

**ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ**

На правах рукопису

Швацова Алла Іванівна

**СПЕЦИФІЧНІ ГЛІКОПРОТЕЇНИ
ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСУ
В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ**

03.00.04. Біохімія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

**Харків
1996**



АВ 33.840

Робота виконана на кафедрі біохімії Дніпропетровської
державної медичної академії

Офіційні опоненти :

доктор біологічних наук
професор Луговий Володимир Йосипович
доктор біологічних наук
професор Стародуб Микола Федорович
доктор медичних наук
професор Щербина Микола Олександрович

Провідна установа - інститут педіатрії, акушерства та гіне-
кології АМН України.

Захист відбудеться " 14 " березня 1996р. о
14 год. на засіданні спеціалізованої ради Д 02.38. 01 при
Харківському державному медичному університеті (м. Харків,
пр. Леніна, 4).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Харківського
державного медичного університету.

Автореферат розісланий " 5 " лютого 1996р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук

Л.О.Жубрикова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ.

АКТУАЛЬНІСТЬ ПРОБЛЕМИ. Феномен успішного виживання напівалогенного плоду в організмі матері досі залишається загадкою. Безсумнівно, що в цьому процесі приймають участь так звані білки зони вагітності (БЗВ) - група стадіоспецифічних білків, які синтезуються в період гестації [Aplin, 1989; Torry c. a., 1989]. Вони визначають своєрідність імунологічних реакцій в системі мати - плід, що не носять конфліктного характеру, а, скоріше, сприяють нормальному розвитку вагітності [Knobloch c. a., 1989; Rodger, 1987].

Особливе місце серед БЗВ займають білки, що виробляються фетоплацентарним комплексом (ФПК), особливо його периферійною частинною-ворсинчастим хоріоном. Кожна з ворсин хоріону складається з елементів позазародкового (трофобласт) і зародкового (stroma ворсин, фібробласти, плодови канілари) походження, є структурно - функціональною одиницею ФПК [Gurka, 1987], тому має практично повний набір стадіоспецифічних білків, характерних для ФПК в цілому.

До цього часу описано понад 60 представників білків ФПК [Bohn, 1991; Martal, 1988]. Аналіз літератури дає підстави стверджувати, що кількість стадіоспецифічних антигенів ФПК, певно, значно більша. Більшість з описаних білків ФПК вивчена слабко, в особливості, експресованих на поверхні плазматичних мембран трофобласту. Між тим, ця група білків викликає особливий інтерес, бо трофобласт не тільки є кордоном розділу материнського і плодового організмів, але й, подібно раковим клітинам, володіє проліферативною активністю [Agnholdt, 1991; Martal, 1988].

Функціональне призначення, структура і тканеспецифічність цих білків також під питанням [Bohn, 1985-1991; Faulk, 1976 - 1989]. Вважають, що специфічні антигени трофобласту

відповідальні за розвиток імунологічної толерантності матері до плоду, але механізми реалізації цього процесу залишаються проблематичними. Очевидно, додаткову інформацію можуть дати дослідження імуногенності цих білків при ускладненнях вагітності, зв'язаних з імунологічним конфліктом, наприклад, при ОПГ - гестозі.

Враховуючи спроможність трофобласту прорости в децидуальний простір, перфорувати кровоносні судини і навіть мігрувати в материнський організм [Фолк, 1983], треба очікувати на взаємодію специфічних антигенів трофобласту з білками плазми і екстрацелюлярного матриксу, зокрема, із фібронектином - адгезивним глікопротеїном, який, окрім того, є опсонін [Себко, 1991; Saba, 1987]. Ніде в літературі це питання досі не обговорювалось.

До числа найбільш відомих білків ФПК відносяться альфа-фетопротейн (АФП). Незважаючи на чимале число досліджень, клініко-функціональне значення цього глікопротеїну вивчено недостатньо, в особливості, при захворюваннях, що супроводжуються поразкою печінки і ресекспресією його геному [Deutsch, 1991]. Не вирішене остаточно питання про вплив АФП на імунокомпетентні клітини [Kucharz, 1990]. В останній час акцент досліджень в цій галузі все більше зміщується в бік вивчення молекулярної гетерогенності білку при онкозахворюваннях [Ishiguro, 1991; Sottrup-Jensen, 1989]. Гетерогенність АФП в онтогенезі та при порушеннях ФПК не досліджувалась.

Сукупність вищеперелічених проблем і визначила науковий напрям поданої роботи.

ЦІЛЬ та ЗАВДАННЯ. Ціллю роботи було дослідження структурно-функціональних особливостей глікопротеїнів фетоплацентарного комплексу в нормі і при деяких патологіч-

них станах. Основна практична ціль - обґрунтувати використання глікопротеїнів ФПК як прогностичних і діагностичних маркерів ускладненого протікання вагітності та стану фетоплацентарного комплексу.

У зв'язку з поставленою ціллю вимагалось : 1 - виявити та ідентифікувати тканино- та видоспецифічні білки плазматичних мембран трофобласту, з'ясувати їх глікопротеїнову природу і охарактеризувати вуглеводний компонент; 2 - провести порівняльний аналіз кількості і специфічності антитіл, що циркулюють в материнській плазмі, до білків плазматичних мембран трофобласту при нормальній вагітності, ОПГ-гестозі та ретардації плоду; 3 - одержати високоочищені пренарати альфа- фетопроїтеїну та фібронектину і антитіла до них, установити закономірності зміни концентрації цих білків в нормі та при патології; 4 - вивчити вплив АФП на ауторозеткоутворюючу спроможність лімфоцитів в нормі і при патології; 5 - дослідити афінність АФП плазми крові плоду до лектинів різноманітної специфічності в нормі і при ретардації плоду; 6 - вивчити взаємодію специфічних глікопротеїнів фетоплацентарного комплексу з фібронектином.

НАУКОВА НОВИЗНА І ПРАКТИЧНА ЗНАЧИМІСТЬ.

Установлена і описана асиметрія глікопротеїнових спектрів ідентичних тканин дорослої людини і плоду. Засобами імунохімічного аналізу визначені і охарактеризовані нові тканино- та видоспецифічні антитиси в складі інтегральних білків трофобласту людини, доведена їх глікопротеїнова природа та імуногенність для материнського організму. Плацентарна лужна фосфатаза ідентифікована як основний компонент специфічних білків трофобласту в стиглій плаценті. Показана пряма залежність кількості плацентарної лужної фосфатази в плаценті від міри її зрілості. Установлено, що кількість

термінальних залишків сіалових кислот в складі вуглеводного компоненту плацентарної лужної фосфатази зменшується по мірі дозрівання та наступного старіння плаценти.

Доведено достовірне зниження кількості антитіл в плазмі крові вагітних з ОПГ-гестозом, зумовлене зниженням імунної відповіді на специфічні антигени трофобласту. На основі одержаних результатів сформульована робоча гіпотеза, яка стосується участі специфічних глікопротеїнів плазматичних мембран трофобласту в підтримці імунного гомеостазу в системі мати-плід і розроблена схема "порочного кола" ускладнень, що виникають внаслідок надмірної стимуляції імунної системи матері трофобластспецифічними антигенами.

Виявлена закономірність зміни концентрації АФП в материнській плазмі залежно від терміну гестації, на основі якої розроблений напівкількісний варіант зустрічного імуноелектрофорезу, який використовується в базових жіночих консультаціях для скринінгу вагітних на предмет пренатального виявлення дефектів незвальної трубки плоду. Показано, що рівень АФП в материнській плазмі підвищується при ОПГ-гестозі, передчасних пологів, анемії внаслідок активації його трансплацентарного переходу. Знайдені достовірні відмінності у вмісті і мірі фукозилування АФП пуповинної крові при ретардації плоду.

Доведена різнонаправленість дії екзогенного АФП на постимічні прекурсори, висунена гіпотеза про існування двох типів рецепторів АФП на поверхні згаданих вище Т-лімфоцитів.

Вперше продемонстрована взаємодія специфічних глікопротеїнів фетоплацентарного комплексу з фібронектином і розглянуті теоретичні основи цього процесу.

Результати досліджень знайшли застосування в практичній медицині при організації скринінгу по пренатальній діагностиці дефектів нервальної трубки плоду і прогнозуванню течії та виходу ОПГ-гестозу, оцінки стану фетоплацентарного комплексу. По матеріалах дослідження видано інформаційний лист і методичні рекомендації.

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ. Матеріали роботи представлені на I Всесоюзному імунологічному з'їзді (Сочі, 1989), 2 - му Всесоюзному з'їзді " Імунологічні аспекти реабілітації " (Цхалгубо, 1990), 4 і 5 міжнародних з'їздах " Імунологія репродукції " (Київ, 1990, 1993), 20-й конференції FEBS (Будапешт, 1990), 13 - й міжнародній конференції по лектинам (Берлін, 1991), 15- му Міжнародному біохімічному конгресі (Ієрусалім, 1991), Всесоюзному симпозіумі "Нові засоби прогнозування патологічного процесу " (Курськ, 1991), 7 -му Європейському з'їзді по імунології репродукції (Рим, 1992), 6 - му Українському біохімічному з'їзді (Київ, 1992), 6-му Конгресі федерації біохіміків Азії та Океанії (Шанхай, 1992), 3 -му Міжнародному симпозіумі " Системно-антисистемна регуляція в живій і неживій природі " (Київ, 1993), 16-му Міжнародному конгресі по біохімії і молекулярній біології (Делі, 1994), 1'-му Міжнародному конгресі федерації акушерів-гінекологів (Монреаль, 1994), 1-му Європейському симпозіумі "The Protein Society" (Давос, Швейцарія, 1995).

