

УДК 615.017:616.079 615.2/.3

Нарушения развития потомства крыс с экспериментальной преэклампсией и их коррекция фабомотизолом

Соломина А.С., Родина А.В., Алексеева С.В., Волкова А.В., Качалов К.С.,
Захаров А.Д., Жанатаев А.К., Даугель-Дауге Н.О., Дурнев А.Д.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»,
125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Актуальность. Преэклампсия является одной из ведущих причин репродуктивных потерь в мире, что актуализирует поиск средств фармакологической коррекции, способных снизить материнскую и младенческую смертность, а также отклонения у потомства. Исследована способность фабомотизола корректировать нарушения у потомства от крыс с экспериментальной преэклампсией.

Методы. Преэклампсию моделировали заменой питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида с 1-го дня беременности. Фабомотизол в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг вводили перорально ежедневно на протяжении всей беременности.

Результаты. У крыс с экспериментальной преэклампсией к концу беременности повышалось артериальное давление, изменялись морфологические и биохимические параметры крови и мочи, регистрировались ДНК-повреждения в эмбриональных тканях и отклонения в антенатальном и постнатальном развитии. Использование фабомотизола снижало нарушения развития потомства крыс, индуцированные экспериментальной преэклампсией.

Ключевые слова: преэклампсия; пре- и постнатальное развитие; ДНК-повреждения; фабомотизол; крысы.

Для цитирования: Соломина А.С., Родина А.В., Алексеева С.В., Волкова А.В., Качалов К.С., Захаров А.Д., Жанатаев А.К., Даугель-Дауге Н.О., Дурнев А.Д. Нарушения развития потомства крыс с экспериментальной преэклампсией и их коррекция фабомотизолом. *Патогенез*. 2022; 20(1): 14-28

DOI: 10.25557/2310-0435.2022.01.14-28

Для корреспонденции: Соломина Анна Сергеевна, e-mail: solomina@academpharm.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 09.11.2021

Developmental abnormalities in offspring of rats with experimental preeclampsia and their correction with fabomotizole

Solomina A.S., Rodina A.V., Alexeeva S.V., Volkova A.V., Kachalov K.S.,
Zakharov A.D., Zhanataev A.K., Daugel-Dauge N.O., Durnev A.D.

Zakusov Institute of Pharmacology,
Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Background. Preeclampsia is one of the leading factors of reproductive losses worldwide, which warrants searching for pharmacological treatments to restrict the maternal and neonatal mortality as well as offspring abnormalities. The study was aimed at the ability of fabomotizole to correct birth defects of offspring from rats with experimental preeclampsia.

Methods. Preeclampsia was modeled by replacing drinking tap water with 1.8 % NaCl from the first day of pregnancy. Fabomotizole at doses of 1 mg/kg and 10 mg/kg was administered orally daily throughout the pregnancy.

Results. Rats with experimental preeclampsia showed increased blood pressure, alterations of morphological and biochemical parameters of blood and urine, DNA damage in embryonic tissues, and disorders of antenatal and postnatal development. Administration of fabomotizole reduced the developmental abnormalities in rat offspring induced by experimental maternal preeclampsia.

Keywords: preeclampsia; pre- and postnatal development; DNA damage; fabomotizole; rats

For citation. Solomina A.S., Rodina A.V., Alexeeva S.V., Volkova A.V., Kachalov K.S., Zakharov A.D., Zhanataev A.K., Daugel-Dauge N.O., Durnev A.D. [Developmental abnormalities in offspring of rats with experimental preeclampsia; correction with fabomotizole]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021; 20(1): 14-28 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2022.01.14-28

For correspondence: Solomina Anna Sergeevna, e-mail: solomina@academpharm.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 09.11.2021

Введение

Преэклампсия (ПЭ) – гестационное заболевание неясной этиологии, сопровождающееся гипертензией в сочетании с протеинурией и/или дисфункцией жизненно важных органов. Как правило, ПЭ манифестирует во второй половине беременности, осложняя течение от 2 до 8% беременностей и являясь одной из ведущих причин репродуктивных потерь в мире [1, 2].

В норме в организме беременной наблюдается увеличение продукции активных форм кислорода (АФК). Недостаточный уровень адаптации тканей и органов беременной к повышению продукции АФК рассматривается как одна из возможных причин развития ПЭ [3]. Основным источником и основной мишенью воздействия АФК во время беременности является плацента, в результате происходит её ускоренное старение, формируется плацентарная недостаточность. Последствия этого процесса могут выражаться нарушениями пре- и постнатального развития потомства [4].

В серии собственных работ, опубликованных ранее [5, 6], мы обнаружили, что нарушения пре- и постнатального развития коррелируют с уровнями поврежденности ДНК клеток плаценты и эмбрионов, а в независимых работах продемонстрировано, что повреждения ДНК индуцируются АФК и могут рассматриваться как биомаркеры свободно-радикальной атаки ДНК [7-9].

В настоящее время имеются отдельные свидетельства того, что при экспериментальной ПЭ у подопытных животных увеличивается поврежденность ДНК [10]. Одновременно известны фармакологические препараты, способные проявлять антигенотоксические свойства, т.е. препятствовать индукции ДНК-повреждений. Это позволяет предположить, что с помощью соединений с антигенотоксическими свойствами можно осуществить фармакологическую коррекцию негативных последствий ПЭ в эксперименте.

Антигенотоксическая активность была выявлена и неоднократно продемонстрирована в экспериментах у селективного анксиолитика фабомотизола. В том числе, в эмбриональных и плацентарных клетках крыс, подвергавшихся неблагоприятным воздействиям в период беременности [11].

Целью настоящего исследования явилась оценка нарушений пре- и постнатального развития и целостности ДНК у крыс с экспериментальной ПЭ и исследование влияния на выявляемые нарушения фабомотизола.

Материалы и методы исследования

Для решения поставленной задачи нами была выбрана экспериментальная модель ПЭ, предполагающая замену питьевой воды на 1,8% раствор NaCl с 1-го дня беременности. Веаусејоуг А. с соавторами, впервые предложившие подобную модель в 2007 году, об-

наружили, что употребление крысами солевого раствора приводит к повышению артериального давления (АД), появлению белка в моче, снижению активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, интенсификации окислительного стресса и задержке внутриутробного развития плода [12]. Таким образом, один из этапов настоящего исследования предусматривал оценку влияния фабомотизола на клинико-лабораторные показатели в ходе развития потомства крыс с экспериментальной ПЭ.

Эксперименты выполнены на аутбредных беременных крысах, полученных из сертифицированного питомника «Филиал Столбовая» ФГБНУ НЦ биомедицинских технологий массой 200–220 г на момент распределения по группам. Содержание, уход и манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с общепринятыми международными и национальными стандартами. Все процедуры с животными в исследованиях были рассмотрены и утверждены комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Для получения беременных крыс, самок с регулярным эстральным циклом, предварительно определяемым в течение двух недель, подсаживали к самцам в отдельные клетки в стадии проэструса во второй половине в соотношении 2 самки – 1 самец. Обнаружение сперматозоидов в вагинальных мазках считали 1-м днём беременности.

При проведении физиологических и клинико-лабораторных исследований каждая экспериментальная группа включала не менее 6 особей, в генотоксикологических исследованиях – не менее 3 особей, при изучении антенатального и постнатального развития потомства – не менее 10 особей.

После 20-го дня беременности оценивали физиологические показатели (систолическое и диастолическое АД, пульс); клинико-лабораторные параметры (морфологические и коагулометрические показатели крови, биохимическое изучение крови и мочи); ДНК-повреждающее действие в клетках плаценты и внутренних органов плодов (методом ДНК-комет в щелочной версии); антенатальное (макроскопический осмотр, анализ внутренних органов и костной системы плодов) и постнатальное развитие после наступления половой зрелости (поведенческие тесты «Распознавание нового объекта» и «Т-образный лабиринт») у потомства.

ДНК-повреждающее действие в модели экспериментальной ПЭ оценивали на 20-й день беременности в клетках плаценты и головного мозга плодов (предварительный эксперимент), на 21-й и 22-й дни беременности в клетках плаценты, головного мозга, печени и почек плодов методом ДНК-комет в щелочной версии [13]. Негативным контролем служили крысы, получавшие фильтрованную воду *ad libitum*. Введение животных их эксперимента проводили методом CO₂-эвтаназии. Максимально быстро вскрывали брюшную полость, извлекали матку, выделяли образ-

цы плаценты и внутренних органов плодов (головной мозг, печень, почки). Выделенные образцы органов измельчали в стеклянной пробирке в 1 мл фосфатно-солевого буфера и раздавливали стеклянной палочкой. Пробирки выдерживали 5 мин при комнатной температуре для осаждения крупных фрагментов. Суспензии клеток в объеме 60 мкл вносили в пробирки с 240 мкл 1% раствора легкоплавкой агарозы в фосфатно-солевом буфере, подогретого до 36°C (микротермостат «Термит», Россия) и ресуспендировали. Затем, 60 мкл раствора агарозы с клетками наносили на предварительно покрытые 1% универсальной агарозой предметные стекла, покрывали покровным стеклом и помещали на лёд. Далее все операции проводили в затемнённом помещении при жёлтом свете. После затвердевания агарозы (около 5-10 мин) покровные стекла осторожно удаляли, микропрепараты помещали в стеклянную кювету (тип Шиффендеккер), заливали предварительно охлаждённым до 4°C лизирующим буфером (10 mM Tris-HCl [pH 10], 2,5 M NaCl, 100 mM EDTA-Na₂, 1% Triton X-100, 10% ДМСО) и инкубировали не менее 1 часа. После окончания лизиса микропрепараты переносили в охлажденный до 4°C буфер для электрофореза – 300 mM NaOH, 1 mM EDTA-Na₂ [pH > 13]. Инкубировали в течение 20 мин для реализации щёлочно-лабильных сайтов и щелочной денатурации ДНК. После микропрепараты переносили в камеру для электрофореза (SubCell GT, «Bio-Rad»), заполненную свежим охлажденным буфером, и проводили электрофорез в течение 20 мин при напряжённости поля 1 В/см и силе тока ~300 мА. По окончании электрофореза микропрепараты переносили в стеклянную кювету, отмывали в течение 10 мин в фосфатно-солевом буфере и фиксировали в 70% растворе этилового спирта в течение 15 мин. После фиксации микропрепараты высушивали и хранили до анализа при комнатной температуре.

