

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

"ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки 06.03.01 Биология

Профиль Биохимия

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему:

«СОСТОЯНИЕ ПЕПТИДЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПОЗДНИХ
ГЕСТОЗАХ»

Студент Закривидорога Надежда Александровна

Руководитель Гамзин С.С.

Нормоконтролёр Кручинина А.Д.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 09.06.18 № 14)

Заведующий кафедрой Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично протокол заседания ГЭК от 20.06.18 № 5)

Секретарь ГЭК Кручинина А.Д.

Пенза, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Этиология, патогенез и клиника ОПГ-гестоза.....	10
1.2 Гормоны фетоплацентарного комплекса при физиологической и патологической беременности.....	13
1.3 Протеолитические ферменты фетоплацентарного комплекса.....	16
1.3.1 Основные карбоксипептидазы.....	19
1.3.1.1 Карбоксипептидаза Е.....	20
1.3.1.2 ФМФС-ингибируемая карбоксипептидаза.....	21
1.3.1.3 Катепсин D.....	22
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	25
2.1 Материалы исследования.....	25
2.2 Методы исследования.....	26
2.2.1 Метод определения активности карбоксипептидазы Е	26
2.2.2 Метод определения активности ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы.....	27
2.2.3 Метод определения активности катепсина D.....	27
2.3 Статистическая обработка результатов исследования.....	28
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ ...	29
3.1 Активность КПЕ в плацентарной ткани в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести.....	29
3.2 Активность ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы в плацентарной ткани в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести.....	33
3.3 Активность катепсина D плацентарной ткани в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести.....	35

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – антиген

АПФ – ангиотензинпревращающий фермент

ГЭМЯК – гуанидиноэтилмеркаптоянтарная кислота

КП – карбоксипептидаза

НЭП – нейтральная эндопептидаза

ОПГ – отеки, протеинурия, гипертензия

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЛ – плацентарный лактоген

ССС – сердечно-сосудистая система

ФМСФ – фенилметилсульфонилфторид

ФПК – фетоплацентарный комплекс

ХГЧ – хорионический гонадотропин человека

ЦАП - цистинаминопептидаза

ВВЕДЕНИЕ

Развивающиеся в период беременности функциональные недостаточности приводят к развитию синдрома полиорганной и полисистемной недостаточности, такой как поздний гестоз. Он характеризуется «триадой» классических симптомов: ОПГ - гестоз, О - отечность, П – обнаружение белка в моче (протеинурия), Г – повышение артериального давления (гипертензия).

Проблема ОПГ – гестозов, несмотря на множество исследований, до сих пор остается актуальной. Около 20-25% случаев летальных исходов рожениц и матерей случаются по причине позднего гестоза, а так же при ОПГ-гестозах повышается количество случаев перинатальных смертей.

Частые случаи обнаружения гестозов, тяжелая клиническая картина проявления симптомов, высокая частота негативных последствий и исходов беременности при ОПГ- гестозе для матери и плода приводят к повышению интереса у исследователей для выяснения патогенеза гестоза и механизмов этой патологии. Причины изменений при ОПГ-гестозе, которые происходят в организме матери на данный момент плохо исследованы. Согласно данным исследований, за последнее время основными причинами возникновения ОПГ-гестоза является спазм сосудов кровеносного русла, из-за чего происходит уменьшение объема циркулирующей крови в сердечно-сосудистой системе. В свою очередь изменяются многие параметры гемостаза, такие как время свертывания крови и длительность кровотечения, вследствие этого нарушаются микроциркуляторые механизмы снабжения тканей и органов кислородом. Вследствие значимого сокращения кровообращения органов могут быть вызваны глубокие дистрофические изменения. Такие изменения могут вызывать некроз. Головной мозг , печень и почки - один из самых чувствительных органов к дефициту кровоснабжения. Плацентарная ткань вся извита сосудаами, которые

обеспечивают плод кислородом и питательными веществами от материнского организма. Во время ОПГ-гестоза сосуды претерпевают характерные изменения и перестают выполнять свои основные функции, что и служит в дальнейшем ключевым фактором развития фетоплацентарной недостаточности. Из-за возникновения недостаточности плод подвергается нехватке кислорода внутри утробы матери, что приводит к задержке роста и развития [1, 3].

