

Оригинальная статья / Original article

УДК 611.813.1.015

<https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.37-44>

## Влияние введения неселективного ингибитора NO-синтазы в период беременности на развитие коры головного мозга двадцатисуточных крысят

Т.С. Русак<sup>✉</sup>, Н.Е. Максимович, Е.И. Бонь, А.Д. Бернацкая, А.С. Кусмарцева  
УО «Гродненский государственный медицинский университет»  
ул. Горького, д. 80, г. Гродно, 230009, Республика Беларусь

### Аннотация

**Цель.** Изучить морфологические особенности нейронов коры головного мозга двадцатисуточных крысят в условиях введения ингибитора синтазы оксида азота (Nitric oxide synthase, NOS) в период плацентации.

**Материалы и методы.** Беспородных белых крыс-самок ( $n = 12$ ) рандомно разделили на 2 группы по 6 крыс в каждой. На 11-е сутки беременности в опытной группе вводили однократно внутримышечно N(омега)-нитро-L-аргинин метиловый эфир (N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME) в дозе 25 мг/кг, в контрольной – однократно внутримышечно 0,9% раствор NaCl. Рожденных крысят отбирали рандомно по одному от матери. На 20-е сутки после медицинской эвтаназии осуществляли забор головного мозга. В переднем отделе фронтальной коры изучали плотность и площадь нейронов, размер и форму перикарионов, выраженность их окраски толуидиновым синим.

**Результаты.** В опытной группе по сравнению с контрольной плотность и площадь нейронов у двадцатисуточных крысят были меньше на 10% ( $p > 0,05$ ) и 22% ( $p > 0,05$ ) соответственно, также изменялась форма перикарионов на вытянутую, фактор элонгации увеличивался на 0,3 ед. ( $p < 0,05$ ) и происходило шестикратное увеличение доли гиперхромных нейронов ( $p < 0,05$ ), появлялись гиперхромные сморщенные ( $p < 0,001$ ) нейроны, отсутствовавшие у контрольных животных.

**Заключение.** Морфологические изменения нейронов коры головного мозга у крысят, рожденных от самок, получивших в период плацентации ингибитор NOS, могут быть следствием снижения образования оксида азота в самих нейронах и в эндотелии сосудов, питающих головной мозг.

**Ключевые слова:** NO-синтаза; гестоз; белые крысы; кора головного мозга; нитрергическая система

### Рубрики MeSH:

МОЗГ ГОЛОВНОГО КОРА – ДЕЙСТВИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

МОЗГ ГОЛОВНОГО КОРА – РОСТ И РАЗВИТИЕ

АЗОТА ОКИСИ СИНТАЗА – АНТАГОНИСТЫ И ИНГИБИТОРЫ

АЗОТА ОКИСИ СИНТАЗА – ФАРМАКОЛОГИЯ

**Для цитирования:** Русак Т.С., Максимович Н.Е., Бонь Е.И., Бернацкая А.Д., Кусмарцева А.С. Влияние введения неселективного ингибитора NO-синтазы в период беременности на развитие коры головного мозга двадцатисуточных крысят. Сеченовский вестник. 2023; 14(3): 37–44. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.37-44>

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

**Русак Татьяна Сергеевна**, ассистент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».

**Адрес:** ул. Горького, д. 80, г. Гродно, 230009, Республика Беларусь

**Тел.:** +375 29 284-68-74

**E-mail:** miss.sidorovich@inbox.ru

**Соответствие принципам этики.** Исследование проведено с соблюдением положений Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей. Все манипуляции с животными проведены в соответствии с разрешением Локального этического комитета УО «Гродненский государственный медицинский университет» (№ 6-03.11.2022).

**Доступ к данным исследования.** Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у авторов по обоснованному запросу.

Данные и статистические методы, представленные в статье, прошли статистическое рецензирование редактором журнала – сертифицированным специалистом по биостатистике.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки (собственные ресурсы).

**Поступила:** 29.06.2023

**Принята:** 10.08.2023

**Дата публикации:** 28.09.2023

## Effect of non-selective NO-synthase inhibitor administered during pregnancy on the development of the cerebral cortex in 20-day-old rat pups

Tatiana S. Rusak✉, Nataliya Ye. Maksimovich, Elizaveta I. Bon, Anna D. Bernatskaya, Angelina S. Kusmartseva

Grodno State Medical University

80, Gorky str., Grodno, 230009, Republic of Belarus

### Abstract

**Aim.** To study the morphology of neurons in the cerebral cortex of rat pups on day 20 under conditions of administration of a nitric oxide synthase inhibitor (NOS) during placentation.

