

Архив журнала

## Вопросы медицинской химии

*ISSN 0042-8809*

1992

Том 38 выпуск 3

**Внимание!** Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

## Voprosy meditsinskoi khimii

*ISSN 0042-8809*

1992

Volume 38 issue 3

**Attention!** OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

365 % of the MAO-B activity in the mature placenta. The ratio between MAO of the A and B types was altered during pregnancy as shown by inhibitory analysis, carried out using selective inhibitors of the MAO-A and -B types — Lilly 51641 substance and deprenyl as well as with semicarbazide as an inhibitor of benzylamine oxidase. At the early periods of pregnancy the rate of placental MAO-B oxidative deamination of benzylamine was distinctly higher as compared with that during the delivery act. At the same time, content of semicarbazide-sensitive benzylamine oxidase was increased during the delivery period. Possible biological significance of alterations in the amine oxidases ratio in the growing placenta is discussed considering the known property of the MAO-B inhibitor pargiline to cause abortion within early periods of pregnancy.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 618.36-008.939.623-078.3

Ю. А. Калинин, А. Д. Ефремов, А. А. Терентьев,  
Ю. С. Татаринцов

## ПЛАЦЕНТАРНО-ПОЧЕЧНЫЙ ПРЕАЛЬБУМИН: ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И АФФИННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ НА ИММОБИЛИЗОВАННЫХ СТЕРОИДАХ

И Московский медицинский институт им. Н. И. Пирогова

Ранняя плацента человека содержит большое количество как органоспецифических, так и межорганных антигенов. В первую очередь детальному изучению подверглись органоспецифические антигены ранней плаценты [2—5]. Однако для более полного понимания процессов функционирования ранней плаценты представляет интерес изучение белков, имеющих, кроме плаценты, и в других тканях.

Настоящее сообщение посвящено иммунохимической идентификации, изучению физико-химических свойств и аффинитету к иммобилизованным стероидам плацентарно-почечного преальбумина (ПППА).

**Методика.** Антисыворотку к ПППА получали путем иммунизации кроликов экстрактами 12-недельной плаценты, полученной при искусственном прерывании беременности. К отмытой холодным физиологическим раствором ткани раннего хориона добавляли равный объем 50 мМ трис-глицинового буфера pH 8,0 с добавлением 0,1 % твин-20 и 0,1 % тритона X-100 и гомогенизировали с помощью микроизмельчителя тканей. После троекратного замораживания и оттаивания полученный экстракт центрифугировали при 6000 об/мин в течение 45 мин. Надосадок диализовали против 0,1 М аммоний-бикарбонатного буфера в течение 48 ч, вновь центрифугировали и лиофилизировали. Аналогичным образом готовили экстракты других тканей.

Для получения антител к белкам раннего хориона использовали беспородных серых кроликов-самцов, вводя им подкожно пятькратно, с интервалом 5 дней по 100 мг белка, растворенного в 2 мл полного адьюванта Фрейнда. Спустя 35 дней после последней иммунизации каждому животному вводили по 100 мг белка подкожно без адьюванта. Кровь брали на 7, 10 и 13-й дни из краевой вены уха. Полученные антисыворотки центрифугировали и абсорбировали плазмой донора, женским молоком, экстрактами печени, селезенки взрослого.

Иммуноэлектрофорез ПППА проводили в 1,5 % агаровом геле «Дифко» в 50 мМ трис-вероналовом буфере pH 8,6. Молекулярную массу преальбумина определяли в гель-фильтрации на сефадексе С-200, используя для калибровки колонки набор маркеров фирмы «Фармация».

Иммобилизацию стероидных гормонов («Мерк») осуществляли трихлортриазинным способом на цианбромированной сефарозе 4В («Фармация»).

Таблица 1

### Физико-химическая характеристика ПППА

Свойства	Результат
Молекулярная масса, Да	40 000±2 000
Относительная электрофоретическая подвижность	1,1±0,02
Окраска на гликопротеиды	Отрицательная
Осаждение сульфатом аммония, % насыщения	40—70
Осаждение 0,4 % раствором риванола	Осаждается
Осаждение 50 % раствором этанола	Не осаждается

Содержание ПППА в экстрактах тканей и биологических жидкостях определяли методом иммунодиффузного анализа со стандартной тест-системой, чувствительность которой составила 5 мкг/мл [1]. Анализ проводили в 1,5 % агаровом геле «Дифко», приготовленном на 50 мМ трис-HCl-буфере pH 8,0 с добавлением 2,5 % хлорида натрия.

