

DOI10.31718/2077-1096.20.4.225

УДК 611.08+615.273/611+614.9

Селюкова Н. Ю., Місюра К. В., Стороженко Г. В.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ У ТВАРИН (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ ТА ВЛАСНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ)

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», м. Харків;
Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Огляд літератури присвячено експериментальним моделям відтворення плацентарних порушень у матерів на тваринах. На сьогодні наші знання щодо структури та функції плаценти протягом вагітності залишаються обмеженими. Використання нових технологій та методів візуалізації на тваринах, які можуть забезпечити безпечний контроль за ростом і функцією плаценти *in vivo*, вимагатимуть проведення доклінічних досліджень та випробувань на відповідних розроблених моделях тварин, які можуть бути легко переведені в клінічні умови. Все це, звичайно вимагає використання тварин як моделі відтворення патологій плаценти. В огляді розглянуто позитивні та негативні сторони різних тварин та методів відтворення патологічного стану вагітності. В експерименті дуже часто використовують моделі фетоплацентарної недостатності, що виникають внаслідок оксидативного стресу та активації вільнорадикального окиснення. Для відтворення експериментальної фетоплацентарної недостатності обумовленою гістотоксичною гіпоксією, використовують ксенобіотик тетрахлорметан. Високий ризик її виникнення у жінок дуже молодого та зрілого репродуктивного віку. Достеменно не відомо, як буде впливати фетоплацентарна недостатність у матерів на статевий розвиток пубертатних нащадків. Саме тому, нами, в ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» проведено комплексне експериментальне дослідження стосовно цього питання. Для вирішення цієї проблеми у нашому інституті розроблена і пропонується нова фармацевтична композиція, яка повинна сприяти не тільки корекції фетоплацентарної недостатності, але й мати профілактичне значення щодо збереження репродуктивного потенціалу у дорослому віці. Для цього використовували щурів популяції Вістар, двох вікових груп. Моделювали експериментальну ФПН, після, проводили корекцію фармакомпозицією. Проведене нами дослідження дозволило встановити, що фетоплацентарна недостатність по різному впливає на становлення репродуктивної системи у самців та самиць щурів пубертатного віку. Профілактичне додавання до корму вагітним самицям на тлі фетоплацентарної недостатності призводить до зменшення репродуктивності у пубертатному віці. Дослідження моделей на тваринах дають важливе розуміння молекулярних та функціональних механізмів, що лежать в основі фетоплацентарної недостатності та затримки внутрішньоутробного розвитку, оскільки дозволяють проводити дослідження які неможливі на вагітних жінках.

Ключові слова: фетоплацентарна недостатність, експериментальна модель, тварини, вік матері, нащадки.

Роботу виконано у рамках теми НДР ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»: «Вивчення наслідків впливу «пасивного тютюнопаління» матерів під час вагітності на сомато-ендокринний фенотип нащадків (експериментальне дослідження)», № державної реєстрації 0117U007187.

Відомо, що аномалії розвитку та функції плаценти лежать в основі багатьох патологій вагітності, включаючи затримку внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР), загибель плода, фетоплацентарну недостатність (ФПН), прееклампсію та спонтанні передчасні пологи. Велика кількість досліджень показує важливість правильного функціонування фетоплацентарного комплексу (ФПК) для здоров'я матері та нащадків протягом усього життя. Однак наші знання щодо структури та функції плаценти протягом вагітності залишаються обмеженими. Розуміння тимчасового зростання та функціональності плаценти людини протягом усього періоду гестації є важливим. Використання нових технологій та методів візуалізації на тваринах, які можуть забезпечити безпечний контроль за ростом і функцією плаценти *in vivo*, вимагатимуть проведення доклінічних досліджень та випробувань на відповідних розроблених моделях тварин, які можуть бути легко переведені в клінічні умови. Все це вимагає використання тварин як моделі відтворення ФПН.

Про те, яка модель тварин найкраще підходить для вивчення плацентарної людини та вагітності, продовжують дискутувати. Очевидно, що не існує "єдиної ідеальної моделі тварин" для вивчення вагітності у людини, дисфункції плаценти, порушень росту плода або прееклампсії. Усі моделі мають свої переваги та обмеження. Розгляд конкретної моделі тварин внаслідок траєкторії розвитку або типу плацентарної може бути цілком відповідним для одного напрямку дослідження, але не для інших. Для того щоб планувати експериментальну модель відтворення ФПН на тваринах, необхідно враховувати загальну форму, гістологічну структуру та тип переплетення матково-плацентарного ложа [1, 2]. Існує чотири основних типи плаценти, визнані загальною морфологією, і чи є зона обміну між матір'ю та плодом по всій доступній поверхні хоріонічного мішка, чи вона обмежена. Розділяють на: дифузні — цей тип плаценти зустрічається по всій поверхні просвітного маткового епітелію з утворенням складок/ворсин (у коней та сви-

ней); багатодольні — цей тип плаценти характеризується багатьма плямистими плацентарними областями ендометрію, відомими як карункули (у жуйних тварин); зонарні — цей тип плаценти демонструє близьку контактну зону, що утворює пояси, навколо хоріального мішка (м'ясоїдні тварини); дискоїдні/бідискоїдні — цей тип плаценти характеризується одинарним (дискоїдним) або подвійним диском (бідискоїдний), і взаємодія обмежується приблизно круглою областю (у приматів, гризунів, кролів) [1]. Крім того, плацента додатково поділяється відповідно до клітинних шарів, що порушують міжгемальну область; епітеліохоріальний (коні, свині та жуйні тварини), ендотеліохоріальний (хижаки) та гемохоріальний (гризуни, кролі, примати) [3].

