

<https://doi.org/10.17116/rosakush201818110-14>

Информативность содержания и свойств белков-маркеров молекулярно-клеточных процессов в околоплодных водах для оценки состояния фетоплацентарного комплекса

Д.б.н., проф. Т.Н. ПОГОРЕЛОВА*, к.б.н. В.О. ГУНЬКО, к.б.н. А.А. НИКАШИНА, д.м.н. В.В. АВРУЦКАЯ, А.В. ЛАРИЧКИН

Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии Ростовского государственного медицинского университета Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

Цель исследования — изучить протеомный профиль и посттрансляционные изменения белков околоплодных вод при физиологической и осложненной плацентарной недостаточностью беременности. **Материал и методы.** Обследованы 42 беременные, у 20 из которых беременность осложнилась компенсированной плацентарной недостаточностью, у 22 беременность протекала без осложнений. Белковый профиль изучали с использованием высокоразрешающего двухмерного электрофореза и время-пролетной масс-спектрометрии. Функциональные группы (амидные и аминные) белков определяли спектрофотометрически, измеряя интенсивность окраски конечных продуктов биохимических реакций в видимой части спектра. С целью верификации плацентарной недостаточности проведено гистологическое исследование плацентарной ткани. **Результаты.** При плацентарной недостаточности в околоплодных водах во II триместре не выявлены 8 белков по сравнению с белковым спектром при физиологической беременности, количество отсутствующих белков при плацентарной недостаточности в III триместре увеличивалось до 11. Среди них белки, контролирующие рост и развитие плода, его адаптацию к внутриутробному существованию, белки, регулирующие баланс про- и антиоксидантных процессов, участвующие в механизмах биологического окисления и обеспечении клеток энергией; 3 белка, не выявленные при физиологической беременности во II и III триместрах, напротив, были обнаружены при плацентарной недостаточности, еще 1 белок, усиливающий апоптоз, секрецию эмбриотоксических цитокинов, идентифицированы только во II триместре. При плацентарной недостаточности выявлены также посттрансляционные изменения белков околоплодных вод. Снижено количество аминных и амидных групп, увеличено соотношение между легко- и трудногидролизруемыми группами. **Заключение.** Выявленные изменения состава и свойств белков околоплодных вод могут быть первичными звеньями в цепи молекулярных повреждений в фетоплацентарном комплексе при плацентарной недостаточности.

Ключевые слова: околоплодные воды, белки, функциональные группы белков, компенсированная плацентарная недостаточность.

The informative value of the levels and properties of marker proteins for molecular and cellular processes in the amniotic fluid for the assessment of the fetoplacental complex

Prof. T.N. POGORELOVA, Biol.D; V.O. GUNKO, Cand. Biol. Sci.; A.A. NIKASHINA, Cand. Biol. Sci.; V.V. AVRUTSKAYA, MD; A.V. LARICHKIN

Research Institute of Obstetrics and Pediatrics, Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russia

Objective — to study the proteomic profiling and posttranslational modifications of amniotic fluid proteins during physiological and placental insufficiency-complicated pregnancy. **Subject and methods.** Examinations were made in 42 pregnant women, of whom 20 had pregnancy complicated by compensated placental insufficiency and 22 had uncomplicated pregnancy. Protein profiles were studied using high-resolution two-dimensional electrophoresis and time-of-flight mass spectrometry. Amide and amine protein functional groups were determined spectrophotometrically, by measuring the color intensity of the end-products of biochemical reactions in the visible region of the spectrum. Placental tissue was histologically examined to verify placental insufficiency. **Results.** Eight proteins were not found in second-trimester placental insufficiency in the amniotic fluid as compared with the protein spectrum during physiological pregnancy, the number of missing proteins in third-trimester placental insufficiency increased to 11. Among these, there were proteins controlling the growth and development of the fetus, its adaptation to intrauterine existence, proteins regulating a balance between pro- and antioxidative processes, which were involved in the mechanisms of biological oxidation and cell energy provision; 3 proteins undetected in second- and third-trimester physiological pregnancy were, on the contrary, found in placental insufficiency; one more protein increasing apoptosis, the secretion of embryotoxic cytokines were identified only in the second trimester. Posttranslational modifications of amniotic fluid proteins were also found in placental insufficiency. There was a decline in the number of amine and amide groups and an increase in the ratio of readily and hardly hydrolyzable groups. **Conclusion.** The revealed changes in the composition and properties of amniotic fluid proteins can be primary components in the chain of molecular damages in the fetoplacental complex in placental insufficiency.

