

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА
И АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АМИНОКИСЛОТНОГО ОБМЕНА
В ГЕМОХОРИАЛЬНОЙ ПЛАЦЕНТЕ РАЗНЫХ
ВИДОВ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА**

© 2021 г. Т. Н. Погорелова^{1, *}, В. О. Гунько¹, А. А. Никашина¹, И. А. Аллилуев²

¹Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

²Южный Федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

*E-mail: tnp.rniiar@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.09.2020 г.

После доработки 26.11.2020 г.

Принята к публикации 17.12.2020 г.

Изучен аминокислотный состав и активность ферментов аминокислотного обмена тканей плаценты. Объектом исследования являлись морские свинки (*Cavia porcellus*) и макаки-резус (*Macaca mulatta*), имеющие, подобно человеку, гемохориальный тип плаценты. В исследование были также включены женщины с несложненным течением беременности и срочными родами (39–40 нед.). Установлено, что во всех исследованных тканях наибольшее количество свободных и связанных аминокислот содержится в плодовой части плаценты. В плодовой части плаценты обнаружена и максимальная активность ферментов аминокислотного обмена: аминотрансфераз, дезаминаз, аминосинтеаз. Общим для плаценты морских свинок, обезьян и человека является также высокий уровень дикарбоновых аминокислот и глутамин. Наряду с общими чертами, в аминокислотном обмене плаценты разных видов животных и человека выявлены некоторые различия, обусловленные эволюционными особенностями развития органа, спецификой сложившихся материнско-плодовых взаимоотношений. Межвидовые отличия однотипных частей плаценты касаются отдельных аминокислот, содержание большинства из которых в плаценте грызунов превышает аналогичные показатели у приматов. Между плацентами человека и обезьяны различия изученных биохимических показателей менее выражены. Еще одним отличием плаценты морской свинки от плаценты человека и обезьяны является неодинаковое нековалентное связывание аминокислот с биополимерами, модифицирующее состояние акцепторных групп белков. Аналогичные ткани последа разных видов животных и человека отличаются и активностью ферментов аминокислотного обмена. Между содержанием свободных аминокислот и показателями активности ферментов имеется тесная корреляционная зависимость, свидетельствующая об их важной роли в формировании плацентарного аминокислотного фонда.

Ключевые слова: гемохориальная плацента, приматы, грызуны, аминокислотный обмен

DOI: 10.31857/S0869813921020072

Определяющей чертой эволюционного процесса явилось усиление независимости развивающегося организма от внешних условий, поэтому появление плацентарных млекопитающих стало вершиной филогенетического развития. Относи-

тельное постоянство и необходимый состав внутренней среды организма высших животных и человека в процессе пренатального онтогенеза обеспечивается в основном плацентой, осуществляющей взаимосвязь между организмом матери и плодом и создающей оптимальные условия для его роста и развития. Плацента – самый молодой в эволюционном ряду орган, отличающийся прежде всего тем, что за относительно небольшой период времени претерпевает быстрое развитие и достигает полной зрелости. Это предъявляет повышенные требования к метаболическим процессам, лежащим в основе функционирования плаценты. В процессе эволюции становление плацентарного барьера шло по пути наиболее тесного контакта между кровью матери и плода. Оптимальные условия в этом отношении характерны для гемохориального типа плаценты (приматы, грызуны), в которой кровотоки плода и матери наиболее сближены и разделены лишь эндотелием плодовых капилляров, стромой и эпителиальным покровом хориальных ворсин. Гемохориальная плацента представляет собой одну из наиболее сложных тканей организма. Уникальная структура плаценты определяет ее чрезвычайную полифункциональность: она выполняет трофическую, дыхательную, защитную, транспортную, гормонпродуцирующую и другие функции [1–3].

В числе многочисленных функций плаценты важная роль принадлежит снабжению эмбриона и плода питательными веществами. Среди этих веществ одно из ведущих мест занимают свободные аминокислоты, прежде всего, как структурные составляющие белковых молекул, поскольку плацента, являясь быстро развивающимся органом, характеризуется чрезвычайно высокой скоростью синтеза белков [4, 5]. Помимо участия в биосинтезе плацентарных белков, аминокислоты включаются в энергетический обмен, служат предшественниками многих биоактивных компонентов, таких как вазоактивные соединения, полиамины, структурные компоненты нуклеиновых кислот [6, 7]. Некоторые из них выполняют самостоятельные функции, в частности, как индукторы синтеза гормонов, регуляторы иммунного ответа, активаторы клеточной дифференциации и пролиферативных процессов, интенсивно протекающих в фетоплацентарном комплексе [8, 9]. Кроме того, исследования последних лет позволили установить, что трансплацентарный переход аминокислот от матери к плаценте и от плаценты к плоду влияет на “внутриутробное программирование” постнатальной патологии [10]. Многочисленные химические реакции, в которых участвуют аминокислоты, перерабатывая и реализуя внешнюю информацию, осуществляются с помощью различных ферментов, нередко соединяющих аминокислотный метаболизм с другими видами обмена.

В настоящее время известно, что фонд аминокислот различных тканей складывается из двух фракций – свободных и нековалентно связанных с белками. Первые сообщения о связанных аминокислотах было опубликовано в статье Elliott [11]. Связи этих аминокислот – ионные, водородные, гидрофобные и другие – менее прочные, чем пептидные. Они разрушаются при сдвиге pH, изменении ионного состава среды, обработке гипотоническими растворами [12]. Связанные аминокислоты, являясь регуляторами вторичной и третичной структур белков, могут стабилизировать или, напротив, модифицировать белковую молекулу. Для нормального функционирования органов, очевидно, важен не только абсолютный уровень аминокислот, но и соотношение свободных и связанных форм. Однако сведения о них немногочисленны, особенно это касается плаценты [13].

Исходя из вышеизложенного, настоящая работа посвящена изучению содержания свободных и связанных аминокислот, а также активности некоторых ферментов аминокислотного обмена в тканях гемохориальной плаценты разных видов животных и человека с целью выяснения возможных различий и сходства между ними.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили 36 морских свинок (*Cavia porcellus*) с датированным сроком беременности (точность установления начала беременности 6 ч, роды в 59–60 дней), находящиеся в обычных условиях вивария на стандартном пищевом рационе и 9 макак-резус (*Macaca mulatta*) с датированным сроком беременности (точность установления начала беременности 2–3 дня, роды в 161–164 дня), находящиеся в вольерах МБУ “Ростовский-на-Дону зоопарк”. В исследование были также включены 32 клинически здоровые женщины с неосложненным течением беременности и своевременными родами (39–40 нед.). Обследованные женщины наблюдались и были родоразрешены в Ростовском НИИ акушерства и педиатрии в рамках программы “Акушерский мониторинг”.