Важливо враховувати різноманітність морфологій плаценти при екстраполяції фізіологічних, ендокринологічних, імунологічних або будь-яких інших даних від тварини порівняно до людини під час обговорення проходження ліків та хімічних речовин через ФПК [4]. Крім того, вважається, що гістопатологічні підходи до патогенезу плацентарної токсичності є важливим інструментом для розуміння механізму репродуктивного та токсичного розвитку, особливо зважаючи на летальність ембріонів та ЗВУР [5].

При дослідженні процесів ремодельовання спіральної артерії та зв'язку між порушеннями інвазії та ускладненнями вагітності, такими як прееклампсія, обрана тварина в ідеалі повинна мати однакову глибину інвазії трофобластів порівняно з людьми. Найближчі до людини моделі на тваринах є серед приматів [6]. Макаки-резус піддаються низці маніпуляцій під час вагітності, включаючи хронічну катетеризацію для одночасного відбору проб з материнсько-плодового та міжматкового відділів [7], міжматкові перев'язки плаценти як модель плацентарної недостатності та ЗВУР [8], а також моделі вагітності, що маніпулюють харчовими продуктами, для дослідження фетально-плацентарного походження захворювання дорослих [9]. У цих тварин існує схожість з анатомією матки та плаценти, гестаційною тривалістю, електроміографічною активністю, одноплідною вагітністю та можливістю безпосереднього порівняння розвитку плоду та новонароджених з людиною. На відміну від гризунів, які народжуються незрілими з точки зору дозрівання мозку, у макак при народженні значно більше білої речовини, що робить їх набагато кращою моделлю для оцінки когнітивних та поведінкових результатів новонароджених внаслідок несприятливих вагітностей (наприклад, ФПН, ЗВУР та прееклампсія) [10]. Механізми проникності та плацентарного переносу в макак аналогічні плаценті людини, тому ефективність, безпека, фармакокінетика та фармакодинаміка нових терапевтичних препаратів регулярно перевіряються саме на цих тваринах у доклінічних дослідженнях [11]. Незважаючи на поверхневу

імплантацію та менш розвинений децидуальний шар з незначною інвазією інтерстиціальних трофобластів у мавп-резусів та бабуїнів [3], ці тварини надають неперевершені можливості для вивчення проникності плаценти, перенесення поживних речовин та фармакодинаміки нових терапевтичних препаратів. Однак слід розуміти, що фінансові та етичні міркування виключають широке використання цих дорогоцінних тварин [12].

Існує багато різних експериментальних моделей тварин із ЗВУР людини, що включають дослідження на щурах, мишах, морських свинках та вівцях. Морська свинка є чудовою альтернативою іншим видам гризунів і є однією з небагатьох, у яких можна моделювати токсикоз вагітних [13]. Вона є гарною моделлю для вивчення переносу поживних речовин через плаценту [14, 15] через подібність до плацентації людини [7].

Порушення функції плаценти, що призводить до обмеження надходження поживних речовин плоду, є основною причиною зміненого або зниженого росту плода. У овець добре встановлено, що вага плаценти на 80% залежить від ваги плоду на початку вагітності [16]. У овець було використано кілька експериментальних підходів для імітації ФПН людини, спричинених низкою факторів. Сюди входять видалення більшої частини фрагментів ендометрію з невагітної матки до зачаття [17], експериментальна індукція гіпертермії матері [18], перев'язка артерії пуповини або емболізація плаценти в кінці вагітності [19] та перегодування вагітних вівцематок [20]. Кожна модель призводить до зміненого плацентарного переносу кисню та поживних речовин до плода та має певні сильні та слабкі сторони щодо імітації ФПН людини. Усі ці експериментальні моделі ФПН призводять до хронічних змін (тобто таких, що тривають більше 1 тижня) у розвитку та функції плаценти і пов'язані зі зменшенням росту плода. Кожна з цих моделей вносить конкретну інформацію в розуміння механізмів, які плід використовує для переживання хронічних періодів зменшення запасу поживних речовин які переходять через плаценту [21]. На великих моделях тварин, таких як вівці, функціональні реакції плода на короткі або тривалі періоди ФПН можуть вивчатися ще внутрішньоутробно. Крім того, як і у людини, органогенез відбувається під час ранньої гестації, а ниркова та серцево-судинна системи функціонально відносно зрілі в кінці гестації [22]. Більше того, було продемонстровано, що плід овець може також реагувати на нейроендокринні та серцево-судинні реакції на внутрішньоутробні впливи негативного характеру [23]. Мало того, що біологічні реакції на ЗВУР однакові у овець і людей, але, що важливо, великий розмір плоду овець та його доступність для хірургічної імплантації судинних катетерів та інших інструментальних засобів більш доступні та зручні.