ПОЛОЖЕННЯ, ЩО ВІНОСЯТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ:

- в складі інтегральних білків трофобласту людини знайдені і охарактеризовані тканно- та видоспецифічні глікопротеїни, які приймають участь в розвитку імунологічної толерантності матері до плоду;

- закономірності зміни на протязі гестаційного періоду кількості специфічних глікопротеїнів фетоплацентарного ком-

плексу та складу їх вуглеводного компоненту порушуються при ОПГ-гестозі та ретардації плоду, що є базою для розробки засобів прогнозування цих патологічних станів.

СТРУКТУРА І ОБСЯГ ДИСЕРТАЦІЇ. Дисертація, написана на 217 аркушах машинопису і складається з двох розділів: огляду літератури та експериментальної частини, яка містить 5 глав, узагальнення і висновки. Список літератури вклучає 130 найменувань на російській мові та 314 іноземних джерел. Матеріали дисертації ілюстровані 12 таблицями і 54 рисунками.

Всі дослідження, обробка результатів та їх аналіз виконані з ініціативи автора та за його безпосередньою участю. Автор висловлює подяку доктору медичних наук професору К.В.Воропіню за консультативну допомогу при обговоренні результатів, які торкаються ускладненого протікання вагітності, а також співробітникам кафедри акушерства та гінекології кандидаткам медичних наук Т.В. Демченко, Ю.Н.Дзюбі, Н.В.Крячківій за допомогу при зборі клінічних даних та асистентам Т.В.Маврутенковій і С.А.Сидоренко за технічну допомогу.

МАТЕРІАЛИ І ЗАСОБИ

Плазматичні мембрани трофобласту (ПМТ) виділяли з тканини плаценти по засобу Smith, 1974. Збагачування одержаної фракції ПМТ мембранами мікророслин хоріону оцінювали по зростанню активності маркерного еніма - лужної фосфатази, використовуючи субстрат β - гліцерофосфат Na. Питома активність ферменту збільшувалась у 7.8 разів. Додатковим критерієм чистоти мембранної фракції було визначення β -2 мікроглобуліну людини, який зв'язується з детермінантами HLA, -B і -C на клітинній мембрані. Солюбілізовані Тритоном X-100 білки ПМТ відділяли цент-

рифугуванням при 90 000g протягом 60 хв. Надосадкову рідину збирали і діалізували проти 0.05 М трис - HCl буферу з 0.1 % Тритоном X -100: β - мікроглобулін не виявлявся в одержаній фракції інтегральних білків ПМТ.

Виділення фібрoneктину проводили з плазми крові шляхом афінної хроматографії на колонці з желатин-агарозою (Бичков С. М., 1983). Фракції, що містять ФН, визначали засобом злитного ракетного імуноелектрофорезу з використанням специфічної антисироватки. Внаслідок одержано препарат фібрoneктину з виходом 59% і мірою очищення 158.

Виділення і очистку АФП проводили з абортивного матеріалу згідно зі схемою, приведеною на рис 1. У результаті був одержаний препарат АФП з мірою очистки 422 и виходом 19%. При електрофорезі в градієнті поліакріламідного гелю виявлена широка смуга в зоні 68 - 70 кДа. Препарати ПМТ, АФП і ФН використовувались для одержання специфічних антитіл і в якості калібровочного матеріалу в імунохімічних реакціях.

Специфічну кролячу антисироватку одержували шляхом внутрішкірної ін'єкції емульсії антигену в суміші з рівним обсягом повного ад'юванту Фрейнда. Разова доза антигену складала 2 мг білку на кроля при імунізації препаратом ПМТ і 100 мкг білку при імунізації АФП. Для одержання антисироватки до цільної суб'єдиниці ФН використали засіб [Knudsen, 1985], заснований на вступі розчиненої в диметилсульфоксиді нітроцелюлозної решітки, що містить 220кДа суб'єдиницю ФН. Специфічність одержаних антисироваток оцінювали засобами перекресного, ракетно-лівійного імуноелектрофорезу та імуногістохімічно [Полак, 1987].

Антисироватку до ПМТ багаторазово пропускали крізь афінні сорбенти з іммобілізованими білками сироватки крові

Гомогенізація абортивного матеріалу
в 0.05 М трис-НСІ буфері з 10mM ЕДТА,
0.015 mM PMSF, 10mM NaN₃, рН 8.0

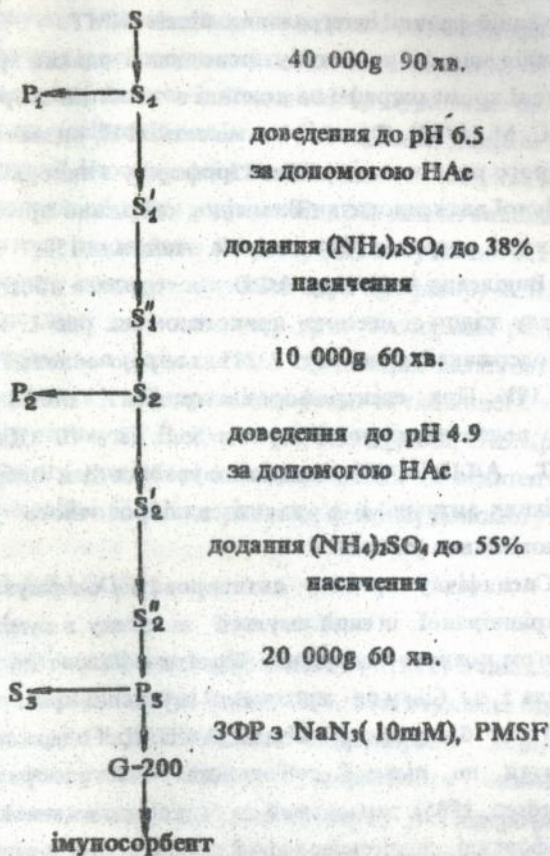


Рис.1. Схема виділення і очищення альфа-фетопротеїну.

людини, білками печінки людини і альбуміном, а також проводили виснаження на еритроцитах. Для імунохімічних досліджень використовували збагачену імуноглобуліном G фракцію антисироватки (Девені, 1976). Тканинну специфічність антисироватки до білків ПМТ людини оцінювали засобом імуоблоту (Wang, 1985). Для ідентифікації специфічних антигенів ПМТ використовувались, окрім одержаної нами, антисироватки до PP21, плацентарної лужної фосфатази, MP2A -MP2L антигенів плаценти людини, прислані для перевірки доктором Н.Bohn (Forschungslaboratorien, Marburg, FRG), а також антисироватки до трофобластичного бета-глобуліну, фібронектину, фібриногену (НДІ ім.Мечникова, м. Москва), альфа2-мікроглобуліну, трансферину, до білків сироватки крові людини (м. Нижній Новгород), а також одержана нами антисироватка до альбуміну людини.

Кількісне визначення антитіл до ПМТ в сироватках крові здійснювали засобом неконкурентного імуоферментного аналізу (Faulk, 1987). Зв'язування антитіл до ПМТ, що циркулюють в крові вагітних і плоду, оцінювали засобом імуоблоту (Wang, 1985).

Кон'югацію антитіл із пероксидазою крові проводили періодатним засобом (Лейхорн, 1988). Відділення кон'югату від вільної пероксидази здійснювали або шляхом гель-фільтрації на G-200, або афінною хроматографією на протеїн-A сефарозі (Page, 1979).

Визначення АФП в сироватці крові матері проводили засобом зустрічного і ракетно-лінійного імуоелектрофорезу, а також засобом неконкурентного імуоферментного аналізу з використанням одержаних нами реагентів і за допомогою стандартних наборів виробництва фірми "Діагност" (м. Мос-

ска). Для визначення АФП в плодовій плазмі та амніотичній рідині використали засіб ракетного імуоелектрофорезу.

Мікрогетерогенність АФП досліджувалась засобом афінного імуоелектрофорезу (Вребогowitch, 1988-1989) з використанням у вигляді лігандів ConA, LcL, RCA і WGA.

Вплив АФП на ауторозеткоутворюючу спроможність Т-лімфоцитів оцінювали по методиці Нінової та ін. (1982). Для визначення рівня ауто-РОК використали засіб Сагаух (1979).

Рівень імуореактивного фібронектину (ФНір) в плазмі крові визначали засобом ракетного імуоелектрофорезу та імуоферментного аналізу з використанням власних реагентів і стандартних тест-систем (НДІ ім. Мечникова, м. Москва).

Кількість біологічно активного фібронектину (ФНб/а) оцінювали по спроможності желатинізованих мікрочастинок агрегувати в присутності нативних молекул фібронектину (Сафіна та ін., 1984). Результат реакції реєстрували за допомогою лазерного нефелометру.

Взаємодію ФН з АФП і білками ПІІТ вивчали дослідженням засобів перехресного імуоелектрофорезу та афінного імуоблоту. Лектини зв'язували з пероксидазою хрому відповідно з методикою, описаною Луцьком М. Д. (1989).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.

1. Асиметрія поліпептидних і глікопротеїнових спектрів тканин дорослої людини та плоду.