Морфологические и функциональные изменения в плацентарной ткани и нарушения компенсаторно – приспособительных механизмов, обеспечивающих функциональную полноценность органа, составляют основу клинического синдрома – плацентарную недостаточность. Сложная ответная реакция плода и плаценты на всевозможные патологические изменения организма матери и способствуют развитию плацентарной недостаточности. Данное заболевание проявляет себя вместе с нарушениями метаболической, эндокринной, трофической и транспортной функции плацентарной ткани, которые лежат в основе патологических процессов плода и новорожденного.

Одна из форм плацентарной недостаточности – это хроническая внутриутробная гипоксия плода. Во время гипоксии происходят патологические изменения со стороны сердечно-сосудистой системы, такие как изменение кровяного давления и тока крови в фетоплацентарном комплексе. Частые и затяжные действия факторов, ведущих к развитию гипоксии, способствуют чрезмерной активной деятельности плаценты и началу стадии напряжения всех первичных адаптивно-рефлекторных механизмов. При чередовании стадий напряжения и угнетения в последней наблюдается необратимость деструктивных процессов плацентарной ткани, приводящая к нарушениям работы основных функций.

Плацента осуществляет анатомо-физиологическую связь между матерью и плодом. Основная функция плацентарной ткани – это синтез и секреция плацентарными клетками веществ белковой природы, основными

из которых являются пептидные гормоны. Они позволяют поддерживать гомеостаз ФПК и влияют на организм матери и плода. Во время патологии происходят существенные изменения уровня пептидов фетоплацентарного комплекса, которые при этом вовлекаются в патогенез ОПГ-гестоза.

Во время патологии происходят серьезные изменения работы со стороны многих систем, в том числе и ферментативной системы, которая отвечает за синтез и регуляцию пептидных гормонов. Поэтому для лучшего изучения биологической роли ферментов в процессе патогенеза осложнений при беременности нужно больше внимания уделять изучению изменения активности карбоксипептидаз при ОПГ – гестозах.

При различных течениях беременности наблюдаются стойкие и выраженные повышения уровня активных пептидов белковой природы в фетоплацентарном комплексе. Нарушения обмена таких пептидов исследуют благодаря определению уровня ферментов их метаболизма, таких как ФМСФ-КП и карбоксипептидаза Е. Эти ферменты принимают активное участие в процессе созревания пептидов, поэтому могут представлять повышенный интерес при выявлении закономерностей изменения путей метаболизма активных пептидов биологической природы, происходящих в плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности [4, 5].

Как уже известно по данным многих исследований КПЕ и ФМСФ-КП локализованы и обнаруживаются во всех органах и тканях. Они находятся в организме в двух основных формах – это растворимая и ,наиболее важная для нас, мембраносвязанная [6]. Вероятно, при деструкции мембран клеток плаценты образуются продукты перекисного окисления липидов и белков, которые и влияют на изменение уровня активности исследуемых ферментов.

В течение всего периода беременности наблюдается активация протеолитических процессов. Катепсин D - это важная протеиназа, отражающая способность клеток к расщеплению белков, локализованная в лизосомальных везикулах клеток плацентарной ткани. Она играет важную и

основополагающую роль в процессах протеолиза внутри клетки.

Вероятно, результаты исследования активности катепсина D, КПЕ и ФМСФ-КП в клетках плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности могут помочь в выяснении роли и функций исследуемых веществ в ФПК. А так же полученные в дальнейшем исследовании данные, смогут помочь выяснить по каким механизмам осуществляют свою деятельность пептидэргические системы при физиологически нормальном течении беременности и при беременности с патологией гестационного процесса. Полученные данные исследований могут помочь в разработке методов коррекции метаболических нарушений в фетоплацентарной системе.

Цель работы: выявление роли карбоксипептидаз (катепсина D, КПЕ и ФМСФ-КП) в процессах, определяющих механизмы возникновения и течения ОПГ-гестоза легкой степени тяжести.

Задачи:

1. Выяснить, как изменяется активность КПЕ в клетках плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности с ОПГ-гестозом.
2. Исследовать изменение активности ФМСФ-КП в плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности с ОПГ-гестозом.
3. Изучить изменение активности катепсина D в плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности
4. Провести статистическую обработку полученных результатов.