Материалом исследования служили плодовая и материнская части плацент. Плодовая часть плаценты у человека и обезьяны представлена ворсистым хорионом, материнская – децидуальной оболочкой. У морской свинки плодовая часть – лабиринтные и внелабиринтные отделы трофобласта, а материнская – тонкий слой децидуальных клеток, прилегающих к эндометрию матки. Плаценты брали сразу после родов при соблюдении холодового режима (4°C). Вырезанные образцы (10 г) промывали охлажденным физиологическим раствором и гомогенизировали (при 2–4°C) с помощью гомогенизатора Ultra-Turrax (ИКА, Германия) в PBS-буфере.

В безбелковых экстрактах тканей определяли содержание свободных аминокислот на автоматическом анализаторе ААА-400 (Microtechno, Чехия). Подготовку тканей и анализ проводили согласно инструкции к анализатору по стандартной программе с использованием трех натрий-цитратных буферных растворов pH 3.25, 4.25 и 5.28. Идентификацию аминокислот, расчет площади пиков и определение концентрации осуществляли по результатам анализа соответствующих стандартов (Sigma-Aldrich, США) для калибровки анализатора.

Аминокислоты, нековалентно связанные с белками (или белково-липидными комплексами), определяли после многоступенчатой обработки гомогенатов солевыми растворами [12]. Для этого навески тканей плаценты гомогенизировали в 4-х объемах солевой смеси, содержащей 0.15 М растворы NaCl, KCl, H₂SO₄ и 0.11 М раствор фосфатного буфера (pH 7.6). Гомогенат после повторного замораживания и оттаивания центрифугировали при 0°C в течение 15 мин при 20000 g (центрифуга Avanti J-30I Beckman Coulter, США). Осадок I промывали дважды указанной солевой смесью и центрифугировали при тех же условиях. Двукратное промывание осадка достаточно, поскольку последующие элюаты не содержали свободных аминокислот. Полученный осадок II суспендировали в дистиллированной воде и добавляли 10%-ный раствор сульфосалициловой кислоты, при этом осаждались белки и одновременно освобождались связанные аминокислоты. После отделения белков 10-минутным центрифугированием при 6000 g в надосадочной жидкости определяли связанные аминокислоты, количественную оценку содержания которых также проводили на анализаторе.

Активность аспартат- (АСТ, КФ 2.6.1.1), аланин- (АЛТ, КФ 2.6.1.2), цистеин- (Цис-Т, КФ 2.6.1.3), тирозин- (Тир-Т, КФ 2.6.1.5) аминотрансфераз определяли по приросту глутаминовой кислоты после инкубации соответствующей аминокислоты с α -кетоглутаровой кислотой. Об активности фосфат-активируемой глутаминазы (ФАГ; КФ 3.5.1.2) и активности глутаминсинтетазы (ГС; КФ 6.3.1.2) судили по снижению количества глутаминина или соответственно по его приросту. Содержание глутаминовой кислоты и ее амида глутаминина измеряли на аминокислотном анализаторе. Активность глутамин-кетокислотной аминотрансферазы (ГКТ, КФ 2.6.1.15) определяли по накоплению количества аммиака, оцененного спектрофотометрически с помощью реакции несслеризации после инкубации глутаминина с шавелевоуксусной

кислотой. Активность глутаматдегидрогеназы (ГДГ, КФ 1.4.13) оценивали по приросту восстановленного никотинамидадениндинуклеотида при длине волны 340 нм. При проведении ферментативных реакций использовали известные инкубационные смеси [14].

Статистическую обработку данных проводили с помощью лицензионного пакета программ Statistica 6.0. (StatSoft Inc.). Оценка характера распределения данных с помощью критерия Шапиро–Уилка свидетельствует об их нормальном распределении. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm SEM$). Статистическая обработка выполнена с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) и теста Тьюки (Tukey) для множественного сравнения средних величин. Корреляционный анализ выполнен с использованием критерия Пирсона и расчетом коэффициента корреляции r . Результаты оценивали как статистически значимые при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что у всех взятых объектов содержание свободных аминокислот в плодовой части плаценты выше, чем в материнской (табл. 1).

Суммарное содержание свободных аминокислот в плодовой части плаценты морской свинки превышает аналогичные величины в материнской части в 1.54 раза. Для плаценты обезьян это отличие составляло 1.45, а для плаценты человека — 1.52 раза. Межтканевые различия имеют место и для связанных аминокислот, содержание которых в плодовой части плаценты морской свинки, обезьяны и человека выше, чем в материнской соответственно в 1.55, 1.62 и 1.57 раз (табл. 2). Во всех изученных объектах уровень связанных аминокислот ниже, чем свободных. Коэффициенты отношения свободных аминокислот к их связанным фракциям в разных частях плаценты животных и человека колеблются в среднем от 4.7 до 5.4. Данные отличия в аминокислотном обмене тканей плаценты, очевидно, зависят от своеобразия их морфофункциональных характеристик в связи с неодинаковой ролью в процессе внутриутробного развития плода. О высокой метаболической активности фетальной части плаценты по сравнению с материнской свидетельствует также значительная концентрация в ней нуклеиновых кислот, белков, наибольшая скорость синтеза белков [15]. Эти метаболические “преимущества” ворсистой хорiona, по-видимому, связаны с его центральной ролью в обмене веществ между материнским организмом и плодом.

Помимо межтканевых вариаций, для содержания аминокислот однотипных частей плаценты характерны существенные межвидовые отличия. Плацента морской свинки отличается более высоким уровнем многих аминокислот по сравнению с таковым в тканях человека и обезьяны. Это различие может быть связано с особенностями ante- и пренатального развития плодов морской свинки, рождающихся более зрелыми. Между суммарным уровнем свободных аминокислот в плаценте человека и обезьяны различия менее выражены.

Сопоставление содержания отдельных аминокислот выявило более значимые как межтканевые, так и межвидовые отличия. В плодовой и материнской частях плаценты обезьяны содержание свободных фракций лизина, аргинина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, тирозина, метионина, валина ниже, чем соответствующие величины в тканях морской свинки (в среднем на 20.6–45.2%, рис. 1).