**Materials and methods.** Outbred white female rats ( $n = 12$ ) were randomly divided into 2 groups of 6 rats each. On the 11th day of pregnancy, the experimental group received a single intramuscular injection of N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester (L NAME) at a dose of 25 mg/kg, in the control group – once intramuscularly 0.9% NaCl solution. Born rat pups were randomly selected one from the mother. On the 20th day, after medical euthanasia, the brain was collected. In the anterior part of the frontal cortex, we studied the density and area of neurons, the size and shape of perikarya and the severity of their staining with toluidine blue.

**Results.** In the experimental group of 20-day-old rat pups, compared to the control group, the density and area of neurons were less by 10% ( $p > 0.05$ ) and 22% ( $p > 0.05$ ), respectively, the shape of the perikarya also changed to elongated, the elongation factor increased by 0.3 units. ( $p < 0.05$ ) and there was a sixfold increase in the proportion of hyperchromic neurons ( $p < 0.05$ ), hyperchromic wrinkled ( $p < 0.001$ ) neurons appeared, which were absent in control animals.

**Conclusion.** Morphological changes in neurons of the cerebral cortex in rat pups born from females who received a NOS inhibitor during placentation may be a consequence of a decrease in the formation of nitric oxide in the neurons themselves and in the endothelium of the vessels supplying the brain.

**Keywords:** NO-synthase; preeclampsia; white rats; cerebral cortex; nitrenergic system

### MeSH terms:

CEREBRAL CORTEX – DRUG EFFECTS

CEREBRAL CORTEX – GROWTH & DEVELOPMENT

NITRIC OXIDE SYNTHASE – ANTAGONISTS & INHIBITORS

NITRIC OXIDE SYNTHASE – PHARMACOLOGY

**For citation:** Rusak T.S., Maksimovich N.Ye., Bon E.I., Bernatskaya A.D., Kusmartseva A.S. Effect of non-selective NO-synthase inhibitor administered during pregnancy on the development of the cerebral cortex in 20-day-old rat pups. Sechenov Medical Journal. 2023; 14(3): 37–44. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2023.14.3.37-44>

### CONTACT INFORMATION:

**Tatiana S. Rusak**, Assistant Professor, Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University

**Address:** 80, Gorky str., Grodno, 230009, Republic of Belarus

**Tel.:** +375 29 284-68-74

**E-mail:** miss.sidorovich@inbox.ru

**Ethics statements.** The study complies with the standards of the EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes. All manipulations with animals were approved by the Local Bioethics Committee of the Grodno State Medical University, No. 6 of 03.11.2022.

**Data availability.** The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors on reasonable request. Data and statistical methods used in the article were examined by a professional biostatistician on the Sechenov Medical Journal editorial staff.

**Conflict of interests.** The authors declare that there is no conflict of interests.

**Financial support.** The study was not sponsored (own resources).

**Received:** 29.06.2023

**Accepted:** 10.08.2023

**Date of publication:** 28.09.2023

## Список сокращений

L-NAME – N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester,  
N(omega)-нитро-L-аргинин метиловый эфир

NO – Nitric oxide, оксид азота

NOS – Nitric oxide synthase, синтаза оксида азота

Оксид азота (nitric oxide, NO) является ключевой сигнальной молекулой, вовлеченной в функционирование различных органов и систем, в том числе в регуляцию нейротрансмиссии, вазодилатации и воспалительных реакций [1]. Синтаза оксида азота (Nitric oxide synthase, NOS), катализирующая образование NO, имеет три изоформы в зависимости от типа клеток и тканей, в состав которых она входит [2]. Нейрональная NOS (nNOS), ответственная за синтез NO нейронами, участвует в передаче сигналов нейронов, эндотелиальная NOS (eNOS) – в вазодилатации, а индуцибельная NOS (iNOS) – в иммунных ответах.

В центральной нервной системе локализованы все изоформы NOS. Синтезируемый NO участвует в регуляции кровообращения головного мозга, передачи сигнала в синапсах как ретроградный нейромедиатор и играет значимую роль во внутриклеточной передаче сигналов в нейронах – от регуляции их метаболического статуса до роста дендритных отростков. В период эмбриогенеза NO также участвует в формировании центральной и периферической нервной системы, в частности в дифференцировке нейронов, становлении синаптогенеза и церебрального кровотока [3, 4].

Снижение образования NO служит главным механизмом запуска такого патологического процесса, как дисфункция эндотелия. Так, в период беременности это приводит к патологии маточно-плацентарного кровотока, нарушениям антенатального развития плода [5, 6] и преэклампсии [7, 8]. Тяжелый гестоз усугубляет состояние, связанное с нарушением функции плаценты, с ее васкуляризацией и часто осложняется преждевременными родами и различной патологией развития плода [9, 10].

