ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

на правах рукопису

МАВРУТЕНКОВА Тетяна Вікторівна

БІЛКИ ТРОФОБЛАСТУ ЛЮДИНИ: ІМУНОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ТА ІХ ІМУНОГЕННІСТЬ ПРИ НОРМАЛЬНІЙ ТА УСКЛАДНЕНІЙ ВАГІТНОСТІ

03.00.04 - біохімія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Дніпропетровськ, 1993

ЛННБ України ім.В.Стефаника
00802689 (X)

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

Ав-28.205

Дисертація є рукопис

Робота виконана на кафедрах акушерства і гінекології та біохімії Дніпропетровського медичного інституту.

Наукові керівники:
1. Доктор медичних наук, професор Воронін Корнелій Валентинович
2. Кандидат біологічних наук Шевцова Ала Іванівна

Офіційні опоненти:
1. Доктор біологічних наук, ст. науковий співробітник Стародуб Мирослава Федорович
2. Доктор біологічних наук професор Шудзевич Борис Олександрович

Провідна організація: Науково-дослідницький інститут педіатрії, акушерства та гінекології МОЗ України, м. Київ.

Захист відбудеться "27" жовтня 1993 року о 13-тій годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К.053.24.06 у Дніпропетровському державному університеті за адресою: 320625, м. Дніпропетровськ, ГСП-10, пр. Гагаріна, 72, університет, біолого-екологічний факультет, корп.17, ауд. 407.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Дніпропетровського державного університету.

Автореферат розісланий "27" 09 1993 року.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради Чорна В.І.

Ав 28.205

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність роботи. Успішне виживання за довгого часу полуаллогенного плоду в організмі матері по цей час потребує пояснення. Оскільки функціональною межею між матір'ю та плодом являється плазматична мембрана трофобласту, логічно припустити, що саме тут зосереджені фактори, що регулюють імунологічний баланс матері та плоду. Клітини трофобласту позбавлені антигенів головного комплексу гістосумісності, але мають специфічні антигени у складі інтегральних білків своєї мембрани (Faulk W.P., 1989). Припускають, що саме цим білкам належить важливе значення в деяких механізмах, що забезпечують невідторгнення плоду під час вагітності, як маскування поверхових аллоантигенів на клітинах трофобласту, продукція організмом матері та плоду імунорегуляторних факторів, а також розвиток специфічної імунної відповіді (Говалло В.І., 1987; Labarrere P.A., 1989).

Проведені дослідження виявили значну кількість молекулярних компонентів, асоційованих з плазматичною мембраною трофобласту (плацентарна лужна фосфатаза, рецептор трансферіну та інші), однак значна частина білків в препаратах мембран трофобласту залишається неідентифікованою. До того ж, невідомими, або частково вивченими є фізико-хімічні властивості цих білків, оскільки дослідження проводились в основному в імунологічному напрямку (Vclnture J.F., 1988; Kim N.C., 1987). Між тим, визначення специфічних білків плазматичних мембран трофобласту, їх фізико-хімічна характеристика та одночасне вивчення біологічної ролі та їх вмісту в різноманітних структурах і біологічних рідинах може внести вагомий вклад в практику раціональної імунотерапії при деяких формах акушерської патології (токсикози, недоношування вагітності, імунологічне безпліддя). В останні роки з'явились докази появи окремих білків трофобласту в сироватці крові при онкозахворюваннях, що свідчить про схожість процесу малігнізації з біологією розвитку трофобласту, який синтезує білки з інвазивними властивостями (Gabius Y.J. et.al., 1989). Тому трофобласт та синтезовані ним білки цікаві не лише з біологічної точки зору, але й з клінічної.

Мета даної роботи – ідентифікація, характеристика та дослідження імуногенності мембранозв'язаних білків плазматичної мембрани трофобласту людини.

В роботі вирішувались наступні завдання:

- одержати специфічну антисироватку до інтегральних білків плазматичних мембран трофобласту людини
- ідентифікувати специфічні білки плазматичних мембран трофо-

бласта людини за допомогою імунохімічних методів аналізу та дослідити їх тканє- та видоспецифічність;

- вивчити взаємодію специфічних білків плазматичних мембран трофобласту людини з лектинами різної вуглеводної специфічності;
- провести порівняльний аналіз кількості та специфічності антитіл до інтегральних білків плазматичних мембран трофобласта при нормальній вагітності та при ускладненій гіпотрофією плоду і ОПГ-гестозом.