Більшість досліджень проводять на гризунах,

оскільки вони мають короткий термін вагітності та чудово підходять для подальших досліджень, в яких важливо визначити вплив ФПН на стан вже дорослої особини. Плацента щура схожа за будовою на плаценту людини, вона належить до гемохоріального типу, що робить щура адекватним об'єктом для моделювання патологій вагітності. До особливостей плацент цього типу належить розвиток плаценти у певному місці на поверхні плідного яйця, дискоїдальна форма, порушення материнських судин та безпосередній контакт між материнською та плодовою кров'ю. На додаток до спільних рис у структурі та функції плаценти, профілювання експресії генів у всьому геномі свідчить про те, що вони поділяють схожість у планах експресії плацентарних генів протягом вагітності [24]. Крім того, молекулярні механізми можна порівняно легко досліджувати, враховуючи діапазон генетичної інформації мишей та щурів. Недоліком цих моделей є те, що через невеликі розміри та відносну незрілість плода вони не підходять для досліджень, які фокусуються на функціональній реакції плода. Так, у гризунів, нирки [25] та серцево-судинна система [26] розвивається протягом усього терміну вагітності та протягом перших тижнів життя, тоді як у людини ці системи дозрівають у внутрішньоутробному житті [27]. Також відмінності включають синтез і функції плацентарних гормонів, інвазію трофобластів, реконструкцію спіральних артерій, які несуть кров та поживні речовини до плода, терміни та процес децидуалізації та розвитку плаценти, формування та розгалуження ворсинок, а також співвідношення ваги плода це все зумовлене основними видовими відмінностями кровообігу матері та плода [28]. Незважаючи на ці відмінності, існує безліч причин використання моделей гризунів для вивчення впливу хімічних речовин навколишнього середовища на плаценту.

Однією з найпоширеніших моделей гризунів, що використовується для імітації впливу на розвиток плаценти та потомства, є зменшення або зміна споживаної їжі, наприклад, дієта з низьким вмістом білка або з високим вмістом жиру. Перевага щурів [29] та мишей [30] полягає в тому, що плоди піддаються недоїданню або дієті з низьким вмістом білка протягом першої половини вагітності або протягом всієї вагітності мають значно меншу вагу при народженні. Навіть менш важка дієта з низьким вмістом білка, яка не викликає ЗВУР, призводить до подібних змін у морфології нирок із зменшенням кількості клубочків та клубочкового некрозу [31].

У гризунів більшість експериментів, що викликають загальне недоїдання або обмеження білка під час гестації, призводять до внутрішньоутробного ураження плода з подальшим збільшенням частоти гіпертонії, надмірного відкладення жирової тканини, порушення обміну глюкози та дисліпідемії у дорослих нащадків [32]. У мишей спостерігалось зменшення тривалості

життя на 32% у нащадків чоловічої статі, народжених від самок, які під час гестації отримували дієту з низьким вмістом білка [33].

Інша модель тварин, яка використовується для ЗВУР та ФПН - це модель перев'язки артерій, яка імітує гостру ситуацію і не тільки зменшує надходження поживних речовин, але й призводить до дефіциту кисню [34, 35].

Модель зниженого перфузійного тиску матки у щурів зазвичай використовується для імітації преєклампсії людини. Зазвичай застосовується у щурів Sprague-Dawley, ця модель преєклампсії обмежує приплив крові до матки через хірургічну оклюзію маткових та яєчникових артерій (як правило, це робиться на 14 день вагітності при 21-денній вагітності), створюючи ішемію плаценти. Маточно-плацентарний кровотік зменшується на 40%, а артеріальний тиск у матері - на 20–30 мм рт.ст. [36]. Потомство яке народжене від матерів з моделлю зниженого перфузійного тиску матки демонструє ЗВУР [37] і спостерігається розвиток непереносимості глюкози у зрілому віці [38]. Втрата маси β-клітин або дефект секреції інсуліну може пояснити фенотип непереносимості глюкози. В даний час існує дуже мало досліджень, що визначають причини підвищеного ризику розвитку цукрового діабету 2 типу в моделі зниженого перфузійного тиску матки, яка згодом викликає преєклампсію у вагітних тварин [39].

Патологічні стани плаценти у щурів можна викликати введенням деяких розчинів протягом вагітності. Так, при експериментальній моделі гестозу, яку відтворюють шляхом щоденної гіпернатрієвої дієти [40] отримують розвиток патологічних симптомів (гіпертензія, зниження матково-плацентарного кровообігу, ЗВУР та активація ренін-ангіотензинової системи), які схожі з розвитком гестозу у клініці. Починаючи з 7-ї доби вагітності самицям замінюють питну воду 1,8% розчином NaCl. Моделювання ФПН у самиць щурів також проводять шляхом одноразового введення розчину ліпополісахариду ендотоксину на 18-ту добу вагітності. Запальні моделі преєклампсії, такі як інфузія низьких доз ендотоксину або введення TNFα [41], дали значне розуміння патофізіології нирок та плаценти під час преєклампсії на основі запальних явищ механізми.