Непосредственно перед микроскопированием препараты окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (1:10000 в ТЕ-буфере [pH 8,5] с 50% глицерином), в течение 30 мин в темноте. Анализ проводили на эпифлуоресцентном микроскопе Микмед-2 12Т («Ломо», Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения (VEC-335, «ЭВС», Россия), при увеличении × 200. Полученные с микропрепаратов изображения ДНК-комет анализировали с использованием программного обеспечения CASP 1.2.2 [14]. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте ДНК-комет (% ДНК в хвосте). С каждого микропрепарата снимали и анализировали не менее 100 ДНК-комет.

Неинвазивное измерение давления у беременных крыс проводили с использованием модулей аппаратного комплекса ADInstruments и программного обеспечения LabChart (Австралия). На хвост бодрствующей крысы надевалась манжета с преобразователем пульса, по которому можно было определить АД, основываясь на пе-

риодичности окклюзии крови в хвосте. Оценку функций сердечно-сосудистой системы давали по следующим показателям: САД (систолическое АД), ДАД (диастолическое АД) и пульс. Регистрация данных проводилась на 21-й день беременности.

Клинико-биохимическое исследование мочи у беременных крыс было выполнено на 21-й день беременности. Для сбора мочи крыс на одни сутки помещали в пластиковые метаболические камеры, производства НПК «Открытая Наука» (Москва, Россия). Регистрировали удельный вес, кислотность, содержание глюкозы (анализатор мочи PRO DocUReader 2 (производитель «77 Электроника Кфт», Венгрия), белка (автоматический биохимический и иммуноферментный анализатор «Chem Well 2910 Combi», США, с использованием набора реагентов Белок-ПГК-Ново производства компании «Вектор-БЕСТ», Новосибирск), креатинина и мочевины (автоматический биохимический и иммуноферментный анализатор «Chem Well 2910 Combi», США, с использованием наборов реагентов для диагностики *in vitro* производства компании «SPINREACT S.A», Испания).

Морфологические, биохимические и коагулометрические параметры крови у беременных крыс оценивали на 20-й день беременности. Определение морфологических показателей включало регистрацию количества гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрита, тромбокриты, среднего объема эритроцитов, среднего содержания гемоглобина в эритроцитах, средней концентрации гемоглобина в эритроците (автоматический гематологический анализатор «Abacus junior vet», Австрия). При изучении биохимических параметров в сыворотке крови анализировали содержание глюкозы, общего белка, альбумина, аланина и аспартатаминотрансферазы, креатинина и мочевины (автоматический биохимический и иммуноферментный анализатор «Chem Well 2910 Combi», США). Гемостаз оценивали по следующим показателям: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ) и количество фибриногена (коагулометр TS 4000, США).

Антенатальное развитие. На 20-й день беременности одну часть самок (50%) подвергали эвтаназии и некропсии. В тщательно очищенных от жировой ткани яичниках подсчитывали количество жёлтых тел беременности с помощью лупы и тонкой иглы. В матке после вскрытия по наружному краю подсчитывали число живых, мертвых, резорбированных плодов, количество мест имплантаций. На основании полученных данных вычисляли показатель предимплантационной гибели и постимплантационной гибели. У живых плодов производили внешний макроскопический осмотр с помощью лупы от головы к хвосту, который позволял обнаружить дефекты глаз, мозга, лицевых костей черепа, конечностей, позвоночника, сосудистые реакции кожных покровов: гиперемия, кровоизлияния, ге-

маты. Определяли кранио-каудальный размер (см) и массу тела плодов (г).

После внешнего осмотра плодов, регистрации аномалий и взвешивания плоды каждого помета делили на 2 группы. Одну группу плодов (около половины) фиксировали в жидкости Буэна и использовали для изучения внутренних органов (метод Вильсона-Дыбана). Остальные плоды фиксировали в 96% этаноле и использовали для изучения состояния скелета (метод Доусона).

Постнатальное развитие. В возрасте 60 дней поведение потомства крыс, подвернутых экспериментальной ПЭ, оценивали в тестах «Распознавание нового объекта» и «Т-образный лабиринт».

Тест «Распознавание нового объекта» позволяет исследовать непространственную память грызунов и основан на предпочтении новизны: если предъявить животному для изучения знакомый объект и новый (отличающийся по форме/цвету) — оно отдаст предпочтение изучению нового объекта [15]. В представленном исследовании был использован следующий вариант теста «Распознавание нового объекта»: объекты распознавания А1 и А2 представляли собой пластмассовые сосуды белого цвета цилиндрической формы (высота 25 см, диаметр 13 см). В качестве объекта Б1 использовали чёрный пластмассовый куб (длина/ширина/высота 25 см). Вес наполнителя объекта составлял 400 г. Установка для тестирования имела квадратную форму с шириной стенок 75 см и высотой 42 см. Последовательность этапов тестирования обеспечивалась следующим образом: в первые сутки тестирования животных помещали в установку без объектов распознавания. Через 24 ч животных помещали в установку с объектами распознавания А1 и А2. Через 48 ч животное помещали в установку с объектами распознавания А1 и Б1 и регистрировали время, затраченное на изучение каждого объекта. Ознакомление с установкой, объектами распознавания и регистрацию времени изучения объектов проводили на протяжении 4 мин. Критерием предпочтения объектов служил коэффициент дискриминации (КД), который рассчитывали по формуле:

$$\text{КД} = t(\text{Б1}) - t(\text{А1}) / t(\text{Б1}) + t(\text{А1}),$$

где $t(\text{Б1})$ — суммарное время, проведенное у объекта Б1, $t(\text{А1})$ — суммарное время, проведенное у объекта А1.

Значения $\text{КД} > 0,1$ означают, что животное различает новый и знакомый объект.

Тест «Т-образный лабиринт» используется для оценки пространственной памяти и когнитивных способностей грызунов. Установка для тестирования состояла из стартовой камеры (непищевая среда) и боковых рукавов лабиринта (пищевая среда) [16]. Пищедобывательный навык вырабатывали в течение 5 последовательных дней. Животные совершали по 5 побегов в день длительностью 5 мин (300 с). Началу эксперимента предшествовала пищевая депривация в течение 24 ч. Задача

состояла в способности крыс в условиях свободного выбора целенаправленно находить пищевое подкрепление, находящееся в кормушке одного из рукавов лабиринта, в пределах фиксированного времени. Регистрировали время достижения пищевого подкрепления и количество находений пищевого подкрепления.

Регистрация и обработка показателей «время изучения нового/знакомого объекта» в тесте «Распознавание нового объекта», «время достижения пищевого подкрепления» и «количество находений пищевого подкрепления» в тесте «Т-образный лабиринт» проводилась с помощью программного обеспечения RealTimer (процедурный таймер) (ООО НПК «Открытая Наука», Россия).

Фармакологическим корректором во всех сериях экспериментов служил фабомотизол в дозах 1 и 10 мг/кг, который вводили перорально в объеме 0,5 мл/200 г массы тела с 1-го дня беременности и до момента забора биологического материала/родов. Раствор необходимой концентрации получали путём растворения фармацевтической субстанции фабомотизола в дистиллированной воде и использовали свежеприготовленным.

Статистический анализ результатов исследований проводили согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Данные проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро—Уилка, и гомогенность выборки — с использованием теста Левена. При распределении, близком к нормальному, и гомогенности дисперсий для межгрупповых сравнений применяли дисперсионный анализ ANOVA с t -критерием Стьюдента для попарных сравнений. В случае не Гауссовского распределения данных применяли ранговый критерий Манна—Уитни и Краскела—Уоллиса для оценки разностей между медианами с поправкой Бонферрони для множественных сравнений. Для оценки частотных показателей использовали критерий χ^2 . Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

В предварительном эксперименте у животных в условиях экспериментальной преэклампсии на 20-й день беременности не выявлено увеличения поврежденности ДНК в клетках плаценты и головного мозга плодов (табл. 1).

Слабо выраженное, но статистически значимое увеличение повреждения ДНК выявлено в клетках плаценты на 21-й день беременности (табл. 2, рис. 1) и в печени плодов на 22-й день беременности (табл. 3). Различий при общем подсчёте и подсчёте в соответствии с расположением плодов в рогах матки не наблюдалось (рис. 1).