Особый интерес представляет более высокий уровень аргинина в плаценте морской свинки. Эта аминокислота играет важную роль в развитии беременности как предшественник биосинтеза оксида азота и полиаминов. Повышенное содержание аргинина приводит к увеличению продукции полиаминов, необходимых для под-

Таблица 1. Содержание свободных аминокислот в плаценте разных видов животных и человека
 Table 1. Content of free amino acids in placenta of different animal and human species

Аминокислоты, µмоль/г ткани Amino acids, µmol/g of tissue	Морская свинка Guinea pig n = 36		Обезьяна Monkey n = 9		Человек Human n = 32	
	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta
Лиз/Lys	0.46 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.31 ± 0.02 $p_1 < 0.001$	0.26 ± 0.02 $p_1 < 0.01$	0.34 ± 0.03 $p_2 < 0.01$	0.29 ± 0.02 $p_2 < 0.05$
Арг/Arg	0.44 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.29 ± 0.02 $p_1 < 0.001$	0.20 ± 0.01 $p_1 < 0.001$	0.31 ± 0.03 $p_2 < 0.001$	0.24 ± 0.02 $p_2 < 0.01$
Асп/Asp	1.29 ± 0.08	0.74 ± 0.05	0.77 ± 0.05 $p_1 < 0.001$	0.51 ± 0.04 $p_1 > 0.05$	0.98 ± 0.06 $p_2 < 0.001$	0.59 ± 0.04 $p_2 > 0.05$
Тре/Thr	0.27 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.36 ± 0.03 $p_1 = 0.01$	0.25 ± 0.02 $p_1 > 0.05$	0.42 ± 0.03 $p_2 < 0.001$	0.30 ± 0.03 $p_2 < 0.001$
Сер/Ser	0.38 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.54 ± 0.03 $p_1 < 0.001$	0.32 ± 0.03 $p_1 < 0.01$	0.58 ± 0.04 $p_2 < 0.001$	0.36 ± 0.03 $p_2 < 0.001$
Глу/Glu	2.55 ± 0.19	1.61 ± 0.11	1.53 ± 0.10 $p_1 < 0.001$	1.02 ± 0.07 $p_1 < 0.001$	1.92 ± 0.16 $p_2 < 0.001$	1.27 ± 0.07 $p_2 < 0.05$
Глы/Gln	0.40 ± 0.03	0.25 ± 0.02	0.56 ± 0.03 $p_1 < 0.001$	0.34 ± 0.03 $p_1 < 0.05$	0.70 ± 0.05 $p_2 < 0.001$	0.43 ± 0.03 $p_2 < 0.001$
Ала/Ala	0.50 ± 0.04	0.33 ± 0.02	0.65 ± 0.04 $p_1 < 0.01$	0.43 ± 0.03 $p_1 > 0.05$	0.87 ± 0.06 $p_2 < 0.001$	0.54 ± 0.05 $p_2 < 0.001$
Вал/Val	0.62 ± 0.05	0.44 ± 0.03	0.34 ± 0.02 $p_1 < 0.001$	0.32 ± 0.03 $p_1 < 0.01$	0.43 ± 0.04 $p_2 < 0.001$	0.28 ± 0.03 $p_2 < 0.001$
Мет/Met	0.27 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.15 ± 0.01 $p_1 < 0.001$	0.10 ± 0.01 $p_1 < 0.01$	0.17 ± 0.01 $p_2 < 0.001$	0.12 ± 0.01 $p_2 < 0.05$
Лей/Leu	0.56 ± 0.05	0.32 ± 0.02	0.38 ± 0.03 $p_1 < 0.001$	0.23 ± 0.02 $p_1 < 0.05$	0.46 ± 0.04 $p_2 < 0.01$	0.27 ± 0.02 $p_2 > 0.05$
Тир/Tyr	0.41 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.29 ± 0.02 $p_1 < 0.001$	0.27 ± 0.02 $p_1 < 0.05$	0.31 ± 0.02 $p_2 < 0.01$	0.24 ± 0.02 $p_2 < 0.01$

Здесь и в табл. 2 и 3: статистическая значимость между показателями морской свинки и обезьяны — p_1 , морской свинки и человека — p_2 . Данные представлены как $M \pm SEM$.

Here and in table 2 and table 3: statistical significance between indicators of guinea pig and monkey — p_1 , guinea pig and human — p_2 . Data presented as $M \pm SEM$.

Таблица 2. Содержание связанных аминокислот в плаценте разных видов животных и человека
Table 2. The content of bound amino acids in the placenta of different animal and human species

Амино кислоты, μмоль/г ткани Amino acids, μmol/g of tissue	Морская свинка Guinea pig n = 36		Обезьяна Monkey n = 9		Человек Human n = 32	
	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta
Лиз/Lys	0.093 ± 0.007	0.059 ± 0.003	0.151 ± 0.009 $p_1 < 0.001$	0.087 ± 0.005 $p_1 < 0.05$	0.158 ± 0.011 $p_2 < 0.001$	0.091 ± 0.006 $p_2 < 0.05$
Гис/His	0.061 ± 0.004	0.043 ± 0.003	0.088 ± 0.005 $p_1 < 0.001$	0.062 ± 0.004 $p_1 < 0.05$	0.102 ± 0.006 $p_2 < 0.001$	0.058 ± 0.004 $p_2 > 0.05$
Асп/Asp	0.371 ± 0.027	0.191 ± 0.011	0.199 ± 0.012 $p_1 < 0.001$	0.117 ± 0.007 $p_1 < 0.01$	0.240 ± 0.015 $p_2 < 0.001$	0.139 ± 0.009 $p_2 < 0.05$
Тре/Thr	0.021 ± 0.002	0.015 ± 0.001	0.029 ± 0.002 $p_1 < 0.05$	0.022 ± 0.001 $p_1 < 0.05$	0.033 ± 0.002 $p_2 < 0.001$	0.025 ± 0.002 $p_2 < 0.05$
Сер/Ser	0.058 ± 0.004	0.042 ± 0.003	0.083 ± 0.005 $p_1 < 0.01$	0.056 ± 0.004 $p_1 < 0.05$	0.096 ± 0.006 $p_2 < 0.001$	0.066 ± 0.004 $p_2 < 0.01$
Глу/Glu	0.741 ± 0.049	0.505 ± 0.046	0.381 ± 0.028 $p_1 < 0.001$	0.216 ± 0.019 $p_1 < 0.001$	0.455 ± 0.035 $p_2 < 0.001$	0.298 ± 0.083 $p_2 < 0.001$
Глн/Gln	0.072 ± 0.005	0.051 ± 0.003	0.094 ± 0.005 $p_1 < 0.05$	0.068 ± 0.002 $p_1 > 0.05$	0.106 ± 0.007 $p_2 < 0.001$	0.076 ± 0.006 $p_2 < 0.01$
Ала/Ala	0.077 ± 0.005	0.040 ± 0.003	0.099 ± 0.005 $p_1 < 0.05$	0.052 ± 0.004 $p_1 > 0.05$	0.107 ± 0.007 $p_2 < 0.001$	0.057 ± 0.005 $p_2 < 0.05$
Вал/Val	0.067 ± 0.005	0.044 ± 0.003	0.049 ± 0.004 $p_1 < 0.001$	0.032 ± 0.002 $p_1 < 0.05$	0.052 ± 0.004 $p_2 < 0.01$	0.035 ± 0.002 $p_2 > 0.05$
Мет/Met	0.032 ± 0.002	0.024 ± 0.002	0.023 ± 0.001 $p_1 < 0.01$	0.017 ± 0.001 $p_1 < 0.05$	0.025 ± 0.001 $p_2 < 0.05$	0.015 ± 0.001 $p_2 < 0.001$
Лей/Leu	0.075 ± 0.006	0.051 ± 0.004	0.056 ± 0.004 $p_1 < 0.05$	0.035 ± 0.002 $p_1 < 0.05$	0.060 ± 0.004 $p_2 < 0.05$	0.043 ± 0.003 $p_2 > 0.05$
Тир/Tyr	0.044 ± 0.003	0.037 ± 0.002	0.031 ± 0.001 $p_1 < 0.01$	0.026 ± 0.001 $p_1 < 0.01$	0.034 ± 0.002 $p_2 < 0.05$	0.029 ± 0.002 $p_2 < 0.05$