В експерименті дуже часто використовують моделі ФПН, що виникають внаслідок оксидативного стресу та активації вільнорадикального окиснення. Посилення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів є головним підґрунтям розвитку багатьох захворювань. Порушенням окиснювально-відновних процесів належить значна роль у патологічному розвитку саме ФПН [42, 43]. В останні роки збільшилась кількість досліджень, в яких виявлено, що погіршення стану вагітної корелює з деякими показниками зовнішнього середовища та накопиченням у біосередовищі ксенобіотиків. Ксенобіотики сьогодні зустрічаються практично скрізь (повітря, ґрунт, вода, їжа, ліки), а значить, ймовірність їх потрап-

ляння в організм завжди висока [44]. Проникнення токсичних речовин у материнський організм веде до різного ступеня сукупного ксенобіотичного навантаження з наступною індукцією реакцій знешкодження і розвитком метаболічної форми ФПН [45], яка свідчить про виснаження компенсаторних механізмів ФПК і може завершитися внутрішньоутробною загибеллю плода. В експерименті для відтворення моделі ФПН обумовлено гістотоксичною гіпоксією, використовують ксенобіотик тетрахлорметан [42, 43].

Протягом останніх десятиліть середній вік жінок, які вперше народжують в розвинених країнах, поступово збільшувався, причому жінки у віці старше 35 років складають значну частку вагітної популяції [46]. Натепер доведено, що народження дитини у такому віковому діапазоні, досить часто призводить до ускладнень вагітності: переривання її, ФПН, прееклампсії, скорочення кількості нормальних пологів, мертворожденості, вроджених вад розвитку та ін. Значна кількість вагітностей у жінок цієї категорії, за даними літератури, ускладнюється ФПН [47]. У літературі майже не знайдено різниці між нащадками, які були народжені жінками з ФПН в залежності від віку. Жінкам такого вікового діапазону призначають багато фармацевтичних препаратів з різних причин. Але призначення відразу багатьох препаратів під час вагітності може призвести до появи побічних ефектів у дитини. Тому для лікування ФПН обґрунтованим є використання одного-єдиного препарату, що об'єднує в одній лікарській формі всі необхідні активні фармацевтичні інгредієнти в збалансованій кількості, які можуть впливати на декілька ланок патогенезу та мати мінімальну кількість побічних ефектів [43]. Для вирішення цієї проблеми нами розроблена і пропонується нова фармацевтична композиція, яка містить нефетотоксичні активні фармацевтичні інгредієнти із груп базової терапії ФПН, а саме аміно- та дикарбонові кислоти, вітаміни та судинорозширювальні засоби. Вивчення властивостей цієї композиції стосовно безпосередньо перинатального періоду та впливу на подальший соматостатевий розвиток нащадків народжених після її застосування може бути патогенетичним підґрунтям для розробки нового препарату комплексної природи, який буде сприяти не тільки корекції ФПН, але й мати профілактичне значення щодо збереження репродуктивного статусу у дорослому віці.

Саме тому, метою нашої роботи було дослідження перебігу пубертатного періоду самиць та самців нащадків, народжених від матерів різного віку з експериментальною ФПН обумовленою гістотоксичною гіпоксією та оцінити ефекти базової та комплексної медикаментозної терапії під час вагітності.

Дослідження проведено відповідно до Національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), які узго-

джуються з Положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), та «Положення про Комітет з питань етики (біоетики)», 2012. Експериментальні тварини утримувалися у стандартних умовах віварію ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» при природному освітленні та раціоні, рекомендованому для даного виду тварин, і питному режимі *ad libitum*.

Було сформовано 8 груп по 7 вагітних самиць: групи 1 та 2 – інтактні тварини молодого та зрілого репродуктивного віку; групи 3 та 4 – самиці з експериментальною ФПН молодого та зрілого репродуктивного віку, відповідно; групи 5 та 6 – молоді та зрілі тварини з експериментальною ФПН та додаванням до їжі залежно від ваги тварин з 11 до 19 доби вагітності ФК, яка містить нефетотоксичні активні фармацевтичні інгредієнти із груп базової терапії ФПН, а саме: аміно- (L-аргінін) та дикарбонові кислоти (бурштинова кислота), вітаміни (фолієва кислота) та судинорозширювальні засоби (дипіридамо́л). Групи 7 та 8 – молоді та зрілі тварини з експериментальною ФПН, яким додавали до їжі препарат порівняння – «Дипіридамо́л». Моделювання ФПН проводили шляхом щоденного підшкірного введення самицям з 12-го по 18-й день вагітності 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 2 мл/кг маси тіла [42].

