



ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ТРОФОБЛАСТА В ПРИСУТСТВИИ ЦИТОПРОТЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

© Д. О. Баженов, О. И. Степанова, О. М. Овчинникова, Л. П. Вязьмина, Д. И. Соколов, С. А. Сельков

ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург

■ Формирование плаценты в значительной степени зависит от функциональной активности клеток трофобласта. При такой патологии беременности, как гестоз, нарушена пролиферация клеток трофобласта. Целью исследования явилось изучение влияния препарата «Цитофлавин» и препарата «Магнегамма» на пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3. Установлено, что препараты «Цитофлавин» и «Магнегамма» стимулируют пролиферацию и миграцию клеток трофобласта. Работа поддержана грантами Президента РФ НШ-641.2014.7, СП-424.2012.4, грантом РФФИ 13-04-00304 А.

■ **Ключевые слова:** трофобласт; пролиферация; янтарная кислота; инозин; никотинамид; рибофлавин.

PROLIFERATIVE ACTIVITY OF TROPHOBLAST CELLS IN THE PRESENCE OF CYTOPROTECTIVE DRUGS

© D. O. Bazhenov, O. I. Stepanova, O. M. Ovchinnikova, L. P. Vyazmina, D. I. Sokolov, S. A. Selkov

D. O. Ott Research Institute for Obstetrics and Gynecology, Saint Petersburg, Russia

■ Placenta organization significantly depends on trophoblast cells functional activity. Pregnancy complications like preeclampsia are accompanied by trophoblast cells proliferation failure. The goal was to study influences of the drugs "Cytoflavin" and "Magnegamma" to proliferation trophoblast cells. It is established that the drugs "Cytoflavin and Megagamma" stimulate the proliferation and migration of trophoblast cells. The work is sustained by grants of President of Russia NSH-641.2014.7, SP-424.2012.4, grant RFFI 13-04-00304 A.

■ **Key words:** trophoblast; proliferation; succinic acid; inosine; nicotinamide; riboflavin.

Введение

Благополучное течение беременности в значительной степени зависит от функциональной активности клеток трофобласта, в частности от своевременного и активного деления клеток трофобласта и их миграции для формирования полноценной плаценты. Однако в настоящее время существует широкий круг заболеваний, связанных с нарушением функциональной активности клеток трофобласта. Нарушение пролиферативной активности трофобласта может приводить к его недостаточной инвазии, дефициту кровоснабжения и питания плода, отслойке плаценты. Одним из тяжелейших осложнений беременности является гестоз, развитие которого сопровождается нарушением пролиферации, миграции и инвазии клеток трофобласта. Ранее установлено, что сыворотка беременных женщин с гестозом оказывает подавляющее действие на пролиферативную и инвазивную активность трофобласта [24]. Гестоз также сопровождается накоплением кислородных радикалов и развитием окислительного стресса. Значительное внимание в патогенезе гестоза уделяют эндотелиальной

дисфункции, однако в настоящее время преобладает мнение об инициации заболевания именно в области фетоплацентарного контакта [18]. Поэтому воздействие на клетки трофобласта при гестозе также является перспективным направлением его терапии.

В настоящее время продолжается поиск фармацевтических препаратов, способных поддерживать функциональную активность клеток трофобласта и при этом быть безопасными для матери и плода. Оба исследуемых в данной работе препарата обладают цитопротективным действием, в основе которого лежит реализация различных внутриклеточных механизмов. Препарат «Цитофлавин» (ООО «НТФФ «Полисан», Россия), содержащий янтарную кислоту, инозин, никотинамид и рибофлавин [1], оказывает противогипоксическое и антиоксидантное действие, положительно влияет на процессы энергообразования в клетке. Благодаря этим свойствам препарата его использование рекомендовано в составе комплексной терапии гестоза [2]. Применение данного препарата при патологических состояниях, сопровождающих развитие беременности, представляется актуаль-

ным в силу безопасности и хорошей совместимости с широким спектром других препаратов [1]. В отечественной и зарубежной литературе встречаются работы, посвященные изучению влияния препарата «Цитофлавин» или его компонентов на исход беременности и различные показатели состояния здоровья матери. Ранее нами было установлено положительное влияние препарата «Цитофлавин» на функциональную активность эндотелиальных клеток [3].

Практически у всех беременных гестоз протекает на фоне гипомagneмии, поэтому в акушерской практике часто применяется сульфат магния при терапии гестоза в качестве вазодилаторного и антиконвульсивного средства [10]. Действие магния хорошо изучено на клетках эндотелия сосудов. Экзогенный магний способствует нормализации функционирования сердечно-сосудистой системы [27, 29], способствует снижению системного воспаления и эндотелиальной дисфункции [28]. Дефицит магния вносит вклад в повреждение эндотелиальных клеток вследствие действия активных форм кислорода и радикалов [30]. Несмотря на эффективность применения магния сульфата, существуют значительные риски при его применении. Поэтому отечественными производителями был разработан препарат «Магнегамма» (ООО «НТФФ «Полисан», Россия) на основе аспартата магния, биодоступность и эффективность в отношении эндотелиальных клеток которого превышает таковую сульфата магния [21]. Ранее нами было установлено положительное влияние препарата «Магнегамма» на эндотелиальные клетки [4].