**Результаты и обсуждение.** Абсорбированная плазмой донора, женским молоком и экстрактами почки и селезенки антисыворотка выявляла в экстракте ранней плаценты 4 антигенных компонента. При сравнительном иммунодиффузном анализе с известными плацентарными белками 3 из них были идентифицированы как трофобластический  $\beta_1$ -глобулин,  $\alpha$ -микроглобулин фертильности и хорионический преальбумин [2—4]. После дополнительной абсорбции сывороткой крови беременных I триместра и мужской семенной плазмой полученная антисыворотка выявляла в экстракте ранней плаценты один антигенный компонент.

Физико-химические свойства ПППА изучали методами электрофореза в агаровом геле, гель-фильтрации на сефадексе С-200, солевого фракционирования и специфического окрашивания на углеводы (шифф-йодная реакция). Белок мигрировал в агаре в зоне преальбуминов, элюировался при гель-фильтрации в объеме, соответствующем мол. м. 40 кДа, осаждался при 40—70 % насыщения сульфатом аммония и давал отрицательную реакцию при окрашивании на углеводы (табл. 1).

С помощью моноспецифической тест-системы было исследовано содержание ПППА в экстрактах тканей плода и взрослого и в биологических жидкостях организма. На уровне чувствительности иммунодиффузного анализа (5 мкг/мл) ПППА не

Таблица 2

### Иммунодиффузионный анализ ПППА в экстрактах тканей 12-недельного плода и взрослого

Образец ткани	Число образцов	Содержание ПППА, мг/л
Почка (плод)	10	10
Почка (взрослый)	10	10
Селезенка (плод и взрослый)	6	Нет
Печень (плод и взрослый)	6	Нет
Легкое (плод и взрослый)	6	Нет
Желудок (плод и взрослый)	6	Нет
Кишечник (плод и взрослый)	6	Нет
Яичко (плод и взрослый)	8	Нет
Яичник (плод и взрослый)	8	Нет
Матка (плод и взрослый)	8	Нет
Надпочечник (взрослый)	6	Нет
Гипофиз (взрослый)	6	Нет
Ранняя плацента (12 нед)	10	2,5
Терминальная плацента (40 нед)	8	2,5

Таблица 3

## Иммунодиффузионный анализ в биологических жидкостях

Образец жидкости	Число образцов	Содержание ПППА, мг/л
Сыворотка доноров	2	Нет
Женское молоко	8	Нет
Ликвор	8	Нет
Слюна	10	Нет
Мужская семенная плазма	10	Нет
Сок простаты	6	Нет
Амниотическая жидкость, II триместр	8	5
Амниотическая жидкость, III триместр	8	10
Сыворотка беременных, I триместр	15	Нет
Сыворотка беременных, II триместр	20	Нет
Сыворотка беременных, III триместр	20	Нет
Пуповинная кровь	8	Нет
Ретроплацентарная кровь	8	Нет
Моча мужчин	10	2,5
Моча женщин	10	2,5
Моча беременных	30	2,5

определялся в экстрактах печени, селезенки, легкого, мозга и других органах плода и взрослого. Преальбумин был обнаружен в экстрактах ранней и терминальной плаценты, а также в экстрактах почки плода и взрослого (табл. 2).

При исследовании содержания ПППА в биологических жидкостях организма он определялся в моче плодов, детей и взрослых, моче беременных и в амниотической жидкости. Содержание ПППА в амниотической жидкости возрастало по мере развития беременности и достигало максимальных значений на 36—38-й неделе беременности (табл. 3).