Тварин-нащадків (перша половина) знеживлювали на 50-й день життя (пубертат) шляхом швидкої декапітації. У тварин вилучали та зважували органи репродуктивної системи, надниркові залози, тимус. Брالی зразки сироватки крові для визначення концентрації гормонів естрадіолу, тестостерону, прогестерону які зберігалися до аналізу при мінус 18°C. Рівень статевих гормонів визначали за допомогою тест-наборів «Естрадіол-ІФА», «Тестостерон-ІФА» та «Прогестерон-ІФА» (ООО «ХЕМА», Київ). Другу половину нащадків дорощували до статевої зрілості та продовжували досліджувати статевий розвиток, а саме, аногенітальну відстань та час відкриття піхви, опущення сім'яників. Робили гістологічні зрізи яєчників та сім'яників.

Таким чином, експериментальна ФПН індукована тетрахлорметаном негативно впливає на становлення репродуктивної системи пубертатних нащадків обох статей народжених від матерів різного вікового періоду. У тварин народжених від репродуктивно молодих матерів на тлі ФПН спостерігається більша аногенітальна відстань, що є ознакою естрогенодифіциту. У самиць нащадків народжених від репродуктивно зрілих матерів з ФПН спостерігали більш негативні зміни в становленні репродуктивної системи. А саме, спостерігали підвищення маси тіла, збільшення аногенітальної відстані на тлі прискороного статевого дозрівання. Збільшене співвідношення статевих гормонів у бік тестос-

терону, що сприяє неадекватній стимуляції яєчників, наслідком якої є порушення стероїдогенезу. При дослідженні гістологічної структури яєчників щурів пубертатного періоду, які були народжені від матерів двох вікових груп, спостерігали зменшення об'ємної щільності всіх фолікулів, порушення співвідношення типів фолікулів – перевагу мали вторинні ранні фолікули, зменшення резерву фолікулогенезу, збільшення рівня атрезії фолікулів. Застосування впродовж вагітності фармакомпозиції матерям двох вікових груп на тлі ФПН призводить до більшої нормалізації становлення репродуктивної функції нащадків жіночої статі, ніж препарат порівняння «Дипіридамомл».

ФПН впливає також на соматостатевий розвиток самців нащадків, що проявлялось у затримці статевого дозрівання та дисбалансі статевих гормонів (зниження тестостерону у всіх тварин та підвищення рівня естрогенів тільки у нащадків народжених від репродуктивно молодих самок). При застосуванні нової фармацевтичної композиції яку вводили для корекції патологічного стану вагітності, спостерігали підвищення рівня тестостерону, але не зниження високого рівня естрадіолу, лише у нащадків народжених від молодих самок, що в подальшому призвело до нормального статевого розвитку цих самців. Препарат порівняння «Дипіридамомл» не виявив корегуючого впливу у пубертатних самців.

Плацента, як ендокринний орган, відіграє важливу роль у координації адекватного росту плода шляхом синтезу і секреції критичних факторів, передачу поживних речовин та кисню, що впливає на ріст та фізіологію плода. Незважаючи на десятиліття досліджень, плацента є найменш вивченим органом, і опубліковані дослідження, наявні сьогодні, є особливо корелятивними. Дослідження моделей на тваринах дають важливе розуміння молекулярних та функціональних механізмів, що лежать в основі ФПН, оскільки дозволяють проводити дослідження які неможливі на вагітних жінках.