Keywords: amniotic fluid, proteins, protein functional groups, compensated placental insufficiency.

Одним из аспектов применения современных постгеномных технологий является клиническая протеомика, основной раздел которой — выявление белков отличия (дифференциально-экспрессирующихся белков) в норме и при патологии. Идентификация этих белков и определение их посттрансляционных изменений¹ расширяют возможности молекулярной диагностики [1–3]. Чрезвычайно важны такие исследования в области акушерства, перинатологии и неонатологии, где они наряду с практическим значением позволяют выяснить ранее неизвестные механизмы развития осложненной беременности. Среди лидирующих акушерских причин, приводящих к пре- и перинатальной патологии, особое место занимает плацентарная недостаточность (ПН; МКБ-10: O36.5), представляющая собой срыв адаптационно-гомеостатических реакций плаценты, ее неспособность поддерживать адекватный обмен между организмом матери и плодом [4, 5]. При срыве гомеостатических механизмов в протеоме² наступают нарушения, которые проявляются в изменении состава, структуры и свойств белков, выполняющих многочисленные регуляторные функции.

Информативным объектом протеомных исследований при беременности являются околоплодные воды, белки которых имеют как материнское, так и фетоплацентарное происхождение. Это позволяет наиболее полно оценить дисбаланс в системе мать—плацента—плод, выявить белки—маркеры осложненного течения гестации и пренатальной патологии, а также дает возможность прогнозировать состояние новорожденного. Несмотря на несомненную важность исследования протеомного спектра околоплодных вод при физиологической и патологической беременности, немногочисленны и неоднозначны [6–8], а при ПН отсутствуют.

В связи с изложенным целью настоящей работы явилось изучение протеомного профиля и посттрансляционных изменений белков околоплодных вод в разные сроки физиологической беременности и осложненной ПН для выявления белков—маркеров акушерской патологии.

Материал и методы

В исследование включены 42 женщины в возрасте 20–29 лет ($24,6 \pm 0,4$ года), составившие две группы. В 1-ю группу вошли 22 клинически здоровые женщины с неосложненным течением беременности и родами в срок (контрольная группа). Во 2-ю — 20 женщин, доношенная беременность у которых осложнилась компенсированной ПН, верифицированной после родов (основная группа). Все пациентки наблюдались и обследовались в консультативной поликлинике Ростовского НИИ акушерства и педиатрии. По возрасту, индексу массы тела, паритету беременностей и родов, экстрагенитальной и гинекологической патологии женщины обследуемых групп были сопоставимы. Диагноз ПН поставлен на основании комплексного клинико-лабораторного обследования, включающего оценку биофизического профиля плода, результатов кардиотокографии, определения интенсивности фетоматочной плацентарной кровотока, а также определения

¹Посттрансляционные изменения — модификация белка после синтеза полипептидной цепи на рибосоме.

²Протеом — совокупность белков, экспрессируемых геномом исследуемого биологического объекта.

сывороточной активности специфических плацентарных изоферментов [9]. Диагноз ПН был верифицирован при гистологическом исследовании плацентарной ткани.

В исследование не были включены пациентки с декомпенсированными формами соматических заболеваний, многоплодной беременностью, признаками преэклампсии, аутоиммунной патологией. Все включенные в исследование пациентки дали информированное согласие на расширенный алгоритм обследования. Проведение исследования разрешено этическим комитетом НИИ акушерства и педиатрии. У пациенток обеих групп питание было полноценным и сбалансированным по основным ингредиентам. Масса тела у них до наступления беременности была нормальной. Во время беременности наблюдались адекватные прибавки массы тела.