Формирование плаценты является результатом межклеточного взаимодействия большого числа типов клеток, основными из которых являются клетки трофобласта, эндотелиальные клетки, клетки иммунной системы. В настоящее время остается недостаточно изученным влияние цитопротекторов на отдельные клеточные популяции плаценты, в частности клетки трофобласта.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния препарата «Цитофлавин», содержащего янтарную кислоту, рибоксин, никотинамид и рибофлавина мононуклеотид, и препарата «Магнегамма» на основе аспартата магния на пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3.

Материалы и методы

Препарат «Цитофлавин» предоставлен ООО «НТФФ «Полисан» (Россия) — комплексный раствор для внутривенного введения. В 1 мл раствора содержится: янтарной кислоты 100 мг, инозина (рибоксина) 20 мг, никотинамида 10 мг,

рибофлавина мононуклеотида 2 мг, вспомогательные вещества (N-метилглюкамин, натрия гидроксид, вода для инъекций).

Препарат «Магнегамма» предоставлен НТФФ «Полисан» (Россия). Препарат содержит аспартат магния, янтарную кислоту; осмолярность препарата составляет 269 м/осм/нг, pH=7,2. Препарат является водорастворимым.

Культура клеток. Исследования проводили с использованием клеток трофобласта линии JEG-3, полученными из Американской коллекции типовых культур (ATCC, США). Клетки линии JEG-3 воспроизводят основные морфологические, фенотипические и функциональные характеристики инвазивного трофобласта первого триместра беременности [14]. Для культивирования использовали полную среду DMEM (Sigma, США) с добавлением 10%-й инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Sigma, США), 100 Ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, 0,5 мМ L-глутамин, 1 мл MEM, 1 мМ пирувата натрия (Sigma, США). Дезинтеграцию монослоя клеток для пересева осуществляли раствором версена (Биолот, Россия) с раствором трипсина (Биолот, Россия), смешанных в соотношении 1:1. Пересев клеток осуществляли каждые 48 часов. Жизнеспособность клеток оценивали с помощью раствора трипанового синего, она составляла не менее 96%.

Определение минимальной токсической дозы препаратов в отношении клеток линии JEG-3. Клетки линии JEG-3 вносили в лунки 96-луночного плоскодонного планшета (BD, США) в концентрации 25000 клеток на лунку в 100 мкл полной среды DMEM/F12 (Sigma, США) с добавлением 10% ЭТС и культивировали 24 часа (37 °C во влажной атмосфере, 5% CO₂) до образования конфлюэнтного монослоя. В 96-луночном круглодонном планшете (Sarstedt, Австрия) готовили серию разведений препаратов «Цитофлавин» или «Магнегамма» в объеме 100 мкл путем последовательного титрования препарата в 2 раза на среде DMEM. После разведения в каждую лунку к 100 мкл пробы препарата добавляли по 10 мкл ЭТС. Затем клеткам линии JEG-3 заменяли культуральную среду на приготовленные разведения препаратов. В качестве контроля использовали полную среду с добавлением 10% ЭТС (спонтанный уровень). Культивировали клетки линии JEG-3 в течение 24 часов при 37 °C во влажной атмосфере с 5%-м содержанием CO₂. Затем клетки линии JEG-3 окрашивали 0,2%-м раствором кристаллического фиолетового (Sigma, США), содержащего 5% метанола, для чего в каждую лунку вносили краситель в объеме 100 мкл на лунку и инкубировали 10 минут. После окраски производили

4-кратную отмывку лунок дистиллированной водой. Планшет высушивали, проводили экстракцию красителя 10%-м раствором уксусной кислоты. Учет оптической плотности раствора кристаллического фиолетового в лунках планшета проводили на микропланшетном ридере Labsystems (Финляндия) при длине волны 540 нм. Результаты выражали в единицах оптической плотности. О снижении жизнеспособности клеток судили по снижению оптической плотности пробы по сравнению с клетками, к которым при инкубации не добавляли препараты.

