

УДК 618.3-06-08:577.112.385.2

## ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА, ИМИТИРУЮЩЕГО $\alpha$ -СПИРАЛЬ В ЭРИТРОПОЭТИНА, НА РАЗВИТИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ

**И.В. Голубев<sup>1</sup>, М.А. Затолокина<sup>2</sup>, В.В. Гуреев<sup>1</sup>, А.В. Полянская<sup>1</sup>,  
А.В. Гуреева<sup>2</sup>, Е.В. Авдеева<sup>2</sup>, Е.С. Затолокина<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России

Преэклампсия остается грозным заболеванием второй половины беременности. Поэтому поиск новых лекарственных препаратов для лечения и профилактики преэклампсии – актуальная задача современной фармакологии. Материалы и методы. Эксперимент выполнен на крысах-самках линии Wistar. Исследуемые препараты вводились с 10 по 21-е сутки беременности. На 21-е сутки беременности проводили функциональные пробы. Результаты. Применение пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина, при экспериментальной преэклампсии приводит к выраженной коррекции патологических изменений: снижалось артериальное давление, повышалась микроциркуляция в плаценте, улучшалась морфологическая картина в плаценте. Выводы. Результаты свидетельствуют о перспективности применения пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина при экспериментальной преэклампсии.

**Ключевые слова:** пептид, имитирующий  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина, преэклампсия, эндотелиальная дисфункция, крысы, микроциркуляция.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-2(74)-53-56

## INFLUENCE OF PEPTIDE IMITATING $\alpha$ -SPIRAL OF B ERYTHROPOETHIN ON THE DEVELOPMENT OF MORPHOFUNCTIONAL DISORDERS IN EXPERIMENTAL PRECLAMPPS

**I.V. Golubev<sup>1</sup>, M.A. Zatolokina<sup>1</sup>, V.V. Gureev<sup>1</sup>, A.V. Polyanskaya<sup>1</sup>,  
A.V. Gureeva<sup>2</sup>, E.V. Avdeyeva<sup>2</sup>, E.S. Zatolokina<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>FSAEI HE «Belgorod State University»;

<sup>2</sup>FSBEI HE «Kursk State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation

Preeclampsia remains a formidable disease in the second half of pregnancy. Therefore, the search for new drugs for the treatment and prevention of preeclampsia is an urgent task of modern pharmacology. Materials and methods. The experiment was performed on female Wistar rats. The studied drugs were administered from 10 to 21 days of pregnancy. Functional tests were performed on the 21st day of pregnancy. Results. The use of a peptide that imitates erythropoietin  $\alpha$ -helix B in experimental preeclampsia leads to a pronounced correction of pathological changes: blood pressure decreased, microcirculation in the placenta increased, and the morphological picture in the placenta improved. Resume. The results indicate the promise of the use of a peptide imitating  $\alpha$ -helix B erythropoietin in experimental preeclampsia.

**Key words:** peptide imitating  $\alpha$ -helix of B erythropoietin, preeclampsia, endothelial dysfunction, rats, microcirculation.

Преэклампсия является грозным осложнением второй половины беременности. По данным различных авторов оно поражает от 2 до 10 % всех беременностей [8].

Точный патогенез этого заболевания еще не известен и будет еще долгое время предметом дискуссий и больших научных исследований. Основные патогенетические события можно разделить на 2 этапа: нарушение плацентации [4], приводящее к ишемии трофобласта [4, 6, 8], и системное нарушение тонуса эндотелия вследствие дисбаланса ангиогенных факторов, которое приводит к полиорганной недостаточности.

Одним направлением в профилактике и лечении преэклампсии может быть производное эритропоэтина – 11-аминокислотный пептид PHBSP [PubChem CID: 91810664] (P- $\alpha$ B), представляющий

собой аминокислотную цепочку «Pyr-Glu-Gln-Leu-Glu-Arg-Ala-Leu-Asn-Ser-Ser» и обладающий избирательным сродством к гетеродимерному рецептору.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Исследовать влияние пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина, на развитие морфофункциональных нарушений при экспериментальной преэклампсии.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 170 самках крыс линии Wistar, массой 250–300 г. Исследование было выполнено в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [Directive 2010/63/EU].