Во II триместре беременности пациентки основной группы были госпитализированы в отделение патологии беременных, где им проводилась терапия плацентарной дисфункции на основании Федеральных стандартов и порядка оказания помощи в акушерстве и гинекологии (Приказ №572н от 02.04.13).

Исследования проведены в околоплодных водах, взятых в сроке гестации 18–20 и 39–40 нед. В первом случае околоплодные воды получали путем трансабдоминального амниоцентеза для исключения хромосомных аномалий у плода. Во втором случае — при вскрытии плодного пузыря в первом периоде родов.

Фракционирование белков проводили методом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле. Идентификацию белков после вырезания пятен из геля и процедуры трипсинолиза осуществляли методом время-пролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS) с использованием программы Mascot MS Search (Matrix Science, Великобритания) и баз данных NCBI и Swiss-Prot.

О степени амидированности (наличие амидных групп) белков судили по уровню аммиака, отщепившегося после 10-минутного и 2-часового гидролиза белков в однонормальном растворе H_2SO_4 с помощью реакции несселеризации [10]. Содержание белковых аминокислот оценивали спектрофотометрически по интенсивности окраски конечного продукта реакции между аминокислотами, суспензией фосфорнокислой меди и диэтилдитиокарбаматом [11].

Статистическую обработку данных протеомных исследований осуществляли с использованием лицензионного пакета программ Statistica (версия 6.0. фирмы «Stat-Soft. Inc.») и Excel 2003. Достоверность различий между сравниваемыми группами для каждого белка определяли с помощью критерия χ^2 и четырехпольных таблиц сопряженности при анализе качественных признаков. Статистическую обработку результатов изучения функциональных групп белков проводили по той же программе. Достоверность различий определяли по *t*-критерию Стьюдента. Результаты оценивали как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Гистологическое исследование плацентарной ткани у женщин основной группы выявило наличие участков кальциноза, фиброза, гипертрофики ворсин, мелкие межворсинчатые кровоизлияния и лимфоцитарную инфильтрацию. В последах пациенток контрольной группы видимых изменений материнской и плодовой повер-

Таблица 1. Белки околоплодных вод, идентифицированные в динамике физиологической беременности и при плацентарной недостаточности

№	Название белка	№ в базе Swiss-Prot	Локус гена	Mm, кДа	pI	II триместр		III триместр	
						ФБ	ПН	ФБ	ПН
1	Белок S100-A8 (кальгранулин А) (S100 Calcium Binding Protein A8 (Calgranulin A))	P05109	1q21.3	10,8	6,61	—	—	+	—*
2	Белок S100-A9 (кальгранулин В) (S100 Calcium Binding Protein A9 (Calgranulin B))	P06702	1q21.3	13,2	5,2	—	—	+	—*
3	Эпидермальный белок, связывающий жирные кислоты (Fatty Acid Binding Protein 5)	Q01469	8q21.13	15,2	6,18	+	—*	+	—*
4	Транстиретин (Transthyretin)	P02766	18q12.1	15,9	5,38	—	—	+	—*
5	Ферритин (Ferritin)	P02792	19q13.33	20,0	5,1	+	—*	+	—*
6	Пероксиредоксин-2 (Peroxiredoxin 2)	P32119	19p13.13	21,9	5,3	+	—*	+	—*
7	Нейрокальцин дельта (Neurocalcin delta)	P61601	8q22.3	22,3	6,15	—	+	—	—
8	Ретинол-связывающий белок 4 (Retinol Binding Protein 4)	P02753	10q23.33	23,0	6,5	+	—*	+	—*
9	NKG2D лиганд-2 (NKG2D Ligand 2)	Q9BZM5	6q25.1	27,4	6,03	—	+	—	+
10	Белок-1, связывающий инсулиноподобный фактор роста (Insulin Like Growth Factor Binding Protein 1)	P08833	7p12.3	27,9	5,75	+	—*	+	—*
11	Цинк- α -2-гликопротеин (Alpha-2-Glycoprotein 1, Zinc-Binding)	P25311	7q22.1	34,3	6,02	—	+	—	+
12	CDC37-подобный белок 1 (CDC37 Cell Division Cycle 37 Homolog-Like 1)	Q7L3B6	9p24.1	38,8	5,93	—	+	—	+
13	Гаптоглобин (Haptoglobin)	P00738	16q22.2	45,2	5,84	+	—*	+	—*
14	Трансферрин (Transferrin)	P02787	3q22.1	76,5	5,7	+	—*	+	—*
15	Церулоплазмин (Ceruloplasmin)	P00450	3q25.1	122,2	4,4	+	—*	+	—*