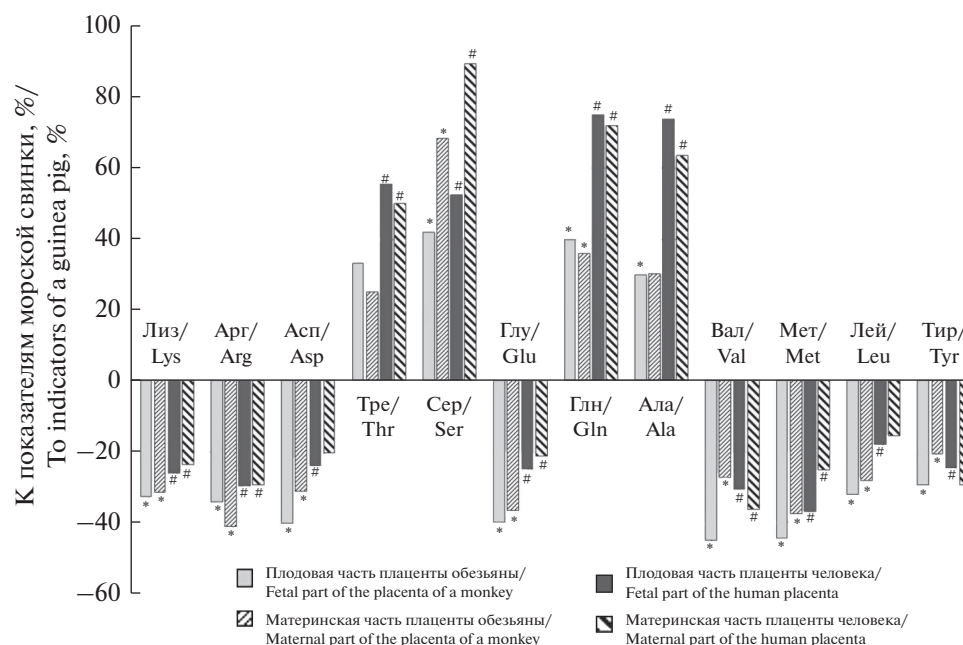


Рис. 1. Отличия содержания свободных аминокислот в тканях плаценты приматов относительно показателей у морской свинки.

Здесь и на рис. 2 и 3: для плодовой и материнской частей плаценты обезьян $n = 9$; для плодовой и материнской частей плаценты человека $n = 32$.

Обозначения: здесь и на рис. 2 и 3: * – различия между показателями морской свинки и обезьяны статистически значимы при $p < 0.05$, # – различия между показателями морской свинки и человека статистически значимы при $p < 0.05$. Принятые на рис. 1 и 2 сокращения: Лиз – лизин, Арг – аргинин, Гис – гистидин, Асп – аспарагиновая кислота, Тре – треонин, Сер – серин, Глу – глутаминовая кислота, Глн – глутамин, Ала – аланин, Вал – валин, Мет – метионин, Лей – лейцин, Тир – тирозин.

Fig. 1. Differences in the content of free amino acids in Primate placental tissues relative to those in guinea pigs. Here and in Figs. 2 and 3: for the fetal and maternal parts of the placenta of monkeys $n = 9$; for fetal and maternal part of the human placenta $n = 32$.

Note: * – the differences between the indicators of the guinea pig and the monkey are statistically significant at $p < 0.05$, # – the differences between the indicators of the guinea pig and the human are statistically significant at $p < 0.05$. Abbreviations in Fig. 1 and 2: Lys – lysine, Arg – arginine, His – histidine, Asp – aspartic acid, Tre – threonine, Ser – serine, Glu – glutamic acid, Gln – glutamine, Ala – alanine, Val – valine, Met – methionine, Leu – leucine, Tyr – tyrosine.

держания синтеза макромолекул и пролиферации клеток, значительная активность которой характерна для плаценты [16]. В экспериментальных исследованиях на мышах с гемохориальной плацентой показано позитивное влияние полиаминов на процесс развития беременности [17]. Известная способность полиаминов усиливать процессы фосфорилирования (особенно циклонуклеотидзависимого) в плаценте обеспечивает посттрансляционную модификацию белков, направленную на повышение их функциональной активности [18]. Кроме того, увеличение содержания полиаминов может приводить к относительной дезактивации транскрипционного фактора NF- κ B, уменьшению экспрессии белка p53 [19] и, как следствие, снижению интенсивности апоптоза. Не менее важное значение имеет усиление плацентарной продукции оксида азота, сопровождающееся улучшением процессов

гемодинамики и поддержанием полноценного кровотока во всей биологической системе мать—плацента—плод.

Более высокий показатель содержания лизина в плаценте морской свинки, очевидно, создает оптимальные условия для метаболических процессов, протекающих с его участием, в частности, синтеза карнитина, оксализина, митохондриального окисления жирных кислот. Определенное позитивное влияние на развитие плаценты морской свинки по сравнению с плацентой приматов может также оказывать более высокий уровень метионина, который служит источником метильных групп биосинтеза нуклеотидов, ДНК, фосфолипидов [20].