Таким образом, в модели экспериментальной ПЭ мы наблюдали незначительное ДНК-повреждающее действие в эмбриональных тканях.

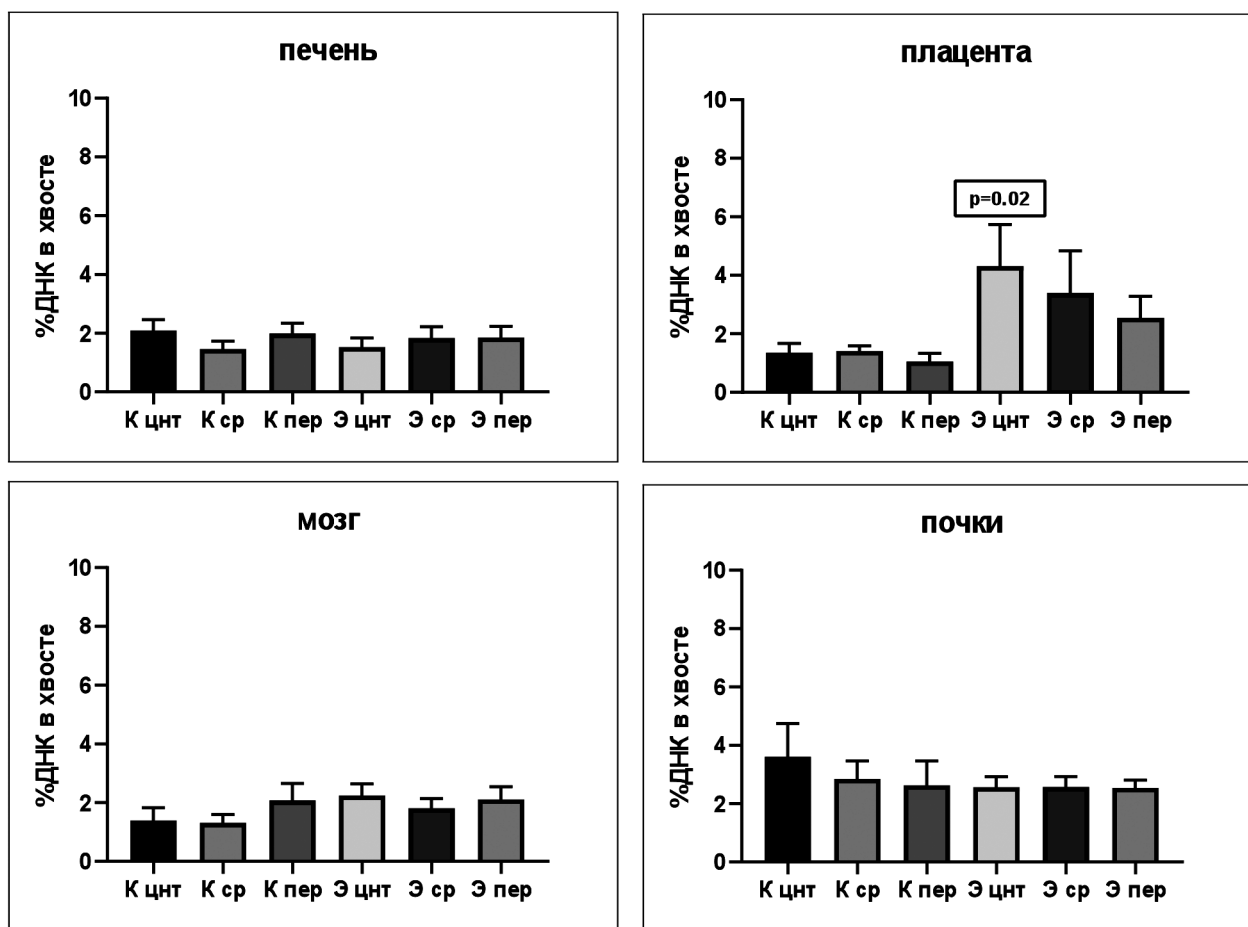


Рис. 1. Уровень поврежденности ДНК в клетках плаценты и внутренних органах плодов в условиях экспериментальной преэклампсии на 21-й день беременности (метод ДНК-комет в щелочной версии, подсчет данных с учётом расположения плодов в роге матки). Обозначения: К – негативная контрольная группа, Э – экспериментальная ПЭ, цнт – расположение плодов в основании (положение 1 и 4), ср – расположение плодов в основании (положение 2 и 5), пер – расположение плодов в периферии (положение 3 и 6). Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$). Указана статистическая значимость отличий от контрольной группы (t- критерий Стьюдента).

Таблица 1

Уровень поврежденности ДНК в клетках плаценты и головного мозга плодов в условиях экспериментальной преэклампсии на 20-й день беременности (предварительный эксперимент, метод ДНК-комет в щелочной версии)

Группа	% ДНК в хвосте ($M \pm SD$)	
	Плацента	Головной мозг
Негативный контроль	$4,9 \pm 2,2$	$4,6 \pm 3,2$
Экспериментальная ПЭ	$3,9 \pm 1,4$	$1,8 \pm 1,1$

Таблица 2

Уровень поврежденности ДНК в клетках плаценты и внутренних органах плодов в условиях экспериментальной преэклампсии на 21-й день беременности (метод ДНК-комет в щелочной версии)

Группа	% ДНК в хвосте ($M \pm SD$)			
	Клетки печени	Клетки плаценты	Клетки мозга	Клетки почек
Негативный контроль	$1,6 \pm 0,9$	$1,5 \pm 0,9$	$2,0 \pm 1,3$	$2,4 \pm 2,0$
Экспериментальная ПЭ	$1,6 \pm 1,1$	$3,3 \pm 3,7^*$	$2,4 \pm 1,7$	$2,4 \pm 1,2$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с негативной контрольной группой (критерий Манна-Уитни).

При изучении АД и пульса крыс контрольной и опытных групп было установлено значимое увеличение САД у крыс на фоне экспериментальной ПЭ. Фабомотизол не оказал положительного влияния на регистрируемые параметры: при использовании в дозе 10 мг/кг показатель САД превышал значения контрольной группы, пульс был значимо выше группы контроля и экспериментальной ПЭ (табл. 4).

Биохимическое исследование мочи позволило установить значимое повышение белка в моче и количества эритроцитов у крыс на фоне экспериментальной ПЭ. Помимо указанных изменений, характерных для ПЭ, у крыс опытной группы выявлено снижение мочевины. Фабомотизол в дозах 1 и 10 мг/кг снижал уровень белка до контрольных значений, но не оказывал влияния ни на количество эритроцитов, повышенное на фоне экспериментальной ПЭ, ни на снижение уровня мочевины в условиях экспериментальной ПЭ (табл. 5).

При изучении показателей периферической крови крыс с экспериментальной ПЭ установлено значимое увеличение гематокрита. В группах животных, получавших фабомотизол в дозах 1 и 10 мг/кг, уровень гематокрита также был повышен, но значимо не отличался от контрольной группы, наряду с остальными морфометрическими показателями (табл. 6).

При наблюдении за биохимическими показателями сыворотки крови, на фоне экспериментальной ПЭ у крыс выявлено значимое повышение уровня аспаратаминотрансферазы (АСТ), что характерно для развития преэклампсии [10], и снижение уровня креатинина.

Использование фабомотизола в дозах 1 и 10 мг/кг привело к достоверному дозозависимому снижению уровня АСТ, в отличие от группы экспериментальной ПЭ. Кроме того, в опытных группах животных, получавших фабомотизол в дозах 1 и 10 мг/кг, мы наблюдали значимое увеличение уровня мочевины, что может указывать на поражение печени, обусловленное эффектом экспериментальной ПЭ (табл. 7).

Исследование показателей системы гемостаза не выявило значимых различий между контрольной и опытными группами животных.

Таким образом, замена питьевой воды на 1,8% раствор NaCl для индукции экспериментальной ПЭ сопровождалась изменениями, близкими к наблюдаемым в клинике у женщин на позднем сроке гестации. А именно, вызывало статистически значимые изменения параметров сердечно-сосудистой системы, крови и мочи. Фабомотизол в дозах 1 и 10 мг/кг достоверно снижал уровень белка в моче и уровень АСТ в сыворотке крови, повышенные на фоне экспериментальной ПЭ.

В табл. 8 представлены данные прироста массы тела крыс во время беременности. У крыс в условиях экспериментальной ПЭ отмечено значимое снижение массы тела в период с 1-го по 7-й и с 7-го по 14-й дни беременности, что отразилось и на суммарном приросте с 1-го по 20-й дни беременности. Фабомотизол в дозе 1 мг/кг не оказал влияния на сниженную на фоне экспериментальной ПЭ массу тела крыс. При введении фабомотизола в дозе 10 мг/кг у животных также наблюдалось достоверное снижение прироста массы

Таблица 3

Уровень поврежденности ДНК в клетках плаценты и внутренних органах плодов в условиях экспериментальной преэклампсии на 22-й день беременности (метод ДНК-комет в щелочной версии)

Группа	% ДНК в хвосте (M ± SD)			
	Клетки печени	Клетки плаценты	Клетки мозга	Клетки почек
Негативный контроль	0,8 ± 0,2	1,3 ± 0,9	1,2 ± 0,4	1,5 ± 0,6
Экспериментальная ПЭ	1,7 ± 0,7 *	2,1 ± 1,7	2,7 ± 1,9	2,5 ± 1,3

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с негативной контрольной группой (критерий Манна–Уитни).