Нарушение метаболизма NO моделируется посредством введения неселективного ингибитора NO-синтазы – N(omega)-нитро-L-аргинин метилового эфира (N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester,

L-NAME) [11]. Применение L-NAME приводит к резкому уменьшению содержания нитрит-ионов за счет снижения экспрессии eNOS в эндотелии сосудов [2].

Применение L-NAME является широко используемой моделью экспериментальной преэклампсии [11], используется чаще всего на мышах и крысах [12]. В экспериментах при введении L-NAME беременным крысам наблюдалось развитие патологии, по своим клиническим проявлениям соответствующей гестозу: статистически значимо повышалось систолическое артериальное давление, снижалась микроциркуляция в плаценте, а также увеличивалась протеинурия [13, 14]. Есть данные о неблагоприятном воздействии L-NAME на сердечно-сосудистую систему, снижении перфузии маточно-плацентарного ложа, уменьшении веса плаценты и веса потомства [15, 16]. Однако влияние экспериментального ингибирования NOS в период плацентации на последующие структурные изменения нейронов в головном мозге плода изучено недостаточно.

**Цель** – изучить морфологические особенности нейронов коры головного мозга крысят на 20-е сутки постнатального развития в условиях введения неселективного ингибитора NO-синтазы (L-NAME) в период плацентации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 12 беспородных белых крысах-самках одного возраста ( $110 \pm 10$  дней) из одной популяции из вивария Гродненского государственного медицинского университета массой  $300 \pm 20$  г и их потомстве. Животных содержали в стандартных поликарбонатных клетках объемом  $16 \times 300$  см<sup>3</sup>. Кормление осуществляли с использованием сертифицированного сбалансированного гранулированного корма для грызунов и фильтрованной водопроводной воды *ad libitum*. Крысы находились

в отдельных помещениях для содержания лабораторных животных в контролируемых условиях окружающей среды (20–26 °С при относительной влажности 30–70%) с 12-часовым циклом освещения и 10-кратной сменой объема воздуха в час.

Беспородных белых самцов массой  $380 \pm 20$  г из расчета 1 самец на 3 самки подсаживали к последним после 18.00 для оплодотворения, а выявление беременности проводили на следующий день до 9.00 утра по наличию сперматозоидов во влагалищных мазках. После оплодотворения самок содержали по 1 особи в клетке в одинаковых условиях, после родов – вместе с родившимся потомством. Для всех самок наступившая беременность была первой.

Беременных крыс опытной и контрольной групп случайно разделили на 2 группы по 6 самок в каждой. Крысам опытной группы вводили L-NAME в дозе 25 мг/кг на 11-е сутки беременности (период плацентации) однократно внутримышечно. Доза выбрана согласно данным литературы [11]. Контрольной группе вводили 0,9% раствор NaCl однократно внутримышечно в тот же срок беременности. Роды наступали на  $24 \pm 2$  день беременности.

После родов крысята содержались в клетках со своими матерями при вышеописанных условиях. Формирование выборки животных производилось случайным образом с исключением крысят с явными анатомическими и/или поведенческими особенностями. Взятие головного мозга осуществляли на 20-е сутки постнатального развития – в период пубертатного возраста и завершения базового синаптогенеза. Выведение крысят из эксперимента осуществлялось при помощи эфирного наркоза с последующей быстрой декапитацией. Далее извлекали головной мозг, кусочки переднего отдела коры больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа. Готовили серийные парафиновые срезы, которые окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля [17].

Изучение гистологических препаратов, микрофотографирование, морфометрию нейронов проводили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC320 (Leica Camera AG, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). Расположение фронтальной коры в гистологических препаратах мозга крысят определяли с помощью стереотаксического атласа [17]. У каждого животного контрольной группы оценивали не менее 30 нейронов, а экспериментальной – 150 нейронов пятого слоя коры головного мозга, что обеспечивало достаточный объем выборки для последующего анализа.

В данном исследовании были изучены размеры и форма нервных клеток ( $\text{мкм}^2$ ), а также выраженность их окраски толуидиновым синим [18]. С целью более точного подсчета нейронов разной степени хроматофилии цитоплазмы в фотографии гистологического препарата моделировалась сетка

с ее последующим наложением на фото изучаемой области головного мозга в программе Microsoft Word (Microsoft Office, США). Сетка представляет собой таблицу, соответствующую размеру полученного изображения ( $123 \times 165$  мм), с десятью равными ячейками размером  $24,7 \times 33,0$  мм. Во всех ячейках сетки, соответствующей площади участка гистологического препарата с учетом увеличения микроскопа, осуществлялся подсчет нейронов разной степени хроматофилии цитоплазмы (нормохромные, гипохромные, гиперхромные, гиперхромные сморщенные) с последующим определением их процентного содержания к общему количеству нейронов в сетке или абсолютного количества на  $1 \text{ мм}^2$ .