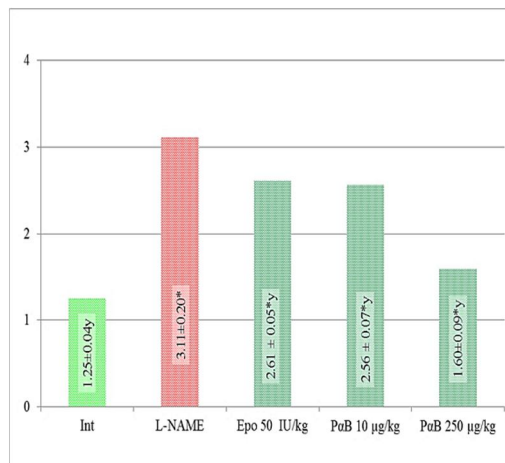
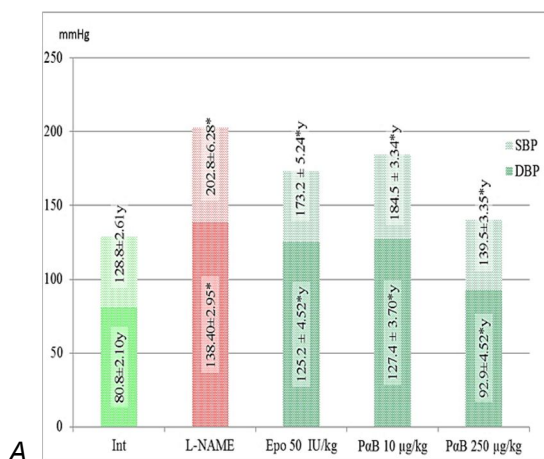
На 21-е сутки гестации экспериментальное животное наркотизировали, после чего проводились функциональные тесты для расчета коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) [2, 3, 7].

Для морфологического подтверждения развития моделируемых патологических процессов и комплексной оценки эффективности препаратов проведено гистологическое исследование (во всех сериях эксперимента) плаценты [1, 5].

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Шапиро – Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение ( $M$ ) и стандартная ошибка среднего ( $m$ ). Межгрупповые различия анализировались методами в зависимости от типа распределения ( $t$ -критерий Стьюдента или  $U$ -критерий Манна – Уитни). Все расчеты выполнялись с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel 2010.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После введения L-NAME у беременных крыс происходило значительное повышение ( $p < 0,05$ ) систолического и диастолического артериального давления с  $(128,80 \pm 2,61)$  и  $(80,80 \pm 2,10)$  мм рт. ст. до  $(202,80 \pm 6,28)$  и  $(138,40 \pm 2,95)$  мм рт. ст. соответственно. Введение животным с экспериментальной преэклампсией P-αV в дозе 10 и 250 мкг/кг приводило к снижению ( $p < 0,05$ ) систолического артериального давления до  $(184,50 \pm 3,34)$  и  $(139,50 \pm 3,35)$  мм рт. ст. и диастолического до  $(127,40 \pm 3,70)$  и  $(92,90 \pm 4,52)$  мм рт. ст. соответственно, но целевого уровня не достигалось (рис. 1А). Нужно отметить, что эффект от введения P-αV в дозе 10 мкг/кг был сопоставим с эффектом от препарата сравнения – рекомбинантного эритропоэтина (50 МЕ). Моделирование ADMA-подобной преэклампсии приводило к нарушению регуляторных механизмов сосудистого тонуса, о чем свидетельствует повышение КЭД с  $1,25 \pm 0,04$  до  $3,11 \pm 0,20$  ( $p < 0,05$ ) (рис. 1Б).