Таблица 4

Влияние фабомотизола на показатели АД и пульса крыс в условиях экспериментальной ПЭ на 21-й день беременности

Показатели	Группы животных			
	Контроль	Экспериментальная ПЭ	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 1 мг/кг	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 10 мг/кг
САД, мм рт. ст.	107,5 [97,0 – 116,5]	120,0 [111,0 – 125,0] *	118,5 [103,5 – 123,5]	117,0 * [113,0 – 132,0]
ДАД, мм рт. ст.	68,0 [62,0 – 73,0]	74,0 [67,0 – 76,0]	71,5 [62,0 – 75,0]	71,0 [66,0 – 79,0]
Пульс, уд./мин	454,0 [434,5 – 479,0]	461,0 [406,0 – 473,0]	433,5 [419,5 – 478,0]	486,0 *# [456,0 – 510,0]

Примечания. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Обозначения статистической значимости: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, # – $p < 0,05$ по сравнению с группой экспериментальной ПЭ (критерий Краскела–Уоллиса).

тела с 1-го по 7-й и с 7-го по 14-й дни беременности, однако, в период с 14-го по 20-й дни беременности величина прироста не отличалась от контрольной груп-

пы и была значимо выше показателей группы экспериментальной ПЭ. Суммарный прирост массы тела животных, получавших фабомотизол в дозе 10 мг/кг

Таблица 5

Влияние фабомотизола на показатели мочи крыс в условиях экспериментальной ПЭ на 21-й день беременности

Показатели	Группы животных			
	Контроль	Экспериментальная ПЭ	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 1 мг/кг	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 10 мг/кг
Диурез, мл/сут	7,0 [5,0 – 10,0]	10,0 [8,0 – 15,0]	6,0 [4,0 – 11,0]	11,5 * [10,5 – 25,0]
pH, отн. ед.	6,5 [6,0 – 7,0]	6,5 [5,5 – 7,0]	6,25 [5,0 – 7,5]	7,0 [6,5 – 7,0]
Белок, г/л	2,4 [1,2 – 4,8]	3,6 [2,4 – 5,4] *	1,4 [0,1 – 4,2] #	1,9 [0,1 – 2,4]
Глюкоза, ммоль/л	1,67 [0,00 – 1,67]	1,67 [0,00 – 1,67]	0,00 [0,00 – 1,67]	0,00 [0,00 – 1,67]
Кетоны, мкмоль/л	0,86 [0,86 – 2,60]	0,86 [0,00 – 0,86]	0,86 [0,86 – 0,86]	0,86 [0,00 – 0,86]
Эритроциты, кл./мкл	5,0 [5,0 – 5,0]	50,0 [5,0 – 50,0] *	50,0 [50,0 – 50,0] *	50,0 * [5,0 – 50,0]
Отн. плотн, отн. ед.	1,015 [1,010 – 1,035]	1,025 [1,015 – 1,035]	1,030 [1,015 – 1,035]	1,020 [1,015 – 1,020]
Мочевина, ммоль/л	5,09 [2,29 – 6,55]	2,19 * [0,63 – 3,31]	1,91 [1,36 – 6,69]	3,45 [1,57 – 4,50]
Креатинин, ммоль/л	69,13 [54,33 – 19,37]	50,25 [19,65 – 61,95]	63,46 [42,31 – 02,00]	76,47 [42,95 – 101,68]

Примечания. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Обозначения статистической значимости как в табл. 4.

Таблица 6

Влияние фабомотизола на показатели периферической крови крыс в условиях экспериментальной преэклампсии на 20-й день беременности

Показатели	Группы животных			
	Контрольная/ вода дист.	Экспериментальная ПЭ	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 1 мг/кг	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 10 мг/кг
Гемоглобин, г/л (HGB)	111,0 [109,0 – 116,0]	125,0 [125,0 – 128,0]	120,0 [116,0 – 123,0]	118,0 [109,5 – 119,5]
Эритроциты, млн. (RBC)	6,0 [5,5 – 6,5]	6,9 [6,8 – 7,2]	6,6 [6,5 – 7,2]	6,5 [6,2 – 7,1]
Гематокрит, % (HCT)	35,8 [34,0 – 36,5]	39,9 * [39,4 – 40,6]	40,0 [38,7 – 41,6]	38,9 [36,8 – 40,7]
Ср. объем Э, фл. (MCV)	61,0 [55,0 – 61,0]	58,0 [55,0 – 58,0]	59,5 [57,0 – 61,0]	58,5 [57,5 – 59,5]
Ср. сод. Г в Э, пг (MCH)	18,5 [18,0 – 19,6]	17,3 [17,3 – 18,4]	17,7 [17,1 – 18,9]	17,3 [16,6 – 18,1]
Ср. конц. Г в Э, г/л (MCHC)	321,0 [305,0 – 325,0]	314,0 [308,0 – 320,0]	302,0 [289,0 – 320,0]	298,0 [293,0 – 306,5]
Тромбоциты, тыс. (PLT)	419,0 [391,0 – 510,0]	543,0 [522,0 – 589,0]	506,0 [501,0 – 526,0]	565,0 [460,0 – 601,5]
Ср. объем Тр., фл (MPV)	5,5 [5,2 – 5,9]	5,7 [5,3 – 5,8]	5,3 [5,1 – 5,6]	5,4 [5,0 – 5,6]
Тромбокрит, % (PCT)	0,23 [0,23 – 0,26]	0,31 [0,30 – 0,31]	0,27 [0,26 – 0,29]	0,29 [0,24 – 0,34]
Лейкоциты, тыс. (WBC)	12,2 [10,2 – 12,7]	10,6 [10,4 – 11,5]	14,4 [10,8 – 16,6]	12,6 [10,5 – 14,4]

Примечания. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Обозначения статистической значимости как в табл. 4.

на фоне экспериментальной ПЭ, не отличался от контрольных значений.

Результаты оценки влияния фабомотизола на эмбриональное развитие крыс в условиях экспериментальной ПЭ представлены в **табл. 9**. При моделировании ПЭ у крыс не наблюдалось различий в спонтанной пред- и постимплантационной гибели эмбрионов, определяемой на основании подсчёта числа жёлтых тел, мест имплантаций, количестве живых плодов по сравнению с контрольными данными. Тем не менее, у плодов опытной группы на фоне экспериментальной ПЭ выявлено значимое снижение кранио-каудального размера плодов в сравнении с контролем. Фабомотизол в дозе 1 мг/кг не влиял на сниженный в условиях экспериментальной ПЭ кранио-каудальный размер плодов. При использовании фабомотизола в дозе 10 мг/кг величина кранио-каудального размера превышала значения группы экспериментальной ПЭ и не отличалась от контрольной, однако данные результаты не были статистически значимыми.

В результате исследования 121 плода контрольной группы и 379 плодов опытных групп не было зафиксировано уродств. Данные внешнего макроскопического осмотра плодов представлены в **табл. 10**. У плодов от самок на фоне экспериментальной ПЭ выявлено значимое увеличение точечных кровоизлияний кожных покровов. Фабомотизол в дозах 1 и 10 мг/кг достоверно и дозозависимо снижал долю точечных кровоизлияний, наблюдаемых в условиях ЭПЭ.

При изучении серийных срезов внутренних органов у плодов группы экспериментальной ПЭ отмечено значимое увеличение кровоизлияний в различные полости тела в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой. При введении фабомотизола в дозах 1 и 10 мг/кг доля плодов с кровоизлияниями также превышала контрольные значения в 2–2,5 раза. По остальным показателям статистически значимых различий между контрольной и опытными группами не выявлено (**табл. 11**).

Данные по изучению состояния костной системы плодов представлены в **табл. 12**. В результате исследова-

Таблица 7

Влияние фабомотизола на биохимические показатели крови крыс в условиях экспериментальной преэклампсии на 20-й день беременности

Регистрируемые показатели	Группы животных			
	Контрольная/ вода дист.	Экспериментальная ПЭ	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 1 мг/кг	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 10 мг/кг
Глюкоза, ммоль/л	5,6 [5,1 – 5,9]	6,0 [5,2 – 6,7]	5,6 [5,0 – 8,0]	6,3 * [5,5 – 7,4]
Общий белок, г/л	59,9 [51,0 – 65,4]	55,3 [43,0 – 58,4]	67,4 [45,1 – 72,7]	66,2 [56,1 – 68,9]
АСТ, Ед/л	125,6 [66,1 – 141,2]	132,8 [97,9 – 168,2] *	97,9 [39,1 – 126,2] #	76,9 # [65,8 – 100,0]
АЛТ, Ед/л	73,9 [70,2 – 91,6]	77,5 [55,0 – 87,0]	63,5 [47,9 – 83,7]	77,9 [66,3 – 87,7]
Мочевина, моль/л	6,0 [2,1 – 6,8]	5,4 [4,6 – 10,4]	10,8 * [5,1 – 15,1]	9,4 * [7,2 – 14,3]
Креатинин, мкмоль/л	55,3 [48,6 – 57,6]	35,8 * [29,9 – 54,5]	42,3 [28,5 – 59,1]	46,1 [39,4 – 60,1]
Альбумин, г/л	28,8 [25,8 – 33,1]	30,9 [29,1 – 31,5]	31,7 [23,1 – 37,1]	32,2 [27,6 – 35,4]

Примечания. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Обозначения статистической значимости как в табл. 4.

