

Katedra i II Klinika Położnictwa i Chorób Kobietych. Wydział Lekarski.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr med. Józef Tynecki

Zbigniew BOCZKOWSKI

**Chromatograficzny obraz wolnych aminokwasów surowicy krwi u kobiet
w późnych zatruciach ciąży**

**Хроматографическая картина свободных аминокислот в сыворотке
крови у беременных женщин в поздних токсикозах**

**Chromatographic Picture of Free Amino Acids in the Blood Serum
of Women in the Late Toxicosis of Pregnancy**

Aminokwasy są związkami, z których powstają w organizmie białka o swoistej budowie i właściwościach. Same aminokwasy dzięki posiadaniu grupy kwasnej $-COOH$ i zasadowej $-NH_2$ stanowią ważny układ buforowy w utrzymywaniu stałej równowagi kwasowo-zasadowej ustroju. Przejawiają one również swoiste działanie biologiczne, zbliżone do działania hormonów i witamin (15). W późnych zatruciach ciąży dochodzi do zaburzeń w gospodarce białkowej, objawiającej się głównie pod postacią: 1 — niewłaściwego składu aminokwasów krwi i innych układów, 2 — wzmożonego wydalania aminokwasów w moczu (14) i 3 — zaburzeń przemiany aminokwasów wątroby.

Celem pracy było stwierdzenie poziomu wartości poszczególnych wolnych aminokwasów w surowicy krwi u kobiet w późnych zatruciach ciąży.

Technika badania

W oparciu o piśmiennictwo krajowe (10, 18) i zagraniczne (7, 14, 17) wykonano jakościowe oraz ilościowe oznaczanie wolnych aminokwasów w surowicy krwi metodą bibułowej chromatografii jednokierunkowej, czterospływowej. Ogólna zasada polegała na chromatograficznym rozdzieleniu mieszaniny wolnych aminokwasów surowicy krwi, zidentyfikowaniu poszczególnych wolnych aminokwasów, oraz na kolejnym ich oznaczeniu ilościowym metodą kolorymetryczną przy użyciu fotometru Pulfricha. Otrzymane ekstynkcje każdego aminokwasu mnożono przez jego współczynnik kalibracji, obliczony z poszczególnych ekstynkcji badanych stężeń wzorcowych aminokwasów na podstawie otrzymanej krzywej kalibracji, obliczonej dla każdego aminokwasu osobno. Współczynnik kalibracji wyliczono ze wzoru:

$$F = \frac{C}{E \cdot 1000}$$

C — znane stężenie wzorca, E — otrzymana ekstynkcja i F — współczynnik kalibracji. Końcowy wynik podano w mg% wg wzoru: $E \cdot 100 \cdot F = C$ mg%. Przy ścisłym przestrzeganiu warunków pracy, otrzymywano wyniki z dokładnością $\pm 5\%$ błędu. W poszczególnych szeregach pomiarów przeprowadzono analizę statystyczną, przy czym wartość „P” odczytywano z tablic Fishera. Za znamienne uznawano wartości $P < 0,001$.

BADANIA WŁASNE

Ogółem przebadano 40 kobiet w ostatnim miesiącu ciąży. 30 kobiet z klinicznymi objawami późnego zatrucia ciążowego, 10 zaś zdrowych z ciążą fizjologiczną. Pierwiastek było 24, wieloródek 16. Materiał do badania pobierano na czczo, przed rozpoczęciem leczenia. Badane ciężarne podzielono na następujące grupy: Grupa I — ciężarne ze stanem rzucawkowym (10 przypadków); grupa II — ciężarne ze stanem przedrzucawkowym (20 przypadków) i grupa III — ciężarne zdrowe (10 przypadków). Przedstawione tabele oraz wykresy ilustrują wyniki poszczególnych badań:

Tabela 1

Średnie wartości poszczególnych wolnych aminokwasów surowicy krwi:													
Grupa	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
I.	0,38	1,54	1,63	3,13	1,48	2,03	2,45	0,40	0,92	0,02	2,73	1,48	2,09
II.	0,63	1,28	1,22	2,84	1,33	1,72	2,09	0,05	0,70	0,09	2,24	1,10	1,52
III.	0,81	1,23	0,24	2,07	1,09	1,22	1,64	—	0,44	0,48	2,23	0,80	1,27