Для изучения связывания ПППА с иммобилизованными стероидными гормонами использовали амниотическую жидкость с содержанием преальбумина до 10 мкг/мл. Связывающую способность ПППА оценивали как отношение содержания белка во фракции, пропущенной через колонку с иммобилизованным гормоном, к его содержанию в исходной амниотической жидкости. Преальбумин при pH 8,0 с высокой аффинностью связывал иммобилизованный тестостерон и эстрадиол и не связывал синтетический аналог эстрогенов диэтилстильбэстрол, причем подобный результат достигался однократным пропусканием 10-кратного объема амниотической жидкости через колонку с иммобилизованным гормоном (табл. 4).

На основании полученных результатов можно заключить, что в ткани ранней плаценты и почки присутствует белок с подвижностью преальбумина и мол. м. 40 кДа. ПППА определяется в ткани почки, начиная с ранних стадий эмбриогенеза

Таблица 4

## Аффинная хроматография ПППА на иммобилизованных стероидах

Гормон	Содержание ПППА в исходной фракции, мг/л	Содержание ПППА в несорбированной фракции, мг/л	% ПППА, связанный с гормоном
Тестостерон-ТХТ-сефароза	10	2,5	75
Эстрадиол-ТХТ-сефароза	10	2,5	75
Диэтилстильбэстрол-ТХТ-сефароза	10	10	0

и кончая дифинитивной тканью. В ткани плаценты этот белок также определяется на всем протяжении существования этого органа. ПППА секретируется в мочу доноров, плода, беременных и в амниотическую жидкость. Присутствие белка в амниотической жидкости, возможно, объясняется попаданием его туда с мочой плода.

Установленный факт связывания молекулой ПППА иммобилизованных гормонов позволяет предположить, что преальбумин является рецептором и (или) переносчиком стероидных гормонов в ткани почки и плаценты.

Дальнейшие исследования, направленные на получение очищенного препарата ПППА и разработку более чувствительного метода его определения, позволят прояснить его биологическую роль.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Петрунин Д. Д., Грязнова И. М., Петрунина Ю. А., Татарин Ю. С. // Бюл. exper. биол.— 1976.— № 7.— С. 803—804.
2. Петрунин Д. Д., Грязнова И. М., Петрунина Ю. А., Татарин Ю. С. // Акуш. и гин.— 1977.— № 1.— С. 65—66.
3. Прокопенко П. Г. // Бюл. exper. биол.— 1982.— № 4.— С. 70—73.
4. Татаринов Ю. С., Масюкевич В. Н. // Там же.— 1970.— № 6.— С. 66—68.
5. Татаринов Ю. С., Калинин Ю. А., Терентьев А. А. // Там же.— 1988.— № 11.— С. 552—553.
6. Храмова Н. И., Абелев Г. И. // Там же.— 1961.— № 12.— С. 107—111.
7. Bonh H. // Proteins of the Placenta / Eds W. Bischof, A. Klopfer.— Basel, 1985.— P. 1—25.

Поступила 20.05.91

## PLACENTA-KIDNEY PREALBUMIN: IMMUNOCHEMICAL IDENTIFICATION, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND AFFINITY CHROMATOGRAPHY ON IMMOBILIZED STEROIDS

Yu. A. Kalinin, A. D. Efremov, A. A. Terentyev, Yu. S. Tatarinov

Chair of Biochemistry, N. I. Pirogov II Medical Institute, Moscow

A protein with prealbumin mobility and MW of 40 kD was identified in early placental tissue. Using immunodiffusion analysis the protein was also detected in fetal and adult kidney tissues, in urine of donors and pregnant women and in amniotic fluid. The protein was termed placenta-kidney prealbumin (PKPA). During affinity chromatography on immobilized steroid hormones, PKPA was bound to testosterone and was not bound to diethylstilbestrol.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 618.346-008.84:577.175.3281-074

А. А. Булатов, Е. Е. Макаровская, М. И. Сеганова, В. П. Кузнецов

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ, ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛАКТИНА АМНИОТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ЧЕЛОВЕКА

Институт экспериментальной эндокринологии Всесоюзного эндокринологического научного центра АМН СССР, Москва

В амниотической жидкости человека обнаруживается иммунореактивный пролактин (ПРЛ) в количестве, значительно превышающем его уровень в крови беременных женщин [1, 3]. Услов-