Таблица 8

Динамика прироста массы тела беременных крыс при экспериментальной ПЭ (г)

Группа	n	Дни беременности			
		1-7	7-14	14-20	1-20
Контрольная/ вода дист.	10	27,5 [21,0 – 29,0]	28,0 [18,0 – 32,0]	47,0 [36,0 – 36,0]	99,5 [75,0 – 113,0]
Экспериментальная ПЭ	12	13,0 * [10,0 – 21,5]	9,5 * [–5,0 – 15,5]	38,5 [34,5 – 41,0]	60,0 * [39,0 – 74,0]
Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 1 мг/кг	12	15,0 * [7,5 – 20,0]	12,5 * [3,5 – 18,5]	29,5 [20,5 – 43,5]	56,0 * [50,5 – 63,5]
Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 10 мг/кг	13	19,0 * [16,0 – 22,0]	11,0 * [5,0 – 19,0]	48,0 # [40,0 – 51,0]	75,0 [67,0 – 90,0]

Примечания. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Обозначения статистической значимости как в табл. 4.

ния 60 плодов контрольной группы и 183 плодов опытных групп не зафиксировано грубых дефектов скелета. При исследовании костной системы плодов от самок группы экспериментальной ПЭ установлено замедление оссификации всех отделов скелета плодов, однако только в области плюсны и затылочной кости эти результаты значимо отличались от контрольных. У плодов от крыс, получавших фабомотизол в дозе 1 мг/кг на фоне экспериментальной ПЭ, оссификация снижалась во всех отделах скелета, но достоверные отличия от контрольной группы наблюдались в области плюсны и тазовых костей. У 20,4% плодов этой группы выявлено значимое по сравнению с контролем отсутствие затылочной кости. При введении фабомотизола в дозе 10 мг/кг достоверных различий во всех регистрируемых показателях относительной контрольной группы не установлено. Кроме того, у плодов этой группы от-

мечено значимое увеличение точек окостенения в области правой плюсны по сравнению с группой экспериментальной ПЭ.

Таким образом, влияние экспериментальной преэклампсии на антенатальное развитие потомства крыс выражалось значимым снижением кранио-каудального размера плодов и увеличением у них доли точечных кровоизлияний кожных покровов, повышением числа внутренних кровоизлияний в различные полости тела и ретардацией скелета. Фабомотизол в дозе 1 мг/кг в условиях экспериментальной ПЭ достоверно снижал лишь кровоизлияния во внутренние полости тела плодов. Более выраженным и значимым было защитное действие препарата при использовании в дозе 10 мг/кг.

В постнатальном периоде в возрасте 60 дней у потомства от крыс, беременность которых протекала на

Таблица 9

Влияние фабомотизола на эмбриональное развитие крыс в условиях экспериментальной ПЭ

Регистрируемые показатели	Группы животных			
	Контрольная/ вода дист.	Экспериментальная ПЭ	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 1 мг/кг	Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 10 мг/кг
<i>n</i>	10	12	12	13
Число жёлтых тел на 1 самку	14,0 [13,0 – 15,0]	14,0 [13,0 – 15,0]	13,5 [12,0 – 15,0]	13,0 [12,0 – 15,0]
Число мест имплантаций на 1 самку	12,5 [12,0 – 13,0]	11,5 [11,0 – 13,0]	12,0 [8,5 – 13,5]	12,0 [10,0 – 13,0]
Предимплантационная гибель, %	9,2	18,8	18,4	11,4
Число живых плодов на 1 самку	12,0 [10,0 – 13,0]	10,5 [10,0 – 12,0]	10,0 * [7,5 – 11,0]	11,0 [10,0 – 12,0]
Постимплантационная гибель, %	5,8	9,7	12,8	7,2
Масса плодов, г	2,27 [2,19 – 2,50]	2,16 [2,13 – 2,31]	2,12 [2,02 – 2,32]	2,33 [2,21 – 2,47]
Кранио-каудальный размер, см	3,19 [3,09 – 3,21]	3,05 * [3,00 – 3,13]	3,04 * [2,99 – 3,09]	3,10 [3,02 – 3,16]

Примечания. Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Обозначения статистической значимости как в табл. 4.

Таблица 10

Влияние фабомотизола на данные внешнего макроскопического осмотра плодов в условиях экспериментальной ПЭ

Группа	<i>n</i> плодов	Вид нарушения					
		Гиперемия кожных покровов		Точечные кровоизлияния		Гематомы	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Контрольная/ вода дист.	121	47	38,8	28	23,1	20	16,5
Экспериментальная ПЭ	121	58	47,9	55	45,5 *	28	23,1
Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 1 мг/кг	116	38	32,8	39	33,6 #	12	10,3
Экспериментальная ПЭ + фабомотозол, 10 мг/кг	142	43	30,3	42	29,6 #	18	12,6

Примечания. Обозначения статистической значимости: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, # – $p < 0,05$ по сравнению с группой экспериментальной ПЭ (критерий χ^2).

фоне экспериментальной ПЭ, оценивали непространственную память в тесте «Распознавания нового объекта» и способность к обучению и адаптации в новой обстановке в тесте «Т-образный лабиринт».

В условиях теста «Распознавания нового объекта» самцы и самки контрольной группы демонстрировали ожидаемое поведение: животные проводили больше времени, изучая новый объект. Значения коэффициента дискриминации были положительными и составили 0,37 для самцов и 0,36 для самок. Потомство группы экспериментальной ПЭ проводило одинаковое время как у нового, так и у знакомого объектов. При этом значения коэффициента дискриминации были достоверно ниже контрольных и их значения приближались к 0 (0,02 у самцов и 0,13 у самок). У потомства от самок, которым вводили фабототизол в дозе 1 мг/кг с 1-го дня беременности на фоне экспериментальной ПЭ, значения коэффициента дискриминации составили 0,28 для самцов и 0,19 для самок, соответственно, и не отличались от контрольных. Кроме того, у самцов потомства этой группы коэффициент дискриминации был достоверно выше по сравнению с группой экспериментальной ПЭ. У самцов и самок, получавших пренатально фабототизол в дозе 10 мг/кг в условиях ЭПЭ, показатели коэффициента дискриминации составили 0,20 и 0,13, соответственно, что достоверно не отличалось от контроля. И в этом случае полученные результаты были выше наблюдаемых в группе экспериментальной ПЭ, однако не были статистически достоверными (рис. 2).

В условиях экспериментальной ПЭ у потомства выявлены отклонения в распознавании нового объекта, что может указывать на нарушение непространственной памяти. При использовании фабототизола в дозах 1 и 10 мг/кг, у крыс коэффициенты распознавания нового и знакомого объекта достоверно не отличались от контрольных. Введение препарата в дозе 1 мг/кг улуч-

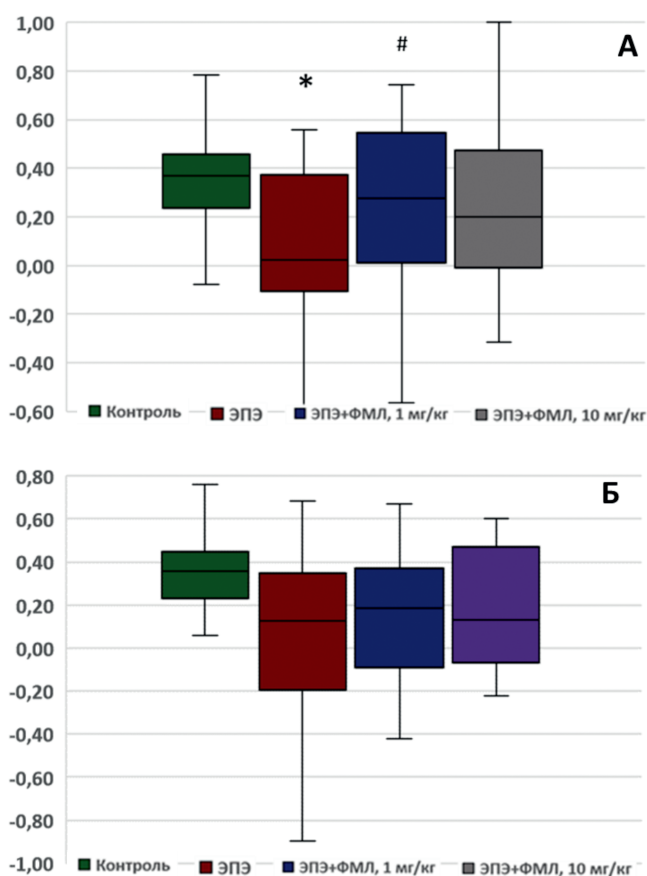


Рис. 2. Влияние фабототизола на средние значения коэффициента дискриминации (КД) у самцов (А) и самок (Б) потомства при внутриутробном воздействии экспериментальной ПЭ в тесте «Распознавания нового объекта». Данные представлены в виде медианы (поперечная черта), межквартильного размаха (прямоугольник), минимальных и максимальных величин («усики»). Обозначения: ЭПЭ – экспериментальная ПЭ, ФМЛ – фабототизол. Обозначения статистической значимости: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, # – $p < 0,05$ по сравнению с группой экспериментальной ПЭ (критерий Краскела-Уоллиса).