Наукова новизна та практична значимість роботи. Використовуючи імунохімічні методи досліджень, визначено нові тканє- та видоспецифічні антигени серед інтегральних білків плазматичних мембран трофобласту людини, доказано їх глікопротеїнову природу та імуногенність. Плацентарна лужна фосфатаза ідентифікована як основний компонент серед специфічних білків трофобласта зрілої плаценти. Показано пряму залежність кількості плацентарної лужної фосфатази від ступеню зрілості плаценти. Встановлено, що в післяпологовій плаценті різко зменшується кількість термінальних залишків сіалових кислот у складі вуглеводного компоненту плацентарної лужної фосфатази. Доведено вірогідне зниження кількості антитіл до білків плазматичних мембран трофобласту в плазмі крові вагітних з ОПГ-гестозом, обумовлене зниженням імунної відповіді на специфічні антигени плазматичних мембран трофобласту.

Дані, одержані в роботі, можуть бути використані в клінічній практиці при дослідженні ступеню зрілості фето-плацентарного комплексу та діагностиці ОПГ-гестозу.

Апробація роботи. Матеріали дисертації представлялися на 20-й конференції ФЕБС (Будапешт, 1990), 4-му міжнародному з'їзді "Імунологія репродукції" (Київ, 1990),15-му Міжнародному біохімічному конгресі (Іерусалім, 1991), 7-му Європейському конгресі по імунології репродукції (Рим, 1992), 6-му українському біохімічному з'їзді (Київ, 1992).

На захист виносяться:

- виявлення нових органо- та видоспецифічних антигенів у складі інтегральних білків плазматичних мембран трофобласту;
- доказ глікопротеїнової природи та деяка характеристика вуглеводних компонентів специфічних білків плазматичних мембран трофобласту людини;
- імуногенність інтегральних білків плазматичних мембран трофобласта по відношенню до організма матері;
- закономірність зміни кількості антитіл до специфічних антигенів трофобласту при вагітності, ускладненій ОПГ-гестозом.

Структура та обсяг дисертаційної роботи. Дисертація викладе-

на на 101 сторінках машинописного тексту і містить вступ, три розділи (огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати і їх обговорення), заключну частину та висновки. Дисертація ілюстрована 3 таблицями та 18 малюнками. Список літератури налічує 142 найменування на російській та іноземній мові.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В дослідах використовували плаценту людини, миші, криси, корови, свині; мозок, м'язи, нирки, серце, легені, селезенку, печінку дорослої людини (аутопсійний матеріал) та плоду, одержані в результаті штучного переривання вагітності; плазму крові людини.

Інтегральні білки плазматичних мембран трофобласту (ПМТ) виділяли з плаценти згідно схеми, представленої на мал.1.

Збагачення мембранами мікровіл одержаної фракції визначали за зростанням активності маркерного ензиму - лужної фосфатази. Як субстрат використовували β-гліцерофосфат Na. Питома активність лужної фосфатази зростала в 7,8 рази.

Екстракти тканин одержували шляхом гомогенізації в п'яти об'емах 0,025М трис-HCl буферу, pH 7,4 з 0,005 М ФМСФ, центрифугували 60 хвилин при 35 000 g, осад ресуспендували в 2-х об'емах того ж буферу та повторювали центрифугування. Осад обробляли одним об'емом 2%-ного Тритону X-100 в попередньому буфері, витримували 18 годин при 4°C та центрифугували за тих же умов. Супернатант зідбирали і зберігали при -20 С. Загальну кількість білка визначали за методом Бредфорд.

Антисироватку до інтегральних білків ПМТ одержали імунізацією кролів сумішшю білка (2 мг на одного кроля) з повним адюгантом Фрейнда. Одержану антисироватку виснаджували на еритроцитах людини та на сорбентах з імобілізованими білками сироватки крові та печінки людини. Специфічність одержаної антисироватки оцінювали методами імуноелектрофорезу, імуноблоту та імунофлуоресценції.

