

БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Погорелова Т.Н., Никашина А.А., Крукиер И.И., Гунько В.О., Авруцкая В.В., Левкович М.А., Палиева Н.В.

ПОКАЗАТЕЛИ БЕЛКОВОГО И АМИНОКИСЛОТНОГО МЕТАБОЛИЗМА ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО РАЗВИТИЯ РОДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ; 344012, Ростов-на-Дону, Россия

Цель исследования: изучить активность ферментов белкового и аминокислотного обмена в околоплодных водах в разные сроки доношенной и осложненной преждевременными родами (ПР) и оценить роль выявленных нарушений в развитии данной акушерской патологии. В исследование включены 54 женщины, составившие две группы. 1-я группа – 28 женщин с неосложненной беременностью и родами в сроки 2-я группа – 26 женщин с ПР в 34-37 недель. В околоплодных водах, взятых в сроке 16-18 недель и в первом периоде родов, определяли гидролитическую деструкцию и окислительную модификацию белков, активность переаминирования, дезаминирования, дегидрирования, декарбоксилирования аминокислот специфическими спектрофотометрическими методами. При преждевременных родах в околоплодных водах установлены значительные изменения активности ключевых ферментов азотистого и протеинового обмена. Разные периоды гестации отличаются степенью изменений, наиболее выраженной во II-м триместре, и зависящей от функциональной активности фермента и роли периода гестации в развитии беременности. Информативными маркерами усиления сократительной деятельности матки может быть активность тирозин- и цистеинаминотрансфераз, опосредованно влияющих на сроки начала родовой деятельности. Выявленный ферментативный дисбаланс может быть одним из важных звеньев в цепи молекулярных нарушений при преждевременных родах.

Ключевые слова: гидролитическая и окислительная модификация белков; активность ферментов азотистого обмена; околоплодные воды; преждевременные роды.

Для цитирования: Погорелова Т.Н., Никашина А.А., Крукиер И.И., Гунько В.О., Авруцкая В.В., Левкович М.А., Палиева Н.В. Показатели белкового и аминокислотного метаболизма околоплодных вод в прогнозировании преждевременного развития родовой деятельности. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68 (2): 69-73. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-2-69-73>

Для корреспонденции: Крукиер Ирина Ивановна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. акушерско-гинекологического отдела НИИ акушерства и педиатрии; e-mail: biochem@mniiap.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 12.08.2022

Принята к печати 20.10.2022

Опубликовано 00.02.2023

Pogorelova T.N., Nikashina A.A., Krukier I.I., Gunko V.O., Avrutskaya V.V., Levkovich M.A., Palieva N.V.

INDICATORS OF PROTEIN AND AMINO ACID METABOLISM OF AMNIOTIC FLUID IN PREDICTION OF PREMATURE DEVELOPMENT OF LABOR

Rostov State Medical University, 344012, Rostov-on-Don, Russia

To study the activity of enzymes of protein and amino acid metabolism in amniotic fluid at different times in full-term and complicated premature labor (PL) and to assess the role of the identified disorders in the development of this obstetric pathology. The study included 54 women in two groups. Of these, 28 women with uncomplicated pregnancy and delivery at term and 26 women with PL at 34-37 weeks. In amniotic fluid taken at 16-18 weeks and in the first stage of labor, hydrolytic degradation and oxidative modification of proteins, activity of transamination, deamination, dehydrogenation, decarboxylation of amino acids were determined by specific spectrophotometric methods. With PL in amniotic fluid, significant changes in the activity of key enzymes of nitrogen and protein metabolism were established. Different periods of gestation differ in the degree of changes, which is most pronounced in the second trimester and depends on the functional activity of the enzyme and the role of the gestation period in the development of pregnancy. Informative markers of increased contractile activity of the uterus can be the activity of tyrosine and cysteine aminotransferases, which indirectly affect the timing of the unleashing of labor. The revealed enzymatic imbalance may be one of the important links in the chain of molecular disorders in PL.