Таблица 11

Данные по изучению состояния внутренних органов плодов методом Вильсона-Дыбана (абс/%)

Группа	n плодов	Вид обнаруженных нарушений									
		Гидроцефалия		Кровоизлияния в различные полости тела		Эктопия почки		Гидронефроз		Эктопия яичка (самцы)	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Контрольная/ вода дист.	61	0	0	16	26,2	7	11,5	4	6,6	2 (26)	7,7
Экспериментальная ПЭ	64	1	1,6	42	65,6 *	11	17,2	4	6,3	3 (30)	10,0
Экспериментальная ПЭ + фабототозол, 1 мг/кг	61	0	0	33	54,1 *	6	9,8	2	3,3	5 (26)	19,2
Экспериментальная ПЭ + фабототозол, 10 мг/кг	73	0	0	47	64,4 *	4	5,5 #	8	11,0	5 (38)	13,2

В скобках указано количество плодов мужского пола. Обозначения статистической значимости: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, # – $p < 0,05$ по сравнению с группой экспериментальной ПЭ (критерий χ^2).

шало непространственную память самцов потомства, подвергнутых экспериментальной ПЭ.

В тесте «Т-образный лабиринт» в течение 5 дней последовательных потомство контрольной группы демонстрировало обучаемость и быструю адаптацию к новым условиям среды. При этом время достижения пищевого подкрепления в 1-й день тестирования составило 111 с и 117 с у самцов и самок, соответственно, и в последующие дни наблюдалось постепенное снижение данного показателя. К 5-му дню тестирования крысы быстро находили пищевое подкрепление: самцы за 6 с и самки за 7 с. У потомства, подвергнутого экспериментальной ПЭ, наблюдалось увеличение времени достижения пищевого подкрепления: в 1-й день тестирования у самцов этот показатель составил в большинстве случаев 300 с, что значимо превышало контрольные показатели. Однако и на 5-м дне тестирования время достижения пищевого подкрепления было достоверно выше и у самцов, и у самок по сравнению с потомством контрольной группы (табл. 13).

При введении фаботомизола в дозе 1 мг/кг на фоне экспериментальной ПЭ у самцов и самок время достижения пищевого подкрепления во все дни тестирования не отличалось от контрольной группы, а у самцов потомства на 4-м и 5-м дне было значимо ниже группы экспериментальной ПЭ. Фаботомизол в дозе 10 мг/кг не оказал влияние на время достижения пищевого

подкрепления у самцов в 1-й день тестирования, которое значимо превышало группу контроля и составило 300 с. Тем не менее, на 5-м дне тестирования регистрируемый в этой группе показатель у самцов достоверно не превышал контрольный и был ниже в сравнении с эффектом экспериментальной ПЭ. У самок при использовании препарата в дозе 10 мг/кг время достижения пищевого подкрепления значимо не отличалось от группы контроля (рис. 3).

Полученные результаты позволяют заключить, что на фоне экспериментальной ПЭ удлиняется процесс обучения и адаптации к новой обстановке. Фаботомизол в дозах 1 и 10 мг/кг облегчал процесс адаптации к незнакомой среде и улучшал способность к обучению потомства, подвергнутого экспериментальной ПЭ в период антенатального развития.

Таким образом, в условиях выбранной нами модели экспериментальной ПЭ, предусматривающей использование 1,8% раствора NaCl вместо питьевой воды на протяжении всей беременности, у крыс к концу периода гестации повышалось АД, появлялся белок в моче, наблюдались изменения уровня АСТ и креатинина в сыворотке крови. Выявленные отклонения согласуются с клиническими проявлениями ПЭ [17] и могут быть обусловлены нарушением адаптации организма беременной к интенсификации свободно-радикальных процессов в тканях и органах. В свою оче-

Таблица 12

Влияние фаботомизола на формирование костной системы плодов в условиях экспериментальной преэклампсии

Регистрируемые показатели, абс. значения	Группа			
	Контрольная/ вода дист.	Экспериментальная ПЭ	Экспериментальная ПЭ + фаботомозол, 1 мг/кг	Экспериментальная ПЭ + фаботомозол, 10 мг/кг
Количество исследованных плодов, абс. знач	60	59	54	70
Правая пястна (число точек окостенения)	2,62 ± 0,10	2,36 ± 0,12	2,15 ± 0,16	2,51 ± 0,10
Левая пястна (число точек окостенения)	2,65 ± 0,10	2,42 ± 0,11	2,22 ± 0,14	2,53 ± 0,09
Правые тазовые кости (число точек окостенения)	2,73 ± 0,07	2,61 ± 0,07	2,37 ± 0,10*	2,64 ± 0,06
Левые тазовые кости (число точек окостенения)	2,70 ± 0,08	2,56 ± 0,07	2,35 ± 0,10*	2,61 ± 0,06
Правая плюсна (число точек окостенения)	2,92 ± 0,09	2,56 ± 0,14*	2,52 ± 0,16*	2,89 ± 0,08 #
Левая плюсна (число точек окостенения)	2,92 ± 0,09	2,54 ± 0,14*	2,52 ± 0,16*	2,87 ± 0,08
Грудина (число точек окостенения)	1,63 ± 0,18	0,81 ± 0,15	0,72 ± 0,14	1,49 ± 0,18
Количество позвонков	29,55 ± 0,21	29,17 ± 0,09	28,89 ± 0,15	29,43 ± 0,12
Гипоплазия 13-го ребра	Абс.	0	3	0
	%	0	5,1	0
Ретардация затылочной кости	Абс.	8	14	8
	%	13,3	23,7*	14,8
Отсутствие затылочной кости	Абс.	2	7	11
	%	3,3	11,9	20,4*

Примечания. Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm SEM$), и %. Обозначения статистической значимости: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, # – $p < 0,05$ по сравнению с группой экспериментальной ПЭ (t - критерий Стьюдента, критерий χ^2).

редь, воздействие АФК вызывает повреждение ДНК клеток плаценты и эмбриона/плода и может лежать в основе развития эндотелиальной дисфункции, наблюдаемой при ПЭ [18].

Однако последние результаты научных исследований единогласно указывают на то, что ПЭ является комплексной патологией беременных и этиология её развития до сих пор не ясна. Принимая во внимание этот факт, становится очевидным, что возникновение ДНК-повреждений плацентарных и эмбриональных клеток под влиянием АФК с последующим развитием отклонений у потомства является не единственным механизмом формирования осложнений при ПЭ. По всей вероятности, с этим и связано выявленное нами незначительное увеличение поврежденности ДНК в тканях плаценты и органах плодов.

На данный момент предотвратить тяжёлые последствия ПЭ для организма матери и потомства представляется возможным лишь путём тщательного мониторинга на протяжении беременности и преждевременного родоразрешения. В этой связи поиск фармакологических корректоров чрезвычайно важен и необходим. Учитывая мультифакторность заболевания, нами был выбран фабомотизол, показавший способность корректировать отклонения у потомства в периоды пре- и постнатального развития в различных моделях патологических состояний [11]. В рамках проведенного исследования способность препарата в терапевтических дозах снижать нарушения, возни-

кающие у потомства крыс на фоне экспериментальной ПЭ, может быть обоснована его политаргетным механизмом действия [19].

Заключение

На основании полученных экспериментальных данных можно заключить, что при моделировании преэклампсии заменой питьевой воды на 1,8% NaCl с 1-го дня беременности у крыс наблюдается достоверное увеличение АД, белка в моче, уровня АСТ, а также значимое снижение креатинина в сыворотке крови. На фоне экспериментальной ПЭ к концу беременности выявлено значимое, но слабо выраженное увеличение ДНК-повреждений в плаценте и печени плодов; нарушения антенатального развития плодов в виде снижения кранио-каудального размера, повышения доли сосудистых реакций кожных покровов, кровоизлияний во внутренние органы, замедления оссификации в некоторых отделах скелета; отклонения в постнатальном периоде, проявляющиеся нарушением непространственной памяти, обучаемости и адаптации в новой среде в тестах «Распознавание нового объекта» и «Т-образный лабиринт». Введение фабомотизола с 1-го дня беременности и до родов корректировало выявленные на фоне экспериментальной ПЭ отклонения у плодов и потомства. Более выраженный защитный эффект наблюдался при использовании препарата в дозе 10 мг/кг.