На рис. 2 представлена електрофореграма розділених в градієнті ПААГ білків тканин дорослої людини і плоду, солюбілізованих триптоном X-100. Видно відміння по відношенню змісту окремих поліпептидів та їх якісному складу: тканини дорослої людини містять децю більше число поліпептидів у

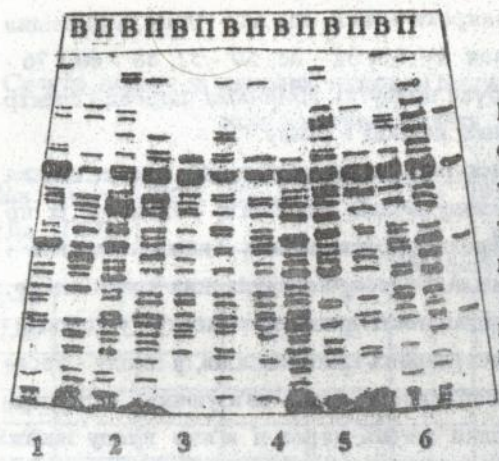


Рис.2. Поліпептидний склад солубілізованих тритином Х-100 білків тканин дорослої людини (В) та плоду (П)
 1-легені, 2-печінка, 3-серце, 4-нирки, 5-мозок, 6-м'язи

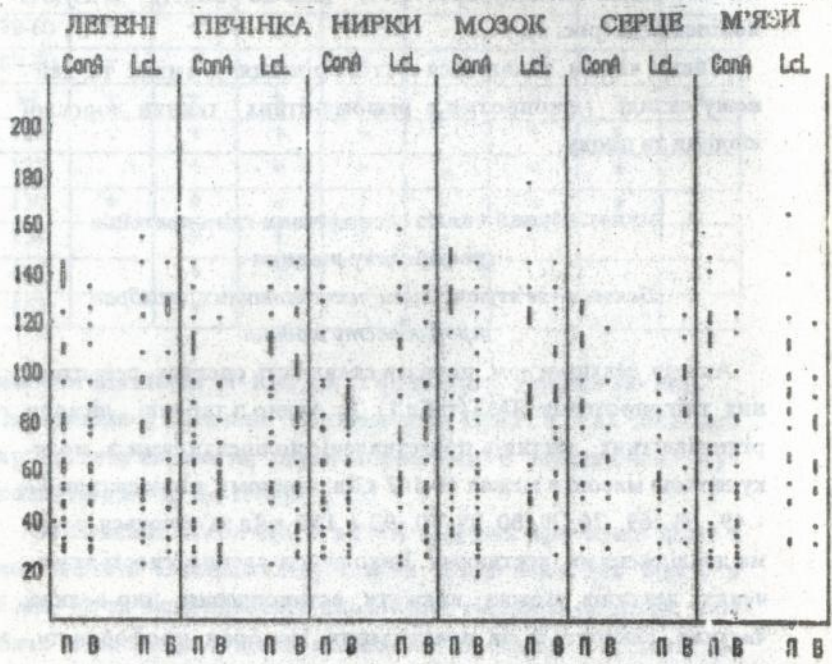


Рис.3. Спектр ConA та LcL-зв'язуючих білків тканин дорослої людини (В) та плоду (П)

порівнянні з тканинами плоду. Загальною для білків всіх досліджених тканин є широка зона із Мв 68 - 70кДа, відповідна альбуміну. Поліпептиди із Мв 32 - 33, 50 - 52, 58 - 60 і 76 - 78кДа також усюди були присутні. Найбільш широким спектром поліпептидів виявлено в печінці і мозку.

При порівнянні спектрів лектин-зв'язуючих білків тканин дорослої людини і плоду можна визначити подібність їх по складу низько- і середньомолекулярних глікокон'югатів і певні відмінності у складі високомолекулярних компонентів. Найбільш виражені відмінності виявлені в мозку: у дорослого більше низькомолекулярних глікопептидів, у плоду - високомолекулярних, в особливості, LcL - зв'язуючих. Характерно, що мембранні білки легень, нирок і м'язів плоду також містять високомолекулярні LcL (але не ConA) - зв'язуючі поліпептиди (рис. 3).

Таким чином, виявляється суттєва різниця у вмісті та якісному складі глікопротеїнів різноманітних тканин дорослої людини та плоду.

2. Імунохімічний аналіз специфічних глікопротеїнів трофобласту людини

Лектин - зв'язуючі білки плазматичних мембран трофобласту людини.

Аналіз лектинограм показав складність спектру рецепторних глікопротеїнів ПМТ (табл.1). Як видно з таблиці, ліганди різноманітних лектинів представлені поліпептидами з молекулярною масою в межах 40-162 кДа, причому, поліпептиди 47 - 49, 68 - 69, 76, 79- 80, 89- 90, 97 і 110 кДа зв'язуються з усіма дослідженими лектинами. Виходячи з специфічності зазначених лектинів, можна вважати встановленим, що велика частина глікопептидів поверхневих мембран трофобласту

Таблиця 1.

Спектр лектин-зв'язуючих глікокон'югатів плазматичних мембран трофобласту

Мв кДа	Анти- PMT	WGA	ConA	LcL	PNA		RCA	LAL
					до обробки H ₂ SO ₄	після		
39-40		+	+	+	-	-	-	+
47-49		+	+	+	-	+	+	+
56		+	+	+	-	+	+	+
66		+	+	+	-	-	-	+
68-69	+	+	+	+	+	+	+	+
76	+	+	+	+	-	+	+	+
79-80	+	+	+	+	-	+	+	+
89-90	+	+	+	+	-	+	+	+
97	+	+	+	+	-	+	+	+
110	+	+	+	+	-	+	+	+
123		+	+	+	-	+	+	
130	+	+	+	+	-	+	+	
138		+	+	+	-	-	-	
148		+	+					
162		+						

містить біантенні N-глікани із фукозою в коровій частині. Зв'язування ж багатьох глікокон'югатів PMT з LaL дозволяє припустити наявність, окрім корової, ще й термінальної фукози (Луцк М. Д., 1989).

Зв'язування білків PMT з PNA свідчить про те, що деякі з них містять O-глікани. Порівняння зв'язування цих білків з RCA до та після слабого кислотного гідролізу дозволяє зробити висновок, що лише поліпептид 68-70кДа містить десіальований глікан.

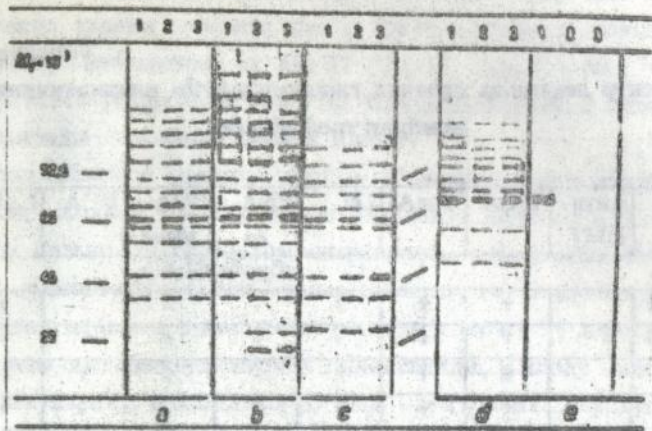


Рис.4. Спектр глікопротеїнів PMT, що зв'язуються з LcL (a), WGA (b), LAL (c), PNA до (e) та після обробки (d) H_2SO_4 .

1- 39-40, 2- 20-24, 3- 6-12 тижнів гестації

Результати афінного блоту лектин-зв'язуючих білків трофобласту різних термінів вагітності представлені на рис. 4, з якого видно, що спектри лектин-зв'язуючих білків на протязі всього терміну вагітності не змінюються, за винятком поліпептиду 68 - 69 кДа, ідентифікованого згодом як плацентарна лужна фосфатаза. Таким чином, до складу гліканів специфічних і неспецифічних білків PMT входять наступні моносахариди: маноза, галактоза, фукоза і аміносахари. Специфічні білки PMT представлені сіальованими глікопротеїнами, що містять O- і біантенні N-ацетілгалактозамінні N-глікани.

Ідентифікація специфічних глікопротеїнів плазматичних мембран трофобласту

а) Аналіз тканноспецифічності

Засобом імуоблоту з використанням специфічної антисироватки серед білків PMT була виявлена інтенсивно забарвлена зона в області 68-69кДа та мінорні компоненти з

Ма 31, 36, 47, 58, 64, 76, 79 - 80, 89 - 90, 97, 110 і 130 кДа. Характерно, що спектр виявлених антигенів змінювався практично незмінним в плаценті різних термінів вагітності (рис. 5).

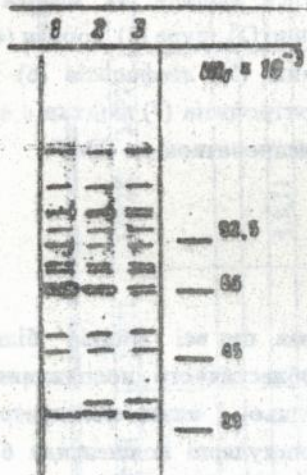


Рис.5. Імуноблот трітонових екстрактів плазматичних мембран трофобласту людини.

1- 39-40, 2- 20-24, 3- 6-12 тижнів вагітності.