Б  
\*  $p < 0,05$  в сравнении с группой интактных животных;  
<sup>y</sup>  $p < 0,05$  в сравнении с группой контроля.

Рис. 1. Влияние P-αV на артериальное давление (А) и КЭД (Б) у животных с ADMA-подобной преэклампсией: SBP, DBP – систолическое и диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.); КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции (y. e.)

Курсовое использование в течение 7 дней P-αV в дозировках 10 и 250 мкг/кг у беременных животных с ADMA-подобной преэклампсией снижало КЭД ( $p < 0,05$ ) до  $2,56 \pm 0,07$  и  $1,60 \pm 0,09$ , что свидетельствовало об улучшении функции эндотелия, но целевого уровня не достигалось. Снижение КЭД под действием P-αV в дозе 10 мкг/кг было сопоставимо с эффектом препарата сравнения рекомбинантного эритропоэтина (50 МЕ), в дозе 250 мкг/кг превосходило этот эффект.

При гистологическом исследовании в группе интактных животных и животных контрольной группы наблюдалась морфологическая картина, сопоставимая с ранее проводимыми исследованиями [1].

В группе крыс с ADMA-подобной преэклампсией при введении P-αV в дозе 10 мкг/кг на фоне наблюдающейся незначительной положительной динамики продолжают сохраняться некоторые дегенеративно-дистрофические изменения плаценты. В плодной части плаценты в строме ворсин выражены признаки отека. Находящиеся здесь кровеносные сосуды спазмированные, узкие, в большинстве случаев запустевшие или с признаками тромбоза. Преобладающие в поле зрения терминальные и промежуточные ворсины окружены слоем синцитиотрофобласта, целостность которого нарушена в некоторых участках и замешена оксифильным фибриноидом. Следует отметить о недостаточной степени зрелости плаценты к данному сроку, синцитиальные узелки единичные в поле зрения (рис. 2). В материнской части плаценты наблюдается утолщение гигантоклеточного трофобласта. Децидуальные клетки, расположенные пластами, с дистрофическими изменениями.

В толще трофобласта встречаются крупные локальные участки с оптически пустыми децидуальными клетками и единичные участки некроза.

В группе крыс с ADMA-подобной преэклампсией при введении P-αB в дозе 250 мкг/кг наблюдается умеренная положительная динамика морфологических изменений. Отмечается уменьшение отека стромы ворсин, на фоне кровенаполнения сосудов. В поле зрения преобладают терминальные и промежуточные ворсины, однако наблюдается существенное снижение числа и плотности синцитиальных узелков, свидетельствующих о степени зрелости плаценты. Участки фибриноида, покрывающего ворсины в местах отсутствия синцитиотрофобласта, выражены умеренно.

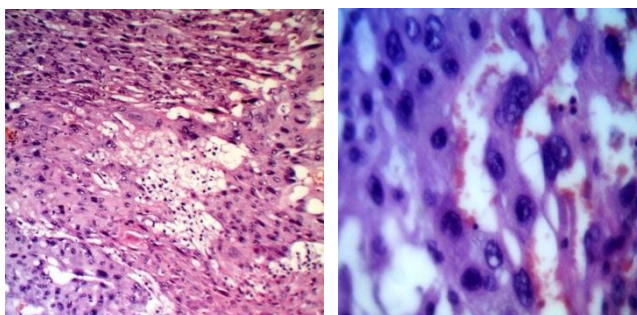


Рис. 2. Микрофотография материнской части плаценты на 21-е сутки гестации у животных с ADMA-подобной преэклампсией при введении P-αB в дозе 10 мкг/кг. Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. ×400

В группе крыс с ADMA-подобной преэклампсией при введении P-αB в дозе 250 мкг/кг наблюдается умеренная положительная динамика морфологических изменений. Отмечается уменьшение отека стромы ворсин, на фоне кровенаполнения сосудов. В поле зрения преобладают терминальные и промежуточные ворсины, однако наблюдается существенное снижение числа и плотности синцитиальных узелков, свидетельствующих о степени зрелости плаценты. Участки фибриноида, покрывающего ворсины в местах отсутствия синцитиотрофобласта, выражены умеренно.