Для изучения размеров и формы перикарионов измеряли площадь, фактор элонгации (отношение максимального и минимального диаметров) и форм-фактор (отношение 4-х площадей к периметру в квадрате) в условных единицах. Для наглядного отображения формы нейронов коры головного мозга использовался шаблон геометрической фигуры овала в программе Microsoft Word (Microsoft Office, США) с указанием параметров «ширина» – Ш и «высота» – В. Параметры овала задавались в окне свойств фигуры «Размер» пропорционально геометрическим размерам нейронов.

Представленная работа является продолжением опубликованной нами ранее работы [19], в которой мы изучали эти же параметры у новорожденных крысят в аналогичных условиях.

### Статистический анализ

В результате гистологических исследований получены количественные непрерывные данные, которые обрабатывали с помощью программы Statistica 13.0 (TIBCO, США). Так как в эксперименте использованы малые выборки, которые имели ненормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-й; 75-й процентиля) [20]. Для сравнения групп применялся критерий Манна – Уитни, критерий хи-квадрат Пирсона. Различия между показателями считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ

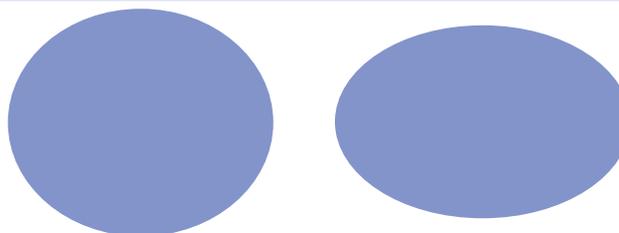
При изучении плотности расположения нейронов на  $1 \text{ мм}^2$  фронтальной коры головного мозга у двадцатисуточных крысят была выявлена тенденция к уменьшению на 10% количества клеток у потомства, рожденного самками с пренатальным введением L-NAME, в сравнении с контрольной группой ( $p > 0,05$ ).

Также в опытной группе выявлена тенденция к уменьшению площади нейронов на 22% (разница между группами не значима) и изменение формы перикарионов в сторону их большей вытянутости

**Таблица. Размеры и форма перикарионов пятого слоя фронтальной коры головного мозга двадцатисуточных крысят в условиях пренатального введения L-NAME на 11-е сутки беременности**

**Table. Sizes and shape of perikaryons in the fifth layer brain frontal cortex of 20-day-old rat pups under L-NAME prenatal injection on the 11th day of pregnancy**

Характеристика / Characteristics	Контрольная группа / Control group	Опытная группа / Experimental group	Значение p / p value
Плотность на 1 мм <sup>2</sup> / Density per 1 mm <sup>2</sup>	6122 (6048; 7189)	5494 (4690; 7504)	0,06
Площадь (мкм <sup>2</sup> ) / area (μm <sup>2</sup> )	111,5 (94,6; 118,9)	87,2 (73,1; 112,2)	0,20
Фактор элонгации, ед / Elongation factor, ed.	1,19 (1,19; 1,23)	1,51 (1,35; 1,69)	0,04
Форм-фактор / Form factor	0,87 (0,85; 0,88)	0,77 (0,78; 0,84)	0,80
Форма нейронов / Shape of neurons			



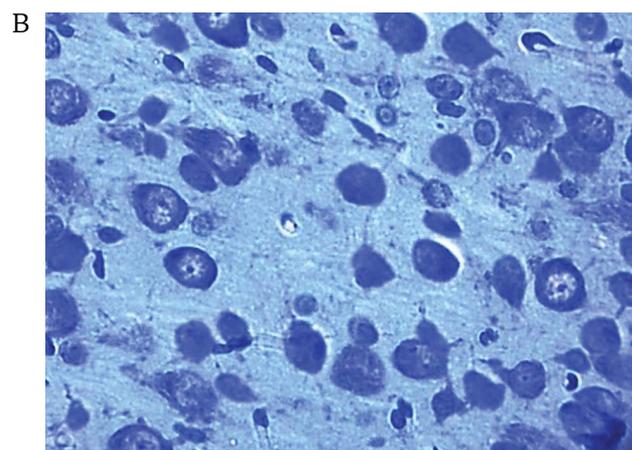
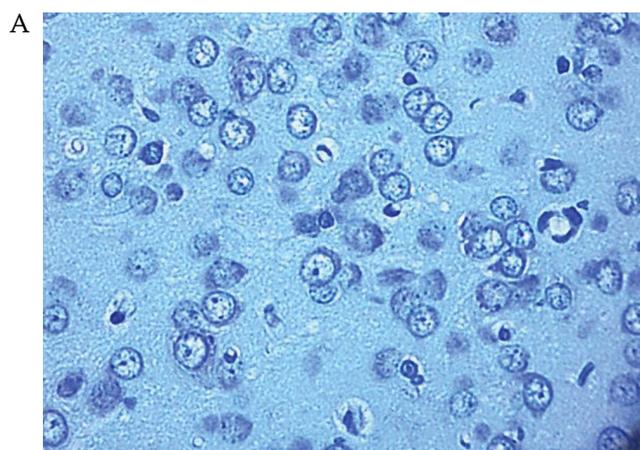
за счет статистически значимого увеличения фактора элонгации на 0,3 ед., в то время как форм-фактор не изменялся (таб.).