Вияток складас поліпептид 68 - 69 кДа, що в фракції ПМТ при терміні вагітності 6 - 12 тижнів був присутнім у вигляді лише злегка забарвленої дифузної зони в області 66 - 70 кДа. Поліпептиди 33-36, 58 і 64 кДа, крім трофобласту, виявлені також в інших тканинах дорослої людини і плоду. Треба визначити, що середньо- і високомолекулярні поліпептиди 68 - 69, 76, 79 - 80, 89 - 90, 97, 110 і 130 кДа не визначалися в жодній з досліджених тканин, крім трофобласту. Як видно з рис.6, ні один з перелічених вище специфічних антигенів не проявляв перехресної реакції із лімфоцитами, т. ч. жоден з них не відноситься до числа TLX - антигенів і не виявляється в плаценті миші, корови, свині. Очевидно можна казати про специфічність цієї групи антигенів для трофобласту людини.

Аналіз тканинспецифічності мембранозв'язаних білків плаценти MP2A- MP2L, антисироватки до яких були люб'яз-

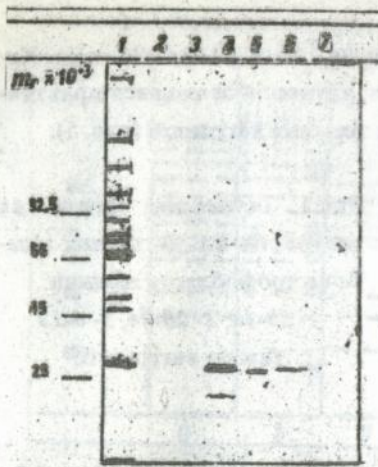


Рис. 6. Імуноблот солюбілізованих тритолом X-100 білків ПМТ людини (1), плаценти мияш (2), щура (3), корови (4), свині (5), лімфоцитів (6) та еритроцитів (7) людини с антисироваткою до ПМТ.

но надані доктором Волл, показав, що всі згадані білки виявляються в тканинах петрофобластичного походження: практично всюди виявлялись середньо- і низькомолекулярні поліпептиди, в той час як високомолекулярні поліпептиди були характерні для трофобласту і лише деяких тканин дорослої людини і плоду (табл. 2).

б) ідентифікація окремих глікопротеїнів

Жоден з описаних вище специфічних антигенів ПМТ не відносяться ані до білків сироватки крові (фібриногену, фібринектину, IgG, трансферину і його рецептору), ані до відомих білків зони вагітності: АФП, АМГФ, ТБГ, ХГЧ. Перевірка їх перехресної реакції із мембранозв'язаними антигенами трофобласту MP2A-MP2L показала, що виявлені нами специфічні глікопротеїни трофобласту не ідентичні жодному з них, хоча існує деяка подібність із MP2A та MP2K-антигенами по складу середньомолекулярних поліпептидів. Таким чином, поліпептиди із Mw 76, 79-80, 89-90, 97, 110 і 130kDa можна віднести до нових тканинно- і видоспецифічних антигенів ПМТ людини.

Таблиця 2

Наявність мембраноз'язаних антигенів плацентти людини в інших тканинах

антиген	MP2A	MP2B	MP2D	MP2E	MP2G	MP2H	MP2I	MP2K	MP2L	ПМТ
Мв поліпептиду (кДа)										
140		3,4								
129-131	1,3									
115-120			3,4					1,9,11		
97-110	1,4									
90-96	4,7		7							
83-87	3,4,5	3	7					9		
75-78	о						2			
68-71							2,9		2,9	
62-65	1-11,	всюди		12	12	всюди	8,9	всюди	8,9	2,6,8, 11,12
56-58	8		4	4	1,5,8,12	1-4,7-9, 12,		10,12		2-8,
51-54			3	1,8,12	3-5,8-12	9,10,12	8	1-3,8-12	8	
42-47	3-5,7	3,4,8-10		4,5,6,9	1,3-5,8-12	3,4,9,10,12	9,10,	1-5,10-12	9,10,	
32-37	4	4,8-12		4-6,10;12	1,2,9-11	4-6,10,12				всюди
26-27	непарні	3,9-12		2-9,11	2,4,8-12	1-5,7,9,10,12	2-9,11,12	всюди		

Примітка: 1,2-легені; 3,4-печінка; 5,6-серце; 7,8-нирки; 9,10-мозок; 11,12-м'як., де парні номери -тканини дорослої людини, непарні - плоду

Д-р І. В. Стефан
АН УРСР
Київ

Основним компонентом, що виявляється за допомогою одержаної нами антисироватки, є поліпептид 68-69 кДа, який був ідентифікований як суб'єдинця плацентарної лужної фосфатази (ПЛФ). Засобом ракетного імуноелектрофорезу встановлено збільшення змісту ПЛФ в тканині плаценти не мірі її дозрівання і наступного старіння. Більш того, зростання кількості ПЛФ в плаценті супроводжується десіалюванням її глікану (рис. 4). Зіставлення одержаних результатів із даними літератури про провідну роль ПЛФ в транспорті вільних IgG від матері до плоду (Makiya R, 1992), а також збіг часу різкого приросту кількості IgG в плазмі крові плоду з початком експресії цього глікопротеїну на поверхні синцитіотрофобласту (Іво Мілер, 1983) дозволяє припустити, що збільшення змісту ПЛФ і десіалювання її глікану при дозріванні плаценти сприяють активації транспорту материнських IgG в кровообіг плоду і утворенню його пасивного імунітету.

Взаємодія білків трофобласту з фібронектином.

Інвазія трофобласту в паренхіму матки в значній мірі визначається взаємодією його поверхневих білків з клітинними елементами децидуальної оболонки. Доведена участь в цьому процесі, принаймні, трьох типів молекул: протеїназ, HLA-антигенів і білків клітинної адгезії, серед яких найбільший інтерес становить фібронектин (ФН), бо він експресується не тільки фіробластами (в тому числі, фіробластами децидуальної оболонки), але й входить до складу білків плазми крові, виконуючи, окрім адгезивної, ще й опсонізуючу функцію (Літвінов Р. І., 1984, Федорів М. А. та ін., 1986). Понад того, молекула ФН має глікокон'югативні зв'язуючі домени, тобто володіє власною лектинною актив-

вістю (Корольов Н. П., 1984). Виходячи з викладеного вище, логічно припустити, що інвазія трофобласту супроводжується взаємодією поверхневих глікопротеїнів трофобласту з фібрoneктином екстраклітинного матриксу і плазми крові. Це припущення було підтверджено в ході експериментальної перевірки.

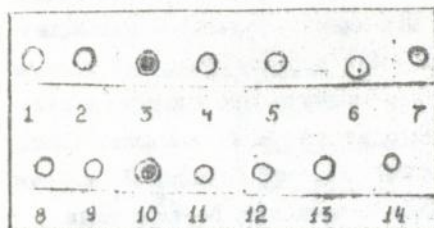


Рис.7. Взаємодія ФН з мембранними антигенами плаценти: 1-MP2E, 2-MP2K, 3-ПЛФ, 4-MP2C, 5-MP2I, 6-MP2H, 7-MP2G, 8-MP2B, 9-MP2L, 10-MP2A, 11-MP2D, 12-MP2F, 13-14 - негативний контроль.

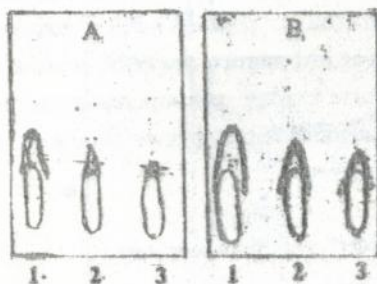


Рис.8. Дозозалежний ефект фібрoneктину.

В гелі - антисироватка до ПЛФ (А) та MP2A (В).

В лунках - 1- 15 мкл ПМТ + 5 мкл ЗФР; 2- 10 мкл ПМТ + 5 мкл ФН; 3- 15 мкл ПМТ + 15 мкл ФН.

На рис.7 представлені результати дослідження зв'язування ФН з глікопротеїнами ПМТ засобом імунодоту. Як видно з рисунку, найбільш активно зв'язується з ФН плацентарна лужна фосфатаза та антиген MP2A. Для всіх інших антигенів має місце слабка взаємодія з ФН, або повна її відсутність. Ці результати були підтверджені електрофоретично: інкубація ПМТ з різноманітними дозами ФН призводила до істотного зменшення піку преципітації ПЛФ і MP2A (рис. 8).

Порівняльний аналіз вуглеводної частинки АФП хоріону і плодової плазми був проведений засобом імуноафінного електрофорезу з використанням у вигляді лігандів ConA, LcL, WGA. Результати представлені на рис. 9, з якого видно, що WGA не зв'язує АФП ні в одній з фракцій, що досліджувались. ConA зв'язує 99% АФП хоріону і плодової плазми незалежно від стану плоду, що свідчить про відсутність сильної мікрогетерогенності його вуглеводної частини. Отже, вуглеводний компонент АФП хоріону і плодової плазми представлений нерозділеними біантенними N- гліканами.

Взаємодія АФП з LcL демонструє наявність двох фракцій АФП: які не зв'язуються і що зв'язуються з LcL, причому, кількість останньої складає 40% у хоріоні і 8% у плодовій плазмі. Виходячи з специфічності даного лектину, можна казати, що АФП плоду проявляє слабку мікрогетерогенність в онтогенезі, обумовлену зниженням міри фукозилювання корової частини глікану.