В гигантоклеточном трофобласте определяют значительное количество децидуальных клеток с дистрофическими изменениями. По периферии трофобласта визуализируются крупные очаги круглоклеточной инфильтрации с тенденцией к слиянию. В материнской части плаценты определяются небольших размеров локальные участки некротически измененной ткани (рис. 3). В толще этих пластов децидуальных клеток визуализируются участки, образованные оптически пустыми децидуальными клетками с темно базофильными ядрами, в непосредственной близости к которым, определяются слившиеся симпластические структуры – клетки Кашценко – Гофбауэра.

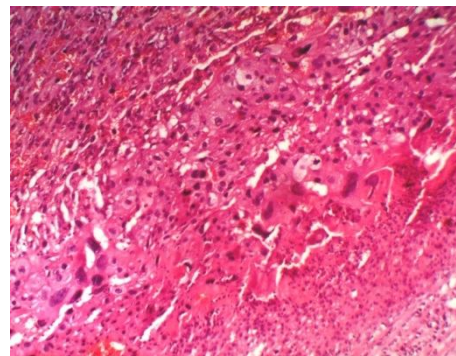


Рис. 3. Микрофотография плаценты на 21-е сутки гестации у животных с ADMA-подобной преэклампсией при введении P-αB в дозе 250 мкг/кг. Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. ×400

При морфологическом исследовании плаценты у женщин, перенесших преэклампсию, исследователи отмечают нарушение плацентации, что вызывает ишемию трофобласта [4, 8]. В связи с этим, логично было предположить, что препараты, обладающие противоишемическим действием, могут опосредованно улучшать дисфункцию эндотелия.

Результаты проведенных экспериментов убедительно свидетельствуют о выраженных дозозависимых положительных эффектах P-αB при коррекции морфофункциональных нарушений, возникающих у животных с ADMA-подобной преэклампсией. Механизмом реализации протективного действия может служить активация гетеродименого рецептора к эритропоэтину.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные экспериментально обосновывают перспективность использования триметазидина при преэклампсии и актуальность дальнейших исследований в этом направлении.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анциферова О.Е., Локтева Т.И., Северинова О.В. и др. Результаты морфологического изучения особенностей структурной организации плаценты крысы на позднем сроке гестации // Вестник ВолгГМУ. – 2019. – № 4 (72). – С. 33–36.
2. Анциферова О.Е., Гуреев В.В., Гуреева А.В. и др. Комплексная оценка коррекции очищенной микронизированной флавоноидной фракцией нарушений при ADMA-подобной преэклампсии в эксперименте // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2020. – № 6 (1). – С. 78–93.
3. Северинова О.В., Лазарева Г.А., Жилинкова Л.А., Гуреева А.В. Фармакологические эффекты комбинированного введения низкой дозы ацетилсалициловой кислоты и метилдопы при ADMA-подобной преэклампсии // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2020. – № 6 (1). – С. 94–106.
4. Pankiewicz K., Szczerba E., Maciejewski T., Fijałkowska A. Non-obstetric complications in preeclampsia // Prz Menopauzalny. – 2019. – No. 18 (2). – P. 99–109.

5. Severinova O.V., Gureev V.V., Zhilinkova L.A., et al. Study of the effect of selective inhibitor of Arginase II KUD 975 and of low doses of Acetylsalicylic acid on the functional parameters of the cardiovascular system In experimental preeclampsia // Research Results in Pharmacology. – 2019. – No. 5 (4). – P. 47–56.