Література

1. Furukawa S, Kuroda Y, Sugiyama A A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals. *J Toxicol Pathol.* 2014; 27(1):11-8.
2. Carter AM, Enders AC, Jones CJ, Mess A, Pfarrer C, Pijnenborg R, Soma H. Comparative placentation and animal models: patterns of trophoblast invasion -- a workshop report. *Placenta.* 2006;27:S30-3.
3. Enders AC, Carter AM. Comparative placentation: some interesting modifications for histotrophic nutrition -- a review. *Placenta.* 2006;27 Suppl A():S11-6.
4. Burton GJ, Kaufmann P, and Huppertz B. Anatomy and genesis of the Placenta. In: Knobil and Nell's Physiology of Reproduction. 3rd ed. JD Neill (ed). Academic Press, Amsterdam. 189–243. 2006
5. Furukawa S, Hayashi S, Usuda K, Abe M, Hagio S, Ogawa I. Toxicological pathology in the rat placenta. *J Toxicol Pathol.* 2011 Jun; 24(2):95-111.
6. Pijnenborg R, et al. Deep trophoblast invasion and spiral artery remodelling in the placental bed of the lowland gorilla. *Placenta.* 2011;32(8):586–591.
7. Grigsby PL, Novy MJ, Sadowsky DW, Morgan TK, Long M, Acosta E, Duffy LB, Waites KB. Maternal azithromycin therapy for Ureaplasma intraamniotic infection delays preterm delivery and reduces fetal lung injury in a primate model. *Am J Obstet Gynecol.* 2012; 207(6):475.e1-475.e14.
8. Roberts VH, Räsänen JP, Novy MJ, Frias A, Louey S, Morgan TK, Thornburg KL, Spindel ER, Grigsby PL. Restriction of placental vasculature in a non-human primate: a unique model to study placental plasticity. *Placenta.* 2012 Jan; 33(1):73-6.
9. Ma J, Prince AL, Bader D, Hu M, Ganu R, Baquero K, Blundell P, Alan Harris R, Frias AE, Grove KL, Aagaard KM. High-fat maternal diet during pregnancy persistently alters the offspring microbiome in a primate model. *Nat Commun.* 2014 May 20; 5(5):3889.
10. Curtis B, Liberato N, Rulien M, Morrisroe K, Kenney C, Yutuc V, Ferrier C, Marti CN, Mandell D, Burbacher TM, Sackett GP, Hewitson L. Examination of the safety of pediatric vaccine schedules in a non-human primate model: assessments of neurodevelopment, learning, and social behavior. *Environ Health Perspect.* 2015 Jun; 123(6):579-89.
11. Hong SG, Winkler T, Wu C, Guo V, Pittaluga S, Nicolae A, Donahue RE, Metzger ME, Price SD, Uchida N, Kuznetsov SA, Kilts T, Li L, Robey PG, Dunbar CE. Path to the clinic: assessment of iPSC-based cell therapies in vivo in a nonhuman primate model. *Cell Rep.* 2014 May 22; 7(4):1298-1309.
12. Grigsby PL. Animal Models to Study Placental Development and Function throughout Normal and Dysfunctional Human Pregnancy. *Semin Reprod Med.* 2016 Jan;34(1):11-6. doi: 10.1055/s-0035-1570031.
13. Seidl DC, Hughes HC, Bertolet R, Lang CM. True pregnancy toxemia (preeclampsia) in the guinea pig (*Cavia porcellus*). *Lab Anim Sci.* 1979 Aug; 29(4):472-8.
14. Jansson T, Persson E. Placental transfer of glucose and amino acids in intrauterine growth retardation: studies with substrate analogs in the awake guinea pig. *Pediatr Res.* 1990 Sep; 28(3):203-8.
15. Dyson RM, Palliser HK, Kelleher MA, Hirst JJ, Wright IM. The guinea pig as an animal model for studying perinatal changes in microvascular function. *Pediatr Res.* 2012 Jan; 71(1):20-4.
16. MacLaughlin SM, Walker SK, Roberts CT, Kleemann DO, McMillen IC. Periconceptional nutrition and the relationship between maternal body weight changes in the periconceptional period and fetal-placental growth in the sheep. *J. Physiol.* 2005; 565: 111–24.
17. Alexander G. Studies on the placenta of the sheep (*Ovis aries* L.). Effect of surgical reduction in the number of caruncles. *J. Reprod. Fertil.* 1964; 30: 307–22.
18. Thureen PJ, Trembler KA, Meschia G, Makowski EL, Wilkening RB. Placental glucose transport in heat-induced fetal growth retardation. *Am. J. Physiol.* 1992; 263: R578–85.
19. Emmanouilides GC, Townsend DE, Bauer RA. Effects of single umbilical artery ligation in the lamb fetus. *Pediatrics* 1968; 42: 919–27.
20. Gagnon R, Johnston L, Murotsuki J. Fetal placental embolization in the late-gestation ovine fetus: Alterations in umbilical blood flow and fetal heart rate patterns. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996; 175: 63–72.
21. Morrison JL. Sheep models of intrauterine growth restriction: fetal adaptations and consequences. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008;35(7):730-743. doi:10.1111/j.1440-1681.2008.04975.
22. Gagnon R, Benzaquen S, Hunse C. The fetal sound environment during vibroacoustic stimulation in labor: Effect on fetal heart rate response. *Obstet. Gynecol.* 1992; 79: 950–5.
23. Giussani DA, Spencer JA, Moore PJ, Bennet L, Hanson MA. Afferent and efferent components of the cardiovascular reflex responses to acute hypoxia in term fetal sheep. *J. Physiol.* 1993; 461: 431–49.
24. Soncin F, Khater M, To C, Pizzo D, Farah O, Wakeland A, Arul Nambi Rajan K, Nelson KK, Chang CW, Moretto-Zita M, Natale DR, Laurent LC, Parast MM. Comparative analysis of mouse and human placentae across gestation reveals species-specific regulators of placental development. *Development.* 2018 Jan 29; 145(2).
25. Larsson L, Maunsbach AB. The ultrastructural development of the glomerular filtration barrier in the rat kidney: A morphometric analysis. *J. Ultrastruct. Res.* 1980; 72: 392–406.
26. Li F, Wang X, Capasso JM, Gerdes AM. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1996; 28: 1737–46.
27. Konje JC, Bell SC, Morton JJ, De Chazal R, Taylor DJ. Human fetal kidney morphometry during gestation and the relationship between weight, kidney morphometry and plasma active renin concentration at birth. *Clin. Sci.* 1996; 91: 169–75.
28. Strakovsky RS, Schantz SL. Using Experimental Models to Assess Effects of Bisphenol A (BPA) and Phthalates on the Placenta: Challenges and Perspectives. *Toxicol Sci.* 2018 Dec 1;166(2):250-268. doi: 10.1093/toxsci/kfy224.
29. McMullen S, Langley-Evans SC Maternal low-protein diet in rat pregnancy programs blood pressure through sex-specific mechanisms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005 Jan; 288(1):R85-90.