У двадцатисуточных крысят контрольной группы в пятом слое фронтальной коры головного мозга преобладали нормохромные нейроны (рис. 1).

Доли нейронов с различной выраженностью окраски статистически значимо различались в исследованных группах. В опытной группе животных, рожденных самками с пренатальным введением L-NAME, отмечалось уменьшение доли нормохромных нейронов до 80% (по сравнению с 95% в контрольной), шестикратное увеличение доли гиперхромных нейронов, появление гиперхромных сморщенных нейронов. По долям гипохромных нейронов группы не различались (рис. 2).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Введение L-NAME – неселективного ингибитора NO-синтазы на 11-е сутки беременности (период плацентации) приводило у двадцатисуточных крысят опытной группы к уменьшению доли нормохромных нейронов, увеличению доли гиперхромных нейронов и появлению гиперхромных сморщенных нейронов, отсутствовавших у крысят контрольной группы. Также при введении L-NAME отмечалась тенденция к снижению плотности расположения нейронов в пятом слое коры головного мозга, форма изменялась из круглой на вытянутую. Данный эффект при введении L-NAME может быть обусловлен снижением образования NO как в нейронах, так и в эндотелии сосудов, что ведет к нарушению



**РИС. 1.** Нейроны фронтальной коры головного мозга 20-суточных крысят в условиях пренатального введения L-NAME на 11-е сутки беременности. Цифровая микрофотография. Окраска по методу Ниссля, ув. 400, об. 40, ок. 10.

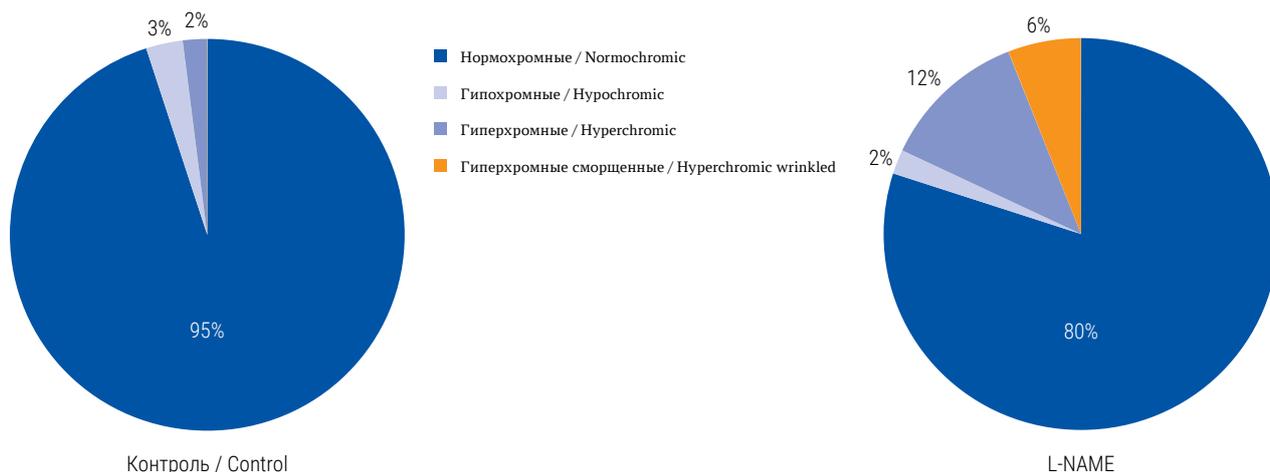
А – контрольная группа.

В – экспериментальная группа: потомство, рожденное самками с пренатальным введением L-NAME.

**FIG. 1.** Frontal cortex neurons of 20 day-old rats under L-NAME prenatal injection on the 11th day of pregnancy. Digital photomicrograph. Nissl staining, magnification 400, ob. 40, oc. 10.

А – control group.

В – experimental group: offspring born to females with prenatal administration of L-NAME.



**РИС. 2.** Соотношение нейронов с различной степенью хромотофилии цитоплазмы пятого слоя фронтальной коры головного мозга двадцатисуточных крысят в условиях пренатального введения L-NAME на 11-е сутки беременности.