Key words: hydrolytic and oxidative modification of proteins; activity of nitrogen metabolism enzymes; amniotic fluid; premature labor.

For citation: Pogorelova T.N., Nikashina A.A., Krukier I.I., Gunko V.O., Avrutskaya V.V., Levkovich M.A., Palieva N.V. Indicators of protein and amino acid metabolism of amniotic fluid in prediction of premature development of labor. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (2): 69-73 (in Russ.) DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-2-69-73>

For correspondence: Krukier Irina Ivanovna, Dr. Sci. in Biology; leading researcher; obstetric and gynecological department; Research Institute of Obstetrics and Pediatrics; e-mail: biochem@mniiap.ru

Information about authors:

Pogorelova T.N., <https://orcid.org/0000-0002-0400-0652>;
Nikashina A.A., <https://orcid.org/0000-0001-8099-9093>;
Krukier I.I., <https://orcid.org/0000-0003-4570-6405>;
Gunko V.O., <https://orcid.org/0000-0001-8607-9052>;
Avrutskaya V.V., <https://orcid.org/0000-0001-6399-5007>;
Levkovich M. A., <https://orcid.org/0000-0001-8047-7148>;
Palieva N.V., <https://orcid.org/0000-0003-2278-5198>.

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 12.08.2022

Accepted 20.10.2022

Published 00.02.2023

Введение. Процессы развития беременности, течение пре- и постнатального периодов онтогенеза во многом определяются особенностями метаболических процессов в фетоплацентарной системе, значительная роль в которой принадлежит околоплодным водам. Они занимают важное место в параплацентарном обмене и обеспечении плода необходимыми химическими соединениями. Кроме того, состав околоплодных вод служит индикатором любых нарушений в организме плода при акушерской патологии [1, 2]. К числу серьезных осложнений гестации относятся преждевременные роды (ПР), отличающиеся высокими показателями перинатальной заболеваемости и смертности [3-5]. До настоящего времени причины, приводящие к ПР, остаются до конца не выясненными, что обуславливает необходимость поиска новых маркеров досрочного развязывания родовой деятельности.

В цепи молекулярно-биохимических повреждений при развитии процессов родовозбуждения большое значение может иметь модификация ферментов обмена белков, выполняющих многочисленные функции. Причем особенно мало сведений о катаболизме, деструкции белков, приводящих к глубоким изменениям в структуре и свойствах белковых молекул. Для нормального формирования и течения беременности необходимо также поддержание физиологического метаболизма структурных компонентов белков – свободных аминокислот. Последние являются важными составляющими метаболома всех биообъектов [6], выполняющими самостоятельные функции. В то же время сведения об этих процессах в околоплодных водах весьма малочисленны, а при ПР они отсутствуют.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось изучение ферментативной активности деструкции белков, а также активности ферментов аминокислотного обмена в околоплодных водах и выяснение их возможного воздействия на развитие ПР.

Материал и методы. В проспективное исследование были включены 54 женщины в возрасте 23-29 лет, составившие две группы: 1-я группа – 28 условно здоровых женщин с неосложненным течением беременности и родами в срок 39-40 недель (контрольная группа) и 2-я группа – 26 женщин, у которых развилась спонтанная родовая деятельность в сроке 34-37 недель (основная группа).

Общими критериями включения в исследование были: возраст женщин до 30 лет, отсутствие многоплодной беременности. Критериями включения в основную группу были преждевременные роды (ПР). Все женщины дали информированное согласие на расширенный алгоритм обследования.

Критериями исключения из исследования служили: декомпенсированная дисфункция плаценты, тяжелые формы соматических заболеваний.

Околоплодные воды для исследования брали у каждой женщины дважды: в 16-18 недель с помощью трансабдоминального амниоцентеза (для исключения хромосомной патологии плода) и при вскрытии плодного пузыря в 1-м периоде родов.