Зв'язування АФП з фібрoneктином.

Вважаючи, що фібрoneктин здатний проявляти афінитет до глікану АФП, досліджувалась його спроможність зв'язувати АФП засобом перехресного імуноелектрофорезу з внесенням в гель першого напрямку очищеного препарату фібрoneктину. Результати представлені на рис. 10, з якого виходить, що рухомість АФП в присутності ФН зменшується. Характерно, що довжина пробігу в електричному полі комплексу АФП - ФН менша, ніж комплексу АФП - ConA. Внесення в гель 4М

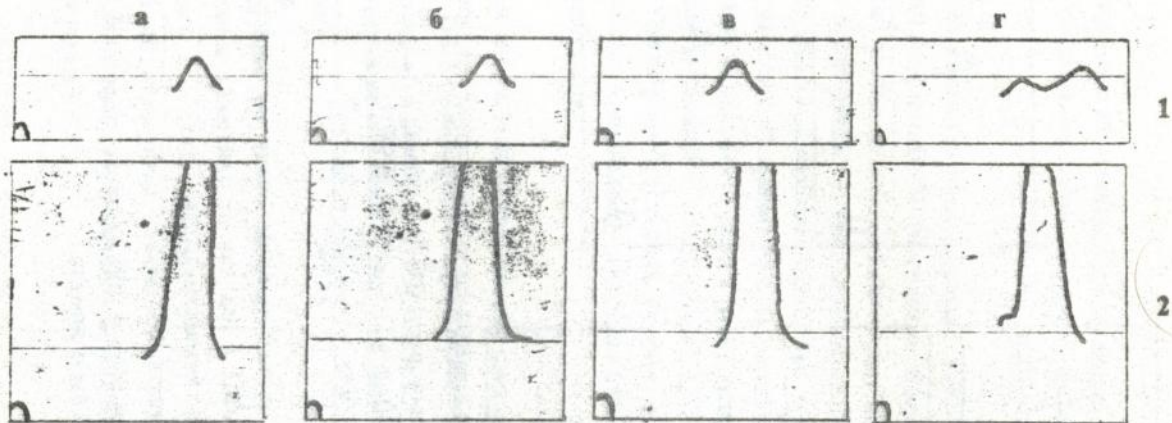


Рис.9. Перекресний афінний імуноелектрофорез альфа-фетопроїєну хоріону (1) і плазми крові плоду (2): а- контроль, б- в гелі 1-го напрямку є WGA, в- в гелі 1-го напрямку є ConA, г- в гелі 1-го напрямку є LcL.

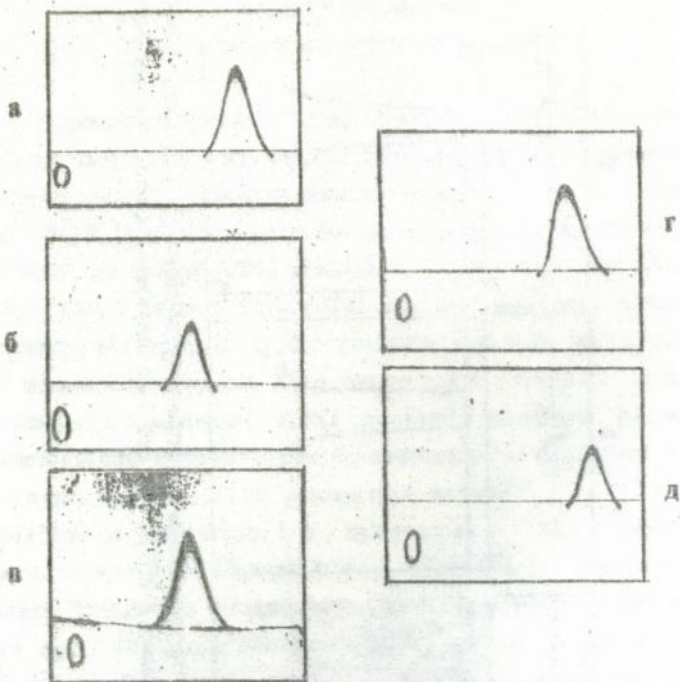


Рис.10. Перехресний імуоелектрофорез АФП.

а - контроль; б - в присутності ФН (0,1 мг/мл); в - в присутності ФН та сечовини (4 М/л); г - в присутності ФН та желатину (0,1 мг/мл); д - в присутні ФН та гепарину (5 000 Е).

сечовини або 1% метилглюкопіранозиду не відновлювало вхідну рухомість АФП, в той час як гепарин і желатин інгібували утворення комплексу АФП - ФН.

Виходячи з цих даних, можна припустити, що область зв'язування АФП в молекулі ФН частково перекриває колаген- та гепарин- зв'язучі домени.

Глікопротеїни фетоплацентарного комплексу при патології.

*Імуногенність білків трофобласту при нормальній
і ускладненій вагітності.*

Для з'ясування участі специфічних антигенів трофобласту в розвитку імунологічної толерантності матері до плоду був проведений аналіз антитрофобластичних антитіл, що циркулюють в крові жінок з нормально протікаючою вагітністю та при ОПГ-гестозі. Подібний аналіз був проведений в материнській та плодовій плазмі при гіпотрофії плоду.

Результати кількісної оцінки рівня антитіл в цих групах представлені в таблиці 3, з якої випливає, що при ОПГ-гестозі кількість антитрофобластичних антитіл, що циркулюють в материнському кровотокові, вірогідно нижча, ніж при нормальній вагітності.

Таблиця 3.

Індекс зв'язування антитрофобластичних антитіл у плазмі крові при нормальній та ускладненій вагітності.

Група	Плазма матері		Плазма плоду	
	n	M+m	n	M+m
Нормальна вагітність	59	1,5±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 достовірна при $p < 0,05$.

Таблиця 4.

Спектр імуногенних білків трофобласту людини
у нормі та при ОПГ-гестозі

Мв поліпеп- тиду кДа	Невагітні		Нормальна вагітність		ОПГ-гестоз	
	n=18		n=51		n=37	
	1	2	1	2	1	2
21			9	17,6	4	
23			8	15,7	3	10,8
27			20	39	10	8
31	2	11	17	33	14	27
33	9	50	16	31	9	37
36	9	50	34	66	16	24
39			9	17	3	43
42					3	8
45	9	50	15	29	9	8
47			15	29	2	24
58			9	17,6		5,4
64	4	22	8	15,7	3	8
66	4	22	22	43	20	54
69			6	12	1	2,7
76			9	17	1	2,7
90			6	12		
110			12	23,5	6	17,2
123			1	1,9	1	2,7

1- кількість антисироваток, в яких було виявлені антитіла до даного поліпептиду;

2- частота виявлення (%) антитіла до даного поліпептиду

Якісний аналіз антитіл до деяких антигенних детермінант, експресованих на зовнішній поверхні трофобласту, представлений в табл. 4, свідчить, що при нормальній та ускладненій ОПГ-гестозом вагітності спектр антигенних детермінант трофобласту, що виявляються антитілами, циркулюючими в крові матері, ширший ніж у невагітних жінок. Частина виявлених поліпептидів (Мв 69,76, 90, 110. кДа) специфічна для трофобласту, в той час як поліпептиди з Мв 31, 33, 36, 64 кДа не були специфічними для цієї тканини, оскільки виявляються в інших тканинах людини. Характерно, що при ОПГ-гестозі зменшується рівень антитіл до специфічних антигенів трофобласту. Очевидно, ці антитіла виводяться з материнського кровотоку в складі імунних комплексів і сорбуються на плаценті.

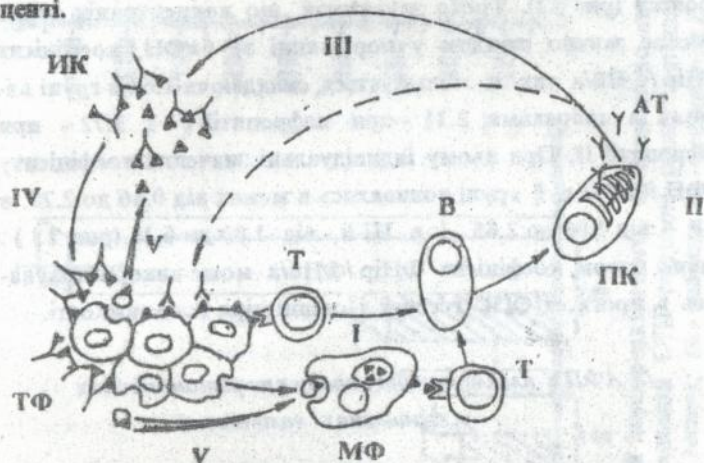


Рис.11. "Порочне коло" розвитку ОПГ-гестозу.

I - розпізнання антигенів трофобласту, II - продукція антитіл до них, III - формування імунних комплексів, IV - сорбція їх на плаценті, V - резорбція тканини.

АТ - антитіла, В - В-лімфоцит, ИК - імунні комплекси, МФ - макрофаг, ПК - плазматичні клітини, Т - Т-лімфоцит, ТФ - трофобласт.