30. Kawamura M, Itoh H, Yura S, Mogami H, Suga S, Makino H, Miyamoto Y, Yoshimasa Y, Sagawa N, Fujii S. Undernutrition in utero augments systolic blood pressure and cardiac remodeling in adult mouse offspring: possible involvement of local cardiac angiotensin system in developmental origins of cardiovascular disease. *Endocrinology*. 2007 Mar; 148(3):1218-25.
31. Yuasa K, Kondo T, Nagai H, Mino M, Takeshita A, Okada T. Maternal protein restriction that does not have an influence on the birthweight of the offspring induces morphological changes in kidneys reminiscent of phenotypes exhibited by intrauterine growth retardation rats. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2016 Mar; 56(2):79-85.
32. Remacle C, Bieswal F, Bol V, Reusens B. Developmental programming of adult obesity and cardiovascular disease in rodents by maternal nutrition imbalance. *Am J Clin Nutr*. 2011 Dec; 94(6 Suppl):1846S-1852S.
33. Chavatte-Palmer P, Tarrade A, Rousseau-Ralliard D. Diet before and during Pregnancy and Offspring Health: The Importance of Animal Models and What Can Be Learned from Them. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 Jun 14;13(6):586. doi: 10.3390/ijerph13060586. PMID: 27314367; PMCID: PMC4924043.
34. Janot M, Cortes-Dubly ML, Rodriguez S, Huynh-Do U. Bilateral uterine vessel ligation as a model of intrauterine growth restriction in mice. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014 Jul 8; 12():62.
35. Winterhager E, Gellhaus A. Transplacental Nutrient Transport Mechanisms of Intrauterine Growth Restriction in Rodent Models and Humans. *Front Physiol*. 2017 Nov 27;8:951. doi: 10.3389/fphys.2017.00951. PMID: 29230179; PMCID: PMC5711821.
36. Crews JK, Herrington JN, Granger JP, Khalil RA. Decreased endothelium-dependent vascular relaxation during reduction of uterine perfusion pressure in pregnant rat. *Hypertension*. 2000;35(1 Pt 2):367-72.
37. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction. *Microcirculation*. 2002 Jul; 9(3):147-60.
38. Heltemes A, Gingery A, Soldner EL, Bozadjieva N, Jahr KN, Johnson BK, Gilbert JS. Chronic placental ischemia alters amniotic fluid milieu and results in impaired glucose tolerance, insulin resistance and hyperleptinemia in young rats. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2010 Jul; 235(7):892-9.
39. Mohan R, Baumann D, Alejandro EU. Fetal undernutrition, placental insufficiency, and pancreatic β -cell development programming in utero. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2018 Nov 1;315(5):R867-R878. doi: 10.1152/ajpregu.00072.2018. Epub 2018 Aug 15. PMID: 30110175; PMCID: PMC6295492.
40. Pedrycz A, Wieczorski M, Czerny K. Secondary preeclampsia in rats with nephrotic syndrome – experimental model. *Reproductive Toxicology*. V.19(4), 2005, P. 493-500.
41. Cotechini T, Komisarenko M, Sperou A, Macdonald-Goodfellow S, Adams MA, Graham CH. Inflammation in rat pregnancy inhibits spiral artery remodeling leading to fetal growth restriction and features of preeclampsia. *J Exp Med*. 2014 Jan 13; 211(1):165-79.
42. Yakovleva LV, Zaichenko GV, Tsykun AG, Laryanovska YuB., Butenko IG, Deeva TV, Kudina OV, Pavlenko NYa. Preclinical study of drugs intended for the treatment of placental dysfunction: method. recommendations / DFC of the Ministry of Health of Ukraine; - K., 2009 (Ukrainian).
43. Radzynskyy VE, Smalko PYa. Byokhymyya platsentarnoy nedostatocnosti [Biochemistry of placental insufficiency]. ; Kyev:Nauk.dumka; 1987. 120 s. (Russian)
44. Yanovych DO, Yanovych NYe. Biotransformatsiya ksenobiotykv i mekhanizmy yjiy regulyatsiyi. (Biotransformation of xenobiotics and mechanisms of its regulation). *Naukovy visnyk LNUVMBT im. S.Z. Gzhytskogo*. 2011;13,2 (48):305-311. (Ukrainian)
45. Korol TM. Fetoplatsentarna nedostatnist – aktualna problema medytsyny. kliniko-etopatogenetychni kryteriyi diagnistyky, likuvannya ta profylaktyky (Fetoplacental insufficiency is an urgent problem of medicine. clinical and etiopathogenetic criteria for diagnosis, treatment and prevention). *Visnyk problem biologiyi i medytsyny*. 2013;1(2):49-54. (Ukrainian)
46. Matthews TJ, Hamilton BE. First births to older women continue to rise. *NCHS Data Brief*. 2014;152:1-8.
47. Patel R, Moffatt JD, Mourmoura E, Demaison L, Seed PT, Poston L, et al. Effect of reproductive ageing on pregnant mouse uterus and cervix. *J Physiol*. 2017; 595(6): 2065-84. DOI: 10.1113/JP273350

Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ЖИВОТНЫХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И СОБСТВЕННЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ)

Селюкова Н. Ю., Мисюра К. В., Стороженко Г. В.