Примечание. * — появление или отсутствие белков при плацентарной недостаточности относительно физиологической беременности статистически значимо ($p < 0,001$); pI — изоэлектрическая точка; Mm — молекулярная масса, «+» — наличие белка, «—» — отсутствие белка; ФБ — физиологическая беременность.

ностей не обнаружено, в ряде случаев отмечались небольшие участки фибриноидных масс, умеренная гиповаскуляризация, незначительная лимфоцитарная инфильтрация децидуальной ткани.

Проведенные исследования свидетельствуют об изменении спектра белков околоплодных вод при ПН (табл. 1). Причем определенные различия наблюдаются уже во II триместре гестации, когда регистрируется отсутствие 8 идентифицированных белков, характерных для аналогичного периода нормальной беременности (белки отличия).

Отсутствие белка-1, связывающего инсулиноподобный фактор роста (ИПФР), модулирующего биологическую активность этого фактора роста, очевидно, отражается на процессах роста и развития плода [12]. Нарушение синтеза и, как следствие, снижение секреции в околоплодные воды неферментативных антиоксидантов церулоплазмينا, гаптоглобина и антиоксидантного фермента пероксиредоксина-2 может способствовать усилению окислительных процессов (вплоть до окислительного стресса) и развитию внутриутробной гипоксии, развивающейся при ПН [13].

Поскольку жизнедеятельность плода зависит от доставки материнского ретинола, отсутствие ретинол-связывающего белка-4, сопровождающееся ухудшением снабжения плода витамином А, нарушает его нормальное развитие [14]. Подобная направленность при ПН продукции эпидермального белка, связывающего жирные кис-

лоты, очевидно, сопровождается снижением трансмембранных реакций, клеточной дифференцировки и пролиферации в фетоплацентарном комплексе в связи с участием данного белка в этих процессах при физиологической беременности [15]. Отсутствие ферритина и трансферрина в околоплодных водах при ПН свидетельствует о нарушении депонирования железа, играющего важную роль в механизмах биологического окисления и обеспечении организма энергией [16].

В околоплодных водах, полученных в III триместре осложненной беременности, количество отсутствующих белков увеличивается. Кроме вышеописанных белков, отличия II триместра в конце осложненной беременности по сравнению с нормальным протеомным спектром околоплодных вод не обнаружены транстиретин, кальгранулины А и В. Такая динамика содержания кальгранулинов, по-видимому, связана с их участием в процессах регуляции сократительной активности миометрия посредством Ca^{2+} -зависимых реакций [17]. Появление трансферритина в конце нормальной беременности может объясняться необходимостью обеспечения организма плода тиреоидными гормонами для его адаптации к внеутробному существованию.

Наряду с отсутствием в околоплодных водах при ПН ряда белков во II и III триместрах выявлено появление дополнительных белков, не обнаруженных при физиологической беременности. Изменение их количества, вероят-

Таблица 2. Содержание амидных и аминных групп белков околоплодных вод в динамике физиологической беременности и при плацентарной недостаточности ($M \pm m$)

Показатель	II триместр		III триместр	
	Физиологическая беременность	ПН	Физиологическая беременность	ПН
Общие амидные группы, мкмоль на 1 г белка	77,2±4,1	59,1±3,6***	85,6±6,3	58,4±4,3***
Легкогидролизуемые амидные группы, мкмоль на 1 г белка	10,42±0,61	8,1±0,45**	15,31±0,92	12,25±0,64**
Трудногидролизуемые амидные группы, мкмоль на 1 г белка	66,3±4,1	45,4±2,8***	75,6±5,6	49,2±4,2***
Аминные группы, мкмоль на 1 г белка	15,6±1,2	11,3±0,8**	17,6±1,4	12,9±0,9**

Примечание. Достоверность различий относительно показателей контрольной группы: ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

но, играет важную роль в механизмах развития данной патологии. Так, экспрессия NKG2D лиганда-2, усиливающего секрецию эмбриотоксических цитокинов, способна привести к активации апоптоза [18].