Все обследования проводились в рамках приказа Минздрава России № 1130н от 2020 г.

В исследование включались только женщины, имеющие нормальный хромосомный кареотип у плода.

Активность аминотрансфераз, дезаминаз, дегидрогеназ, декарбоксилаз, аминокислот оценивали общепринятыми спектрофотометрическими методами с использованием реакций между соответствующей аминокислотой и кетокислотами: кетоглутаровой или шавелевоуксусной [8, 12] (наименования ферментов и их сокращений приведены в табл. 2).

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 6.0 фирмы «StatSoftInc.»). Значимость различий определяли по критерию Стьюдента (t-критерий) для независимых выборок. Результаты оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что преждевременные роды развиваются на фоне значительных изменений активности протеолитических процессов в околоплодных водах уже во II триместре беременности (табл. 1).

Для обоих видов изученных пептидгидролаз (кислых и нейтральных), характерно повышение активности, степень которого зависит от оптимума их действия и срока гестации. Активность пептидгидролаз при pH 3,6 в 16-18 недель осложненной беременности повышена на 34,5%, а при pH 7,1 – на 29,6%. В конце осложненной беременности активность вышеописанных ферментов увеличивается в меньшей степени, соответственно на 26,6% и 21,4% относительно нормальных величин. Наряду с гидролитической деструкцией белков околоплодных вод при ПР

Таблица 1

Интенсивность гидролитической деструкции и окислительной модификации белков в околоплодных водах при родах в срок и преждевременных родах (M±m)

Показатель	Роды в срок		Преждевременные роды	
	II триместр	III триместр	II триместр	III триместр
Кислые пептидгидролазы (рН 3,6), мкмоль/л	5,16±0,37	6,21±0,47	6,94±0,51**	7,86±0,59*
Нейтральные пептидгидролазы (рН 7,1), мкмоль/л	3,12±0,19	4,36±0,29	4,04±0,24**	5,29±0,30*
Спонтанное окисление белков (карбонильные производные), мкмоль/л	1,06±0,05	1,35±0,07	1,45±0,09***	1,76±0,11***

Примечание. Здесь и в табл. 2: статистическая значимость различий между показателями: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$.

Таблица 2

Активность ферментов аминокислотного обмена в околоплодных водах при родах в срок и преждевременных родах (M±m)

Ферменты (нмоль/мин×мг белка)	Роды в срок		Преждевременные роды	
	II триместр	III триместр	II триместр	III триместр
Аспаратаминотрансфераза (АСТ)	1,12±0,06	1,29±0,08	1,48±0,09***	1,61±0,10**
Аланинаминотрансфераза (АЛТ)	0,59±0,04	0,72±0,04	0,41±0,03***	0,54±0,03***
Цистеинаминотрансфераза (Цис-Т)	0,14±0,01	0,16±0,02	0,09±0,01	0,11±0,01*
Тирозинаминотрансфераза (Тир)	0,19±0,02	0,23±0,02	0,13±0,01**	0,17±0,02*
Глутамин-кетокислотная аминотрансфераза (Гн-Т)	0,36±0,02	0,41±0,02	0,44±0,02**	0,48±0,02**
Глутаминаза (Гн)	0,49±0,04	0,57±0,04	0,32±0,03***	0,41±0,03**
Глутаминсинтететаза (Гн-С)	0,52±0,04	0,69±0,04	0,35±0,03***	0,50±0,003***
Глутаматдегидрогеназа (ГДГ)	1,09±0,08	1,20±0,08	0,74±0,06***	0,88±0,05***
Аргиназа	1,23±0,08	1,37±0,09	1,61±0,10**	1,75±0,10**
Гистидиндекарбоксилаза	0,25±0,02	0,31±0,03	0,18±0,01**	0,23±0,02*

усиливается и окислительное повреждение белковых молекул, приводящее к повышению их карбонильных производных, уровень которых возрастает на 36,7% и 30,1% во II и III триместрах. Представляется важным, что между степенью окислительного изменения белков и интенсивностью протеолитических процессов обнаружена положительная корреляция ($r = 0,87$ и $r = 0,83$; $p < 0,01$), что свидетельствует о значительной роли модификации белков в развитии их дальнейших деструктивных отклонений.