**FIG. 2.** The ratio of neurons with different degrees of cytoplasmic chromatophilia of the fifth layer of the frontal cortex in 20 day-old rats under L-NAME prenatal injection on the 11th day of pregnancy.

клеточного метаболизма, вазодилаторных компенсаторных механизмов с развитием ишемии и водно-электролитного дисбаланса, в порочном круге усугубляющих деформацию тел нейронов и их сморщивание [21, 22].

В нашей предыдущей работе [19], выполненной на новорожденных крысятах, рожденных в аналогичных условиях, в группе после введения L-NAME фактор элонгации был равен 1,24 (1,21; 1,30) ед., форм-фактор 0,87 (0,81; 0,88), доля нормохромных нейронов составила 95%, гипохромных и гиперхромных – по 2,5%, гиперхромных сморщенных нейронов не было выявлено. Полученные данные в представленной работе могут свидетельствовать о развитии и прогрессировании постнатальных изменений в центральной нервной системе крысят, подвергнутых введению неселективного ингибитора NO-синтазы в период плацентации.

Предполагается, что интенсивная окраска цитоплазмы нейронов характеризует преобладание образования белка над его утилизацией. Некоторые исследователи расценивают гиперхромные нейроны как гиперфункциональные и считают, что синтезированный ими белок идет на их собственные потребности [23]. Хотя многие авторы изучали гиперхромные нейроны, тем не менее сведения о них весьма противоречивы и вынести по ним суждение о сущности и функциональном значении данного явления довольно трудно [23, 24].

Существует мнение, согласно которому появление гиперхромных и гиперхромных сморщенных нейронов связано со снижением их функциональной активности и отражает происходящие в них процессы торможения. Подтверждением низкой функциональной активности гиперхромных сморщенных нейронов служат описываемые

в литературе результаты электронно-микроскопического и ауторадиографического исследования, показывающие двукратное снижение скорости выведения вновь синтезированной рибонуклеиновой кислоты из ядра в цитоплазму клетки [22]. Описанные в литературе данные об электронной микроскопии гиперхромных несморщенных нейронов свидетельствуют о содержании большого количества канальцев гранулярной эндоплазматической сети в описанных клетках [24]. Также, в них повышено и количество свободных рибосом. В то же время гиперхромные нейроны имеют меньшее число митохондрий по сравнению с нормохромными. Ядра и цитоплазма гиперхромных сморщенных нейронов темные и покрыты многочисленными складками. Для данного типа нейронов характерны дезорганизация и деструктивные изменения органелл, наблюдается значительное расширение канальцев гранулярной эндоплазматической сети и комплекса Гольджи, свободные рибосомы образуют поля и скопления, отмечается набухание митохондрий и деградация их крист [23].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение крысам в период плацентации неселективного ингибитора NO-синтазы L-NAME приводит к морфологическим нарушениям нейронов фронтальной коры головного мозга крысят, проявляющимся в пубертатном возрасте уменьшением размеров клеток, увеличением доли гиперхромных и появлением гиперхромных сморщенных нейронов наряду с уменьшением доли нормохромных нейронов, что, по всей видимости, является следствием снижения образования оксида азота как в самих нейронах, так и в эндотелии сосудов, питающих головной мозг.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Н.Е. Максимович внесла основной вклад в разработку концепции и дизайна исследования, руководила процессом написания статьи. Т.С. Русак, Е.И. Бонь провели эксперимент с животными, статистическую обработку данных и редактирование статьи. А.Д. Бернацкая, А.С. Кусмарцева внесли вклад в поиск литературных источников, а также подготовили иллюстрации. Все авторы одобрили окончательный вариант статьи и готовы взять на себя ответственность за все аспекты представленной публикации.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Tricoire L., Vitalis T.* Neuronal nitric oxide synthase expressing neurons: a journey from birth to neuronal circuits. *Front Neural Circuits*. 2012 Dec 5; 6: 82. <https://doi.org/10.3389/fn-cir.2012.00082>. PMID: 23227003; PMCID: PMC3514612
2. *Dagdeviren M.* Role of nitric oxide synthase in normal brain function and pathophysiology of neural diseases. Nitric oxide synthase – simple enzyme-complex roles. *InTech*; 2017. 248 p. <https://dx.doi.org/10.5772/67267>. ISBN 978-953-51-4837-1
3. *Leon R.L., Mir I.N., Herrera C.L., et al.* Neuroplacentology in congenital heart disease: placental connections to neurodevelopmental outcomes. *Pediatr. Res*. 2022. 91(4): 787–794. <https://doi.org/10.1038/s41390-021-01521-7>. Epub 2021 Apr 16. PMID: 33864014; PMCID: PMC9064799
4. *Picón-Pagés P., Garcia-Buendia J., Muñoz F.J.* Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease*. 2019; 1865(8): 1949–1967. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.11.007>
5. *Сидорова И.С., Никитина Н.А., Унанян А.Л., Агеев М.Б.* Развитие головного мозга плода и влияние пренатальных повреждающих факторов на основные этапы нейрогенеза. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2022; 22(1): 35–44. <https://doi.org/10.17116/rosakush2022201135> / *Sidorova I.S., Nikitina N.A., Unanyan A.L., Ageev M.B.* Development of the fetal brain and the influence of prenatal damaging factors on the main stages of neurogenesis. *Russian Bulletin of the Obstetrician-Gynecologist*. 2022; 22(1): 35–44 (In Russian). <https://doi.org/10.17116/rosakush2022201135>
6. *Kratimenos P., Penn A.A.* Placental programming of neuropsychiatric disease. *Pediatr. Res*. 2019. 86(2): 157–164. <https://doi.org/10.1038/s41390-019-0405-9>. Epub 2019 Apr 19. PMID: 31003234
7. *Dambrova M., Chlopicki S., Liepinsh E., et al.* The methylester of gamma-butyrobetaine, but not gamma-butyrobetaine itself, induces muscarinic receptor-dependent vasodilatation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 2004 May; 369(5): 533–539. <https://doi.org/10.1007/s00210-004-0925-6>. Epub 2004 Apr 2. PMID: 15060760
8. *Szpera-Gozdziewicz A., Breborowicz G.H.* Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Front Biosci*. 2014; 19(5): 734–746. <https://doi.org/10.2741/4240>
9. *Moran M.C., Mulcahy C., Zombori G., et al.* Placental volume, vasculature and calcification in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intra-uterine growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2015 Dec; 195: 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2015.07.023>. Epub 2015 Aug 7. PMID: 26461962
10. *Капительный В.А., Рейштат Д.Ю.* Преэклампсия: определение, новое в патогенезе, методические рекомендации, лечение и профилактика. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2020; 7(1): 19–30. <https://doi.org/10.18821/2313-8726-2020-7-1-19-30> / *Kaptilnyy V.A., Reyshtat D.Yu.* Preeclampsia: definition, new in pathogenesis, guidelines, treatment and prevention. *V.F. Snegirev Archives*