Wolne aminokwasy wykazane w powyższych grupach, obliczono wg następującej kolejności: 1 — cystyna + cysteina, 2 — lizyna, 3 — histydyna, 4 — arginina, 5 — glicyna, 6 — kwas glutaminowy + treonina, 7 — alanina, 8 — tyrozyna, 9 — tryptofan, 10 — metionina, 11 — walina, 12 — fenyloalanina, 13 — leucyna + izoleucyna.

Wykonano analizę statystyczną znamienności uzyskanych wyników. Porównywano wartości każdego aminokwasu grupy I — kobiet ze stanem rzucawkowym i grupy II — kobiet ze stanem przedrzucawkowym z grupą III — kobiet ciężarnych zdrowych, oraz grupę I — kobiet ze stanem rzucawkowym z grupą II — kobiet ze stanem przedrzucawkowym.

Tabela 2

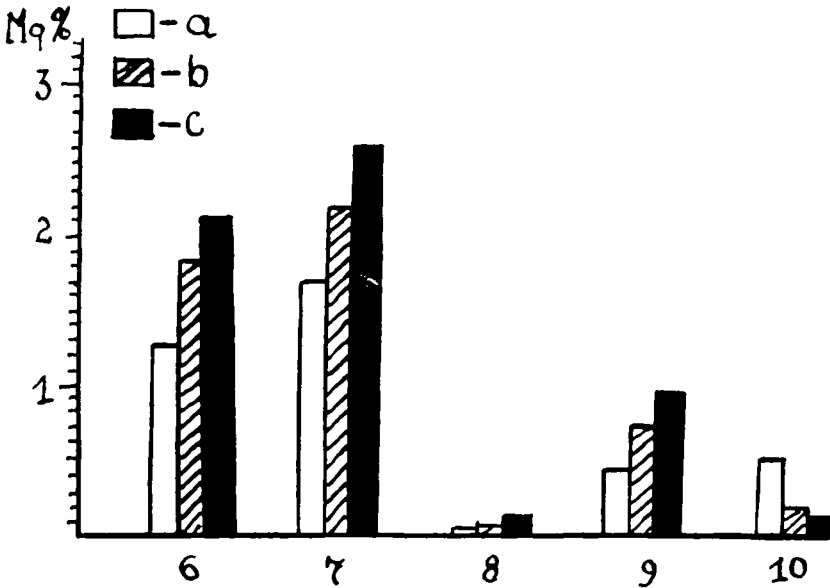
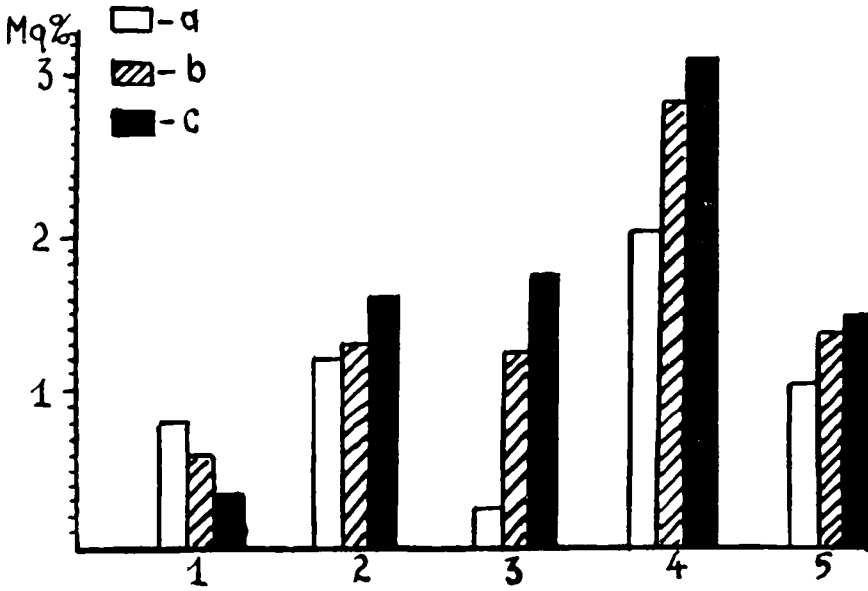
Nazwa aminokwasu	Wartości doświadczalne		
	III grupa z I grupą	III grupa z II grupą	I grupa z II grupą
Cystyna + cysteina	— 4,74	— 2,62	— 2,68
Lizyna	+ 2,44	+ 0,34	+ 2,26
Histydyna	+ 15,31	+ 11,60	+ 4,85
Arginina	+ 5,36	+ 3,39	+ 1,39
Glicyna	+ 3,52	+ 3,21	+ 1,32
Kw. glutam. + treonina	+ 6,48	+ 4,41	+ 2,33
Alanina	+ 8,19	+ 4,01	+ 3,50
Tyrozyna	+ 3,03	+ 1,43	+ 2,56
Tryptofan	+ 8,20	+ 4,81	+ 4,42
Metionina	— 10,31	— 7,72	— 1,99
Walina	+ 1,88	— 0,55	+ 2,32
Fenylalanina	+ 5,71	+ 3,27	+ 3,07
Leucyna + izoleucyna	+ 6,41	+ 2,55	+ 3,98
Wartość „P”	= 3,922	= 3,674	= 3,674
Wartość „P” odczytywano z tablic Fishera.			