Активность ферментов аминокислотного обмена при ПР также изменяется (табл. 2). Для большинства ферментов обнаружено снижение активности уже во II-м триместре беременности, причем в этот период оно более выражено. Так, активность ферментов, связанных с обменом глутаминовой кислоты и глутамина, за исключением Гн-Т, уменьшена при преждевременных родах во II триместре в среднем на 31-34%, а в III на 26-28%. Активность Гн-Т, напротив, повышена на 22,2% и 17,8% соответственно,

в 16-18 нед и 39-40 недель. Такая же направленность изменения имеет место для АСТ, активность которой повышена в среднем на 27%. Для АЛТ, Цис-Т, Тир-Т характерно снижение активности во II триместре на 30,3%, 35,4% и 30,1% соответственно. В III триместре снижение составляет 24,3%, 32,5% и 25,1%.

Динамика активности ферментов обмена диаминокислот – аргиназы и гистидиндекарбоксилазы также разнонаправлена. Активность аргиназы повышена на 31,3% и на 27,8% во II и III триместрах гестации, а активность гистидиндекарбоксилазы снижена на 30,2% и 27,3%, соответственно.

Обсуждение. Полученные результаты позволили выявить достоверную деструкцию белков и обмена их структурных составляющих при угрозе ПР. Для лучшего понимания механизмов негативного влияния выявленных нарушений необходимо уточнить их биохимические последствия.

Гидролитическая деструкция белков несомненно изменяет их свойства, что подтверждают ранее проведенные нами исследования посттрансляционных изменений белков [9], следствием которых является дисбаланс в протеомном спектре при ПР [10].

Помимо протеолитической деструкции белков околоплодных вод усиление их окислительной модификации может сопровождаться нарушением различных уровней белковой структуры, повреждающим ее функциональную нагрузку [7].

Существенное влияние на обменные процессы в фетоплацентарном комплексе оказывают и ферменты аминокислотного обмена, поскольку с их помощью осуществляется взаимосвязь азотистого и других ви-

дов обмена веществ [11]. Важные метаболические последствия будут иметь нарушения ферментов системы глутаминовая кислота–глутамин [12]. Снижение активности ГДГ, ГнС на фоне повышения активности Гн при ПР способно приводить к уменьшению количества глутамин и глутаминовой кислоты, чрезвычайно важных для развития плода [13]. Изменение активности ферментов обмена глутамин, участвующего в синтезе нуклеотидов и гексозаминов, очевидно, может негативно отражаться на этих процессах. Модификация активности Гн-Т нарушает баланс освобождения и фиксации аммиака, а также снижает реакции выработки энергии в цикле трикарбоновых кислот. Отклонения в активности других аминотрансфераз при преждевременном развитии родовой деятельности также затрагивают многие метаболические реакции. К негативным последствиям приводит снижение активностей Тир-Т и Цис-Т, сопровождающееся изменением содержания их субстратов – тирозина и цистеина. Уменьшение уровня активного антиоксиданта – тирозина нарушает редокс-процессы и способствует развитию внутриутробной гипоксии, создающей дополнительные условия для усиления процессов активации сократительной деятельности матки.

На многие метаболические процессы в околоплодных водах оказывает влияние модификация активности Цис-Т, которая в цепи промежуточных метаболических процессов приводит к снижению синтеза внутриклеточного антиоксиданта – глутатиона. Кроме того, уменьшение уровня цистеина, в конечном итоге может сопровождаться изменением количества таурина, сопряженного с регуляцией продукции предшественников простагландинов [14].