Таблица 13

Влияние фабомотизола на формирование пищедобывательного навыка в тесте «Т-лабиринт» у потомства крыс на фоне экспериментальной преэклампсии

Группа	Пол	n	Регистрируемый показатель									
			Время, секунды					Взятие пищевого подкрепления				
			1 день	2 день	3 день	4 день	5 день	1 день	2 день	3 день	4 день	5 день
Контрольная/ вода дист. Экспериментальная ПЭ	♂	20	111,8 [52,4 – 300,0]	74,2 [42,9 – 196,2]	11,8 [6,5 – 30,9]	11,6 [5,3 – 22,5]	6,3 ¹ [3,6 – 11,4]	0,70	0,80	0,80	0,90	0,90
	♀	21	117,4 [57,8 – 241,5]	34,0 [16,6 – 83,4]	25,9 [14,3 – 29,5]	14,6 [9,2 – 18,7]	8,6 ¹ [7,8 – 12,9]	0,90	1,00	1,00	1,00	1,00
Экспериментальная ПЭ + фабомотизол, 1 мг/кг	♂	20	300,0* [227,1 – 300,0]	53,2 [32,3 – 237,6]	37,9 [15,1 – 168,6]	32,7 [20,3 – 58,6]	37,5* ¹ [14,8 – 60,8]	0,35	0,71	0,80	0,90	0,95
	♀	21	101,3 [75,8 – 298,6]	23,1 [16,7 – 71,5]	16,9 [11,8 – 36,9]	37,1* [12,8 – 48,6]	20,9* ¹ [10,7 – 31,1]	0,76	0,90	0,86	0,95	0,90
Контрольная/ вода дист. Экспериментальная ПЭ	♂	21	208,8 [81,4 – 300,0]	64,2 [37,7 – 162,4]	40,9 [18,8 – 78,2]	17,0* [11,5 – 28,2]	16,1 ¹ [8,6 – 21,1]	0,57	0,76	0,90	0,95	1,00
	♀	21	212,7 [90,3 – 280,7]	43,6 [20,6 – 78,2]	24,0 [18,2 – 47,2]	22,5 [10,2 – 37,5]	12,4 ¹ [10,1 – 15,7]	0,76	0,81	1,00	1,00	0,95
Экспериментальная ПЭ + фабомотизол, 1 мг/кг	♂	21	300,0* [152,0 – 300,0]	121,5 [56,9 – 300,0]	47,0 [21,0 – 167,5]	26,4 [11,3 – 53,6]	14,3 ¹ [7,4 – 19,7]	0,38	0,62	0,86	0,81	0,90
	♀	21	127,3 [47,9 – 300,0]	22,9 [13,7 – 71,4]	20,7 [9,6 – 37,6]	14,9 [8,8 – 21,9]	13,2 ¹ [9,4 – 21,3]	0,67	0,86	0,95	0,95	0,95

Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха. Обозначения статистической значимости: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, # – $p < 0,05$ по сравнению с группой экспериментальной ПЭ, ¹ – по сравнению с 1-м днем тестирования (критерий Краскела-Уоллиса, критерий Вилкоксона), ♂ и ♀ - мужская и женская особь, соответственно.

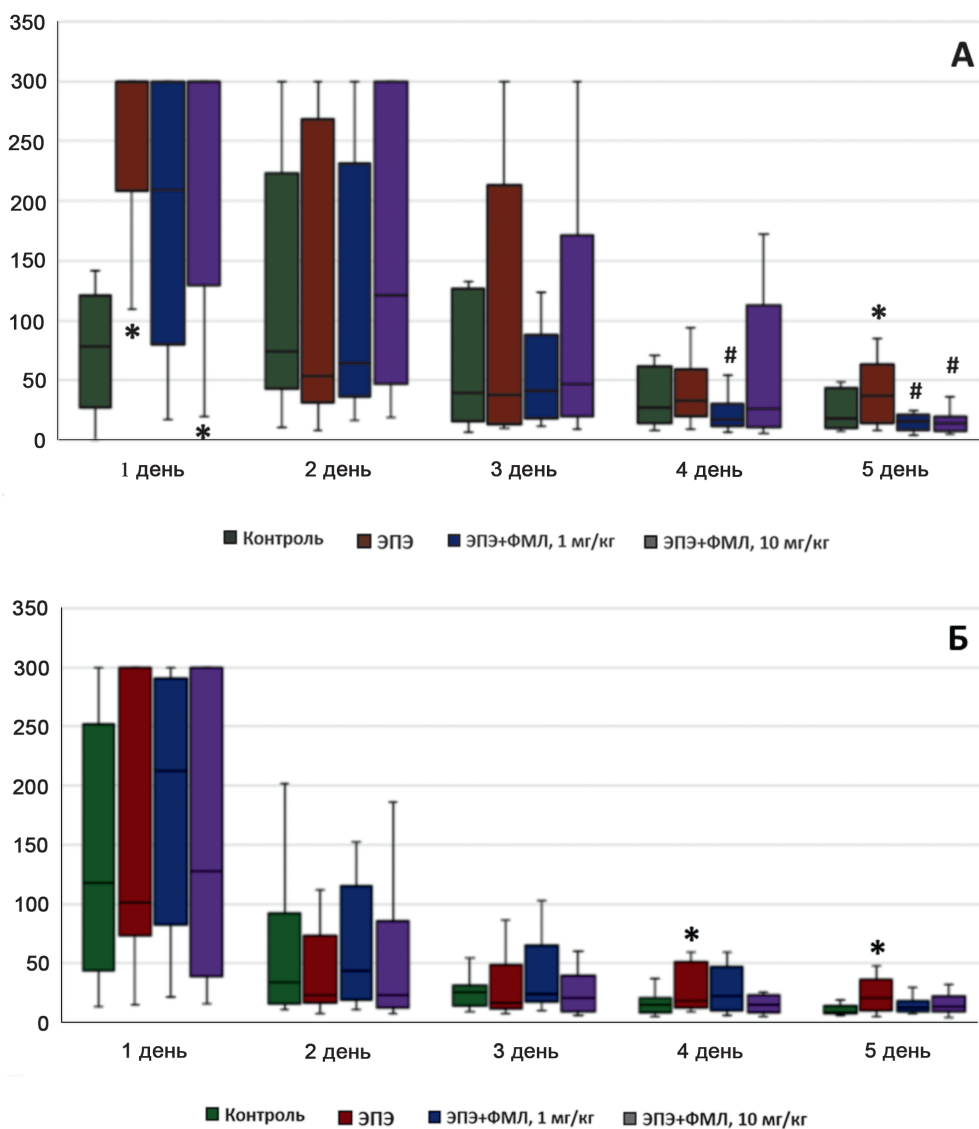


Рис. 3. Влияние фабомотизола на время достижения пищевого подкрепления в тесте «Т-образный лабиринт» у самцов (А) и самок (Б) потомства при внутриутробном воздействии экспериментальной ПЭ. Данные представлены в виде медианы (поперечная черта), межквартильного размаха (прямоугольник), минимальных и максимальных величин («усики»). Обозначения – как на рис. 2.

Список литературы

1. Steegers E.A., von Dadelszen P., Duvekot J.J., Pijnenborg R. Preeclampsia. *Lancet*. 2010; 376(9741): 631–644. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60279-6
2. Turanov A.A., Lo A., Hassler M.R., Makris A., Ashar-Patel A., Altermann J.F., Coles A.H., Haraszti R.A., Roux L., Godinho B. MDC, Echeverria D., Pears S., Iliopoulos J., Shanmugaling R. Ogle R., Zsengeller Z.K., Hennessy A., Karumanchi S.A., Moore M.J., Khvorova A. RNAi Modulation of Placental sFLT1 for the Treatment of Preeclampsia. *Nat. Biotechnol.* 2018; 1038/nbt.4297. DOI: 10.1038/nbt.4297
3. Chiarello D.I., Abad C., Rojas D., Toledo F., Vázquez C.M., Mate A., Sobrevia L., Marín R. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020; 1866(2): 165354. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.12.005
4. Burton G.J., Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract. Res Clin. Obstet. Gynaecol.* 2011; 25(3): 287–299. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016
5. Шредер О.В., Смольникова Н.М., Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Влияние афобазола на тератогенные эффекты циклофосфамида у крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2008; 145(4): 414–417.
6. Дурнев А.Д., Соломина А.С., Жанатаев А.К., Жуков В.Н., Середенин С.Б. Влияние афобазола на генотоксические эффекты табачного дыма в плаценте и в тканях эмбрионов крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010; 149(3): 286–289.
7. Cemeli E., Anderson D. Mechanistic Investigation of ROS-Induced DNA Damage by Oestrogenic Compounds in Lymphocytes and Sperm Using the Comet Assay. *Int. J. Mol. Sci.* 2011; 12(5): 2783–2796. DOI: 10.3390/ijms12052783
8. Akhtar S., Najafzadeh M., Isreb M., Newton L., Gopalan R.C., Anderson D. ROS-induced oxidative damage in lymphocytes ex vivo/in vitro from healthy individuals and MGUS patients: protection by myricetin bulk and nanoforms. *Arch. Toxicol.* 2020; 94(4): 1229–1239. DOI: 10.1007/s00204-020-02688-4
9. Møller P., Jacobsen N.R., Folkmann J.K., Danielsen P.H., Mikkelsen L., Hemmingsen J.G., Vesterdal L.K., Forchhammer L., Wallin H., Loft S. Role of oxidative damage in toxicity of particulates. *Free Radic. Res.* 2010; 44(1): 1–46. DOI: 10.3109/10715760903300691