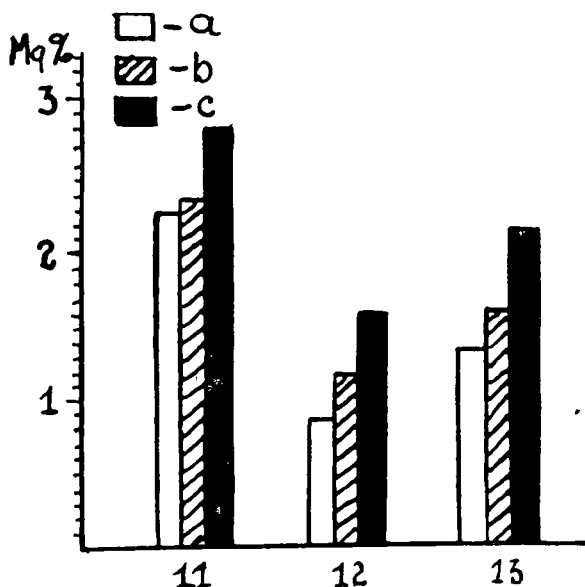
OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Znany jest fakt, że już podczas normalnej ciąży zwiększa się wydalanie większości wolnych aminokwasów z moczem (2, 4, 5, 9, 11, 12, 14, 16). Date, Christensen stwierdzili obniżone wartości poszczególnych wolnych aminokwasów surowicy krwi podczas ciąży dla: histydy, argininy, glicyny, kwasu glutaminowego, leucyny, lizyny, metioniny, seryny, treoniny oraz tyrozyny. Schuck stwierdzał w surowicy krwi ciężarnych zmniejszone wartości cystyny, a względne podwyższenie wartości metioniny i tryptofanu. Heller wykazał, że wartość cystyny w całym białku maleje już nawet w normalnej ciąży. Dalszy ubytek stwierdzony statystycznie istnieje przy toksemiach. Kyank zwraca również szczególną uwagę na niedobór aminokwasów zawierających w swojej drobinie atom siarki, który istnieje w ciąży.