Електрофорез в пластинах градієнтного (5-17,5%) поліакриламідного геля у присутності додецилсульфату натрію (DS-Na) здійснювали за системою Леммлі. Імуноблотінг проводили після електрофорезу в ПААГ за допомогою електрофоретичного перенесення молекул білка на нітроцелюлозну мембрану в буфері такого складу: 0.025М трис, 0,192М гліцин, 20 % етилового спирту. Дослідження поліпептидного складу та ідентифікацію специфічних поліпептидів ПМТ здійснювали за допомогою методу імуноблоту з використанням одержаної нами антисироватки, а також ряду комерційних антисироваток. Поверхню мембрани блокували 1%-ним розчином БСА в забуференому фосфатами сольовому розчині, pH 7,2, з 0,05% твін

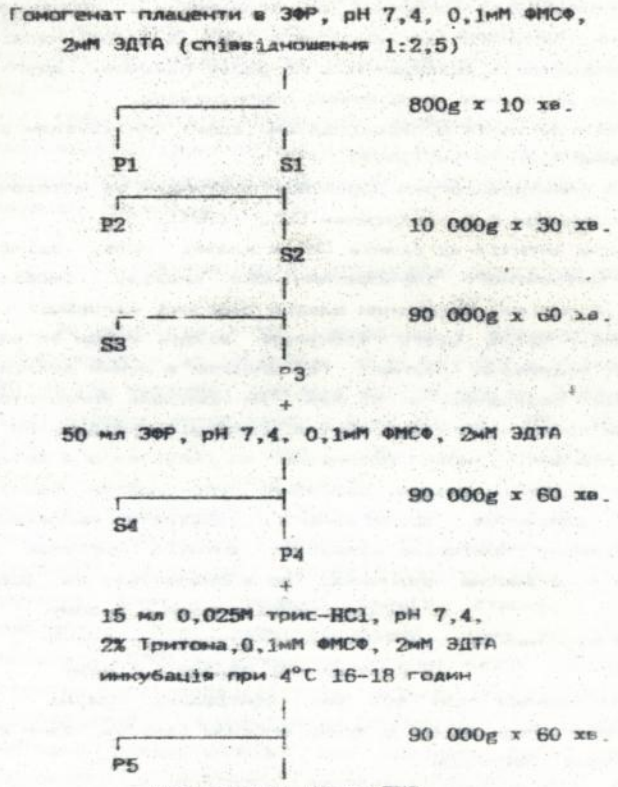

Рис. 1. Схема одержання інтегральних білків ПМТ.

20, та інкубували з кролячою антисироваткою, а далі з антитілами проти імуноглобулінів кролика, кон'югованими з пероксидазою. При визначенні антитіл до антигенів ПМТ в плазмі крові першу інкубацію проводили з розведеною в 10 разів плазмою, другу - з антитілами до Ig людини, поміченими пероксидазою.

Кон'югати лектинів з пероксидазою хрону синтезували за методикою Луцика М.Д. та ін.(1989).

Репліки електрофореграм обробляли лектинами за методом, запропонованим Луциком М.Д. і Кусенем С.І. (1987).

Кількість антитіл до білків ПМТ в плазмі крові здійснювали методом конкурентного імуноферментного аналізу. Імобілізацію антигену (1,4 мкг/мл) проводили шляхом пасивної адсорбції при 4°С протягом ночі. Після цього блокували вільні місця зв'язування 1%-ним БСА, відмивали планшет та вносили в лунки досліджувані плазми крові, розведені в 25 раз. Як контроль використовували суміш плазми крові невагітних. Після інкубації протягом 60 хвилин при 37° С планшети знову промивали та інкубували з антитілами проти імуноглобулінів людини, помічених пероксидазою. Реєстрували реакцію за допомогою хромогенного субстрату пероксидази - О-фенилен-діаміну. Критерієм кількості антитіл виступав індекс зв'язування - відносна величина, що визначається за формулою:

$$\text{Індекс зв'язування} = \frac{\text{Е досліджуваної плазми} - \text{Е фону}}{\text{Е контрольної плазми} - \text{Е фону}},$$

де Е - поглощение при 405 нм; контрольна плазма - плазма невагітних, фон - в лунки вносили замість пазми робочий буфер (ЗФР-твін).