Ключевые слова: фетоплацентарная недостаточность, экспериментальная модель, животные, возраст матери, потомки.

Обзор литературы посвящён экспериментальным моделям плацентарных нарушений у животных. Сегодня наши знания о структуре и функции плаценты в течение беременности остаются ограниченными. Использование новых технологий и методов визуализации на животных, которые могут обеспечить безопасный контроль за ростом и функцией плаценты *in vivo*, требуют проведения доклинических исследований и испытаний на соответствующих разработанных моделях животных, которые могут быть легко переведены в клинические условия. Все это, конечно требует использования животных в качестве модели воспроизведения патологий плаценты. В обзоре рассмотрены положительные и отрицательные стороны различных животных и методов воспроизведения патологического состояния беременности.

В эксперименте очень часто используют модели фетоплацентарной недостаточности, возникающие вследствие оксидативного стресса и активации свободнорадикального окисления. Для воспроизведения экспериментальной фетоплацентарной недостаточности обусловленной гистотоксической гипоксией, используют ксенобиотик тетрахлорметан. У женщин очень молодого и зрелого репродуктивного возраста имеется высокий риск возникновения фетоплацентарной недостаточности. Точно не известно, как будет влиять фетоплацентарная недостаточность у матерей на половое развитие пубертатных потомков. Именно поэтому, нами, в ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского НАМН Украины» проведено комплексное экспериментальное исследование по этому вопросу. Для решения этой проблемы в нашем институте разработана и предлагается новая фармацевтическая композиция которая должна способствовать не только коррекции фетоплацентарной недостаточности, но и иметь профилактическое значение для сохранения репродуктивного потенциала во взрослом возрасте. Для этого использовали крыс популяции Вистар, двух возрастных групп. Моделировали экспериментальную фетоплацентарную недостаточность, после проводили коррекцию фармакокомпозицией.

Проведенное нами исследование позволило установить, что фетоплацентарная недостаточность по-разному влияет на становление репродуктивной системы у самцов и самок крыс пубертатного возраста. Профилактическое добавления в корм беременным самкам на фоне фетоплацентарной недостаточности приводит к уменьшению репродуктопатий в пубертатном возрасте. Исследование моделей на животных дают важное понимание молекулярных и функциональных механизмов, лежащих в основе фетоплацентарной недостаточности и задержки внутриутробного развития, поскольку позволяют проводить исследования которые невозможны на беременных женщинах.

Summary

EXPERIMENTAL MODELS OF FETOPLACENTAL INSUFFICIENCY IN ANIMALS
(LITERATURE REVIEW AND OWN OBSERVATIONS)

Seliukova N. Yu., Misyura K. V., Storozhenko G. V.

Key words: fetoplacental insufficiency, experimental model, animals, mother's age, offspring.

This literature review is devoted to experimental models of placental disorders in animals. Today, our knowledge of the structure and function of the placenta during pregnancy is remaining limited. The use of new technologies and imaging methods in animals that can provide safe monitoring of the growth and function of the placenta in vivo requires preclinical studies and trials in appropriately developed animal models that can be easily translated into a clinical setting. All this, of course, requires the use of test animals for modelling placental pathologies. The review considers the positive and negative aspects of various animals and methods of modelling the pathological conditions during pregnancy. In the experiment, models of fetoplacental insufficiency are very often used, arising from oxidative stress and activation of free radical oxidation. To simulate the experimental fetoplacental insufficiency caused by histotoxic hypoxia, the xenobiotic tetrachloromethane is used. Women of very young and mature reproductive age have a high risk of fetoplacental insufficiency. It is not known exactly how placental insufficiency in mothers will affect the sexual development of pubertal offspring. That is why we conducted a comprehensive experimental study on this issue at the base of V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems, NAMS of Ukraine. To solve this problem, our institute has developed and proposed a new pharmaceutical composition that should not only contribute to the correction of placental insufficiency, but also has a certain prophylactic value for maintaining reproductive potential in adulthood. The study was carried out on Wistar rats of two age groups. We modelled experimental fetoplacental insufficiency and then corrected it with this pharmaceutical composition. Our study made it possible to establish that fetoplacental insufficiency has a different effect on the formation of the reproductive system in male and female rats in puberty. Prophylactic adding of the composition to the food for pregnant female rats with modelled placental insufficiency leads to the decrease in reproductive diseases of their offspring in puberty. Research on animal models provides important insight into the molecular and functional mechanisms underlying fetoplacental insufficiency and intrauterine growth retardation, as it enables to carry out studies, which are not possible in pregnant women.