Badania własne wartości białek całkowitych w surowicy krwi wykazały ich postępujący spadek, wyrażający się następującymi średnimi liczbami: dla ciężarnych ze stanem rzucawkowym 6,28 g%, ze stanem przedrzucawkowym 6,35 g%, dla ciężarnych zdrowych 6,45 g%. Metodą chromatograficzną zidentyfikowano w surowicy krwi następujące aminokwasy: cystyna + cysteina, lizyna, histydyna, arginina, glicyna, kwas glutaminowy + treonina, alanina, tyrozyna, tryptofan, metionina, walina, fenylalanina, leucyna + izoleucyna. Nie brano do obliczeń sta-

tystycznych seryny i kwasu asparaginowego ze względu na niewyraźny rozdział na bibule tych aminokwasów. Obserwowało się jednak wyraźne plamy w ciąży fizjologicznej a zanik tych plam szedł równoległe ze stopniem zaawansowania stanu późnego zatrucia ciążyowego. Badania pozostałych wolnych aminokwasów wskazują na to, że obniżony poziom ich





Ryc. 1. Wykresy średnich wartości wolnych aminokwasów surowicy krwi u kobiet w późnych zatruciach ciąży; a — kobiety ciężarne zdrowe, b — kobiety ze stanem przedrzucawkowym, c — kobiety ze stanem rzucawkowym, 1 — cystyna + cysteina, 2 — lizyna, 3 — histydyna, 4 — arginina, 5 — glicyna, 6 — kwas glutaminowy + treonina, 7 — alanina, 8 — tyrozyna, 9 — tryptofan, 10 — metionina, 11 — walina, 12 — fenyloalanina, 13 — leucyna + izoleucyna

Diagrams of average values of free amino acids in the blood serum of women in the late toxicosis of pregnancy; a — healthy pregnant women, b — late toxicosis pregnancy (preeclampsia), c — late toxicosis pregnancy (eclampsia), 1 — cystine + cysteine, 2 — lysine, 3 — histidine, 4 — arginine, 5 — glycine, 6 — glutamic acid + threonine, 7 — alanine, 8 — tyrosine, 9 — tryptophan, 10 — methionine, 11 — valine, 12 — phenylalanine, 13 — leucine + isoleucine

w surowicy krwi w ciąży fizjologicznej jest różny. Niski poziom jest zależny od aktywnego przenoszenia aminokwasów do płodu, prawidłowej syntezy białek, od wydalania większych ilości aminokwasów z moczem, od zwiększenia objętości krwi (11, 13).

Crumpler, Dent, Lindan, Wirtschafter i Zolton w przypadkach toksemii ciąży stwierdzali wyższe stężenie wolnych aminokwasów w surowicy krwi matki niż płodu, co tłumaczyli niewydolnością łożyska w tych stanach.

Badania własne w stanach przedrzucawkowych i rzucawce wykazały, że wartości stężeń wolnych aminokwasów w surowicy krwi, potwierdzone znamiennością statystyczną, wzrastają dla: histydyny, argininy, tryptofanu, alaniny, fenyloalaniny, leucyny + izoleucyny. Wyższe wartości otrzymano również dla waliny, tyrozyny, glicyny, lizyny, nie potwier-

dzione jednak znamiennością statystyczną. Wartości dla kwasu glutaminowego i treoniny określone sumarycznie, stwierdzone zostały jako podwyższone. Jak jednak zachowują się poszczególne wartości tych aminokwasów, nie stwierdzono. Obniżone wartości wolnych aminokwasów w surowicy krwi, potwierdzone analizą statystyczną otrzymano dla cystyny + cysteiny, metioniny. Nie zostały potwierdzone znamiennością statystyczną wartości dla seryny i kwasu asparaginowego.

Podwyższone wartości stężeń wolnych aminokwasów w surowicy krwi, stwierdzone w późnych zatruciach ciążyowych mogłyby być wynikiem zaburzeń przemiany wątroby (4, 13, 15). Drugą przyczyną mogącą mieć wpływ na podwyższenie stężeń wolnych aminokwasów surowicy krwi jest to, że czynność łożyska w przenoszeniu aminokwasów do płodu jest zakłócona w stanach późnych zatruc ciążyowych (5, 14).

WNIOSKI

1. W późnych zatruciach ciążyowych w porównaniu z ciążą fizjologiczną wykazano wyższe wartości stężeń wolnych aminokwasów surowicy krwi, z wyjątkiem cystyny i cysteiny oraz metioniny.