## AUTHOR CONTRIBUTIONS

Nataliya Ye. Maksimovich made the main contribution to the development of the concept and design of the study, supervised the process of writing the article. Tatiana S. Rusak, Elizaveta I. Bon made an experiment with animals, carried out statistical data processing and editing the article. Anna D. Bernatskaya, Angelina S. Kusmartseva contributed to the literature review and prepared illustrations. All authors approved the final version of the article and are ready to take responsibility for all aspects of the submitted publication.

- of Obstetrics and Gynecology. 2020; 7(1): 19–30 (In Russian). <https://doi.org/10.18821/2313-8726-2020-7-1-19-30>
11. *Гуреев В.В., Корокин М.В., Голубев И.В. и др.* Коррекция функциональных нарушений при АДМА-подобной преэклампсии производными пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2020; (2): 42–49. <https://doi.org/10.21626/vestnik/2020-2/06> / *Gureev V.V., Korokin M.V., Golubev I.V., et al.* Correction of functional disorders in ADMA-like preeclampsia with derivatives of the peptide imitating erythropoietin  $\alpha$ -helix В. *Kursk Scientific and Practical Bulletin “Man and His Health”*. 2020; (2): 42–49 (In Russian). <https://doi.org/10.21626/vestnik/2020-2/06>
12. *Gatford K.L., Andraweera P.H., Roberts C.T., Care A.S.* Animal models of preeclampsia: causes, consequences, and interventions. *Hypertension*. 2020 Jun; 75(6): 1363–1381. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14598>. Epub 2020 Apr 6. PMID: 32248704
13. *Климов В.А.* Эндотелий фетоплацентарного комплекса при физиологическом и патологическом течении беременности. *Акушерство и гинекология*. 2008; 2: 7–9 / *Klimov V.A.* The fetoplacental endothelium in physiological and abnormal pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*. 2008. 2: 7–9 (In Russian).
14. *de Souza C.O., Peraçoli M.T.S., Weel I.C., et al.* Hepatoprotective and anti-inflammatory effects of silibinin on experimental preeclampsia induced by L-NAME in rats. *Life Sciences*. 2012; 91(5–6): 159–165. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.06.036>
15. *Музыка Е.А., Перфилова В.Н., Кустова М.В.* Отдаленные последствия у потомства, рожденного крысами с экспериментальной преэклампсией. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020; 15(3): 355–359. <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15084> / *Muzyko E.A., Perfilova V.N., Kustova M.V., et al.* Long-term consequences in the offspring born by rats with experimental preeclampsia. *Medical News of North Caucasus*. 2020; 15(3): 355–359 (In Russian). <https://doi.org/10.14300/mnnc.2020.15084>
16. *Lotfullina N., Khazipov R.* Ethanol and the developing brain: inhibition of neuronal activity and Neuroapoptosis. *Neuroscientist*. 2018 Apr; 24(2): 130–141. <https://doi.org/10.1177/1073858417712667>. Epub 2017 Jun 5. PMID: 28580823
17. *Paxinos G., Watson C.* The rat brain in stereotaxic coordinates. 7th Edition, 2013. Hardback ISBN: 9780123919496. eBook ISBN: 9780124157521
18. *Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М.* Морфологические изменения в теменной коре крыс после субтотальной ишемии головного мозга и на фоне введения L-NAME. *Вестник ВГМУ*. 2019; 18(1): 14–20. <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2019.1.14> / *Bon E.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M.* Morphological changes in the rats' parietal cortex after subtotal cerebral ischemia and on the background of L-NAME administration. *Vestnik VGMU*. 2019; 18(1): 14–20 (In Russian). <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2019.1.14>