Зіставляючи дані літератури з нашими результатами, можна припустити, що в патогенезі ОПГ-гестозу характер імунної відповіді на антигени трофобласту є одним з механізмів, ініціюючих патологічний процес і формуючих свого роду " порочне коло " (circle vitiosus), послідовність етапів якого представлена на рис.11.

*Фібронектин і його опсоніруюча активність при
ОПГ-гестозі.*

Аналіз кількості ФН і його біологічної активності, здійснений в різних групах вагітних, свідчить, що ОПГ-гестоз супроводжується підвищенням рівня як ірФН, так і баФН, причому, це підвищення пропорційне мірі тяжкості патологічного процесу (рис 12). Треба зауважити, що концентрації ірФН зростає значно швидше у порівнянні з баФН, коефіцієнт $\text{ФНір} / \text{ФНб/а}$ також збільшується, складаючи 1.68 в групі вагітних із набряками, 2.11 - при нефропатії I і 3.72 - при нефропатії II. При цьому індивідуальні значення коефіцієнту ірФН /баФН в I групі коливались в межах від 0.46 до 2.25, в II-й - від 1.00 до 2.85 і в III-й - від 1.00 до 6.25 (рис. 13). Таким чином, коефіцієнт $\text{ФНір} / \text{ФНб/а}$ може використовуватись в прогнозі ОПГ-гестозу і оцінці міри його тяжкості.

*АФП в плазмі матері і плоду при різноманітних
ускладненнях вагітності.*

В ході скринінгу був досліджений зміст АФП в крові 2478 вагітних, у 112 з них виявлено підвищення концентрації білку. Виявилось, що тільки в 35 жінок з цієї групи вагітність протікала нормально. В інших спостерігались різноманітні, ускладнення вагітності, найбільш частими з яких були анемія і

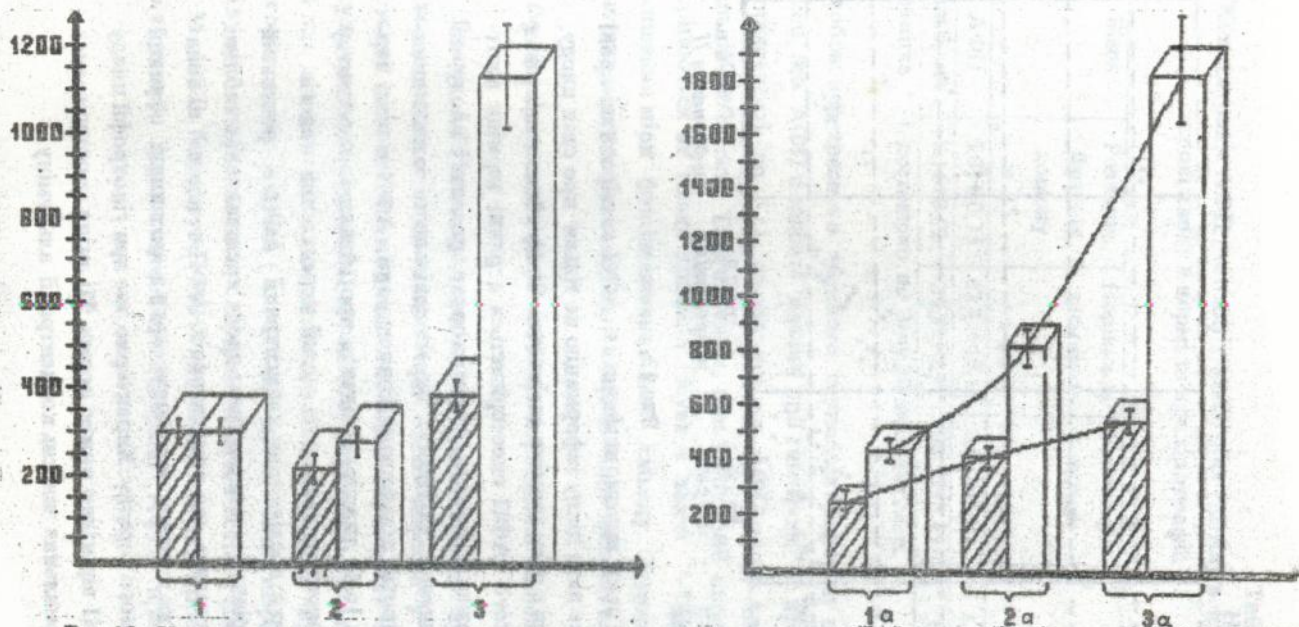


Рис.12. Концентрація імунореактивного та біологічно активного фібриногену при нормальній вагітності та ускладненій ОПГ-гестозом різного ступеню тяжкості: 1- донори; 2- нормальна вагітність; 3 - ОПГ-гестоз; 1а - набряки, 2а - нефропатія I. 3а - нефропатія II.

▨ - біологічно активний фібриноген

□ - імунореактивний фібриноген

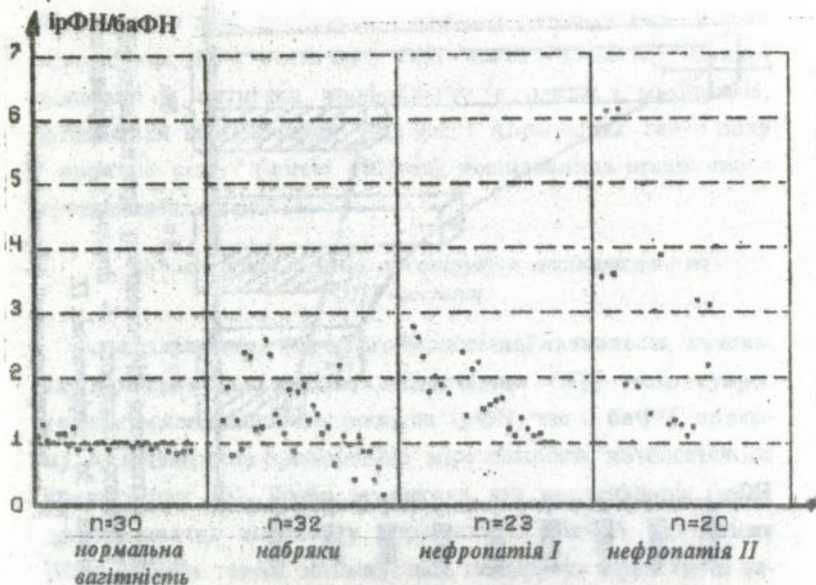


Рис.13.

токсикоз. Таким чином, визначення АФП в сироватці крові матері може дати цінну інформацію не тільки про стан плоду, але й матері в різні терміни вагітності. Якщо підвищення рівня материнського АФП спостерігається в ранні терміни вагітності, то можна очікувати, окрім пороку розвитку плоду, на такі ускладнення вагітності, як мимовільне та звичає викидання. Напротив підвищення концентрації АФП в пізні терміни (після 16-18 тижнів) свідчить про можливість розвитку пізнього токсикозу вагітності, анемії, передчасних пологів.

Підсумки дослідження концентрації АФП в розчинній фракції хоріону і в плазмі крові плоду представлені в таблиці 5, з якої виходить, що концентрація АФП в плазмі новонародженого на порядок перевищує таку в розчинній фракції 8-11 тижневого хоріону. Характерно, що при гіпотрофії плоду рівень АФП вірогідно нижче нормь. Ці зміни спостерігалися на фоні нормальних значень концентрації альбуміну.

Таблиця 5.

Концентрація АФП (мкг/мл) і альбуміну (мг/мл) в плазмі крові плоду в нормі та при гіпотрофії.

Білок	Розчинна фракція хоріону n 25	Нормальна вагітність n 28	Гіпотрофія плоду n 19	t
АФП	5,01+0,75	62,43+10,15	35,44+9,01	3,55*
альбумін	8,16+0,92	35,23+0,91	38,53+2,47	0,9

Примітка: * - t достовірно по 3-му рівню значимості.

Засобом перехресного афінного імуноелектрофорезу встановлено, що АФП плодової плазми при гіпотрофії не проявляє спорідненості до ІсL, на відміну від АФП плоду при нормальній вагітності. Таким чином, при гіпотрофії плоду спостерігаються не тільки кількісні зсуви в змісті АФП, але і зменшення міри фукозилювання його глікану. Одержані результати можуть бути корисні в оцінці міри зрілості плоду.