Аналогичную роль, очевидно, играет появление цинк- α -2-гликопротеина, который опосредованно участвует в процессах апоптоза [19]. По-видимому, модификация и таких, регулируемых этим белком процессов, как пролиферация, клеточная дифференциация вносит определенный вклад в развитие осложненной беременности. Вряд ли остается без последствий и появление CDC37-подобного белка, контролирующего смену фаз клеточного цикла и интенсивность пролиферативных процессов [20].

Помимо указанных дополнительных белков, характерных для обоих триместров, в 18—20 нед беременности, осложненной ПН, идентифицирован еще один белок, который отсутствует в 39—40 нед при этой акушерской патологии: нейрокальцин дельта. Усиление продукции нейрокальцина дельта, участвующего в ингибировании нейронального апоптоза [21], можно рассматривать как компенсаторный процесс, предотвращающий переход апоптоза в апонекроз в структурах мозга плода. Это особенно важно во II триместре гестации, в течение которого продолжается интенсивное развитие головного мозга плода.

В табл. 1, кроме молекулярных масс и изоэлектрических точек, приведена совокупность генов, обеспечивающих экспрессию выявленных белков отличия, с помощью которой может быть составлена генетическая карта предрасположенности к развитию конкретного осложнения беременности.

Анализируя причины изменения спектра белков при ПН, можно полагать, что значительную роль среди них играют нарушение синтеза мРНК и протеосинтеза, изменение активности протеолитических ферментов, трансплацентарных процессов, характера секреции белков в околоплодные воды. Определенное значение, по-видимому, имеет и модификация посттрансляционных реакций, влияющих на структуру и свойства белковых молекул, что также будет отражаться на составе протеома.

Полученные нами данные свидетельствуют об изменении структуры белков околоплодных вод при ПН, в частности, наличия и порядка расположения в них активных функциональных групп. Среди последних важную роль играют амидные группы, во многом определяющие степень спирализации, растворимость, заряд белка. Общий уровень амидных групп при ПН уменьшается во II триместре на 23,3%, а в III — на 19,9% по сравнению с

соответствующими величинами при физиологической беременности (табл. 2).

Наряду с изменением общего количества амидных групп меняется соотношение между легко- и трудногидролизуемыми (прочносвязанными) группами, поскольку содержание последних снижается в большей степени: в 18—20 нед — на 31,5%, в 39—40 нед — на 34,4%. Для легкогидролизуемых амидных групп снижение составляет 22,2 и 20%, соответственно во II и III триместрах. Это может быть следствием количественных нарушений в составе белков, а также поступлением в околоплодные воды качественно измененных белковых молекул, подвергшихся посттрансляционной модификации и имеющих плацентарное происхождение. Подобная модификация белков плаценты обнаружена нами при ПН [22].

Коэффициент отношения легкогидролизуемых амидных групп к трудногидролизуемым в белках околоплодных вод увеличивается во II и III триместрах на 20 и 25% соответственно. Отклонение в содержании амидов разной устойчивости при ПН свидетельствует о глубокой перестройке белковых молекул, отражающейся на их физико-химических свойствах. Она приводит к перераспределению водородных и электростатических взаимодействий в молекулах белков, в результате которого снижается уровень структурных барьеров, защищающих пептидные связи от протеолитической атаки [23].