Оценку пролиферативной активности JEG-3 проводили культуральным методом с последующей окраской клеток витальным красителем кристаллическим фиолетовым (Sigma, США). Клетки линии JEG-3 вносили в лунки 96-луночного плоскодонного планшета (BD, США) в концентрации 4000 клеток на лунку в 100 мкл среды DMEM (Sigma, США) с добавлением 10% ЭТС (Sigma, США) и культивировали 24 часа при 37°C во влажной атмосфере с 5%-м содержанием CO₂ для прикрепления клеток к поверхности планшета. В 96-луночном круглодонном планшете (Sarstedt, Австрия) готовили серию разведений препаратов на среде DMEM без ЭТС в объеме 100 мкл. Затем в каждую лунку с готовыми разведениями препаратов добавля-

ли по 2 мкл ЭТС. Затем заменяли культуральную среду в лунках с клетками на приготовленные разведения препаратов «Цитофлавин» и «Магнегамма». В качестве контроля использовали культуральную среду с добавлением 2% ЭТС. Для дополнительного контроля оценивали пролиферативную активность клеток линии JEG-3 в присутствии полной культуральной среды с добавлением 10% ЭТС. Затем клетки линии JEG-3 культивировали 72 часа при 37°C во влажной атмосфере с 5% содержанием CO₂. После окончания инкубации клетки окрашивали кристаллическим фиолетовым согласно методике, описанной выше. После инкубации клеток линии JEG-3 в присутствии препаратов в разведениях также оценивали их жизнеспособность, окрашивая трипановым синим (Sigma, США). При этом жизнеспособность клеток линии JEG-3 составляла 96%.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Attestat 12.1.7 с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Установлено, что неразведенный препарат «Цитофлавин», а также в разведениях от 1:1 до 1:128 оказывал токсическое действие на клетки трофобласта линии JEG-3 (табл. 1).

Таблица 1

Влияние препарата «Цитофлавин» и «Магнегамма» на жизнеспособность клеток линии JEG-3

Инкубация клеток линии JEG-3 в течение 72 часов в присутствии		Оптическая плотность раствора кристаллического фиолетового. Данные приведены для препаратов	
		«Цитофлавин»	«Магнегамма»
Среды DMEM, 10% ЭТС (спонтанный уровень), без препаратов		1,013±0,014	1,231±0,004***
Неразведенного препарата		0,077±0,002***	0,135±0,005***
Разведений препарата на культуральной среде DMEM с добавлением 10% ЭТС	1:1	0,075±0,001***	0,998±0,005***###
	1:2	0,076±0,001***	1,173±0,013###
	1:4	0,082±0,004***	1,178±0,014
	1:8	0,092±0,002***###	1,233±0,029
	1:16	0,183±0,007***###	1,265±0,034
	1:32	0,744±0,029***##	1,227±0,016
	1:64	0,914±0,005***##	1,249±0,010
	1:128	0,975±0,008###	1,283±0,035
	1:256	1,217±0,009***	1,297±0,009
	1:512	1,146±0,032*	1,139±0,017
	1:1024	1,116±0,011**	1,187±0,008
	1:2048	1,107±0,03*	1,291±0,006
	1:4096	1,074±0,0125*	1,255±0,028
	1:8192	1,101±0,034	1,271±0,038
1:16384	1,053±0,003#	1,244±0,006	
1:32768	1,023±0,007	1,248±0,012	
1:65536	1,032±0,012	1,290±0,007	

Отличие количества клеток линии JEG-3 при культивировании в присутствии препарата от спонтанного уровня: * — p<0,05; ** — p<0,01; *** — p<0,001. Отличие пролиферативной активности клеток линии JEG-3 в присутствии разведения препарата от следующего разведения препарата: # — p<0,05; ## — p<0,01; ### — p<0,001

Таблица 2

Влияние препаратов «Цитофлавин» и «Магнегамма» на пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3

Инкубация клеток в течение 72 часов в присутствии	Оптическая плотность раствора кристаллического фиолетового. Данные приведены для препаратов:		
	«Цитофлавин»	«Магнегамма»	
Среды DMEM с добавлением 2% ЭТС (спонтанный уровень), без препаратов	0,962±0,025	0,399±0,015	
Среды DMEM с добавлением 10% ЭТС, без препаратов	1,274±0,010***	0,825±0,026***	
Разведений препарата на культуральной среде DMEM с добавлением 2% ЭТС	1:16	нет данных	0,441±0,022
	1:32	нет данных	0,432±0,014
	1:64	нет данных	0,452±0,030
	1:128	нет данных	0,454±0,012*
	1:256	0,971±0,020	0,539±0,059
	1:512	1,037±0,029	0,451±0,005*
	1:1024	1,056±0,016 **	0,452±0,028
	1:2048	1,035±0,025 *	0,412±0,001
	1:4096	1,036±0,044 ##	0,467±0,009
	1:8192	1,359±0,039 ***	0,435±0,012
	1:16384	1,229±0,039 **	0,461±0,025
	1:32768	1,193±0,056 *	0,443±0,012
	1:65536	1,143±0,062 *	0,476±0,013
	1:131072	1,155±0,046 *	0,435±0,017
	1:262144	1,136±0,039 *	0,439±0,013
1:524288	1,135±0,069	0,460±0,025	
1:1048576	1,114±0,019 **	0,434±0,018	
1:2097152	нет данных	0,426±0,005	