О С Н О В Н І Р Е З У Л Ь Т А Т И Д О С Л І Д Ж Е Н Ь

1 1. ОДЕРЖАННЯ ТА АНАЛІЗ СПЕЦИФІЧНОСТІ АНТИСИРОВАТКИ ДО ІНТЕГРАЛЬНИХ БІЛКІВ ПМТ ЛЮДИНИ

З використанням тритонового екстракту ПМТ як антигену одержано кролячу антисироватку. Аналіз її специфічності методом ракетного імуноелектрофорезу з проміжним гелем, що містить тритоновий екстракт ПМТ, виявив значну кількість перехрестно-реагуючих антигенів, що присутні в тритонових екстрактах інших органів людини. При цьому, найбільш близькими за антигенним спектром були трофобласт, печінка та нирки. Екстракти мозку, серця та м'язів містили значно менше перехрестно-реагуючих антигенів. Подібне співвідношення мало місце і для органів ембріону. Після виснаження одержаної антисироватки на еритроцитах людини та на сорбентах з імобілізованими білками сироватки крові та печінки людини виявлено один пік преципітації для тритонового екстракту ПМТ. Реакція антиген-антитіло для інших органів в імуноелектрофорезі не виявлена. В перехрестному

імуноелектрофорезі солюбілізованої тритоном фракції ПМТ з використанням одержаної моноспецифічної антисироватки до білків ПМТ визначався трьохгорбий пік преципітації в області β-γ-глобулінів, що свідчить про електрофоретичну гетерогенність даного білка.

Специфічність одержаної антисироватки до білків ПМТ підтверджено імуногістохімічно. На зрізах плаценти при непрямому імунофлуоресцентному окрашуванні спостерігалось яскраве свічення поверхні трофобласту.

2. ІДЕНТИФІКАЦІЯ СПЕЦИФІЧНИХ АНТИГЕНІВ ПМТ ЛЮДИНИ.

За допомогою метод імуноблоту з використанням виснадженої антисироватки до інтегральних білків ПМТ в тритоновому екстракті ПМТ людини виявлено декілька поліпептидів: широкий з М.м. 68-69 кД та мінорні поліпептиди з М.м. 31, 36, 47, 58, 64, 76, 79-80, 89-90, 110 та 130 кД (рис.2). Всі ці поліпептиди визначались в плаценті різних строків вагітності, при цьому не виявлено значних змін в забарвленні відповідних зон. Виняток складає поліпептид 68-69 кД, виявлений у фракції ПМТ зрілої плаценти у вигляді основного інтенсивно забарвленого компоненту і слабо забарвленої дифузної зони у плаценті ранніх строків вагітності. Цей поліпептид був ідентифікований нами як плацентарна лужна фосфатаза (ПЛФ) за допомогою специфічного субстрату до лужних фосфатаз β-гліцерофосфату Na. Пізніше справедливість цього було підтверджено з використанням специфічної антисироватки до ПЛФ, любязно предоставленої нам доктором Bohn. На основі методів імуноблоту та ракетного імуноелектрофорезу нами встановлено, що кількість ПЛФ в препараті ПМТ зростає по мірі збільшення строку вагітності, при цьому, в ранній плаценті ПЛФ визначалась в лише слідовій кількості. Тобто, ПЛФ може виступати як маркер зрілості плаценти, а отже і ступеню зрілості фето-плацентарного комплексу.

Аналіз тканеспецифічності виявлених поліпептидів ПМТ методом імуноблоту (рис. 3) показав, що поліпептиди 68-69, 76, 79-80, 97, 110 і 130 кД не визначались в жодному із досліджених органів людини та плоду, за винятком ПМТ, не проявляли перехрестної реакції з лімфоцитами. Очевидно, можна стверджувати, що дана група поліпептидів являється тканеспецифічною для трофобласту. Відсутність реакції цих антигенів з антитілами до альбуміну та білків сироватки крові людини також свідчить про специфічність їх для ПМТ. Жоден з цих поліпептидів не відноситься до таких відомих білків вагітності, як хоріогонадотропін, трофобластичний бетаглобулін, альфа-фетопротеїн, альфа-2-мікроглобулін фертильності і не реагує з специфічними антитілами до трансферіну, альфа-2-макроглобуліну, фібриногену, фібронектину, а також рецептора трансферину (такий набір білків для ідентифікації

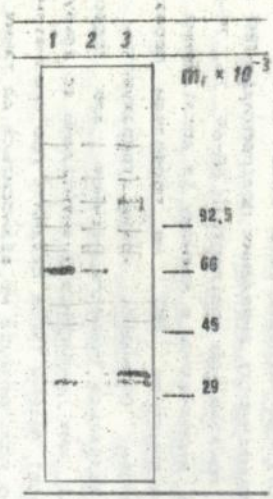

Рис. 2. Імуноблот тритонових екстрактів ПМТ людини з використанням специфічної антисироватки до білків ПМТ. Білки ПМТ одержано на різних строках вагітності : I - 39-40 нед., 2 - 20-24 нед., 3 - 6-12 нед.

