

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

### НАРУШЕНИЕ ПРОДУКЦИИ И ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЛАЦЕНТАРНЫХ ЯДЕРНЫХ И МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ ПРИ ОСЛОЖНЁННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

*Т.Н. Погорелова<sup>1\*</sup>, В.О. Гунько<sup>1</sup>, А.А. Никашина<sup>1</sup>, А.А. Михельсон<sup>1</sup>, И.А. Аллилуев<sup>1,2</sup>, А.В. Ларичкин<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>НИИ акушерства и педиатрии Ростовского государственного медицинского университета, 344012, Ростов-на-Дону, ул. Мечникова, 43; \*эл. почта: tnp.miiar@yandex.ru

<sup>2</sup>Академия биологии и биотехнологии Южного Федерального университета, Ростов-на-Дону

Изучено содержание ядерных и мембранных белков плаценты, а также посттрансляционная модификация этих белков при физиологической беременности и плацентарной недостаточности (ПН). Установлено, что при ПН имеет место различное по степени снижение продукции изученных белков относительно контрольных показателей. Для белков хроматина обнаружено более выраженное уменьшение содержания негистоновых белков по сравнению с гистонами. Среди фракций гистонов максимальное снижение характерно для фракции H2A. Степень изменения количества мембранных белков зависит от использованного детергента. Посттрансляционные нарушения белков характеризуются уменьшением содержания аминных и амидных (особенно трудногидролизующихся) групп и увеличением карбонильных производных белков. Выявленные изменения состава и структуры ядерных и мембранных белков плаценты, выполняющих многочисленные регуляторные функции, могут быть пусковыми звеньями в цепи молекулярных повреждений в плаценте при ПН.

**Ключевые слова:** ядерные и мембранные белки; плацентарная ткань; плацентарная недостаточность

**DOI:** 10.18097/PBMC20196506513

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема молекулярно-клеточных аспектов развития акушерской патологии и снижения перинатальных потерь, несмотря на несомненные успехи в её решении, остается весьма актуальной. Среди факторов, осложняющих беременность и нарушающих нормальное развитие плода, особое место принадлежит плацентарной недостаточности (ПН), сопровождающейся различными изменениями в этом органе и, как следствие, модификацией взаимосвязей во всей системе мать-плацента-плод [1-3]. Функциональная полноценность плаценты во многом зависит от интенсивности продукции плацентарных белков, играющих важную роль в метаболизме клеток и их структурных составляющих. Выполняя многочисленные функции, белки являются той “молекулярной машиной”, которая реализует информационную программу клеток [4]. Нарушение структуры и физико-химических свойств белков может являться одной из причин развития ПН. Функционирование плацентарного барьера в значительной степени определяется состоянием белкового компонента клеточных мембран. В плазматических мембранах локализован ряд белков, обеспечивающих активный транспорт, контактные взаимодействия, рецепцию различных биоактивных соединений и другие жизненно важные процессы в клетке. В настоящее время большое внимание в молекулярной медицине уделяется и ядерным белкам, исключительно важным для формирования структуры и регуляции экспрессии генов. Изменение экспрессии белков хроматина (гистонов и негистоновых белков) в плаценте также способно приводить к ПН и, как следствие, к повреждениям в фетоплацентарном комплексе в целом.

Метаболическая ситуация может усугубляться посттрансляционной модификацией данных белков, приводящей к изменению их регуляторных функций. Ранее неизвестные сведения о продукции и свойствах мембранных и ядерных белков плаценты позволяют углубить современные представления о молекулярных механизмах развития ПН.

С учётом вышеизложенного и малочисленности данных о состоянии белков субклеточных фракций плаценты [5], целью настоящей работы явилось изучение содержания и посттрансляционных изменений указанных белков при физиологической беременности и ПН для уточнения их роли в развитии этой акушерской патологии.