6. Shaheen G., Jahan S., Ain Q.U., et al. Placental endothelial nitric oxide synthase expression and role of oxidative stress in susceptibility to preeclampsia in Pakistani women // Mol Genet Genomic Med. – 2019 (Nov. 8). – e1019. – doi: 10.1002/mgg3.1019.

7. Stupakova E.G., Lazareva G.A., Gureev V.V. Correction of morphofunctional disturbances arising when modelling Preeclampsia with resveratrol and nicorandil // Research Results in Pharmacology. – 2018. – No. 4 (1). – P. 59–71.

8. Tomimatsu T., Mimura K., Matsuzaki S., et al. Preeclampsia: maternal systemic vascular disorder caused by generalized endothelial dysfunction due to placental antiangiogenic factors // Int. J. Mol. Sci. – 2019. – No. 20 (17). – pii: E4246.

#### REFERENCES

1. Anciferova O.E., Lokteva T.I., Yurakova A.V., et al. Rezultaty morfologicheskogo izucheniya osobennostey strukturnoy organizatsii platsenty krysy na pozdnem sroke gestatsii [Results of the morphological research of structural organization of the rat placenta at the late pregnancy]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd state medical university], 2019, no. 4 (72), pp. 33–36. (In Russ., abstr. in Engl.)

2. Antsiferova O.E., Gureev V.V., Gureeva A.V., et al. Kompleksnaya ocenka korrektsii ochishchennoj mikronizirovannoy flavonoidnoj fraktsiej narushenij pri ADMA-podobnoj preeklampsii v eksperimente [Comprehensive assessment of using micronised purified flavonoid fraction in the correction of disorders associated with ADMA-like preeclampsia

in experiment]. *Nauchnye rezul'taty biomeditsinskih issledovaniy* [Research Results in Biomedicine], 2020, no. 6 (1), pp. 78–93. (In Russ., abstr. in Engl.).

3. Severinova O.V., Lazareva G.A., Zhilinkova L.A., Gureeva A.V. Farmakologicheskie efekty kombinirovannogo vvedeniya nizkoj dozy acetilsalicylovoj kisloty i metildopy pri ADMA-podobnoj preeklampsii [Pharmacological effects of the combined administration of a small dose of Acetylsalicylic acid and methyl dopa in ADMA-like preeclampsia]. *Nauchnye rezul'taty biomeditsinskih issledovaniy* [Research Results in Biomedicine], 2020, no. 6 (1), pp. 94–106. (In Russ., abstr. in Engl.).

4. Pankiewicz K., Szczurba E., Maciejewski T., Fijałkowska A. Non-obstetric complications in preeclampsia. *Prz Menopauzalny*, 2019, no. 18 (2), pp. 99–109.

5. Severinova O.V., Gureev V.V., Zhilinkova L.A., et al. Study of the effect of selective inhibitor of Arginase II KUD 975 and of low doses of Acetylsalicylic acid on the functional parameters of the cardiovascular system In experimental preeclampsia. *Research Results in Pharmacology*, 2019, no. 5 (4), pp. 47–56.

6. Shaheen G., Jahan S., Ain Q.U., et al. Placental endothelial nitric oxide synthase expression and role of oxidative stress in susceptibility to preeclampsia in Pakistani women. *Mol Genet Genomic Med*, 2019 (Nov. 8), e1019. doi: 10.1002/mgg3.1019.

7. Stupakova E.G., Lazareva G.A., Gureev V.V. Correction of morphofunctional disturbances arising when modelling preeclampsia with resveratrol and nicorandil. *Research Results in Pharmacology*, 2018, no. 4 (1), pp. 59–71.

8. Tomimatsu T., Mimura K., Matsuzaki S., et al. Preeclampsia: maternal systemic vascular disorder caused by generalized endothelial dysfunction due to placental antiangiogenic factors. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, no. 20 (17); pii: E4246.

#### Контактная информация

Голубев Иван Владимирович – соискатель кафедры фармакологии и клинической фармакологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет, e-mail: golubevvano@yandex.ru