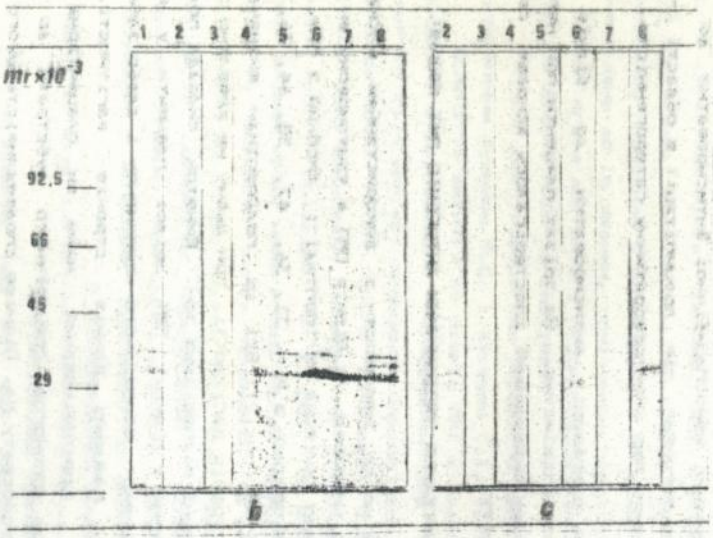

Рис. 3. Імуноблот мембранних білків органів дорослої людини (B) та плоду (C) з використанням виснадженої на еритроцитах та імуносорбентах з білками печінки та сироватки крові людини антисироватки до білків ПМТ.
I - надниркa, 2 - нирка, 3 - мозок, 4 - селезінка, 5 - м'язи, 6 - легені , 7 - серце, 8 - печінка.

було вибрано, оскільки відомо, що ці білки входять до складу плазматичних мембран трофобласту людини), (Faulk W.P, 1983; Johnson, 1987)

Методом імуноблоту показано, що тканеспецифічні антигени ПМТ є однорідно і видоспецифічними: вони не визначались при взаємодії одержаної нами антисироватки до білків ПМТ людини з мембранними білками плаценти миші, криси, корови, свині.

3. АНАЛІЗ ВУГЛЕВОДНИХ ДЕТЕРМІНАНТ ІНТЕГРАЛЬНИХ БІЛКІВ ПМТ.

Для детального дослідження вуглеводних компонентів інтегральних білків ПМТ була вивчена взаємодія з цими білками слідуючих лектинів: маннозоспецифічних - конканавалін А (ConA) та лектину з Lens culinaris (LCL), галактозоспецифічних - лектину з Ricinus communis (RCA) та Arachis hypogaea (PNA); N-ацетилглюкозамінспецифічного - лектину з Triticum vulgaris (WGA); фукозоспецифічного - лектину з Laburnum anagyroides (LAL).

Результати досліджень наведені в таблиці 1. Як видно, лектини всіх вибраних груп специфічності виявляли спорідненння до специфічних поліпептидів ПМТ. Слід зазначити, що спектр глікополіпептидів ПМТ значно ширший визвленого з допомогою специфічної антисироватки до білків ПМТ.

Аналіз результатів зв'язування специфічних поліпептидів ПМТ з ConA, що має спорідненість до термінальних залишків манози, а також глюкози і до деякої міри до N-ацетилглюкозаміну (Хомутовський, 1986), свідчить про наявність у складі вуглеводних компонентів білків ПМТ саме цих цукрів.

Рис. 4,а демонструє результати взаємодії з білками ПМТ лектину сочевиці. По вуглеводній специфічності цей лектин подібний до ConA. Оскільки лектин сочевиці здатен взаємодіяти з двохантенними і трьохантенними гліканами комплексного типу, то виявлені LCL електрофоретичні компоненти ПМТ, очевидно, мають подібні вуглеводні структури.