Исследование взятых нами ферментов является актуальным вопросом на сегодняшний день. По степени изменения уровня активности исследуемых показателей можно будет судить о роли карбоксипептидазы плаценты при физиологической и патологической беременности с ОПГ-гестозом. А так же полученные нами в дальнейшем результаты можно использовать для разработки эффективных методов регулирования путей нарушений

метаболизма и профилактики в фетоплацентарной системе при патологических беременностях

Бакалаврская работа написана на 49 листах, содержит 3 таблицы, 3 рисунка и список литературы из 83 источников на русском и английском языках.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Этиология, патогенез и клиника ОПГ-гестоза

Во время беременности могут возникать различного рода осложнения, приводящие к нарушению правильной работы и выполнению своих функций жизненно важных органов и систем, например ССС и всех ее составляющих. Такие осложнения принято объединять и называть - ОПГ-гестозами. Понятие "гестозы" включает в себя патологический процесс во время беременности, который приводит к осложнениям, представляющим опасность как для организма матери, так и, в первую очередь, для организма плода. Обычно эти патологии пропадают после рождения ребенка. ОПГ-гестоз - это не какая-то конкретно обособленная патология, это совокупность клинических проявлений механизмов адаптации организма матери, которые не могут адекватно реагировать на все возникающие потребности развивающегося плода. Эта неспособность в системе мать-плацента-плод в различной степени выражена перфузионно-диффузионными недостаточностями.

На данный момент причины гестоза достоверно не были выявлены. Наиболее частыми причинами возникновения гестоз на поздних сроках беременности служат:

- заболевания, связанные с нарушением функционирования иммунной системы человека;
- многочисленные группы разнообразных болезней экстрагенитального характера;
- заболевания, связанные с нарушениями работы органов эндокринной системы;
- психологические и психосоматические нарушения со стороны ЦНС у беременных и другие.

Основополагающую роль могут иметь:

- врожденные и приобретенные недостаточности систем нейроэндокринной регуляции адаптационных процессов;

- заболевания сердечно-сосудистой системы;
- нарушения работы желез внутренней секреции;
- нарушения работы почек;
- патологии печени и желчевыводящих протоков;
- нарушения обмена веществ;
- выраженный стресс, интоксикация, аллергия.

На данный момент существует несколько теорий образования гестоз:

- иммуногенетические изменения;
- нарушения, связанные со сдвигом гормонального фона;
- синдром интоксикации со стороны почечной системы;
- изменения, наблюдаемые в сердечно-сосудистой системе и в системе гемодинамики кровотока;
- изменения в ФПК;
- психогенные, неврологические, наследственные и другие изменения в организме.

Большая часть исследователей считают, что ОПГ-гестозы возникают вследствие полиэтиологических изменений в организме материю

Совокупность различных форм гестоз расценивают как этапы целого патологического процесса. По клиническими проявлениями гестозы можно классифицировать следующим образом: нефропатические изменения (3-х степеней тяжести), водянка, преэклампсия и эклампсия [5, 8]. Каждый вид гестоз разделяют еще на следующие подвиды: проявления, характеризующие конкретное заболевания (чистые), группа проявлений на фоне заболеваний экстагениального характера (сочетанные), заболевания характеризующиеся проявлением лишь 1 симптома (моносимптомные) и заболевания характеризующиеся проявлением 2-х и более симптомов (полисимптомные) [9].

За рубежом многие ученые разделяют характерные симптомы ОПГ-гестоз на АГ у беременных и протеинурию на ранних этапах беременности в виде «вспышки» и эти же симптомы, но уже во втором и третьем триместре беременности с затяжным характером [20, 21]. При позднем гестозе проявляются три основных симптома: О - отечность, П - обнаружение белка в моче (протеинурия), Г - повышение артериального давления (гипертензия).

Развитие патологического процесса гестоз провоцируется спазмированием мелких и крупных кровеносных сосудов за счет чего происходит повышение артериального давления, что в совокупности приводит к слабой микроциркуляции и недостаточном кровоснабжении жизненно важных органов и тканей. Последствиями такого нарушения будут являться дистрофия, вплоть до некроза тканей органов. Вследствие нарушения проницаемости сосудов и излишнему выходу жидкости и белков в ткани происходит спад онкотического давления и ОЦК. Все вышеперечисленные этапы приводит к развитию отечности, появлению белка в моче и повышению артериального давления [30, 31, 40, 41, 44, 49, 50].

К избыточному отложению фибриноида приводят возникшие нарушения микроциркуляции в сосудах маточно-плацентарного кровотока, Излишнее количество фибриноида влечет за собой начало развития хронической фетоплацентарной недостаточности. Так же нарушается работа плацентарной ткани и некоторых ее функций. Следствием таких нарушений могут быть пониженное содержание кислорода у плода, внутриутробная задержка развития, снижение экскреции многих гормонов.