Отличие пролиферативной активности клеток линии JEG-3 при культивировании в присутствии препарата по сравнению со спонтанным уровнем их пролиферации: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$. Отличие пролиферативной активности клеток линии JEG-3 в присутствии разведения препарата от следующего разведения препарата: ## — $p < 0,01$

В разведениях от 1:256 до 1:4096 наблюдалось стимулирующее действие препарата на прирост количества клеток линии JEG-3 (табл. 1). В разведениях от 1:8192 до 1:65536 исследуемый препарат не оказывал влияния на изменение количества клеток линии JEG-3 (табл. 1). Минимальной токсической дозой препарата явилось разведение 1:128 (табл. 1).

В разведениях 1:256, 1:512, 1:4096, 1:524288 не отмечено значимого влияния препарата «Цитофлавин» на пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3 (табл. 2). В разведениях 1:1024, 1:2048, от 1:8192 до 1:262144 и в разведении 1:1048576 препарат «Цитофлавин» стимулировал пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3 (табл. 2). Не было выявлено дозозависимого характера влияния исследуемого препарата на пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3 (табл. 2).

Препарат «Магнегамма» неразведенный и в разведении 1:1 и 1:2 оказывал токсическое действие на клетки трофобласта линии JEG-3 (табл. 1). В разведениях от 1:4 до 1:65536 препарат «Магнегамма» не оказывал влияния на жиз-

неспособность клеток трофобласта линии JEG-3 (табл. 1). По результатам влияния препарата на жизнеспособность клеток трофобласта линии JEG-3 минимальной токсической дозой препарата являлось его разведение 1:2.

Препарат «Магнегамма» стимулировал пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3 в разведениях 1:128, 1:512 (табл. 2). В остальных разведениях препарат не оказывал влияния на пролиферативную активность клеток трофобласта (табл. 2). Дозозависимого характера действия препарата «Магнегамма» на пролиферативную активность клеток трофобласта линии JEG-3 выявить не удалось.

Обсуждение

При гестозе отмечается недостаточная инвазия трофобласта [15], нарушение функциональной активности трофобласта. Кроме того, при гестозе наблюдается гипоксия в плаценте и нарушение функционирования антиоксидантной системы [8, 19].

Препарат «Цитофлавин» является комбинированным препаратом, в состав которого входят янтарная кислота, инозин, никотинамид и ри-

бофлавин. Компоненты препарата являются индукторами основных метаболических путей в клетках, увеличивают образование энергии и активируют внутриклеточный синтез белка и нуклеиновых кислот [1]. Ввиду его антиоксидантного и противогипоксического действия он широко применяется при нарушениях сердечно-сосудистой деятельности, различных неврологических патологиях, черепно-мозговых травмах, отравлениях различной природы [1]. В случае возникновения патологии беременности, связанной с гипоксией, нарушением обмена веществ данный препарат также может оказать положительное действие на функциональную активность плаценты в целом и клеток трофобласта в частности.

Стимулирующее действие препарата «Цитофлавин» на пролиферативную активность клеток трофобласта линии Jeg-3 обусловлено действием как отдельных его компонентов, так и их совокупности. Рибофлавин является предшественником флавиномононуклеотида и флавинаденидинуклеотида (ФАД), которые служат кофакторами для важных клеточных ферментов. Рибофлавин играет важную роль при формировании плода. На мышах было показано, что недостаток рибофлавина вызывает задержку развития эмбриона и снижение его веса, увеличивает частоту возникновения патологических нарушений в строении сердца [2, 7]. На других животных моделях также было показано развитие тяжелых нарушений у плода при недостатке рибоксина во время беременности [26]. Инозин и янтарная кислота способствуют активации реакций цикла Кребса, оказывают антигипоксическое, метаболическое действие, повышают энергетический уровень в клетке. Никотинамид является важным компонентом кодегидрогеназ I (НАД) и II (НАДФ), участвующих в окислительно-восстановительных процессах в клетке. Никотинамид оказывает влияние на выживаемость и пролиферативную активность клеток различной природы. Показано, что никотинамид поддерживает жизнеспособность гепатоцитов за счет поддержания необходимого содержания в клетке НАДФ [17], способен ингибировать цитокин-индуцированную активацию фибробластов [16]. Одновременно на опухолевых клетках показано ингибирующее действие никотинамида на пролиферативную активность [5, 23]. Несмотря на схожесть некоторых механизмов межклеточного взаимодействия клеток трофобласта и опухолевых клеток [11], в составе исследуемого препарата никотинамид вероятно не оказывал ингибирующего действия на пролиферацию клеток трофобласта. Нам не удалось обнаружить работ, посвященных действию нико-