2. Zachowanie się poszczególnych wolnych aminokwasów surowicy krwi w późnych zatruciach ciążyowych może w zespole przyczyn mieć istotne znaczenie w etiopatogenezie schorzenia.

PIŚMIENNICTWO

1. Bartolomew R. A., Cliven E. D., Grimes W. H., Fish John S. jr. Lester W. M., Galloway W. H.: *Amer Journ. Obst. and Gyn.* **74**, 64, 1957.
2. Bousnes Roy W.: *Journ. of Biol. Chem.* **168**, 345, 1947.
3. Browne F. J.: *Lancet*, **1**, 18, 115, 1958.
4. Christensen P. J., Date J. W., Schonheyder E., Volqvartz K.: *Scand. Journ. of Clin. Lab. Invest.* **9**, 54, 1957.
5. Clementson C. A. B., Churchman J.: *Journ. of Obst. and Gyn. of Brit. Emp.* **61**, 3, 364, 1954.
6. Dent C. E.: *Brit. Med. Bull.* **10**, 247, 1954.
7. Gordon S., Nardi G. L.: *Journ. Clin. Lab. Med.* **43**, 274, 1954.
8. Hoffati E. D., Lytle R. J.: *Anal. Chem.* **31**, 926, 1959.
9. Kapell-Adler R.: *Ztschr.* **280**, 232, 1935.
10. Krzeczowska I., Iskierko J., Klimek J.: *Farm. Pol.* **3**, 35, 1959.
11. Kyank H.: *Oxydationslage und Eiweiss-stoffwechsel bei Schwangerschafts-toxikosen*, **15**, 10, 1953.
12. Liebhart S.: *Ref. XII Zjazdu Pol. Tow. Gin.* **1**, 9, 1956.
13. Seidler M.: *Post. Położ. i Gin.* **3**, 30, 1957.
14. Smirnowa Ł. G., Czulkowa E. S., Gumina J. J., Zelechowska J. H.: *Woprosy Med. Chimii.* **3**, 49, 1957.
15. Stein W. H., Moore S.: *Journ. Biol. Chem.* **221**, 915, 1954.

16. Tynecki J.: Ann. Uniw. M. Curie-Skłodowska (Lublin), Sec. D. 6, 309, 1952.
17. Zajcewa G. N., Tiulenewa N. P.: Lab. Dielo, 3, 24, 1958.
18. Zawadzki Z., Pawelski S.: Normy i Stany w Med. Wew. 1, 185, 1958.

Pracę otrzymano 27 II 1965.

РЕЗЮМЕ

Автором произведены качественные и количественные определения свободных аминокислот в сыворотке крови при помощи одно-сторонней и многосточной хроматографии на бумаге. Обследовано 30 женщин с клиническими симптомами позднего беременного токсикоза и 10 здоровых женщин с физиологической беременностью. Исследования в эклампсизме и эклампсии обнаружили, что количество большинства свободных аминокислот в сыворотке крови, подтвержденное статистической значимостью, возрастает. К этой группе относятся: гистидин, аргинин, аланин, триптофан, фенилаланин. Более высокие величины получены также для лизина, глицина, тирозина и валина, не подтвержденные однако статистической значимостью. Величины для лейцина и изолейцина, а также для глутаминовой кислоты и треонина оказались выше нормы. Пониженные величины получены для цистина и цистеина.

SUMMARY

The author made quantitative and qualitative examinations of free amino acids in the blood serum of 30 women in the late toxicosis of pregnancy and of 10 women with physiological pregnancy. The examinations were carried out by one-direction- and multi-flow-down paper chromatography. The examinations of the patients carried out during preeclampsia and eclampsia showed that the values of the majority of free amino acids in the blood serum increased. The increase was confirmed by statistical analysis. Increased values were observed with histidine, arginine, alanine, tryptophan and phenylalanine. Increased values were also obtained with lysine, glycine, tyrosine and valine but their growth was not confirmed by statistical analysis. The values obtained with leucine and isoleucine, glutamic acid and threonine, taken in total, were also found to have increased. Decreased values were found with cystine and cysteine.