## МЕТОДИКА

В проспективное исследование включены 60 женщин, составившие 2 группы. 1-я (контрольная) группа представлена 28 клинически здоровыми женщинами с неосложнённым течением беременности и родов. Во 2-ю (основную) группу вошли 32 женщины, беременность которых осложнилась ПН. По возрасту, индексу массы тела, соматическому, акушерско-гинекологическому анамнезу, паритету беременностей и родов женщины обеих групп были сопоставимы. Критериями исключения из исследования служили: инфекционные заболевания, декомпенсированные формы соматических заболеваний, многоплодная беременность, аутоиммунная патология, отсутствие информированного согласия на расширенный протокол исследования. Критериями включения в исследование были: возраст женщин до 35 лет, доношенная беременность, отсутствие признаков преэклампсии и задержки

роста плода. Обследованные пациентки наблюдались в консультативной поликлинике Ростовского НИИ акушерства и педиатрии (НИИАП) в рамках программы “Акушерский мониторинг”.

Критериями постановки диагноза ПН и включения в основную группу служили умеренные нарушения кровотока в маточных артериях, сосудах пуповины или магистральных сосудах плода без признаков централизации кровообращения по данным доплерометрии, начальные признаки гипоксии плода при кардиотокографии. Отставание роста плода по показателям фетометрии отсутствовало. Микроскопические исследования выявили в плацентах женщин основной группы патологические изменения, являющиеся морфологическими критериями ПН – наличие участков кальциноза, фиброза, гиперваскуляризации ворсин, мелкие межворсинчатые кровоизлияния.

Материалом для исследования служила ткань плаценты. Образцы плаценты получали сразу после родов при соблюдении холодового режима (2-4°C). Для проведения исследования брали центральную часть макроскопически нормальных участков плацентарного диска, включая плодовую и материнскую поверхности, не затрагивая крупных сосудов. Вырезанные образцы (10 г) промывали охлаждённым физиологическим раствором для удаления остатков крови и амниотической жидкости, затем гомогенизировали с помощью гомогенизатора Ultra-Turrax (“IKA”, Германия) (4°C) в среде, содержащей 0,25 М сахарозу, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ ЭДТА, 10 мМ Трис-HCl (pH 7,4), а также ингибиторы протеаз. Гомогенаты центрифугировали при 1000 g 10 мин. Супернатант удаляли и сохраняли для последующего выделения мембран микроворсин синцитиотрофобласта. Полученный осадок ресуспендировали в среде, содержащей 2,2 М сахарозу, 1 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 мМ Трис-HCl (pH 7,4) и центрифугировали при 80000 g 80 мин при 4°C для осаждения ядер (центрифуга Avanti J-30I, “Beckman Coulter”, США) [6]. Из ядер после изоосмотического лизиса (25 мМ KCl, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1 мМ ЭДТА), многоступенчатой экстракции кислотнo-спиртовым методом и центрифугирования (16000 g 10 мин) выделяли общие гистоны и негистоновые белки хроматина [7]. Общие гистоны хроматина разделяли на основные фракции методом электрофореза в полиакриламидном геле, используя прибор Protein II Xi Multi-Cell (“Bio-Rad”, США) в присутствии смеси стандартных белков в диапазоне молекулярных масс 1,4-26,6 кДа (Polypeptide SDS-PAGE standards, “Bio-Rad”). Количественную оценку электрофореграмм после окрашивания кумасси бриллиантовым голубым R-250 проводили на денситометре “Camag TLC Scanner II” (Швейцария) с интегратором фирмы “Hewlett Packard” (США). Мембранные белки солибилизировали детергентами – тритоном X-100 и додецилсульфатом натрия (ДДС-Na) из препаратов мембран микроворсин синцитиотрофобласта, выделенных методом дифференциального центрифугирования (при 6000 g 15 мин, 10000 g 15 мин, 105000 g 45 мин, затем с добавлением 12 мМ MgCl<sub>2</sub>

2500 g 10 мин и 12000 g 70 мин), и последующей их очисткой при 90000 g 45 мин в градиенте сахарозы (25/37/45%) из полученных ранее супернатантов. Метод разработан именно для микроворсин плацентарной ткани – наиболее удобного объекта для изучения состава и свойств плазматических мембран [8]. Степень чистоты препаратов оценивали по активности маркерных ферментов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы и 5'-нуклеотидазы [9, 10]. Активность этих ферментов в мембранах микроворсин была повышена по сравнению с таковой в гомогенатах плаценты в 7,5 раз и 8,2 раза соответственно. Показатели активности Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазы в плацентарной ткани составили 3,92±0,31 нмоль P<sub>i</sub>/мин×мг белка, а в мембранах микроворсин – 29,25±2,5 нмоль P<sub>i</sub>/мин×мг белка. Для 5'-нуклеотидазы эти величины соответственно составляли 2,84±0,23 нмоль P<sub>i</sub>/мин×мг белка и 23,24±2,07 нмоль P<sub>i</sub>/мин×мг белка.