Дополнительную роль в развитии плаценты морских свинок, вероятно, играет и повышенный уровень дикарбоновых аминокислот — глутаминовой и аспарагиновой, которые участвуют в синтезе других аминокислот, нуклеиновых кислот, ряда биоактивных соединений, в регуляции ферментативных реакций, сопряженных с циклом трикарбоновых кислот. Дикарбоновые аминокислоты участвуют также в регуляции буферных систем, в которых они выполняют функции анионов [12]. Можно предположить, что эти отличия вносят определенный вклад в обеспечение полноценного развития плаценты и внутриутробного развития плода морской свинки за весьма короткую длительность гестации.

Уровень содержания свободных треонина, глутамина, аланина, серина в разных частях плаценты обезьяны, напротив, превышает аналогичные величины у морской свинки (на 30.0—42.1% и 30.0—68.4% соответственно). Сходные отличия в содержании указанных аминокислот установлены и для тканей человека по сравнению с соответствующими показателями у морской свинки. Более высокие концентрации четырех аминокислот в плацентах обезьяны и человека, особенно в плодовой части, по сравнению с таковыми в плаценте морской свинки с учетом их метаболических функций [5, 8], по-видимому, могут оказывать некоторое положительное влияние на общий азотистый обмен в ворсинах трофобласта, являющихся основной структурной составляющей гемохориальной плаценты приматов.

Статистически значимые отличия в тканях плаценты человека и животных характерны также для содержания связанных фракций некоторых аминокислот (рис. 2). Так, в плодовой и материнской частях плаценты обезьяны и человека доля связанных диаминокислот от общего их уровня выше, чем в аналогичных тканях морской свинки. Величины связанного лизина в плодовой части плаценты обезьяны и человека превышают таковые у морской свинки на 62.4 и 69.9%, в материнской части — на 47.5 и 54.2% соответственно. Для связанного гистидина в плодовой части плаценты обезьяны и человека увеличение составляет соответственно 44.3 и 67.2%, в материнской части — 44.2 и 34.9% относительно его показателей у морской свинки. Более низкий уровень у морской свинки гистидина, содержащего имидазольную группу, может понижать защищенность ряда участков полипептидной цепи к действию протеолитических ферментов, повреждающих структуру белков. Для связанных дикарбоновых аминокислот наблюдается противоположная направленность различий. Так, концентрация связанной формы аспарагиновой кислоты в плодовой части плаценты обезьяны на 46.4%, а у человека на 35.3% ниже, чем у морской свинки. Уровень этой аминокислоты в материнской части плаценты обезьяны и человека снижен на 38.7 и 27.2% соответственно относительно аналогичной величины у морской свинки. Отличие в содержании противоположно заряженных связанных аминокислот, возможно, обусловлено особенностями структуры белков в указанных тканях. Следует отметить, что, в свою очередь, даже незначительные модификации в содержании связанных аминокислот могут отражаться на различных уровнях структуры белков. В частности, отличия в содержании связанных форм незаряженных полярных аминокислот — треонина, серина, глутамина, а также гидрофобных — метионина, аланина, валина и лейцина, по-види-

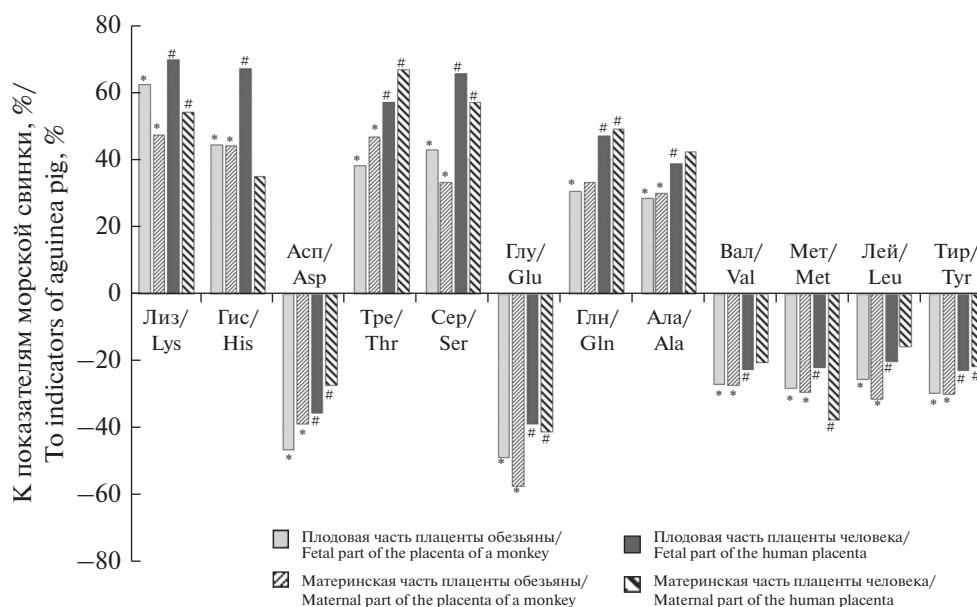


Рис. 2. Отличия содержания связанных аминокислот в тканях плаценты приматов относительно показателей у морской свинки.

Fig. 2. Differences in the content of bound amino acids in Primate placental tissues relative to those in guinea pigs.

тому, по-разному влияют на степень электростатических взаимодействий и количество водородных связей в белках [21]. Эти особенности сказываются на степени спирализации и растворимости белков [22] и, следовательно, их функциональной активности, отражаясь на всем метаболизме плацент исследованных объектов.

Общим для всех тканей последа является высокий уровень глутаминовой кислоты, особенно ее свободной формы. Этот факт, очевидно, обусловлен важной ролью глутаминовой кислоты в метаболизме трофобласта. Установлено, что 25% дыхания митохондрий плаценты человека поддерживается за счет ее окисления [23]. Кроме того, для глутаминовой кислоты в отличие от других аминокислот обнаружено интенсивное поглощение плацентой из крови пуповины. Высоким содержанием отличается также аспарагиновая кислота, выполняющая важные функции в аминокислотном обмене.

Что касается активности изученных ферментов, то для большинства из них она отличается в разных тканях плаценты животных и человека (табл. 3, рис. 3). Максимальная активность изученных ферментов, как и аминокислот, обнаруживается в фетальной части плаценты.