тинамида на пролиферативную активность трофобласта. Однако была показана конститутивная экспрессия НАДФН оксидазы и всех ее субъединиц в клетках трофобласта и усиление ее при активации, что может вносить вклад в усиление инвазии трофобласта [13]. Таким образом, экзогенный никотинамид может поддерживать жизнеспособность и инвазию трофобласта в условиях нарушения функциональной активности трофобласта, наблюдаемой при многих патологиях беременности. Также показано, что никотинамид может усиливать пролиферацию НК-клеток [12], что во время беременности может негативно отразиться на развитии беременности, поэтому необходимы дальнейшие доклинические испытания препарата. Также положительной характеристикой препарата «Цитофлавин» является стимулирующее влияние на окислительный метаболизм и препятствование резкому снижению уровня АТФ [1].

Нам не удалось найти в литературе сведений о влиянии магний-содержащих препаратов на клетки трофобласта. Согласно полученным нами результатам, препарат «Магнегамма» на основе аспартата магния оказывал стимулирующее действие на пролиферативную активность клеток трофобласта, что может быть связано с активацией процессов трансляции и процессов энергообразования в клетке. Ранее нами установлено стимулирующее действие препарата «Магнегамма» на пролиферативную активность эндотелиальных клеток [4], что также способствует нормализации развития плаценты при гестозе. Ранее установлено, что ионы магния регулируют адгезию лейкоцитов к трофобласту [9]. Учитывая то, что лейкоциты оказывают значительное влияние на активность инвазии трофобласта и развитие плаценты [6, 20, 22, 25], магний может таким способом участвовать в регуляции формирования плаценты.

Усиление пролиферативной активности клеток трофобласта линии JEG-3 под действием препаратов «Цитофлавин» и «Магнегамма» может указывать на их способность нормализовать физиологическое состояние клеток трофобласта в условиях *in vivo*, и способствовать, таким образом, более эффективной инвазии трофобласта в эндометрий матки, поддержанию функциональной активности трофобласта. В совокупности с ранее полученными данными о положительном влиянии данных препаратов на функциональную активность эндотелиальных клеток [3, 4], препараты представляются перспективными для терапии гестоза и могут быть рекомендованы для проведения дальнейших доклинических испытаний.

Работа поддержана грантами Президента РФ №НШ-641.2014.7, СП-424.2012.4 и грантом РФФИ № 13-04-00304 А.

Статья представлена М. А. Тарасовой,
ФГБНУ «НИИ АГИР им. Д. О. Отта»,
Санкт-Петербург