О посттрансляционных изменениях ядерных и мембранных белков (амидировании, аминировании, карбонилировании) судили по количеству их амидных, аминных групп и карбонильных производных. Количество амидных групп определяли по уровню аммиака, отщепившегося после 10-минутного и 2-часового гидролиза в 0,5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в классической реакции несслеризации. Содержание белковых аминокислот оценивали по разности между концентрацией общего аминокислородного азота в экстрактах изучаемых белков и остаточного аминокислородного азота после осаждения белков раствором 20% трихлоруксусной кислоты. Метод основан на взаимодействии аминокислот с суспензией фосфорнокислой меди и диэтилдитиокарбаматом. Интенсивность окраски продукта реакции измеряли спектрофотометрически на спектрофотометре Evolution 300 (“Thermo Fisher Scientific”, США) [9]. О степени окислительной модификации белков судили по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков (карбонильных производных) с 2,4-динитрофенилгидразином, конечные продукты которой регистрировали при длине волны 363 нм [11].

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 6.0 фирмы “StatSoft Inc.”). Оценка характера распределения данных с помощью критерия Шапиро-Уилка свидетельствует об их нормальном распределении. Данные представлены в виде среднего значения (M), стандартного отклонения (SD) и 95% доверительного интервала (95%CI). Статистическую значимость различий между сравниваемыми показателями определяли по критерию Стьюдента (t-критерий) для независимых выборок. Корреляционный анализ выполнен с использованием критерия Пирсона и расчётом коэффициента корреляции r. Результаты оценивали как статистически значимые при p<0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют об изменении продукции белков ядер и клеточных мембран плаценты при осложненной беременности по сравнению с аналогичными показателями

в контрольной группе (табл. 1). Как следует из таблицы 1, содержание общих гистонов при ПН снижается на 22,8% ( $p=0,015$ ). Наблюдается также перераспределение основных фракций гистонов. Проведённые исследования позволили разделить гистоны на 5 фракций – Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4 с молекулярными массами: 20,5 кДа, 14,5 кДа, 13,9 кДа, 15,4 кДа, 10,7 кДа. Относительное содержание отдельных фракций гистонов от их общего содержания приведено на рисунке 1. Для фракций от Н1 до Н3 имеет место снижение их количества в плаценте женщин основной группы относительно контрольной,

причём наиболее выраженное снижение отмечено для фракции Н2А (на 42,4%,  $p=0,001$ ), меньшее – для Н2В (на 16,6%,  $p=0,023$ ). Для наиболее подвижной в электрофоретическом поле фракции Н4 характерно повышение её уровня на 24,0% ( $p=0,022$ ). Денситограммы разделенных в ПААГ фракций гистонов при физиологической и осложнённой беременности представлены на рисунке 2. Содержание негистоновых белков хроматина плаценты при ПН снижается в большей степени (на 39,5%,  $p=0,001$ ), чем гистонов. Причём уровень этих белков примерно в 10 раз выше такового гистонов.

Таблица 1. Содержание плацентарных гистонов, негистоновых белков хроматина (в мг/100 г ткани) и мембранных белков (в мг/г ткани) при физиологической беременности и плацентарной недостаточности