Развитие угрозы ПР происходит также на фоне снижения активности АЛТ и, следовательно, ее субстрата – аланина, которое отражается на обеспечении энергетического обмена в фетоплацентарной системе. В отличие от динамики большинства аминотрансфераз активность АСТ при угрозе ПР повышена. Такая направленность изменения активности этого фермента может приводить к снижению количества важного компонента цикла трикарбоновых кислот – α -кетоглутаровой кислоты.

Увеличение активности аргиназы при ПР влияет на метаболизм в фетоплацентарном комплексе в результате снижения содержания аргинина, выполняющего многочисленные функции. Прежде всего, аргинин является предшественником для синтеза мощного вазодилатора – оксида азота и полиаминов, показатели которых, в свою очередь, очевидно, уменьшаются, что приводит к ухудшению гемодинамики [15]. Также отрицательно влияет на течение беременности и ее исход – снижение активности гистидин декарбоксилазы, одним из продуктов которой является гистамин, регулирующий свойства сосудов. Негативные последствия будет иметь и уменьшение субстрата реакции – активного антиоксиданта гистидина [16].

В целом, оценивая изменения активности ферментов белкового и аминокислотного обменов при ПР, можно еще раз отметить важную роль гидролитиче-

ской и окислительной модификации белков в нарушении их многочисленных регуляторных функций, а также значение отклонений в соотношении всех видов обмена веществ, в которых участвуют аминокислоты и их активные производные.

Следует отметить, что обнаруженные в околоплодных водах метаболические нарушения в большей степени имеют место во II триместре, чем в III, что создает соответствующие условия для развития в последующем преждевременной родовой деятельности.

В числе исследованных ферментативных процессов наиболее информативными тестами усиления неконтролируемой скорости родоразрешения являются Тир-Т и Цис-Т.

Заключение. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о значительных нарушениях в белковом и азотистом обменах при преждевременных родах, особенно выраженных во II-м триместре. Изменения касаются гидролитического распада белков и их окислительной модификации. Последняя усиливает чувствительность белков к протеолитическим процессам, приводя к глубоким нарушениям в спектре белковых молекул.

Достоверные изменения имеют место и для ферментов аминокислотного обмена, взаимосвязывающих разные стороны метаболизма и приводящих к глубоким негативным последствиям в пре- и постнатальном периодах.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2, 6, 11-16
см. REFERENCES)

3. Коваленко А.Е., Калинина Н.И., Алексеенкова М.В., Панина О.Б., Савельева Г.М. Биохимические маркеры угрожающих преждевременных родов. *Акушерство и гинекология*. 2013;3: 43-7.
4. Савельева Г.М., Курцер М.А., Панина О.Б., Сичинава Л.Г., Алексеенкова М.В., Конопляников А.Г., Латышкевич О.А. Прегравидарная подготовка в профилактике преждевременных родов. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2017;16 (6): 24-9. DOI: 10.20953/1726-1678-2017-6-24-29.
5. Белоцерковцева Л.Д., Коваленко Л.В., Иванников С.Е. Преждевременные роды. Кому помогут токолитики? *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2017; 16 (2): 12-6. DOI: 10.20953/1726-1678-2017-2-12-16.
7. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб: Медицинская пресса; 2006.
8. Карпищенко А.И., ред. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
9. Погорелова Т.Н., Михельсон А.А., Гунько В.О., Палиева Н.В. Значение гидролитической деструкции белков субклеточных фракций плаценты в генезе её дисфункции. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2021; 21(2): 21-5. DOI: 10.17116/tosakush20212102121.
10. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Линде В.А. Протеомные маркеры прогнозирования преждевременных родов. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2016; 16(2):18-22.

REFERENCES

1. Tong X. Amniotic fluid may act as a transporting pathway for signaling molecules and stem cells during the embryonic development of amniotes. *J. Chin. Med. Assoc.* 2013; 76(11):606-10. DOI: 10.1016/j.jcma.2013.07.006.