Наряду с межтканевыми различиями ферментативной активности определенные отличия имеют место и для аналогичных тканей разных видов животных и человека. Уровень активности ГДГ, АЛТ, Цис-Т, ГКТ, ГС увеличен в тканях плаценты обезьяны и человека относительно таких же частей плаценты морской свинки. Очевидно высокая активность ГС в плаценте приматов, особенно человека, способствует более эффективной детоксикации аммиака — процесса важного для всего азотистого обмена. Активность АСТ, Тир-Т, ФАГ, напротив, выше в тканях последа морской свинки. Определенную взаимосвязь между показателями активности ферментов и содержанием свободных аминокислот подтверждают результаты корреляционного анализа. Позитивная корреляционная зависимость выявлена

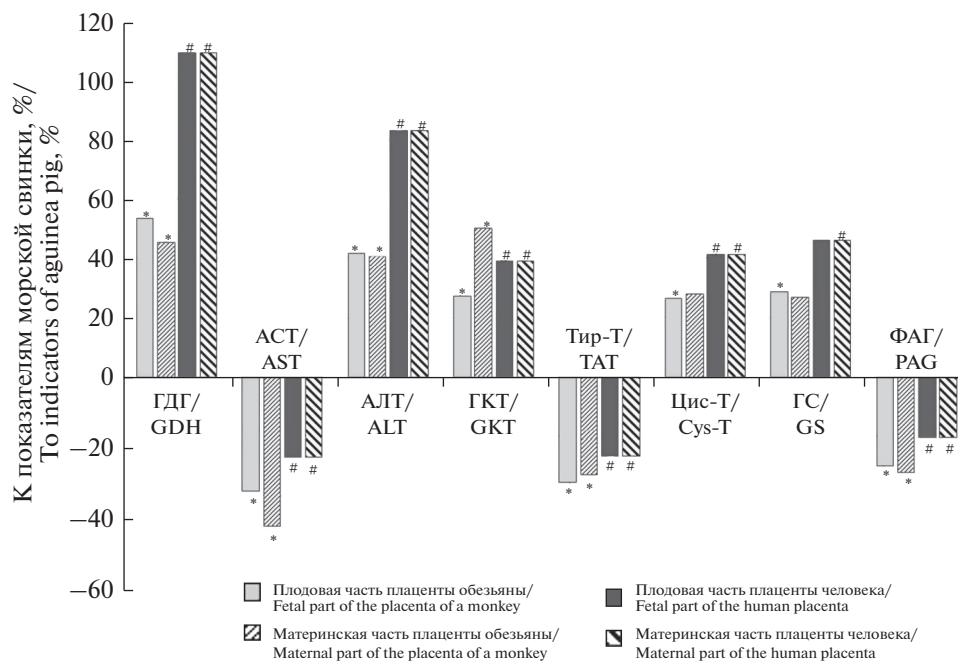


Рис. 3. Отличия активности ферментов аминокислотного обмена плаценты приматов относительно показателей у морской свинки.

Принятые на рис. 3 сокращения: ГДГ – глутаматдегидрогеназа, АСТ – аспаратаминотрансфераза, АЛТ – аланинаминотрансфераза, ГКТ – глутамин-кетокислотная аминокислотная трансфераза, Тир-Т – тирозинаминотрансфераза, Цис-Т – цистеинаминотрансфераза, ГС – глутаминсинтетазы, ФАГ – фосфат-активируемая глутаминаза.

Fig. 3. Differences in the activity of enzymes of amino acid metabolism of the placenta of primates relative to those in the guinea pig.

Abbreviations in Fig. 3: GDH – glutamatedehydrogenase, AST – aspartate aminotransferase, ALT – alanine aminotransferase, GKT – glutamine-ketoacid transaminase, Tyr-T – tyrosine transaminase, Cys-T – cysteine transaminase, GS – glutamine synthetase, PAG – phosphate-activated glutaminase.

между активностью АСТ, АЛТ и уровнем свободных аспарагиновой аминокислоты ($r = 0.83; 0.81; 0.80$) и аланина ($r = 0.85; 0.83; 0.81$) соответственно в тканях плаценты человека, обезьяны и морской свинки (во всех случаях статистическая значимость связи $p < 0.01$). Негативная зависимость выявлена для глутаминовой кислоты и активности ГДГ. Коэффициенты корреляции между ними находятся в пределах $-0.83 \dots -0.86, p < 0.01$.

Более низкая активность в тканях последа морской свинки ГДГ, катализирующей окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты, очевидно, является основной причиной повышенного уровня этой аминокислоты по сравнению с аналогичными тканями у других объектов. Еще одной причиной, объясняющей высокий уровень глутаминовой кислоты, по-видимому, является повышенная активность в плаценте морской свинки глутаминазы (ФАГ), параллельно приводящей к уменьшению количества глутамин. Помимо этого фермента в регуляции содержания глутамин принимают участие реакции, связанные с его синтезом и трансаминированием (ГС и ГКТ), активность которых у морской свинки снижена относительно таковых у обезьяны и человека. Важно подчеркнуть, что поскольку глутамин более необходим для роста клеток, чем любая другая аминокислота [24], в

Таблица 3. Активность ферментов аминокислотного обмена в плаценте разных видов животных и человека
Table 3. Activity of amino acid metabolism enzymes in the placenta of different animal and human species

Ферменты, нмоль/мин мг белка Enzymes, nmol/min mg of protein	Морская свинка Guinea pig n = 36		Обезьяна Monkey n = 9		Человек Human n = 32	
	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta	плодовая часть плаценты fetal part of placenta	материнская часть плаценты maternal part of placenta
Глутаматдегидрогеназа Glutamatedehydrogenases	2.36 ± 0.12	1.79 ± 0.08	3.62 ± 0.23 p ₁ < 0.001	2.61 ± 0.16 p ₁ < 0.05	4.94 ± 0.54 p ₂ < 0.001	3.51 ± 0.36 p ₂ < 0.001
Аспаратаминотрансфераза Aspartate aminotransferase	5.73 ± 0.39	4.05 ± 0.33	3.52 ± 0.25 p ₁ < 0.001	2.02 ± 0.15 p ₁ < 0.05	4.18 ± 0.27 p ₂ < 0.001	2.74 ± 0.16 p ₂ < 0.05
Аланин-кетотрансфераза Alanine aminotransferase	0.77 ± 0.04	0.42 ± 0.02	1.09 ± 0.06 p ₁ < 0.001	0.59 ± 0.04 p ₁ < 0.05	1.41 ± 0.11 p ₂ < 0.001	0.78 ± 0.04 p ₃ < 0.001
Глутамин-кетокислотная амино-трансфераза Glutamine-ketoacid transaminase	0.59 ± 0.04	0.38 ± 0.02	0.75 ± 0.04 p ₁ < 0.05	0.57 ± 0.04 p ₁ < 0.01	0.82 ± 0.05 p ₂ < 0.001	0.61 ± 0.04 p ₂ < 0.001
Тирозинамино-трансфераза Tyrosine aminotransferases	0.79 ± 0.05	0.52 ± 0.03	0.51 ± 0.04 p ₁ < 0.001	0.35 ± 0.02 p ₁ < 0.01	0.58 ± 0.04 p ₂ < 0.001	0.38 ± 0.02 p ₂ < 0.05
Цистеинамино-трансфераза Cysteine transaminase	0.34 ± 0.02	0.25 ± 0.02	0.43 ± 0.03 p ₁ < 0.05	0.32 ± 0.02 p ₁ > 0.05	0.48 ± 0.03 p ₂ < 0.001	0.39 ± 0.03 p ₂ < 0.001
Глутаминсинтетаза Glutamine synthetase	1.39 ± 0.11	1.16 ± 0.07	1.79 ± 0.12 p ₁ < 0.05	1.47 ± 0.09 p ₁ > 0.05	2.03 ± 0.12 p ₂ > 0.05	1.60 ± 0.11 p ₂ < 0.05
Фосфат-активируемая глутаминаза Phosphate-activated glutaminase	1.78 ± 0.11	1.43 ± 0.09	1.25 ± 0.07 p ₁ < 0.001	0.97 ± 0.06 p ₁ < 0.001	1.42 ± 0.10 p ₂ < 0.05	1.07 ± 0.06 p ₂ < 0.05