Показатель	Физиологическая беременность ( $n=28$ )	Плацентарная недостаточность ( $n=32$ )	$p$
Гистоны общие (Н)	29,8 (11,64) [25,49-34,11]	23,1 (9,05) [21,5-26,24]	0,015
Фракции гистонов			
Н1	5,2 (3,17) [4,6-6,38]	3,6 (1,13) [3,4-3,99]	0,010
Н2А	7,3 (3,17) [6,7-8,48]	4,2 (2,26) [3,8-4,98]	0,001
Н2В	4,2 (1,59) [3,9-4,79]	3,5 (0,57) [3,4-3,7]	0,023
Н3	8,1 (3,7) [7,4-9,47]	5,6 (2,26) [5,2-6,38]	0,002
Н4	5,0 (1,59) [4,7-5,59]	6,2 (2,26) [5,8-6,98]	0,022
Негистоновые (кислые) белки хроматина	352,3 (156,63) [322,7-410,32]	212,8 (86,55) [197,5-242,79]	0,001
Мембранные белки, солюбилизованные тритоном X-100	39,5 (13,23) [37,0-44,4]	30,1 (11,88) [28,0-34,22]	0,005
Мембранные белки, солюбилизованные ДДС-Na	25,7 (11,64) [23,5-30,01]	16,9 (8,49) [15,4-19,84]	0,001

Примечание. Данные представлены в виде М (SD) и [95% CI].  $p$  – статистическая значимость между показателями при физиологической и осложнённой беременности.

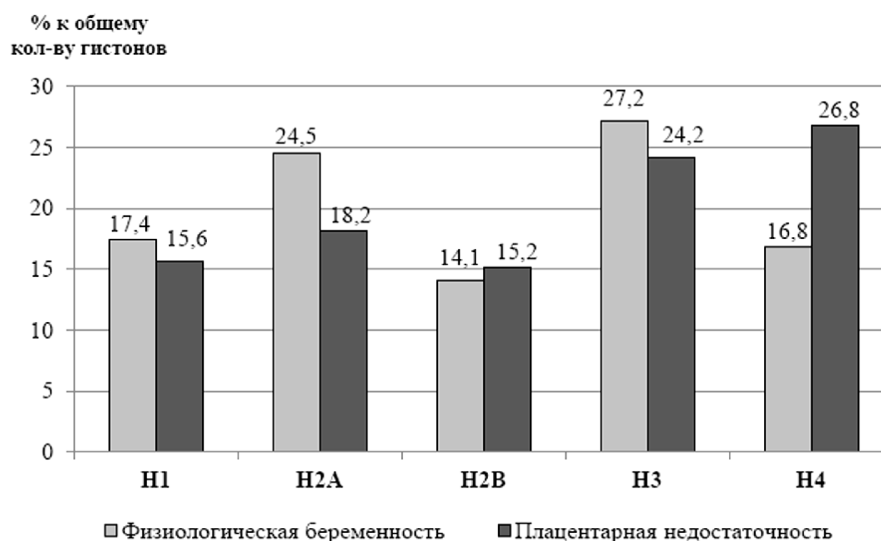


Рисунок 1. Относительное содержание фракций гистонов от общего содержания гистонов в плаценте при физиологической беременности и ПН.

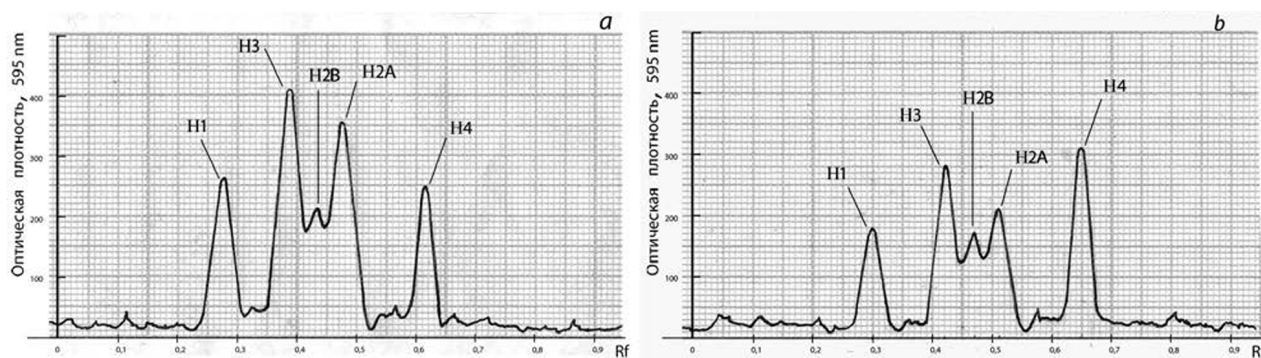


Рисунок 2. Денситограммы фракций гистонов плаценты при физиологической беременности (а) и ПН (б).