Найбільш активно зв'язувався зі своїми вуглеводними детермінантами WGA (рис.4,b). Цей лектин має спорідненість до мономерів, а в більшій мірі до олігомерів N-ацетилглюкозаміну. Крім того, суттєвий вплив на зв'язування WGA з глікопротеїнами мають залишки сіалових кислот. Взаємодія білків ПМТ з WGA в наших експериментах узгоджується з даними Johnson (1989) що WGA активно зв'язується з клітинами сінцитіотрофобласта на зрізах плаценти.

Малюнок 4 (d-e) і таблиця 1 демонструють взаємодію білків ПМТ з двома галактозоспецифічними лектинами: лектином арахісу та аглютиніном клещовини. Лектин клещовини має спорідненість до Galβ1- 3(4)GlcNAc і специфічно зв'язується з N-гліканами. На відміну від RCA, лектин арахіса - селективний реагент до O-гліканів - має високу аффінність до дісахариду Galβ1- 3GalNAc

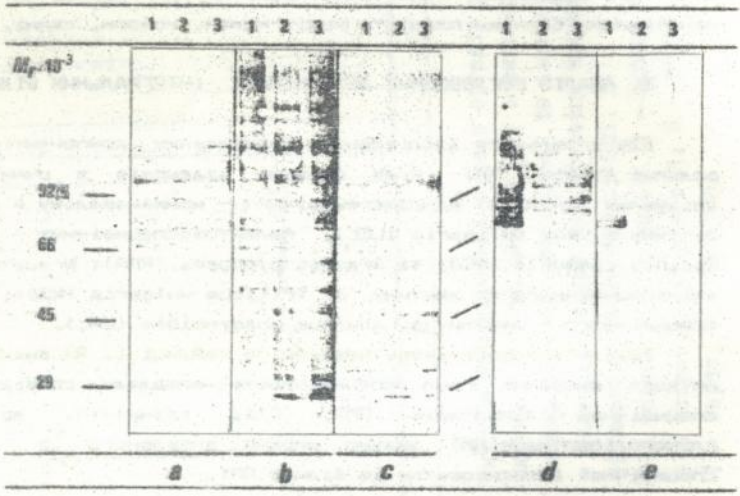

Рис. 4. Спектр глікопротеінів плазматичних мембран трофобласту людини, що взаємодіють з лектинами сочевиці (а), WGA (в), бобовника (с) та арахісу після обробки (d) та без обробки (е) 0,05н оцтовою кислотою. Білки плазматичних мембран трофобласту одержано на різних строках вагітності : I - 39-40 нед., 2 - 20-24 нед., 3 - 6-I2 нед.

(Луцик М.Д., 1989). До того ж, на відміну від RCA, лектин арахісу зв'язується з тими термінальними залишками галактози, що не екрановані сіаловою кислотою. Наведені в таблиці результати дозволяють припустити наявність у складі досліджуваних білків N-гліканів, що містять Gal β 1- 3(4)ClcNAc, а також O-гліканів з Gal β 1- 3GalNAc. Зв'язування лектину арахісу з глікопротеїнами ПМТ лише після слабкого кислотного гідролізу в 0,05н H_2SO_4 свідчить, що термінальні залишки галактози у складі специфічних поліпептидів ПМТ, за винятком ПЛФ, екрановані сіаловими кислотами.

При аналізі вуглеводних компонентів поліпептидів ПМТ на різних строках вагітності не виявлено значних відмінностей в зв'язуванні лектинів з глікопротеїнами ПМТ, за винятком ПЛФ. Як зазначалося, в зрілій плаценті не виявлено залишків сіалових кислот у складі олігосахаридних ланцюгів ПЛФ, в плаценті ж ранніх строків вони присутні. Напевно, в процесі розвитку плаценти відбувається відщеплення термінальних залишків сіалових кислот, що призводить до зміни заряду та, як наслідок, конформації ПЛФ у складі ПМТ.