19. Rusak T.S., Bon E.I., Maksimovich N.Ye, Martsun P.V. Effect of administration of a non-selective No Synthase inhibitor during pregnancy on cortical development in newborn rats. *J Psych and Neuroche Res.* 2023; 1(1): 01–03.
20. Буланов Н.М., Суворов А.Ю., Блюсс О.Б. и др. Основные принципы применения описательной статистики в медицинских исследованиях. *Сеченовский вестник.* 2021; 12(3): 4–16. <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2021.12.3.4-16> / *Bulanov N.M., Suvorov A.Yu., Blyuss O.B., et al.* Basic principles of descriptive statistics in medical research. *Sechenov Medical Journal.* 2021; 12(3): 4–16 (In Russian). <https://doi.org/10.47093/2218-7332.2021.12.3.4-16>
21. Максимович Н.Е. Понятие о нитроксидагической системе мозга (роль экстранейрональных источников). *Журнал Гродненского государственного медицинского университета.* 2015; 1(5): 3–5. <https://journal-grsmu.by/index.php/ojs/article/view/1631> / *Maksimovich N.E.* Proposal on the nitroxidergic system of the brain (the role of extraneuronal sources). *Journal of Grodno State Medical University.* 2015; 1(5): 3–5. <https://journal-grsmu.by/index.php/ojs/article/view/1631>
22. Baracska P., Szepesi Z., Orbán G., et al. Generalization of seizures parallels the formation of “dark” neurons in the hippocampus and pontine reticular formation after focal-cortical application of 4-aminopyridine (4-AP) in the rat. *Brain Res.* 2008. 1228: 217–228. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.06.044>
23. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфологические особенности нейронов теменной коры и гиппокампа крыс после субтотальной церебральной ишемии на фоне введения омега-3 полиненасыщенных жирных кислот. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2020; 40(3): 34–40. <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200305> / *Bon E.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M.* Morphological features of parietal cortex and hippocampus neuron of rats following subtotal cerebral ischemia associated with omega-3 polyunsaturated fatty acids injection. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2020; 40(3): 34–40 (In Russian). <https://doi.org/10.15372/SSMJ20200305>
24. *Zimatkin S.M., Bon' E.I.* Dark Neurons of the brain. *Neurosci Behav Physiol.* 2018; 48: 908–912. <https://doi.org/10.1007/s11055-018-0648-7>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Русак Татьяна Сергеевна** , ассистент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5405-4108>

**Максимович Наталия Евгеньевна**, д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3181-9513>

**Бонь Елизавета Игоревна**, канд. биол. наук, доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова УО «Гродненский государственный медицинский университет».  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3895-8383>

**Бернацкая Анна Дмитриевна**, студентка УО «Гродненский государственный медицинский университет».  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6908-1092>

**Кусмарцева Ангелина Сергеевна**, студентка УО «Гродненский государственный медицинский университет».  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-9320-3056>

**Tatiana S. Rusak** , Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5405-4108>

**Nataliya Ye. Maksimovich**, Dr. of Sci. (Medicine), Professor, Head of the Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3181-9513>

**Elizaveta I. Bon**, Cand. of Sci. (Biology), Associate Professor, Department of Pathological Physiology named after D.A. Maslakov, Grodno State Medical University.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3895-8383>

**Anna D. Bernatskaya**, student, Grodno State Medical University.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6908-1092>

**Angelina S. Kusmartseva**, student, Grodno State Medical University.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-9320-3056>

 Автор, ответственный за переписку / Corresponding author