Таблица 2. Интенсивность посттрансляционных модификаций белков хроматина и мембранных белков (ммоль/г белка) при физиологической беременности и плацентарной недостаточности

Показатель	Физиологическая беременность (n=28)		Плацентарная недостаточность (n=32)		$p_1$	$p_2$
	Белки хроматина	Мембранные белки	Белки хроматина	Мембранные белки		
Амидные группы общие	63,5 (26,99) [60,2-75,3]	75,2 (32,28) [69,1-87,16]	43,0 (19,23) [39,6-49,66]	44,3 (16,97) [27,33-77,56]	0,001	0,001
Амидные группы легкогидролизуемые	14,9 (5,82) [13,8-17,06]	12,6 (4,76) [11,7-14,36]	11,7 (3,96) [11,0-13,07]	9,9 (3,39) [6,51-16,54]	0,015	0,013
Амидные группы трудногидролизуемые	49,2 (20,11) [45,4-56,65]	62,6 (30,69) [56,8-73,97]	29,7 (13,58) [27,3-34,4]	41,2 (18,10) [38,0-47,47]	0,001	0,001
Аминные группы	20,3 (9,00) [18,6-23,63]	21,4 (11,11) [19,3-25,52]	14,6 (6,22) [13,5-16,76]	11,9 (10,18) [10,10-15,43]	0,006	0,001
Карбонильные производные	3,2 (1,06) [3,0-3,59]	4,7 (2,12) [4,3-5,48]	4,1 (1,70) [3,8-4,69]	6,9 (2,83) [6,4-7,88]	0,019	0,001

Примечание. Данные представлены в виде М (SD) и [95% CI]. Статистическая значимость между показателями при физиологической беременности и ПН:  $p_1$  – для белков хроматина;  $p_2$  – для мембранных белков.

Что касается мембранных белков плаценты, то общее их содержание у женщин основной группы уменьшается на 31,0% ( $p=0,01$ ). Изменяется и соотношение белков, экстрагируемых разными детергентами. При физиологической беременности уровень белков во фракции, полученной с помощью тритона X-100, составляет 60,6% от общего количества мембранных белков. Дальнейшая обработка белков (не экстрагируемых тритоном X-100) раствором ДДС-Na способствует дополнительной солиubilизации мембранных протеинов. При ПН содержание белков тритонного экстракта снижается на 23,8% ( $p=0,005$ ). Для белков, солиubilизированных ДДС-Na, снижение равно 34,2% ( $p=0,001$ ). Следует подчеркнуть, что при ПН соотношение белков первого и второго экстрактов составляет 1,52, а при нормальной беременности величина этого важного коэффициента, отражающего различия в структуре белков – 1,78.

Наряду с изменением интенсивности продукции изученных белков плаценты установлена их посттрансляционная модификация (табл. 2). Снижается амидированность: общий уровень амидных групп в белках хроматина плаценты женщин основной группы ниже аналогичной величины в контрольной группе на 32,3% ( $p=0,001$ ). Причём меняется соотношение между легко- и трудногидролизуемыми

группами, поскольку содержание последних уменьшается в большей степени (на 39,6%,  $p=0,001$ ), чем первых (на 21,5%,  $p=0,015$ ). Коэффициент отношения легкогидролизуемых амидных групп к трудногидролизуемым возрастает на 30% ( $p=0,015$ ). Уровень амидных групп уменьшается и в мембранных белках: для легкогидролизуемых амидных групп уменьшение составляет 21,4% ( $p=0,013$ ), для трудногидролизуемых – 34,2% ( $p=0,001$ ). Подобно ядерным белкам, коэффициент отношения амидных групп различной степени гидролизуемости в белках мембран при осложнённой беременности относительно нормальных показателей увеличивается, но в меньшей степени – на 20% ( $p=0,045$ ).

Помимо модификации амидированности белков обеих субклеточных фракций при ПН изменяется и содержание в них аминных групп. Для ядерных белков установлено снижение уровня аминных групп на 28,0% ( $p=0,006$ ), для мембранных более выраженное – на 44,4% ( $p=0,001$ ).

Противоположная динамика наблюдается для интенсивности карбонилирования. Содержание карбонильных производных, представляющих собой окисленные аминокислотные остатки белков, увеличивается в хроматине на 28,1% ( $p=0,019$ ), а в плазматических мембранах – на 46,8% ( $p=0,001$ ).