Імуномодулюючий ефект АФП при інфекційній патології

Вплив АФП на спроможність Т-лімфоцитів до ауторозкоутворення досліджували при HBV-інфекції у дітей. Вірусний гепатит як модельна система для вивчення імунорегулюючого впливу АФП обрані не випадково. По-перше, цей тип патології пов'язаний з поразкою печінки, а ауторозкоутворюючі клітини (ауто-РОК) проявляють морфостатичну дію, стимулюючи проліферацію клітин печінки (Векслер Х. М., 1987). По-друге, HBV-інфекція часто супроводжується зміною сироваткової концентрації АФП, причому,

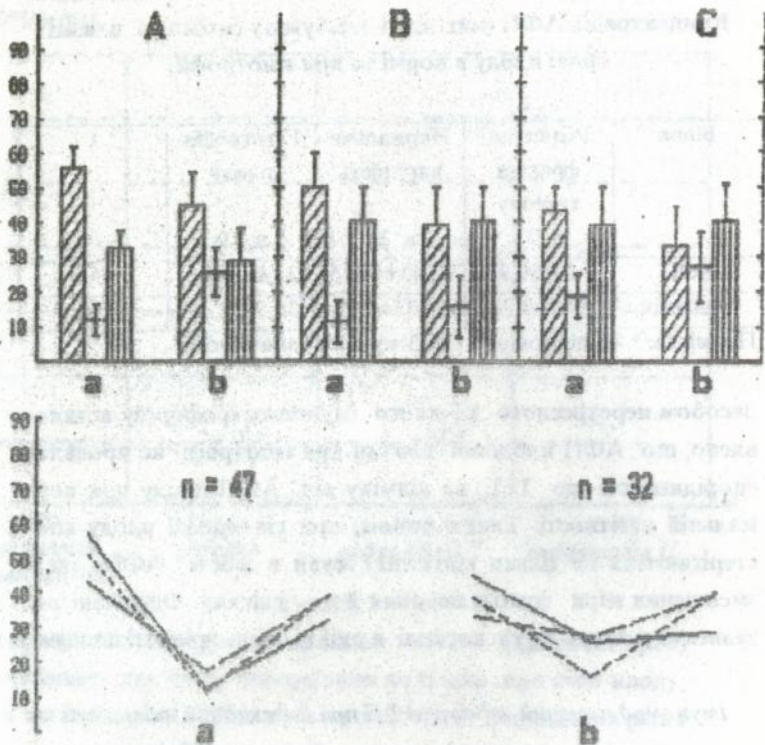


Рис.14. Вплив альфа-фетопроєїну на ауторозетковитворюючу спроможність Т-лімфоцитів при легкій (а) і середньотяжкій (б) формі вірусного гепатиту у дітей.

А - розпал захворювання, В- період ранньої реконвалесценції, С - період пізньої реконвалесценції.

■ відсоток стимульованих клітин

□ інертна реакція;

▨ відсоток інгібованих клітин

пайбільш виражена ця тенденція у дітей (Kucharz, 1990). З наведених на рис. 14 результатів видно, що АФП здатний як на стимулюючу, так і на інгібіруючу дію на ауто-РОК в різні періоди захворювання, незалежно від тяжкості інфекційного процесу. Можна визначити лише деяку тенденцію до підсилення інгібування ауто-РОК в присутності АФП в період ранньої реконвалесценції.

Молекулярний механізм різнонаправленої дії АФП на ауто-РОК в системі *in vitro* невідомий. Можна припустити існування двох типів рецепторів для АФП на поверхні постстимулічних прекурсорів. Зв'язування з рецепторами першого типу призводить до підсилення експресії рецепторів до еритроцитів людини на поверхні незрілих Т-клітин (активація ауто-РОК). Взаємодія з рецепторами другого типу викликає супротивний ефект. Різніше існування трьох типів рецепторів, що володіють різною афіністю до АФП і мають різне представництво на клітинах ліній людської В-лімфоцитів і Raji-клітинах, було продемонстровано Torges et al. (1991). Ці ж автори показали, що активовані Т-лімфоцити синтезують АФП і його рецептори. Останні, експресуючись на поверхню Т-лімфоцитів, активують поглинання комплексу АФП-жирні кислоти і транспорт жирних кислот в клітину.

ВИСНОВКИ.

1. В процесі онтогенезу змінюється склад і структура мембранних глікопротеїнів тканин людини: в тканинах плоду міститься більше високомолекулярних глікопептидів, до складу вуглеводного компоненту яких входять розділений N-глікан із фукозою в коровій частині.

2. Виявлені нові глікопротеїни в складі інтегральних білків трофобласту людини із Мм 76, 79 - 80, 97, 110 і 130 кДа, доказана їх тканино- та видоспецифічність.
3. В структуру гліканів інтегральних білків плазматичних мембран трофобласту людини включені мавоза, галактоза, фукоза і аміносахари. Вуглеводна частина специфічних білків плазматичних мембран трофобласту представлена О- і сіалюваними N- гліканами комплексного типу. Не виявлено істотної різниці в складі гліканів специфічних білків плазматичних мембран трофобласту в різні терміни гестації.
4. Плацентарна лужна фосфатаза ідентифікована як основний компонент специфічних глікопротеїнів плазматичних мембран трофобласту, кількість якого в тканині плаценти зростає пропорційно терміну вагітності. Установлено зменшення вмісту термінальних залишків сіалових кислот в складі її глікану по мірі дозрівання і старіння плаценти. Висунена гіпотеза про вплив міри сіалювання плацентарної лужної фосфатази на її спроможність транспортувати імуноглобуліни матері в кровообіг плоду.
5. Інтегральні білки плазматичних мембран трофобласту людини проявляють виражену імуногенність: в плазмі крові вагітних виявляються антитіла як до специфічних, так і до неспецифічних білків трофобласту. Показано достовірне зниження рівня антитрофобластичних антитіл при ОПГ-гестозі, зумовлене зменшенням кількості вільних антитіл до специфічних антигенів трофобласту. На підставі

одержаних даних розроблена схема патогенезу ОПГ-гестозу.

6. Вище показано, що фібрoneктин проявляє спорідненість до глікопротеїнів фетоплацентарного комплексу, зв'язуючи плацентарну лужну фосфатазу, МР2А-антиген і альфа-фетопроїтеїн; визначено його дозозалежний ефект. Встановлено підвищення концентрації імунореактивного і біологічно активного фібрoneктину при ОПГ-гестозі. Доведено, що співвідношення імунореактивного фібрoneктину до біологічно активного фібрoneктину відбиває міру тяжкості ОПГ-гестозу.
7. Встановлена закономірність зміни концентрації альфа-фетопроїтеїну в материнській плазмі залежно від терміну гестації, на підставі якої розроблено напівкількісний варіант зустрічного імуноелектрофорезу. Показано, що рівень альфа-фетопроїтеїну в крові матері залежить не тільки від стану плоду, але й матері.
8. Альфа-фетопроїтеїн плоду проявляє слабку мікрогетерогенність в онтогенезі, зумовлену зниженням міри фукозилування корової частини глікану в період внутрішньоутробного розвитку. При гіпотрофії плоду фукоза відсутня в структурі корової частини глікану альфа-фетопроїтеїну. Рівень альфа-фетопроїтеїну в плазмі крові плоду зменшується при ретардації плоду незалежно від концентрації альбуміну.
9. Альфа-фетопроїтеїн виявляє імунорегулюючу дію на ауторозеткоутворюючу спроможність Т-лімфоцитів в реакціях

in vitro. Характер впливу альфа - фетопротеїну на пост-тимічні прекурсоры при HBV- інфекції не залежить від міри тяжкості і стадії захворювання. На підставі аналізу власних експериментальних досліджень і літературних даних висунена гіпотеза про існування двох типів рецепторів альфа-фетопротеїну на поверхні посттимічних прекурсорів.

СПИСОК ОСНОВНИХ РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ.

1. Крячкова Н.В., Яковлева Н.И., Шевцова А.И., Неустроева Е.И. и др. Методические рекомендации по прогнозированию и ранней иммунодиагностике позднего гестоза. //Метод. рекомендации. -Днепропетровск, Москва.-1989.-12С.
2. Воронин К.В., Березин В.А., Новицкая-Усенко Л.В., Шевцова А.И., Демченко Т.В. Использование иммунохимических тестов в пренатальной диагностике дефектов нервной трубки плода. //Вопросы охраны материнства и детства.-1984.-N7.-С.56-61.
3. Березин В.А., Воронин К.В., Шевцова А.И., Демченко Т.В. Дополнительный иммунохимический тест в пренатальной диагностике дефектов развития нервной трубки. //Лаб.дело.-1985.-N7.-С.403-405.
4. Березин В.А., Демченко Т.В., Шевцова А.И. Определение альфа-фетопротеина в сыворотке крови беременных методом ракетно-линейного иммуноэлектрофореза. //Вопросы мед. химии.-1986.-N1.-С.39-42.
5. Воронин К.В., Демченко Т.В., Шевцова А.И. Перспективная профилактика дефектов нервной трубки плода: итоги, проблемы, перспективы.//Вопросы охраны материнства и детства.-1988.-N8.-С.50-53.

6. Воронин К.В., Дзюба Ю.Н., Шевцова А.И. Фибронектин: структурно-функциональная характеристика и клиническое значение в акушерской патологии. //МРЖ-1989.-вып.Х.№8.- реф.1283.

7. Крячкова Н.В., Шевцова А.И., Неустроева Е.А., Яковлева Н.И., Кульберг А.Я. Состояние окисляющей системы крови и катаболизм клеточных рецепторов при позднем гестозе. //Вопросы охраны материнства и детства.-1990.-№7.-С.41-43.

8. Шевцова А.И., Демченко Т.В., Лапа Т.В. Твердофазный иммуоферментный анализ альфа-фетопротейна в сыворотке крови человека. //Лаб.дело.-1990.-№5.-С.52-55.

9. Воронин К.В., Дзюба Ю.Р., Шевцова А.И., Сидоренко С.А. Фибронектин и его функциональная активность при ОПГ-гестозе. //Акушерство и гинекология.-1994.-№3.-С.47-48.

10. Маврутенкова Т.В., Шевцова А.И., Письменская И.Е. Лектин-связывающие белки плазматических мембран трофобласта. //Укр.биохим.ж.-1994.-№5.-С.101-105.

11. Воронин К. В., Дзюба Ю. М., Шевцова А. І., Сидоренко С. А. Фібронектин та його функціональна активність при ОПГ гестозі. // ПАГ. - 1994. - N 2. - с.57-59.