10. Колесникова С.А., Еремина А.И., Кустова М.В., Музыко Е.А., Дудченко Г.П., Перфилова В.Н., Веровский В.Е., Тюренок И.Н., Островский О.В. Оценка степени повреждения днк при экспериментальной преэклампсии методом комет. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 164(11): 557–560.
11. Соломина А.С., Шредер О.В., Мокрова Е.Д., Забродина В.В., Горбатова Д.М., Колик Л.Г., Дурнев А.Д. Фабомотизол как средство фармакологической коррекции преи постнатальных нарушений, вызванных древесно-торфяным задымлением, табачным дымом, алкоголем, гипергликемией и циклофосфамидом у потомства крыс. *Молекулярная медицина*. 2020; 18(3): 34–48. DOI: 10.29296/24999490-2020-03-05
12. Beauséjour A., Bibeau K., Lavoie J.C., St-Louis J., Brochu M. Placental oxidative stress in a rat model of preeclampsia. *Placenta*. 2007; 28(1): 52–58. DOI: 10.1016/j.placenta.2005.12.003
13. Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К., Никитина В.А., Воронина Е.С., Середенин С.Б. *Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследованиях* / В кн.: Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. М.: Гриф и К. 2012: 115–128.
14. Preston R.J., Dean B.J., Galloway S., Holden H., McFee A.F., Shelby M. Mammalian in vivo cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mutat. Res.* 1987; 189(2): 157–165. DOI: 10.1016/0165-1218(87)90021-8
15. Mathiasen J.R., DiCamillo A. Novel object recognition in the rat: a facile assay for cognitive function. *Curr. Protoc. Pharmacol.* 2010; 5.59. DOI: 10.1002/0471141755.ph0559s49
16. Hussein A.M., Bezu M., Korz V. Evaluating Working Memory on a T-maze in Male Rats. *Bio Protoc.* 2018; 8(14): e2930. DOI: 10.21769/BioProtoc.2930
17. Адамян Л.В., Артымук Н.В., Башмакова Н.В., Белокринницкая Т.Е., Беломестнов С.Р., Братишев И.В., Вученович Ю.Д., Краснополяский В.И., Куликов В.И., Левит Е.В., Никитина Н.А., Петрухин В.А., Пырегов А.В., Серов В.Н., Сидорова И.С., Филиппов О.С., Ходжаева З.С., Холин А.М., Шешко Е.Л., Шифман Е.М., Шмаков Р.Г. *Гипертензивные расстройства при беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия. Клинические рекомендации (протокол лечения)*. Москва, 2016. 72 с.
18. Sánchez-Aranguren L.C., Prada C.E., Riaño-Medina C.E., Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front. Physiol.* 2014; 5: 372. DOI: 10.3389/fphys.2014.00372
19. Кадников И.А., Воронин М.В., Середенин С.Б. Цитопротекторное действие афобазола и его основного метаболита М-11. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015; 159(1): 52–55.
5. Shreder O.V., Smol'nikova N.M., Durnev A.D., Seredenin S.B. [Effect of afobazole on teratogenic activity of cyclophosphamide in rats]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2008; 145(4): 414–417 (in Russian)
6. Durnev A.D., Solomina A.S., Zhanataev A.K., Zhukov V.N., Seredenin S.B. [Effect of afobazole on genotoxic effects of tobacco smoke in the placenta and embryonic tissues of rats]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2010; 149(3): 286–289 (in Russian)
7. Cemeli E., Anderson D. Mechanistic Investigation of ROS-Induced DNA Damage by Oestrogenic Compounds in Lymphocytes and Sperm Using the Comet Assay. *Int. J. Mol. Sci.* 2011; 12(5): 2783–2796. DOI: 10.3390/ijms12052783
8. Akhtar S., Najafzadeh M., Isreb M., Newton L., Gopalan R.C., Anderson D. ROS-induced oxidative damage in lymphocytes ex vivo/in vitro from healthy individuals and MGUS patients: protection by myricetin bulk and nanoforms. *Arch. Toxicol.* 2020; 94(4): 1229–1239. DOI: 10.1007/s00204-020-02688-4
9. Møller P., Jacobsen N.R., Folkmann J.K., Danielsen P.H., Mikkelsen L., Hemmingsen J.G., Vesterdal L.K., Forchhammer L., Wallin H., Loft S. Role of oxidative damage in toxicity of particulates. *Free Radic. Res.* 2010; 44(1): 1–46. DOI: 10.3109/10715760903300691
10. Kolesnikova S.A., Eremina A.I., Kustova M.V., Muzyko E.A., Dudchenko G.P., Perfilova V.N., Verovskii V.E., Tyurenkov I.N., Ostrovskii O.V. [Evaluation of DNA Damage in Experimental Preeclampsia by Comet Assay]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2017; 164(11): 557–560 (in Russian)
11. Solomina A.S., Shreder O.V., Mokrova E.D., Zabrodina V.V., Gorbatova D.M., Kolik L.G., Durnev A.D. [Fabomotizole as means of pharmacological correction of preand postnatal disturbances induced by peat smoke pollution, tobacco smoke, alcohol, hyperglycemia and cyclophosphamide in the development of offspring of rats]. *Molekulyarnaya meditsina [Molecular Medicine]*. 2020; 18(3): 34–48. DOI: 10.29296/24999490-2020-03-05 (in Russian)
12. Beauséjour A., Bibeau K., Lavoie J.C., St-Louis J., Brochu M. Placental oxidative stress in a rat model of preeclampsia. *Placenta*. 2007; 28(1): 52–58. DOI: 10.1016/j.placenta.2005.12.003
13. Durnev A.D., Merkulov V.A., Zhanataev A.K., Nikitina V.A., Voronina E.S., Seredenin S.B. [Guidelines for assessing DNA damage by alkaline gel electrophoresis of individual cells in pharmacological studies] / In: Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. FSBI “NCESMP” of the Ministry of Health and Social Development of Russia]. М.: Гриф и К. 2012: 115–128. (in Russian)
14. Preston R.J., Dean B.J., Galloway S., Holden H., McFee A.F., Shelby M. Mammalian in vivo cytogenetic assays. Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mutat. Res.* 1987; 189(2): 157–165. DOI: 10.1016/0165-1218(87)90021-8
15. Mathiasen J.R., DiCamillo A. Novel object recognition in the rat: a facile assay for cognitive function. *Curr. Protoc. Pharmacol.* 2010; 5.59. DOI: 10.1002/0471141755.ph0559s49
16. Hussein A.M., Bezu M., Korz V. Evaluating Working Memory on a T-maze in Male Rats. *Bio Protoc.* 2018; 8(14): e2930. DOI: 10.21769/BioProtoc.2930
17. Adamyán L.V., Artyumuk N.V., Bashmakova N.V., Belokrinitskaya T.Ye., Belomestnov S.R., Bratishchev I.V., Vuchonovich YU.D., Krasnopolskiy V.I., Kulikov V.I., Levit Ye.V., Nikitina N.A., Petrukhin V.A., Pyregov A.V., Serov V.N., Sidorova I.S., Filippov O.S., Khodzhaeva Z.S., Kholin A.M., Sheshko Ye.L., Shifman Ye.M., Shmakov R.G. [Hypertensive disorders during pregnancy, childbirth and the postpartum period. Preeclampsia. Eclampsia. Clinical guidelines (treatment protocol)]. Moscow, 2016. 72 p. (in Russian)
18. Sánchez-Aranguren L.C., Prada C.E., Riaño-Medina C.E., Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front. Physiol.* 2014; 5: 372. DOI: 10.3389/fphys.2014.00372
19. Kadnikov I.A., Voronin M.V., Seredenin S.B. [Cytoprotective Effect of Afobazole and Its Main Metabolite M-11]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2015; 159(1): 52–55 (in Russian)

References

1. Steegers E.A., von Dadelszen P., Duvekot J.J., Pijnenborg R. Preeclampsia. *Lancet*. 2010; 376(9741): 631–644. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60279-6
2. Turanov A.A., Lo A., Hassler M.R., Makris A., Ashar-Patel A., Alterman J.F., Coles A.H., Haraszi R.A., Roux L., Godinho B. MDC, Echeverria D., Pears S., Iliopoulos J., Shanmugaling R. Ogle R., Zsengeller Z.K., Hennessy A., Karumanchi S.A., Moore M.J., Khvorova A. RNAi Modulation of Placental sFLT1 for the Treatment of Preeclampsia. *Nat. Biotechnol.* 2018; 1038/nbt.4297. DOI: 10.1038/nbt.4297
3. Chiarello D.I., Abad C., Rojas D., Toledo F., Vázquez C.M., Mate A., Sobrevia L., Marín R. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2020; 1866(2): 165354. DOI: 10.1016/j.bbadis.2018.12.005
4. Burton G.J., Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2011; 25(3): 287–299. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016

Сведения об авторах

Соломина Анна Сергеевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»; <https://orcid.org/0000-0001-7048-4993>

Родина Анастасия Владимировна — инженер первой категории лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Алексеева Светлана Витальевна — старший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Волкова Анна Валерьевна — старший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Качалов Кирилл Сергеевич — инженер первой категории лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Захаров Алексей Дмитриевич — младший научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Жанатаев Алий Курманович — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакологии мутагенеза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»; <https://orcid.org/0000-0002-7673-8672>

Даугель-Дауге Наталья Олеговна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии мутагенеза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»; <https://orcid.org/0000-0002-8659-2152>

Дурнев Андрей Дмитриевич — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, врио директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»; <https://orcid.org/0000-0003-0218-8580>