Выявленные изменения состава и структуры белков субклеточных фракций плаценты на фоне развития осложненной беременности, несомненно, приводят к дальнейшим метаболическим и функциональным нарушениям, которые по принципу обратной связи способны усиливать модификацию белковой молекулы. Изменение состава ядерных белков в связи с их участием в регуляции матричной активности хроматина может отражаться на интенсивности синтеза нуклеиновых кислот. Различная степень и направленность изменения уровня разных фракций гистонов на фоне снижения общего содержания этих белков, по-видимому, связана с особенностями их химической структуры. Они являются основными белками, поскольку содержат большое количество диаминокислот – лизина и аргинина. Соотношение этих аминокислот в гистонах с разной электрофоретической подвижностью различно: лизин преобладает в менее подвижных фракциях, а аргинин – в более подвижных, отличающихся особенно высокой интенсивностью регуляции экспрессии генов [12]. Такое распределение этих аминокислот во фракциях гистонов согласуется с динамикой их содержания в плаценте при осложненной беременности: уровень лизина снижается, а аргинина – возрастает [13]. Очевидно, с этим в определённой мере связано повышение содержания быстрой фракции и уменьшение более медленных фракций.

Поскольку на долю негистонов, являющихся кислыми белками, лабильно связанными с ДНК, приходится около 20% от общего количества ядерных белков, снижение их количества также будет существенно влиять на функциональную активность хроматина в связи с участием негистоновых белков в подготовке тканей к митозу и способностью депрессировать матричную активность ДНК [14]. Кроме того, уменьшение содержания негистонов, являющихся акцепторными участками хроматина для стероид-рецепторных комплексов, может способствовать гормональному дисбалансу в фетоплацентарной системе.

На развитие ПН, очевидно, влияет и снижение количества мембранных белков, интенсивность которого зависит от характера солюбилизации тем или иным детергентом. Последний определяется особенностями структуры детергентов, в зависимости от которой солюбилизируются белки с разными физико-химическими свойствами, что расширяет информативность результатов. Изменение степени солюбилизации различными детергентами, вероятно, свидетельствует о модификации гидрофобных взаимодействий в белок-липидных компонентах мембран [15], что в определённой степени подтверждается большей интенсивностью снижения белков, солюбилизируемых додецилсульфатом натрия. Сдвиги в белковом составе мембран плаценты могут быть вызваны различными причинами, в том числе усилением действия пептидгидролаз, которое имеет место при осложнении беременности [16]. Гидролитическая деструкция белков изменяет их свойства, что подтверждают результаты исследования посттрансляционной модификации белков.

Изменение количества общих амидных групп, особенно соотношения амидов разной устойчивости (в большей степени прочносвязанных), свидетельствует о глубокой перестройке как мембранных, так и ядерных белков, отражающейся на их физико-химических свойствах. Она, очевидно, сопровождается перераспределением водородных и электростатических взаимодействий в белковой молекуле, в результате которого понижается уровень структурных барьеров, защищающих пептидные связи от протеолитических атак. К снижению устойчивости белков к действию факторов, нарушающих их структуру, приводит также уменьшение степени аминированности.

Повышение степени карбонилирования изученных белков, особенно мембранных, свидетельствует об их окислительной модификации, поскольку карбонильные производные образуются при окислении белков в условиях хронической гипоксии и гиперпродукции активных форм кислорода, обусловленной нарушением баланса про- и антиоксидантов. Эти процессы характерны для ПН [17, 18]. Выявленное усиление окислительной деструкции белков субклеточных фракций плаценты, оцененное по уровню карбонильных производных, может сопровождаться нарушением различных уровней структуры белков: не только боковых цепей аминокислотных остатков, но и окислением самого скелета белковой молекулы, в частности, в области  $\alpha$ -углеродного атома [19, 20]. Образование карбонильных производных сопровождается фрагментацией белков, что также повышает их чувствительность к действию протеолитических систем. Поскольку карбонилирование аминокислотных цепей происходит в соответствующих дезаминированных участках, мы провели корреляционный анализ между содержанием аминных групп и карбонильных производных. Между этими показателями установлена обратная взаимосвязь: коэффициент корреляции ( $r$ ) равен -0,87 ( $p=0,042$ , 95%СІ 0,83-0,91).