12. Шевцова А.И. Альфа-фетопротейн: биохимия, функции и клинико-диагностическое значение. // Укр.биохим.ж.-1995.-№6.-С.11-21.

13. Воронин К.В., Березин В.А., Демченко Т.В., Шевцова А.И. Способ повышения чувствительности ракетного иммуноэлектрофореза для определения альфа-фетопротейна в сыворотке крови беременных. //Информационное письмо.Киев.-1985.

14. Новицкая-Усенко Л.В., Воронин К.В., Березин В.А., Шевцова А.И., Демченко Т.В. Новый иммуохимический тест

диагностики дефектов развития нервной трубки. //III республиканский съезд лаборантов. Ужгород.- 1983.- С.400-401.

15. Шевцова А.И., Воронин К.В., Лапа Т.В. Характеристика специфических антигенов трофобласта и их использование в иммунодиагностике акушерской патологии. //Первый всесоюзный иммунологический съезд. Тезисы докладов. Сочи, 15-17 ноября.-Москва.-1989.-С.146.

16. Шевцова А.И., Лапа Т.В., Демченко Т.В. Разработка тест-системы для иммуноферментного анализа альфа-фетопротеина в сыворотке крови. // Тезисы докладов республиканской конференции "Использование иммуноферментного анализа в медицине". Харьков.-1989.-с.89.

17. Демченко Т.В., Шевцова А.И., Лапа Т.В. Альфа-фетопротеин как маркер осложненного течения беременности. // Современные аспекты нарушения репродуктивной функции человека. Тезисы республиканской конференции. Диспронетровск.-1988.-С.63-64.

18. Шевцова А.И., Лапа Т.В., Воронин К.В., Крячкова Н.В. Использование иммуноферментного анализа антитрофобластических антител в прогнозе ОПГ-гестозов. //Реабилитация иммунной системы.Тезисы докладов II Всесоюзного съезда. Цхалгубо.-1990.-А69.-С.35.

19. Шевцова А.И., Лапа Т.В., Воронин К.В. Иммунохимическое исследование антигенов трофобласта человека. //Иммунология репродукции. Тезисы докладов IV Всесоюзного съезда по иммунологии репродукции с международным участием. Киев, 24-26 октября.-1990.-С.285.

20. Shevtsova A.I., Lapa T.V. Isolation and partial characterization of human trophoblast antigens. //20-th Meeting of Federation of European Biochemical Societies. Budapest, Hungary, 19-24 August.- 1990.- P-Mo 077.-P.37.

21. Крячкова Н.В., Воронин К.В., Шевцова А.И., Яковлева Н.И., Фейзулла М.Ф. Роль клеточных рецепторов и фибронектина в патогенезе позднего токсикоза беременных. //Новые методы прогноза патологического процесса. Тезисы докладов Всесоюзного симпозиума. Курск, 29-30 мая 1991 года.- Москва, 1991.-С.31.
22. Lapa T.V., Shevtsova A., Voronin K.V. The use of lectins in the study of difference between the human adult & embryonic tissue membrane glycoproteins. //13-th International Lectin Meeting. Berlin, August 11-17, 1991.-P.30.
23. Shevtsova A.I., Lapa T.V., Voronin K.V., Potapov V.A. Auto-antibodies to membrane proteins of trophoblast in normal & abnormal pregnancy. // 5-th International Congress of Reproductive Immunology, Rome, August 31-September 3, 1992.-N6.
24. Voronin K.V., Shevtsova A.I., Sidorenko S.A., Dzyuba Yu.N. Opsonically active & immunoreactive fibronectin in normal & abnormal pregnancy. //5-th International Congress of Reproductive Immunology, Rome, August 31-September 3, 1992.-N7.-p.411
25. Mavrutenkov V.V., Shevtsova A.I., Beljaeva N., Lapa T.V. Immunomodulating effect of alpha-fetoprotein in children with different types of HBV-infection. // 8-th International Congress of Immunology. Budapest, Hungary, August 23-30, 1992. -N 32.-p.412
26. Шевцова А.И., Лапа Т.В., Воронин К.В. Трофобластичні глікопротеїни: імунохімічна ідентифікація і клініко-лабораторні дослідження. //Укр.біохім.з'їзд.Тези доповідей.- 1992. Київ. Видав. УСТА.-ч. III-С. 111.
27. Легеніс Н.Е., Дзюба Ю.Н., Шевцова А.И. Зміна деяких показників гемостазу та вмісту фібронектину у вагітних з ризиком послідових кровотеч. // Шляхи зниження материнської

смертності від маткових кровотеч. Тези доповідей.-Вінниця,9-10 вересня 1993 року.-с.55

28. Демченко Т.В., Шевцова А.И. Лапа Т.В., Иванов И.М. Пренатальная диагностика пороков развития плода в промышленном регионе.// I ежегодный сборник научных трудов Украинской Ассоциации ультразвуковой диагностики в перинатологии и гинекологии.-Кривой Рог,1993.-с.48-49.

29. Shevtsova A.I., Mavrutenkova T.V.; Vorobin K.V. Trophoblast-specific antigens and autoantibodies in normal and abnormal pregnancy. // International Symposium "Immunology of Reproduction". Kiev, October 19-23.-1993.-P.75.

30. Шевцова А.И., Сидоренко С.А., Дзюба Ю.Н., Воронин К. Анализ взаимодействия фибронектина с некоторыми показателями системы гемостаза в норме и при патологии. //Системно-антисистемная регуляция в живой и неживой природе. Сб.научных трудов III Международного симпозиума.Киев, 10-13 ноября, 1993 г.-С.58-59.

31. Shevtsova A.I. Specific trophoblast antigens take a part in the development of EPH-gestosis. //12-th European Immunology Meeting, Barcelona, Spain, 1994, June 14-17.-N W35/10.-p.144.

32. Shevtsova A.I.,Sidorenko S.A. The irFN/baFN-ratio reflects destruction of placenta tissues. //16-th International Congress of Biochemistry & Molecular Biology, New Delhi, India, 19-22 September, 1994.-No A6021.-p.146.

33. Shevtsova A.I/ Alteration of AFP-level and its carbohydrate composition in ontogenesis and fetus retardation.// 11th IFCC European Congress of Clinical Chemistry, July 2-7, 1995, Tampere, Finland.-p.441.

34. Shevtsova A.I. Immunochemical Evidence of the Interaction of Fibronectin with Embryonal Glycoproteins.//7th FAOB Congress,24-29 September 1995,Sydney,Australia.-p.463.

35. Shevtsova A.I., Pismenetskaya I.U., Mavrutenkova T.V. Saccharide composition of the plasma membrane glycoproteins in the human trophoblast // First European Symposium " The Protein Society " - Protein Science. - 1995- Vol.4, Sup.1.-N 272.
36. Шевцова А.И. Взаимодействие белков трофобласта с фибронектином. // Материалы научной конференции.- Днепропетровск, 1995.-с.121-122

Шевцова А.И. Специфические гликопротеины фетоплацентарного комплекса в норме и при патологии.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.00.04.-биохимия. Харьковский медицинский университет, Харьков, 1996.

Защищается 36 научных работ, посвященных исследованию специфических гликопротеинов фетоплацентарного комплекса в норме и при некоторых патологических состояниях (ОПГ-гестоз, ретардация плода, дефекты невральной трубки плода и вирусная инфекция у детей). Установлены закономерности изменения концентрации и гликозилированности альфа-фетопротейна и плацентарной щелочной фосфатазы в зависимости от срока гестации и течения беременности, а также их взаимодействие с фибронектином; продемонстрирован иммуномодулирующий эффект альфа-фетопротейна. В составе интегральных белков плазматических мембран трофобласта обнаружены новые гликопротеины, углеводная часть которых не меняется в течение гестационного периода и представлена сialированными O- и N-гликанами комплексного типа. На основании полученных результатов предложен метод прогнозирования и ранней диагностики ОПГ-гестозов и разработана схема его патогенеза.

Ключевые слова: гликопротеины, фетоплацентарный комплекс, трофобласт, альфа-фетопrotein, плацентарная щелочная фосфатаза.

Shevtsova A.I. Specific glycoproteins of the fetoplacental complex in norm and pathology.

The thesis for doctor's degree for speciality 03.00.04.- Biochemistry. Harkov Medical University, Harkov, 1996.

It is defending the materials of 36 scientific publications, in which it has been studied specific glycoproteins of the fetoplacental complex in norm and pathology (EPH-gestosis, fetus retardation, fetus neural tube defects and HBV-infection in children). It has been established the regularities in contents and glycosylation of alpha-fetoprotein and placental alkaline phosphatase for gestation in normal and complicated pregnancy as well as their interaction with fibronectin. It has been demonstrated the immunomodulating effect of alpha-fetoprotein. The new specific glycoproteins were discovered in trophoblast plasma membrane proteins, the carbohydrate part of which is invariable during gestation period and presented with O- and sialylated complex-type N-glycans. Based on these results the method of prognosis and early diagnostics of EPH-gestosis is proposed and the scheme of EPH-gestosis is elaborated.

Key words: glycoproteins, fetoplacental complex, trophoblast, alpha-fetoprotein, placental alkaline phosphatase.

мун. ФГУ зак 43 -130.

AB 33.840