плаценте человека с наиболее высоким его уровнем создаются оптимальные условия для трофики плода. Около 20% азота плода приходится именно на глутамин [25].

Что касается активности других аминотрансфераз: АСТ, АЛТ, Цис-Т и Тир-Т, то, судя по прямой корреляционной зависимости между ними и уровнем аминокислот-субстратов, можно полагать наличие причинно-следственных взаимоотношений между этими показателями. Однако следует учитывать, что наряду с модификациями активности ферментов, различия в содержании аминокислот у представителей гемохориального типа плаценты зависят также от интенсивности плацентарного транспорта, степени анаболизма и катаболизма белков и других причин [28, 29].

Резюмируя полученные данные, следует подытожить, что гемохориальная плацента разных видов животных и человека имеет как межвидовые и межтканевые отличия в аминокислотном обмене, так и сходные особенности в содержании и активности изученных показателей, определяющие специфику органа независимо от межвидовых особенностей. Во всех исследованных объектах наибольшим содержанием свободных и связанных аминокислот характеризуется плодовая часть плаценты, играющая ведущую роль во взаимосвязи между организмами матери и плода. Такая же ситуация имеет место и для активности ферментов аминокислотного обмена. Кроме того, максимальная концентрация аминокислот во всех случаях приходится на долю дикарбоновых аминокислот, в значительной степени ответственных за особенности азотистого метаболизма и реакции, связывающие его с другими видами обмена.

Межвидовые отличия аналогичных частей плаценты касаются содержания отдельных аминокислот. Более высокий уровень большинства аминокислот, особенно свободных, установлен в плаценте морской свинки. Между плацентами человека и обезьяны различия изученных биохимических показателей менее выражены и зачастую статистически не значимы. В связи с этим на рисунках приведено сопоставление содержания аминокислот и активности ферментов только между морской свинкой и приматами. Важным отличием плаценты морской свинки (от других объектов исследования) является неодинаковое связывание аминокислот с биополимерами, меняющее состояние акцепторных групп белков. В зависимости от физико-химических свойств аминокислот: полярности, гидрофильности или гидрофобности, заряженности, они по-разному влияют на различные уровни структуры белков и, следовательно, на их регуляторные возможности. Аналогичные ткани последа разных видов животных и человека отличаются и активностью ферментов аминокислотного обмена: для некоторых из них она максимальна у человека, а для других – у морской свинки. Между активностью ферментов и содержанием соответствующих свободных аминокислот имеется тесная корреляционная зависимость, свидетельствующая об их роли в формировании плацентарного аминокислотного фонда и, следовательно, в обеспечении трофических потребностей плода и всего фетоплацентарного комплекса.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено за счет средств госбюджета.

ВКЛАД АВТОРОВ

Планирование эксперимента: Погорелова Т.Н.

Сбор данных: Никашина А.А., Аллилуев И.А.

Обработка данных: Гунько В.О., Никашина А.А.

Написание и редактирование статьи: Погорелова Т.Н., Гунько В.О.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Уход за животными осуществляли согласно рекомендациям национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 “Принципы надлежащей лабораторной практики”, международных рекомендаций “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях” (The European Convention, 1986). Протокол экспериментального исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИИАП.

Информированное согласие на использование биоматериала для научных исследований было получено от всех пациенток. Исследования проводились в соответствии с принципами, обозначенными в Хельсинской Декларации (2000 г.) и протоколе Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1999 г.), и также одобрено локальным этическим комитетом НИИАП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Burton G.J., Jauniaux E.* What is the placenta? *Am. J. Obstet, Gynecol.* 213(4 Suppl): S6.e1–S8. 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.07.050>
2. *Maltepe E., Fisher S.J.* Placenta: the forgotten organ. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 31: 523–552. 2015.
<https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100814-125620>
3. *Costa M.A.* The endocrine function of human placenta: an overview. *Reprod. Biomed. Online.* 32(1): 14–43. 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.10.005>
4. *Kalhan S.C.* Protein metabolism in pregnancy. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(5 Suppl): 1249S–1255S. 2000.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/71.5.1249s>
5. *Duggleby S.L., Jackson A.A.* Protein, amino acid and nitrogen metabolism during pregnancy: how might the mother meet the needs of her fetus? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 5(5): 503–509. 2002.
<https://doi.org/10.1097/00075197-200209000-00008>
6. *Sladek S.M., Magness R.R., Conrad K.P.* Nitric oxide and pregnancy *Am. J. Physiol.* 272(2 Pt 2): R441–R463. 1997.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.272.2.R441>
7. *Cohen S.S.* A guide to the polyamines. New York. Oxford Univers. Press. 1998.
8. *Bröer S., Bröer A.* Amino acid homeostasis and signaling in mammalian cells and organisms. *Biochem. J.* 474(12): 1935–1963. 2017.
<https://doi.org/10.1042/BCJ20160822>
9. *Manta-Vogli P.D., Schulpis K.H., Dotsikas Y., Loukas Y.L.* The significant role of amino acids during pregnancy: nutritional support. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 33(2): 334–340. 2020.
<https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1489795>
10. *Barker D.J., Thornburg K.L.* Placental programming of chronic diseases, cancer and lifespan: a review. *Placenta.* 34(10): 841–845. 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.placenta.2013.07.063>
11. *Elliott K.A., Khan R.T., Bilodeau F., Lovell R.A.* Bound gamma-aminobutyric and other amino acids in brain. *Can. J. Biochem.* 43: 407–416. 1965.
<https://doi.org/10.1139/o65-048>
12. *Sanderson C., Murphy S.* Glutamate binding in the rat cerebral cortex during ontogeny. *Brain Res.* 254 (3): 329–339. 1981.
[https://doi.org/10.1016/0165-3806\(81\)90042-0](https://doi.org/10.1016/0165-3806(81)90042-0)
13. *Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А., Каушанская Л.В., Аллилуев И.А., Ларичкин А.В.* Модификация связывания аминокислот с цитоплазматическими белками плаценты при осложненной беременности. *Рос. вестник акушера-гинеколога.* 19(6): 5–10. 2019. [*Pogorelova T.N., Gunko V.O., Nikashina A.A., Kaushanskaya L.V., Alliluev I.A., Larichkin A.V.* Modification of binding of amino acids with placental cytoplasmic proteins in complicated pregnancy. *Ros. Vestnik Akushera-Ginekologa.* 19(6): 5–10. 2019. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17116/rosakush2019190615>
14. *Methods of Enzymatic Analysis, V.2.* Ed. *H.U. Bergmeyer.* New York. Acad. Press. 2012.
15. *Погорелова Т.Н., Линде В.А., Крукиер И.И., Гунько В.О., Друккер Н.А.* Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов в плаценте при физиологически протекающей и осложненной беременности. Санкт-Петербург. Гиппократ. 2012. [*Pogorelova T.N., Linde V.A., Krukiier I.I., Gunko V.O., Drukker N.A.* Molekuljarnye mehanizmy reguljicii metabolicheskikh processov v placente pri fiziologicheski protekajushhej i oslozhnennoj beremennosti [Molec-