Таблиця 1

Спектр глікопротеїнів ПМТ, виявлених з допомогою глікокон'югатів

М.в. (кД)	Анти-ПМТ	WGA	Con A	LCL	PNA до обробки	PNA після H_2SO_4	RCA	LAL
39-40		+	+	+	-	-	-	+
47-49	+	+	+	+	-	+	+	+
56		+	+	+	-	-	+	+
66		+	+	+	-	-	-	+
68-69	+	+	+	+	+	+	+	+
76	+	+	+	+	-	+	+	+
79-80	+	+	+	+	-	+	+	+
89-90	+	+	+	+	-	+	+	+
97	+	+	+	+	-	+	+	+
110	+	+	+	+	-	+	+	+
123		+	+	+	-	-	-	
130	+	+	+	+	-	+	+	
138		+	+	+	-	-		
148		+						
162		+						

4. ІМУНОГЕННІСТЬ БІЛКІВ ПМТ ПРИ НОРМАЛЬНІЙ ВАГІТНОСТІ, ОПГ-ГЕСТОЗІ ТА РЕТАРДАЦІЇ ПЛОДУ

Одним із механізмів, що забезпечують толерантність матері до плоду і нормальний перебіг вагітності, вважають розпізнавання аллоантигенів трофобласту, що супроводжується продукцією блокуючих антитрофобластичних антитіл. Проте, дані літератури не дають достатньо повної інформації про специфічність виявлених антитіл до певних антигенних детермінант. Між тим, такого роду дослідження представляють інтерес не лише в плані розуміння механізмів імунологічних відносин між матір'ю та плодом, але й механізмі , що розвивають ускладнення перебігу вагітності.

За допомогою методів імуноферментного аналізу (ІФА) та імуноблоту здійснили аналіз антитіл до інтегральних білків ПМТ (анти-ПМТ) в плазмі невагітних (контрольна група - 1), жінок з нормальною вагітністю (2 група) та ускладненою ОПГ-гестозом (3 група) і гіпотрофією плоду (4 група).

Показники рівня анти-ПМТ в плазмі крові наведені в таблиці 2. При аналізі кількості анти-ПМТ в 2-гій та 4-тій групах не виявлено вірогідної статистичної різниці між порівнюваємими групами. Значне зниження анти-ПМТ (більш ніж у два рази) характерне для групи з ОПГ-гестозом. Слід зазначити, що при токсикозах третього ступеню анти-ПМТ методом ІФА не виявлялись.

Специфічність виявлених анти-ПМТ досліджували методом імуноблоту. Результати наведені в таблиці 3. Як видно, анти-ПМТ виявлялись як у контрольній , так і в 2-гій та 3-тій групах.

Таблиця 2

Індекс зв'язування антитрофобластичних антитіл в плазмі крові при нормальній і ускладненій вагітності

група	Плазма матері		Плазма плоду	
	n	M + m	n	M + m
Нормальная вагітність	59	1,56 + 0,20	23	1,57 + 0,30
Гіпотрофія плоду	11	1,40 + 0,27	11	1,36 + 0,36
ОПГ-гестоз	17	0,61 + 0,13*		-

Примітка: * - різниця у порівнянні з нормальною вагітністю вірогідна при p<0,05.

Таблиця 3

Спектри імуногенних білків трофобласта людини в нормі і при ОПГ-гестозі

М.м.	Невагітні n=18		Нормальна вагітність n=51		ОПГ-гестоз n=37	
	1	2	1	2	1	2
21 500			9	17,6	4	10,8
23 500			8	15,7	3	8
27 800			20	39	10	27
31 500	2	11	17	33	14	37
33 000	9	50	16	31	9	24
35 000	9	50	34	66	16	43
39 000			9	17	3	8
42 000					3	8
45 000	9	50	15	29	9	24
47 000			15	29	2	5,4
58 000			9	17,6		
64 500	4	22	8	15,7	3	8
66 000	4	22	22	43	20	54
69 000			6	12	1	2,7
76 000			9	17	1	2,7
90 000			6	12		
110000			12	23,5	6	17,2
123000			1	1,9	1	2,7

1 - частота виявлення анти-ПНТ до вказаного полипептиду;

2 - частота виявлення (в %) анти-ПНТ по відношенню до загальної кількості досліджених в даній групі.

причому в останніх спектр імуногенних білків значно ширший за рахунок виявлення антитіл до поліпептидів з М.м. 21-27, 39, 47 та виявлених за допомогою одержаної нами антисироватки специфічних для трофобласту поліпептидів з М.м. в межах 69-123 кД. Слід зазначити, що частота виявлення антитіл до цих поліпептидів в 2-й групі вища у порівнянні з 3-ю групою.