2. Palmas F., Fattuoni C., Noto A., Barberini L., Dessi A., Fanos V. The choice of amniotic fluid in metabolomics for the monitoring of fetus health. *Expert Rev.Mol.Diagn.* 2016; 16(4):473-86. DOI: 10.1586/14737159.2016.1139456.
3. Kovalenko A.E., Kalinina N.I., Alekseenkova M.V., Panina O.B., Savelyeva G.M. Biochemical markers of threatened preterm labor. *Akusherstvo I Ginekologiya.* 2013; 3: 43-7. (in Russian)
4. Savel'eva G.M., Kurtser M.A., Panina O.B., Sichinava L.G., Alekseenkova M.V., Konoplyannikov A.G., Latyshkevich O.A. Pregravid preparation in the prevention of preterm birth. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii.* 2017; 16(6): 24-9. DOI: 10.20953/1726-1678-2017-6-24-29. (in Russian)
5. Belotserkovtseva L.D., Kovalenko L.V., Ivannikov S.E. premature birth. Who can benefit from tocolytics? *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii.* 2017; 16 (2): 12-6. DOI: 10.20953/1726-1678-2017-2-12-16. (in Russian)
6. Atiomo W., Daykin C.A. Metabolomic biomarkers: a pilot study. *Mol. Hum.Reprod.* 2012; 18(11):546-53. DOI: 10.1093/molehr/gas029.
7. Dubinina E.E. Oxygen metabolism products in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction). Physiological and clinical-biochemical aspects. St. Petersburg: Meditsinskaya pressa; 2006. (in Russian)
8. Karpishchenko A.I., ed. Medical laboratory technologies: a guide to clinical laboratory diagnostics. 3rd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. (in Russian)
9. Pogorelova T.N., Mikhelson A.A., Gun'ko V.O., Palieva N.V. Significance of hydrolytic destruction of proteins of subcellular fractions of the placenta in the genesis of its dysfunction. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa.* 2021; 21(2): 21-5. DOI: 10.17116/rosakush20212102121. (in Russian)
10. Pogorelova T.N., Gun'ko V.O., Linde V.A. Proteomic markers for predicting preterm birth. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa.* 2016; 16(2): 18-22. (in Russian)
11. Bröer S., Bröer A. Amino acid homeostasis and signalling in mammalian cells and organisms. *Biochem. J.* 2017; 474(12): 1935-63. DOI: 10.1042/BCJ20160822.
12. Wu X., Xie C., Zhang Y., Fan Z., Yin Y., Blachier F. Glutamate-glutamine cycle and exchange in the placenta-fetus unit during late pregnancy. *Amino Acids.* 2015; 47(1): 45-53. DOI: 10.1007/s00726-014-1861-5.
13. Neu J., Glutamine in the Fetus and Critically Ill Low Birth Weight Neonate: Metabolism and Mechanism of Action. *The Journal of Nutrition.* 2001; 131 (Issue 9): 2585S–2589S. DOI:10.1093/jn/131.9.2585S.
14. Lambert I.H., Kristensen D.M., Holm J.B., Mortensen O.H. Physiological role of taurine – from organism to organelle. *Acta Physiol. (Oxf.)*. 2015; 213(1): 191-212. DOI: 10.1111/apha.12365.
15. Khalil A., Hardman L., O'Brien P. The role of arginine, homoarginine and nitric oxide in pregnancy. *Amino Acids.* 2015; 47(9): 1715-27. DOI: 10.1007/s00726-015-2014-1.
16. Vera-Aviles M., Vantana E., Kardinasari E., Koh N.L., Latunde-Dada G.O. Protective role of histidine supplementation against oxidative stress damage in the management of anemia of chronic kidney disease. *Pharmaceuticals (Basel).* 2018; 11(4): E111. DOI: 10.3390/ph11040111.