- ular mechanisms of regulation of metabolic processes in the placenta with physiologically occurring and complicated pregnancy]. Saint-Petersburg. Hippocrates. 2012. (In Russ)].
16. Morgan D.M. Polyamines. An overview. Mol. Biotechnol. 11(3): 229–250. 1999. <https://doi.org/10.1007/BF02788682>
 17. Zwierzchowski L., Członkowska M., Guskiewicz A. Effect of polyamine limitation on DNA synthesis and development of mouse preimplantation embryos in vitro. J. Reprod. Fertil. 76(1): 115–121. 1996. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0760115>
 18. Moore J.J., Cardaman R.C., Lundgren D.W. Spermine-enhanced protein phosphorylation in human placenta. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 176(3): 313–321. 1984. <https://doi.org/10.3181/00379727-176-41877>
 19. Li L., Rao J.N., Bass B.L., Wang J.Y. NF-kappaB activation and susceptibility to apoptosis after polyamine depletion in intestinal epithelial cells. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol. 280(5): G992–G1004. 2001. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.2001.280.5.G992>
 20. Dasarathy J., Gruca L.L., Bennett C., Parimi P.S., Duenas C., Marczewski S., Fierro J.L., Kalhan S.C. Methionine metabolism in human pregnancy. Am. J. Clin. Nutr. 91(2): 357–365. 2010. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28457>
 21. Proteins: Structure and function. Ed. J.J. L'Italien. New York. Plenum press. 2012.
 22. Kessel A., Ben-Tal N. Introduction to proteins: structure, function, and motion. Boca Raton: CRC Press. 2010.
 23. Broeder J.A., Smith C.H., Moe A.J. Glutamate oxidation by trophoblasts in vitro. Am. J. Physiol. 267(1 Pt 1): C189–C194. 1994. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1994.267.1.C189>
 24. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Линде В.А. Дисбаланс системы глутамин-глутаминовая кислота в плаценте и околоплодных водах при плацентарной недостаточности. Биомед. химия. 60 (5): 596–601. 2014. [Pogorelova T.N., Gunko V.O., Linde V.A. Imbalance of system of glutamin – glutamic acid in the placenta and amniotic fluid at placental insufficiency. Biomed. Khim. 60(5): 596–601. 2014. (In Russ)]. <https://doi.org/10.18097/pbmc20146005596>
 25. Lager S., Powell T.L. Regulation of nutrient transport across the placenta. J. Pregnancy. 2012: 179827. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/179827>

Comparative Characteristic Amino Acid Composition and Activity of Enzymes of Amino Acid Metabolism in Hemochorial the Placenta of Different Animal Species and Humans

T. N. Pogorelova^{a,*}, V. O. Gunko^a, A. A. Nikashina^a, and I. A. Alliluev^b

^aRostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

^bSouthern Federal University, Rostov-on-Don, Russia

*e-mail: tnp.mtiap@yandex.ru

The amino acid composition and activity of the enzymes of the amino acid metabolism of placenta were studied. The objects of the study were guinea pigs (*Cavia porcellus*) and rhesus macaques (*Macaca mulatta*), which have a hemochorial placenta type, similar to humans. The study also included women with uncomplicated pregnancy and delivery on time (39–40 weeks). It was found that in the all tissues studied, the fetal part of the placenta is characterized by the highest content of free and bound amino acids. In the fetal part of the placenta, the maximal activity of amino acid metabolism enzymes (amino-transferases, deaminases, amino synthetases) was also found. Common to the placenta of guinea pigs, monkeys and humans is also a high level of dicarboxylic amino acids and glutamine. Along with the common features in the amino acid metabolism of the placenta of different species of animals and humans, some differences were revealed due to the evolutionary features of the development of the organ, the specifics of the existing maternal-fetal relationships. Interspecies differences of the same parts of the placenta relate to individual amino acids, the majority of which in the placenta of rodents exceeds similar indicators in primates. Between the placentas of humans and monkeys, the differences in the studied biochemical parameters are less pronounced. Another difference between guinea pig placenta and human and monkey placenta is the unequal non-cova-

lent binding of amino acids to biopolymers, which modifies the state of the acceptor groups of proteins. Similar tissues of the afterbirth of different species of animals and humans differ in the activity of amino acid metabolism enzymes. There is a close correlation between the content of free amino acids and indicators of enzyme activity, showing their important role in the formation of the placental amino acid fund.

Keywords: hemochorial placenta, primates, rodents, amino acid metabolism

ЦИТИРОВАТЬ:

Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А., Аллилуев И.А. Сравнительная характеристика аминокислотного состава и активности ферментов аминокислотного обмена в гемохориальной плаценте разных видов животных и человека. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 107(2): 243–257. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921020072

TO CITE THIS ARTICLE:

Pogorelova T.N., Gunko V.O., Nikashina A.A., Alliluev I.A. Comparative Characteristic Amino Acid Composition and Activity of Enzymes of Amino Acid Metabolism in Hemochorial the Placenta of Different Animal Species and Humans Russian Journal of Physiology. 107(2): 243–257. 2021.

DOI: 10.31857/S0869813921020072