Литература

1. Афанасьев В. В., Лукьянова И. Ю. Особенности применения цитофлавина в современной клинической практике. СПб.: Тактик-Студио; 2010.
2. Качалина Т. С., Лебедева Н. В., Ильина Л. Н. Новые подходы к лечению гестоза с применением Перфторана и цитофлавина. Общая реаниматология. 2007; 3 (1): 63–8.
3. Львова Т. Ю., Степанова О. И., Фураева К. Н., Соколов Д. И., Сельков С. А. Влияние препарата, содержащего янтарную кислоту, инозин, никотинамид и рибофлавин, на пролиферативную и миграционную активность эндотелиальных клеток. Журнал акушерства и женских болезней. 2012; LXI (1): 26–33.
4. Степанова О. И., Аманова Н. В., Зайнуллина М. С., Соколов Д. И., Сельков С. А. Влияние препарата, содержащего магний, на пролиферативную и секреторную активность эндотелиальных клеток Журнал акушерства и женских болезней. 2011; LX (4): 98–103.
5. Audrito V., Vaisitti T., Rossi D., Gottardi D., D'Areola G., Laurenti L., Gaidano G., Malavasi F., Deaglio S. Nicotinamide blocks proliferation and induces apoptosis of chronic lymphocytic leukemia cells through activation of the p53/miR-34a/SIRT1 tumor suppressor network. Cancer Res. 2011; 71 (13): 4473–83.
6. Cartwright J. E., Fraser R., Leslie K., Wallace A. E., James J. L. Remodelling at the maternal-fetal interface: relevance to human pregnancy disorders. Reproduction. 2010; 140 (6): 803–13.
7. Chan J., Deng L., Mikael L. G., Yan J., Pickell L., Wu Q., Caudill M. A., Rozen R. Low dietary choline and low dietary riboflavin during pregnancy influence reproductive outcomes and heart development in mice. Am J Clin Nutr. 2010; 91 (4): 1035–43.
8. Dordevic N. Z., Babic G. M., Markovic S. D., Ognjanovic B. I., Stajin A. S., Zikic R. V., Saicic Z. S. Oxidative stress and changes in antioxidative defense system in erythrocytes of preeclampsia in women. Reprod Toxicol. 2008; 25 (2): 213–8.
9. Douglas G. C., Sloan C. L., Hovanec K., Thirkill T. L., Fry G. N., Hakim H., Schmerl S., Jennings M., King B. F. Adhesion of lymphocytic cells to human trophoblast cells in vitro. J Reprod Immunol. 1993; 24 (1): 65–80.
10. Euser A. G., Cipolla M. J. Magnesium sulfate for the treatment of eclampsia: a brief review. Stroke. 2009; 40 (4): 1169–75.
11. Ferretti C., Bruni L., Dangles-Marie V., Pecking A. P. Molecular circuits shared by placental and cancer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts. Human Reproduction Update. 2007; 13 (2): 121–41.
12. Frei G. M., Persi N., Lador C., Peled A., Cohen Y. C., Nagler A., Peled T. Nicotinamide, a form of vitamin B3, promotes expansion of natural killer cells that display increased in vivo survival and cytotoxic activity. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). 2011; 118: 4035.
13. Gomes S. Z., Lorenzon A. R., Vieira J. S., Rocha C. R., Bandeira C., Hoshida M. S., Lopes L. R., Bevilacqua E. Expression of NADPH oxidase by trophoblast cells: potential implications for the postimplanting mouse embryo. Biol Reprod. 2012; 86 (2): 56.
14. Hannan N. J., Paiva P., Dimitriadis E., Salamonsen L. A. Models for study of human embryo implantation: choice of cell lines? Biol Reprod. 2010; 82 (2): 235–45.
15. Harris L. K., Clancy O. H., Myers J. E., Baker P. N. Plasma from women with preeclampsia inhibits trophoblast invasion. Reproductive Sciences. 2009; 16: 1082–90.
16. Hiromatsu Y., Yang D., Miyake I., Koga M., Kameo J., Sato M., Inoue Y., Nonaka K. Nicotinamide decreases cytokine-induced activation of orbital fibroblasts from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. J Clin Endocrinol Metab. 1998; 83 (1): 121–4.
17. Inoue C., Yamamoto H., Nakamura T., Ichihara A., Okamoto H. Nicotinamide prolongs survival of primary cultured hepatocytes without involving loss of hepatocyte-specific functions. J Biol Chem. 1989; 264 (9): 4747–50.
18. Irminger-Finger I., Jastrow N., Irion O. Preeclampsia: a danger growing in disguise. Int J Biochem Cell Biol. 2008; 40 (10): 1979–83.
19. Kaur G., Mishra S., Sehgal A., Prasad R. Alterations in lipid peroxidation and antioxidant status in pregnancy with preeclampsia. Mol Cell Biochem. 2008; 313 (1–2): 37–44.
20. Khan S., Katabuchi H., Araki M., Nishimura R., Okamura H. Human villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth and differentiation in vitro. Biol Reprod. 2000; 62 (4): 1075–83.
21. Kharitonova M., Iezhitsa I., Zheltova A., Ozerov A., Spasov A., Skalny A. Comparative angioprotective effects of magnesium compounds. J Trace Elem Med Biol. 2014.
22. Lash G. E., Schiessl B., Kirkley M., Innes B. A., Cooper A., Searle R. F., Robson S. C., Bulmer J. N. Expression of angiogenic growth factors by uterine natural killer cells during early pregnancy. J Leukoc Biol. 2006; 80 (3): 572–80.
23. Lea M. A., Barra R., Randolph V., Kuhr W. G. Effects of nicotinamide and structural analogs on DNA synthesis and cellular replication of rat hepatoma cells. Cancer Biochem Biophys. 1984; 7 (3): 195–202.
24. Mahameed S., Goldman S., Gabarin D., Weiss A., Shalev E. The effect of serum from women with preeclampsia on JAR (trophoblast-like) cell line. J Soc Gynecol Investig. 2005; 12 (6): e45–50.
25. Norwitz E. R., Schust D. J., Fisher S. J. Implantation and the survival of early pregnancy. N Engl J Med. 2001; 345 (19): 1400–8.
26. Powers H. J. Riboflavin (vitamin B-2) and health. Am J Clin Nutr. 2003; 77 (6): 1352–60.
27. Shechter M. Magnesium and cardiovascular system. Magnes Res. 2010; 23 (2): 60–72.

28. Song Y., Li T.Y., van Dam R.M., Manson J.E., Hu F.B. Magnesium intake and plasma concentrations of markers of systemic inflammation and endothelial dysfunction in women. *Am J Clin Nutr.* 2007; 85 (4): 1068–74.
29. Teragawa H., Kato M., Yamagata T., Matsuura H., Kajiyama G. Magnesium causes nitric oxide independent coronary artery vasodilation in humans. *Heart.* 2001; 86 (2): 212–6.
30. Wolf F.I., Trapani V., Simonacci M., Ferre S., Maier J.A. Magnesium deficiency and endothelial dysfunction: is oxidative stress involved? *Magnes Res.* 2008; 21 (1): 58–64.