Оценивая полученные результаты можно ещё раз отметить, что при ПН имеет место изменение продукции белков субклеточных фракций, а также их посттрансляционная модификация. Анализируя возможные последствия выявленных нарушений, следует подчеркнуть, что, с учётом функций мембранных белков в клеточном метаболизме, важное значение среди них будут иметь: ухудшение внутри- и межклеточного перехода различных веществ, необходимых плоду для обеспечения трофических процессов, снижение рецепции первичных сигнальных молекул и вторичных мессенджеров, осуществляющих передачу внеклеточного сигнала к эффекторным системам клетки. Поскольку плацента является органом, выполняющим многообразные биохимические и физиологические функции, поддержание оптимальных соотношений в системе её внутриклеточной регуляции необходимо для их полноценного осуществления. Изменение данных механизмов регуляции может служить одной из ведущих причин нарушения метаболических процессов в самой плаценте и гомеостаза

всего фетоплацентарного комплекса. В связи с важными функциями ядерных белков не вызывает сомнения, что изменение их количественных и качественных характеристик, подобно модификации мембранных белков, может сопровождаться глубокими молекулярно-клеточными повреждениями, приводящими к дисфункции плаценты.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что формирование ПН происходит на фоне нарушения экспрессии ядерных и мембранных белков, выполняющих различные регуляторные функции, особенно важные для такого быстро развивающегося органа как плацента. Кроме того, помимо изменения общего количества этих белков и соотношения отдельных фракций (для гистонов хроматина), происходит их структурная модификация: снижается степень амидирования и аминирования, а также повышается окислительное карбонилирование. Эти изменения приводят к повреждению различных уровней структуры белковых молекул. Данные изменения с учётом того факта, что они происходят на трансляционном и посттрансляционном уровне регуляции протеосинтеза, могут служить молекулярной основой метаболических и, как следствие, функциональных нарушений в плаценте при ПН.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Информированное согласие на использование биоматериала для научных исследований было получено от всех пациентов. 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 одобрены Этическим комитетом НИИАП от 23.05.2017.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Стрижаков А.Н., Волощук И.Н., Тимохина Е.В. (2010) Вопросы гинекологии, акушерства перинатологии, **9**(2), 5-11. [Strizhakov A.N., Voloshchuk I.N., Timokhina E.V. (2010) Voprosy Ginekologii, Akusherstva i Perinatologii, **9**(2), 5-11.]
2. Стрижаков А.Н., Липатов И.С., Тезиков Ю.В. (2014) Плацентарная недостаточность. ООО "Офорт", Самара, 239 с. [Lipatov I.S., Tezikov Y.V., Strizhakov A.N. (2014) Platsentarnaya nedostatochnost'. ООО "Ofort", Samara.]
3. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Линева О.И., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Мартынова Н.В., Овчинникова М.А., Добродицкая А.Д. (2017) Акушерство и гинекология, №9, 64-71. [Lipatov I.S., Tezikov Y.V., Lineva O.I., Tyutyunnik V.L., Kan N.E., Martynova N.V., Ovchinnikova M.A., Dobroditskaya A.D. (2017) Akusherstvo i Ginekologiya, **2017**(9), 64-71.]
4. Anagnostopoulos A.K., Tsangaris G.T. (2013) Clin. Biochem., **46**(6), 487-496.
5. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Нюкашина А.А. (2017) Российский вестник акушера-гинеколога, **17**(1), 4-8. [Pogorelova T.N., Gunko V.O., Nikashina A.A. (2017) Rossiyskiy Vestnik Akushera-Ginekologa, **17**(1), 4-8.]
6. Nabbi A., Riabowol K. (2015) Cold Spring Harb. Protoc., **2015**(8), 773-776.
7. Shechter D., Dormann H.L., Allis C.D., Hake S.B. (2007) Nat. Protoc., **2**(6), 1445-1457.
8. Jimenez V., Henriquez M., Llanos P., Riquelme G. (2004) Placenta, **25**(5), 422-437.
9. Cooper G.R. (ed.) (1972) Standard methods of clinical chemistry: by the American association of clinical chemists (volume 7). Academic Press, New York; London.
10. Costa A.R., Real J., Antunes C.M., Cruz-Moraes J. (2010) In Vitro Cell Dev. Biol. Anim., **46**(1), 7-10.
11. Чиркина А.А. (ред.) (2013) Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учеб. пособие. Вышэйшая школа, Минск. 439 с. [Chirkina A.A. (ed.) (2013) Sovremennye problemy biokhimii. Metody issledovaniy: ucheb. posobie. Vyshehshaya shkola, Minsk]
12. Ordog T., Syed S.A., Hayashi Y., Asuzu D.T. (2012) Neurogastroenterol. Motil., **24**(12), 1054-1068.
13. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Авруцкая В.В., Каушанская Л.В., Дурницына О.А. (2017) Биомед. химия, **63**(3), 266-271. [Pogorelova T.N., Gunko V.O., Avrutskaya V.V., Kaushanskaya L.V., Durnitsyna O.A. (2017) Biomed. Khimiya, **63**(3), 266-271.]
14. Hnilica L.S. (ed.) (2019) Chromosomal Nonhistone Protein: Volume IV: Structural Associations. CRC Press, Boca Raton.
15. L'Italien J.J. (ed.) (2012) Proteins: Structure and Function. Plenum Press, New York.
16. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Линде В.А. (2015) Российский вестник акушера-гинеколога, **15**(2), 10-13. [Pogorelova T.N., Gunko V.O., Linde V.A. (2015) Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa, **15**(2), 10-13.]
17. Wu F., Tian F.J., Lin Y., Xu W.M. (2016) Am. J. Reprod. Immunol., **76**(4), 258-271.
18. Schoots M.H., Gordijn S.J., Scherjon S.A., van Goor H., Hillebrands J.L. (2018) Placenta, **69**, 153-161.
19. Suzuki Y.J., Carini M., Butterfield D.A. (2010) Antioxid. Redox Signal., **12**(3), 323-315.
20. Wong C.M., Bansal G., Marcocci L., Suzuki Y.J. (2012) Redox Rep., **17**(2), 90-94.