Одновременно с отклонениями в степени амидированности белков околоплодных вод изменяется и количество в них аминокрупп, принимающих участие в стабилизации нативной структуры белковых молекул (см. табл. 2). При ПН содержание аминокрупп во II триместре снижается на 27,5%, а в III — на 26,7% относительно показателей при физиологической беременности. Уменьшение содержания аминокрупп, подобно амидным, также сопровождается изменением свойств белков, в частности, утратой устойчивости белков к действию факторов, нарушающих их структуру.

Таким образом, результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что при ПН происходят достоверные отклонения в протеомном спектре околоплодных вод и постсинтетические модификации белков, проявляющиеся в изменении их амидированности и аминированности и, следовательно, повреждающие вторичную структуру белковых молекул. Поскольку эти изменения происходят на геномном и постгеномном уровнях, они, очевидно, служат первичным звеном в цепи молекулярных повреждений в фетоплацентарном комплексе. Идентифициро-

ванные белки отличия, появляющиеся в околоплодных водах при осложненной беременности, могут использоваться в качестве информативных маркеров развития ПН.

Выводы

1. При ПН в околоплодных водах выявлены и идентифицированы белки отличия, отсутствующие в разные периоды физиологической беременности: цинк- α -2-гликопротеин; CDC37-подобный белок 1; NKG2D лиганд-2 (во II и III триместрах); нейрокальцин дельта.

2. В протеомном профиле околоплодных вод при ПН по сравнению с таковым при физиологической беременности во II и III триместрах не выявлены пероксиредок-

син-2; белок-1, связывающий ИДФР; ретинол-связывающий белок-4; гаптоглобин; эпидермальный белок-5, связывающий жирные кислоты; церулоплазмин; ферритин; трансферрин. В III триместре беременности не выявлены транстретин; белок S100-A8 (кальгранулин А); белок S100-A9 (кальгранулин В).

3. В условиях ПН меняется степень аминированности и амидированности белков в околоплодных водах: уменьшается общее количество аминных и амидных групп, а также увеличивается соотношение между легко- и трудногидролизруемыми амидными группами, свидетельствующее о модификации свойств белков.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCE

1. Говорун В.М., Арчаков А.И. Протеомные технологии в современной биомедицинской науке. *Биохимия*. 2002;67:10: 1341-1359. [Govorun VM, Archakov AI. Proteomic technologies in modern biomedical science. *Biokhimiya*. 2002;67:10:1341-1359. (In Russ.)].
2. Anagnostopoulos AK, Tsangaris GT. Proteomics advancements in fetomaternal medicine. *Clin Biochem*. 2013;46:6:487-496. <http://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.10.011>
3. Roepstorff P. Mass spectrometry based proteomics, background, status and future needs. *Protein Cell*. 2012;3:9:641-647. <https://doi.org/10.1007/s13238-012-2079-5>
4. Радзинский В.Е., Смалько П.Я. *Биохимия плацентарной недостаточности*. М.: РУДН. 2001;273. [Radzinskii VE, Smal'ko Ya. *Biochemistry of placental insufficiency*. Moscow: RUDN Publ. 2001;273. (In Russ.)].
5. 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*. Ст.-Петербург: «Гиппократ». 2012;304. [Pogorelova TN, Linde VA, Krukier II, Gunko VO, Drukker NA. *Molecular mechanisms of regulation of metabolic processes in the placenta with physiologically occurring and complicated pregnancy*. St. Petersburg: «Hippocrates». 2012;304. (In Russ.)].
6. Buhimschi IA, Christner R, Buhimschi CS. Proteomic biomarker analysis of amniotic fluid for identification of intra-amniotic inflammation. *BJOG*. 2005;112:2:173-181.
7. Hassan MI, Kumar V, Singh TP, Yadav S. Proteomic analysis of human amniotic fluid from Rh(-) pregnancy. *Prenat Diagn*. 2008;28:2:102-108. <https://doi.org/10.1002/pd.1941>
8. Park JS, Oh KJ, Norwitz ER, Han JS, Choi HJ, Seong HS, Kang YD, Park CW, Kim BJ, Jun JK, Syn HC. Identification of proteomic biomarkers of preeclampsia in amniotic fluid using SELDI-TOF mass spectrometry. *Reprod Sci*. 2008;15:5:457-468. <https://doi.org/10.1177/1933719108316909>
9. Погорелова Т.Н., Крукиер И.И., Длужевская Т.С. Способ диагностики плацентарной недостаточности: А.с. № 1627987. *Открытия, изобретения*. 1991;6:143. [Pogorelova TN, Krukiyer II, Dluzhevskaya TS. The method of diagnosing placental insufficiency: A.s. № 1627987. *Otkrytiya, izobreteniya*. 1991;6:143. (In Russ.)].
10. Huizenga JR, Tangerman A, Gips CH. Determination of ammonia in biological fluids. *Ann Clin Biochem*. 1994;31:6:529-543.
11. *Медицинские лабораторные технологии*. Под ред. Карпищенко А.И. Ст.-Петербург: Интермедика. 1999;2:654. [Medical Laboratory Technology. Ed. Karpishchenko AI. St. Petersburg: Intermedika Publ. 1999;2:654. (In Russ.)].
12. Dolcini L, Sala A, Campagnoli M, Labò S, Valli M, Visai L, Minchiotti L, Monaco HL, Galliano M. Identification of the amniotic fluid insulin-like growth factor binding protein-1 phosphorylation sites and propensity to proteolysis of the isoforms. *FEBS J*. 2009;276:20:6033-6046. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07318>
13. Biri A, Bozkurt N, Turp A, Kavutcu M, Himmetoglu O, Durak I. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Invest*. 2007;64:4:187-192.
14. Marceau G, Gallot D, Lemery D, Sapin V. Metabolism of retinol during mammalian placental and embryonic development. *Vitam Horm*. 2007;75:97-115.
15. Chmurzyńska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. *J Appl Genet*. 2006;47:1:39-48.
16. Finazzi D, Arosio P. Biology of ferritin in mammals: an update on iron storage, oxidative damage and neurodegeneration. *Arch Toxicol*. 2014;88:10:1787-1802. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1329-0>
17. Havelock JC, Keller P, Muleba N, Mayhew BA, Casey BM, Rainey WE, Word RA. Human myometrial gene expression before and during parturition. *Biol Reprod*. 2005;72:3:707-719. <http://doi.org/10.1095/biolreprod.104.032979>
18. Emmer PV, Nelen WL, Steegers EA, Hendriks JC, Veerhoek M, Joosten I. Peripheral natural killer cytotoxicity CD56(pos) CD16(pos) cells increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Human Reprod*. 2000;15:1163-1169.
19. King JC. Zinc: an essential but elusive nutrient. *Am J Clin Nutr*. 2011;94:2:679S-684S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.005744>
20. MacLean M, Picard D. Cdc37 goes beyond Hsp90 and kinases. *Cell Stress Chaperones*. 2003;8:2:114-119.
21. Krishnan A, Duda T, Pertzov A, Kobayashi M, Takamatsu K, Sharma RK. Hippocalcin, New Ca²⁺ sensor of ROS-GC membrane guanylate cyclase transduction machinery. *Mol Cell Biochem*. 2009;325:1-2:1-14. <https://doi.org/10.1007/s11010-008-0015>
22. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А., Аллилуев И.А., Боташева Т.Л. Посттрансляционная модификация и дифференциальная экспрессия белков при плацентарной недостаточности. *Проблемы репродукции*. 2016;6:115-119. [Pogorelova TN, Gunko VO, Nikashina AA, Alliluev IA, Botasheva TL. Post-translational modification and differential expression of proteins in placental insufficiency. *Problemy reproduksii*. 2016;6:115-119. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.17116/repro2016226115-119>
23. Якубке Х.-Д., Ешкайт Х. *Аминокислоты. Пептиды. Белки*. Пер. с нем. М.: Мир. 1985;456. [Jakubke H.-D, Jeschkeit H. *Aminosäuren. Peptide. Proteine*. Verlag Chemie. Moscow: Weinheim. 1985;456. (In Russ.)].

Поступила 21.08.17