References

1. Afanas'ev V.V., Luk'janova I.Ju. Osobennosti primeneniya citoflavina v sovremennoj klinicheskoy praktike. [Especially the use of cytoflavin in modern clinical practice.] SPb: Izdatel'stvo "Taktik-Studio"; 2010. (In Russian).
2. Kachalina T.S., Lebedeva N.V., Il'ina L.N. Novye podhody k lecheniju gestoza s primeneniem Perftorana i citoflavina. [New approaches to the treatment of preeclampsia with the use of Perftoran and cytoflavin]. *Obshhaja reanimatologija.* 2007; 3 (1): 63–8. (In Russian).
3. L'vova T.Ju., Stepanova O.I., Furaeva K.N., Sokolov D.I., S.A.S. Vliyanie preparata, sodержashhego jantarnuju kislotu, inozin, nikotinamid i riboflavin, na proliferativnuju i migracionnuju aktivnost' jendotelial'nyh kletok. [Influence of the preparation containing succinic acid, inosine, nicotinamide and riboflavin to endothelial cells proliferative and migration activity]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej.* 2012; LXI (1): 26–33. (In Russian).
4. Stepanova O.I., Amanova N.V., Zajnulina M.S., Sokolov D.I., Sel'kov S.A. Vliyanie preparata, sodержashhego magnij, na proliferativnuju i sekretornuju aktivnost' jendotelial'nyh kletok. [Magnesi um containin g medication in fluence to endothelial cells proli feration and secretory activity]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej.* 2011; LX (4): 98–103. (In Russian).
5. Audrito V., Vaisitti T., Rossi D., Gottardi D., D'Arena G., Laurenti L., Gaidano G., Malavasi F., Deaglio S. Nicotinamide blocks proliferation and induces apoptosis of chronic lymphocytic leukemia cells through activation of the p53/miR-34a/SIRT1 tumor suppressor network. *Cancer Res.* 2011; 71 (13): 4473–83.
6. Cartwright J.E., Fraser R., Leslie K., Wallace A.E., James J.L. Remodelling at the maternal-fetal interface: relevance to human pregnancy disorders. *Reproduction.* 2010; 140 (6): 803–13.
7. Chan J., Deng L., Mikael L.G., Yan J., Pickell L., Wu Q., Caudill M.A., Rozen R. Low dietary choline and low dietary riboflavin during pregnancy influence reproductive outcomes and heart development in mice. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91 (4): 1035–43.
8. Dordevic N.Z., Babic G.M., Markovic S.D., Ognjanovic B.I., Stajn A.S., Zikic R.V., Saicic Z.S. Oxidative stress and changes in antioxidative defense system in erythrocytes of preeclampsia in women. *Reprod Toxicol.* 2008; 25 (2): 213–8.
9. Douglas G.C., Sloan C.L., Hovanes K., Thirkill T.L., Fry G.N., Hakim H., Schmerl S., Jennings M., King B.F. Adhesion of lymphocytic cells to human trophoblast cells in vitro. *J Reprod Immunol.* 1993; 24 (1): 65–80.
10. Euser A.G., Cipolla M.J. Magnesium sulfate for the treatment of eclampsia: a brief review. *Stroke.* 2009; 40 (4): 1169–75.
11. Ferretti C., Bruni L., Dangles-Marie V., Pecking A.P., D.B. Molecular circuits shared by placental and cancer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts. *Human Reproduction Update.* 2007; 13 (2): pp. 121–141.
12. Frei G.M., Persi N., Lador C., Peled A., Cohen Y.C., Nagler A., Peled T. Nicotinamide, a form of vitamin B3, promotes expansion of natural killer cells that display increased in vivo survival and cytotoxic activity. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts).* 2011; 118: 4035.
13. Gomes S.Z., Lorenzon A.R., Vieira J.S., Rocha C.R., Bandeira C., Hoshida M.S., Lopes L.R., Bevilacqua E. Expression of NADPH oxidase by trophoblast cells: potential implications for the postimplanting mouse embryo. *Biol Reprod.* 2012; 86 (2): 56.
14. Hannan N.J., Paiva P., Dimitriadis E., Salamonsen L.A. Models for study of human embryo implantation: choice of cell lines? *Biol Reprod.* 2010; 82 (2): 235–45.
15. Harris L.K., Clancy O.H., Myers J.E., Baker P.N. Plasma from women with preeclampsia inhibits trophoblast invasion. *Reproductive Sciences.* 2009;16: 1082–90.
16. Hiromatsu Y., Yang D., Miyake I., Koga M., Kameo J., Sato M., Inoue Y., Nonaka K. Nicotinamide decreases cytokine-induced activation of orbital fibroblasts from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83 (1): 121–4.
17. Inoue C., Yamamoto H., Nakamura T., Ichihara A., Okamoto H. Nicotinamide prolongs survival of primary cultured hepatocytes without involving loss of hepatocyte-specific functions. *J Biol Chem.* 1989; 264 (9): 4747–50.
18. Irminger-Finger I., Jastrow N., Irion O. Preeclampsia: a danger growing in disguise. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008; 40 (10): 1979–83.
19. Kaur G., Mishra S., Sehgal A., Prasad R. Alterations in lipid peroxidation and antioxidant status in pregnancy with preeclampsia. *Mol Cell Biochem.* 2008; 313 (1–2): 37–44.
20. Khan S., Katabuchi H., Araki M., Nishimura R., Okamura H. Human villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth and differentiation in vitro. *Biol Reprod.* 2000; 62 (4): 1075–83.
21. Kharitonova M., Iezhitsa I., Zheltova A., Ozerov A., Spasov A., Skalny A. Comparative angioprotective effects of magnesium compounds. *J Trace Elem Med Biol.* 2014.
22. Lash G.E., Schiessl B., Kirkley M., Innes B.A., Cooper A., Searle R.F., Robson S.C., Bulmer J.N. Expression of angiogenic growth factors by uterine natural killer cells during early pregnancy. *J Leukoc Biol.* 2006; 80 (3): 572–80.
23. Lea M.A., Barra R., Randolph V., Kuhr W.G. Effects of nicotinamide and structural analogs on DNA synthesis and cellular replication of rat hepatoma cells. *Cancer Biochem Biophys.* 1984; 7 (3): 195–202.

