Email: bvm@agmu.ru

Жариков Александр Юрьевич, д.б.н., заведующий кафедрой фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.  
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.  
Тел.: (3852) 566812.  
Email: zharikov\_a\_y@mail.ru

Кореновский Юрий Владимирович, к.м.н., заведующий кафедрой общей и биологической химии, клинической лабораторной диагностики Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.  
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40.  
Тел.: (3852) 566938.  
Email: timidin@gmail.com