Поступила в редакцию: 21. 08. 2019.  
После доработки: 29. 10. 2019.  
Принята к печати: 31. 10. 2019.

**IMPAIRMENT OF PRODUCTION AND POSTTRANSLATIONAL CHANGES OF PLACENTAL NUCLEAR AND MEMBRANE PROTEINS WITH COMPLICATED PREGNANCY**

***T.N. Pogorelova<sup>1\*</sup>, V.O. Gunko<sup>1</sup>, A.A. Nikashina<sup>1</sup>, A.A. Mikhelson<sup>1</sup>, I.A. Alliluev<sup>1,2</sup>, A.V. Larichkin<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Scientific-Research Institute of Obstetrics and Pediatrics of Rostov State Medical University, 43 Mechnikova str., Rostov-on-Don, 344012 Russia; \*e-mail: tnp.miiap@yandex.ru

<sup>2</sup>Academy of Biology and Biotechnology of the South Federal University, Rostov-on-Don, Russia

The content of nuclear and membrane proteins of the placenta, as well as posttranslational modification of these proteins in physiological pregnancy and placental insufficiency (PI) were studied. Differential centrifugation, electrophoresis in polyacrylamide gel, spectrophotometric methods were used. It was found that with PN there is a decrease in the degree of production of the studied proteins of varying degrees relative to control parameters. For chromatin proteins, a more pronounced decrease in the content of non-histone proteins was found in comparison with histones. Among histone fractions, the maximum decrease was detected in the H2A fraction. The degree of change in the amount of membrane proteins depends on the detergent used. Changes in posttranslational protein modifications disorders are characterized by a decrease in the content of amine and amide (especially difficult to hydrolyze) groups and an increase in carbonyl derivatives of proteins. The revealed changes in the composition and structure of the nuclear and membrane proteins of the placenta, performing numerous regulatory functions, can be triggering links in the chain of molecular damage in the placenta at PI.

**Key words:** nuclear and membrane proteins; placental tissue; placental insufficiency

Received: 21.08.2019, revised: 29.10.2019, accepted: 31.10.2019.