24. Mahameed S., Goldman S., Gabarin D., Weiss A., Sha-lev E. The effect of serum from women with preeclampsia on JAR (trophoblast-like) cell line. *J Soc Gynecol Investig.* 2005; 12 (6): e45–50.
25. Norwitz E.R., Schust D.J., Fisher S.J. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med.* 2001;345 (19): 1400–8.
26. Powers H.J. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *Am J Clin Nutr.* 2003;77 (6): 1352–60.
27. Shechter M. Magnesium and cardiovascular system. *Magnes Res.* 2010; 23 (2): 60–72.
28. Song Y., Li T.Y., van Dam R.M., Manson J.E., Hu F.B. Magnesium intake and plasma concentrations of markers of systemic inflammation and endothelial dysfunction in women. *Am J Clin Nutr.* 2007;85 (4): 1068–74.
29. Teragawa H., Kato M., Yamagata T., Matsuura H., Kajiyama G. Magnesium causes nitric oxide independent coronary artery vasodilation in humans. *Heart.* 2001; 86 (2): 212–6.
30. Wolf F.I., Trapani V., Simonacci M., Ferre S., Maier J.A. Magnesium deficiency and endothelial dysfunction: is oxidative stress involved? *Magnes Res.* 2008;21 (1): 58–64.

■ Адреса авторов для переписки

Баженов Дмитрий Олегович — лаборант-исследователь лаборатории иммунологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: doctor-dro077@mail.ru.

Степанова Ольга Игоревна — старший научный сотрудник лаборатории иммунологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: alzass@mail.ru.

Овчинникова Ольга Михайловна — лаборант-исследователь лаборатории иммунологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: lathygus.pratense@gmail.com.

Вязьмина Лариса Павловна — лаборант-исследователь лаборатории иммунологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: larisa.vyazmina@pharminnotech.com.

Соколов Дмитрий Игоревич — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: falcojuggger@yandex.ru.

Сельков Сергей Алексеевич — д.м.н., профессор, заведующий лабораторией иммунологии, з.д.н. РФ. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта». 199034, Россия, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. **E-mail:** selkovsa@mail.ru.

Bazhenov Dmitriy Olegovich — research assistant Immunology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.
E-mail: doctor-dro077@mail.ru.

Stepanova Ol'ga Igorevna — PhD, research Immunology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia. **E-mail:** alzass@mail.ru.

Ovchinnikova Ol'ga Mikhailovna — research assistant Immunology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.
E-mail: lathyrus.pratense@gmail.com.

Vyaz'mina Larisa Pavlovna — research assistant Immunology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.
E-mail: larisa.vyazmina@pharminnotech.com.

Sokolov Dmitriy Igorevich — Senior Doctorate Immunology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.
E-mail: falcojuggger@yandex.ru.

Selkov Sergey Alekseevich — MD, Professor, laboratory of immunology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, RAMS. 199034, St. Petersburg, Mendeleyevskaya Line, 3, Russia.
E-mail: selkovsa@mail.ru.