Таким чином, під час вагітності в плазмі жінок присутні антитіла, направлені як до специфічних, так і до неспецифічних антигенних детермінант інтегральних білків ПМТ. При ОПГ-гестозі знижена кількість анти-ПМТ за рахунок зниження продукції антитіл до специфічних антигенів ПМТ. Можна припустити, що в патогенезі ОПГ-гестозу імунна відповідь на антигени трофобласту є одним із механізмів, що запускають патологічний процес. Це може бути обумовлено як з виникненням циркулюючих імунних комплексів при токсикозах, так і сорбцією антитіл на плаценті.

В И С Н О В К И

1. У складі інтегральних білків плазматичних мембран трофобласта людини ідентифікована плацентарна лужна фосфатаза та виявлено нові тканево-та видоспецифічні антигени з молекулярними масами у межах 76 ÷ 130 кД.
2. Специфічні антигени плазматичних мембран трофобласта людини є глікопротеїнами, до складу вуглеводних ланцюгів яких входять залишки манози чи глюкози, галактози, фукози, N-ацетил-глюкозаміну, сіалових кислот. На основі аналізу зв'язування лектинів різної специфічності із глікопротеїнами плазматичних мембран трофобласта людини встановлено наявність О-гліканів та N-гліканів різного типу в структурі виявлених специфічних білків.
3. Плацентарна лужна фосфатаза проявляє гетерогенність в онтогенезі, обумовлену зниженням термінальних залишків сіалових кислот у процесі старіння плаценти.
4. Встановлено пряму залежність вмісту плацентарної лужної фосфатази в плаценті від ступеню зрілості плаценти.
5. Інтегральні білки плазматичних мембран трофобласта людини проявляють виражену імуногенність до організму матері: в плазмі крові вагітних виявлено антитіла як до специфічних, так і до неспецифічних антигенів плазматичних мембран трофобласта людини.
6. Встановлено вірогідне зниження в плазмі крові матері рівня антитіл до інтегральних білків плазматичних мембран трофобласта людини при ОПГ-гестозі, зобумовлене зниженням імунної відповіді на специфічні антигени.
7. Гіпотрофія плоду не супроводжується вірогідною зміною рівня

антитіл до білків плазматичних мембран трофобласта людини як в плазмі матері, так і в плазмі плоду.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. А.И.Шевцова, Т.В.Лапа, К.В.Воронин. Характеристика антигенов трофобласта и их использование в иммунодиагностике акушерской патологии// Тез.докл. 1 Всесоюз. иммун. съезда.- Сочи, 1989.- Т.2.- С.146.
2. Шевцова А.И., Лапа Т.В., Воронин К.В., Крячкова Н.В. Использование иммуноферментного анализа анти-трофобластических антител в прогнозе ОПГ-гестозов// Тез.докл.Всесоюз. съезда "Реабилитация иммунной системы".- Цхалтубо, 1990.- С.35.
3. А.И.Шевцова, Т.В.Лапа, К.В.Воронин. Иммунохимическое исследование антигенов трофобласта человека// Тез.докл. IУ Всесоюзн. съезда Иммунол. репрод.- Киев, 1990.- С.285.
4. Shevtsova A.I., Lapa T.V. Isolation and partial characterization of human trophoblast antigens// 20th FEBS Meetihg, 14-24 August 1990, Budapest, Abstracts P-Mo 077, P.37 .
5. T.V.Lapa. A.I.Sevtsova, K.V.Voronin. Use of lectins in the study of difference between the human adult and embrionic tissue membrane glycoproteins// 13th International Lectin Meeting, August 11-17, 1991, Berlin.- P.30.
6. A.I.Sevtsova, T.V.Lapa. Antigenic analisis of human syncitiotrophoblast membrane: detection of specific antigens// Abstr.15th Intern. Congr. of Biochem.- Ierusalem, 1991.- August 4-8.
7. A.I.Shevtsova, T.V.Lapa, K.V.Voronin, B.A.Potapov. Autoantibodies to membrane proteins of trophoblast in normal and abnormal pregnancy// Abstr. 9th Symp. on Immunol. of Reprod. Pome, Italy, 1992.- Aug. 28-31.

ЛНБ ім. В. Стефаника
АН України

Подписано в печать 15.09.93. Формат 60х84 1/16. Усл.печ.
л. 1.25. Заказ 148 . Тираж 100 экз. ДГТИ. Ротапринт.

463451

Ав 28.205