Таким образом, выраженные изменения в плацентарной ткани, способствующие нарушениям ферментативной и гормональной функций плаценты особо выражены в период позднего гестоза.

1.2 Гормоны фетоплацентарного комплекса при патологической и физиологической беременности

Во время беременности плацента выступает в роли железы внутренней секреции между организмом матери и плода. По данным многих исследований известно, что в образцах плацентарной ткани обнаружены гормоны белкового характера.

Большинство стероидных гормонов продуцируется клетками плаценты. В материнской ткани, находящейся между зародышем и маткой, происходит синтеза ХГЧ, плацентарного лактогена и пролактина, а также многих других стероидных гормонов.

При исследовании активности гормонов плацентарной ткани, чья физиологическая роль еще не до конца выявлена, было выяснено, что их уровень выше в трофобластной ткани, чем в децидуальной. У соматостатина существует несколько изомерных форм. В плацентарной ткани так же присутствует одна из изоформ соматостатина, схожая по структурному строению с тканевым соматостатином. В функции этого гормона входит локальное воздействие на клетки трофобластной ткани, а так же регуляция синтеза и секреции плацентарного лактогена.

Плацентарный лактоген, который синтезируется в клетках трофобласта, играет важную роль во время развития плода и в нормальных взаимоотношениях в системе мать-плод. Он регулирует активность и синтез многих других стероидных гормонов в желтом теле яичника на 1 триместре беременности. При этом возникает лютеотропный и лактогенный эффект. Так же по действием ПЛ происходит контроль за процессами углеводного и липидного обменов, усиливается синтез белков у плода, за счет чего плод набирает массу. Усиленная задержка азота, увеличение восприимчивости организма к глюкозе, возрастание количества алифатических карбоновых кислот оказывает влияние на процессы метаболизма организма матери и плода.

Прогрессивное увеличение концентрации плацентарного лактогена наблюдается по ходу развития всей беременности и достигает своего максимума на 35-36 недели. На момент родов наблюдается умеренное снижение уровня плацентарного лактогена, что отражает начало регрессии в плацентарной ткани. В крови матери уровень плацентарного лактогена в 8 – 10 раз выше, чем в околоплодных водах. Основанием для оценивания состояния плацентарной ткани и плода по уровню плацентарного лактогена в околоплодных водах и в крови служит прямая корреляция между уровнем плацентарного лактогена в крови женщин и околоплодных вод, а так же зависимость между содержанием гормона в крови и массой плода и плаценты [56].

Умеренная перфузия плаценты характеризуется соотношением от 9:1 до 14:1 плацентарного лактогена в крови к плацентарному лактогену в околоплодных водах. При значении ниже 9:1 можно говорить об изменениях функций плаценты. Умеренная фетоплацентарная недостаточность возникает при уменьшении соотношения плацентарного лактогена крови/ плацентарного лактогена околоплодных вод до 6:1, тяжелая – ниже 6:1.

При развитии беременности важную роль играет хорионический гонадотропин, который является продуктом синцитиотрофобласта. Хорионический гонадотропин стимулирует синтез стероидных гормонов в желтом теле яичника до 5 месяца беременности, а начиная с 20 недели и до родов, стимулирует синтез эстрогенов в плацентарной ткани.

Из данных веществ синтезируются зрелые формы ХГ молекулы. Стоит отметить, что обнаруживаются α – ХГ и β – ХГ при старении плаценты, трофобластических опухолях и эндокринопатиях. Прослеживается изменение уровня ХГ в зависимости от его локализации, так у плода это значение ниже примерно в 15-25 раз по сравнению с таковым у матери.

Кроме того, имеется зависимость изменений концентрации ХГ в крови у беременных от триместра. Так в первые 30 дней происходит повышение уровня ХГ в двое почти через каждые 2 дня. К 60 дням беременности

концентрация ХГ в крови становится максимальной и составляет 60 - 100 МЕ/мл. Далее отмечается снижение содержания ХГ в крови, около 10 МЕ/мл, которое в последствие снова имеет тенденцию к росту. При исследовании мочи беременных обнаружено, что увеличение концентрации ХГ наблюдается на 2 неделе беременности, а с 12 недели она достигает своего максимального значения.

Изучены различные причины изменения концентрации ХГЧ в крови матери и плаценте: при длительном гестозе, перенашивании плода наблюдается снижение уровня данного вещества, а при сахарном диабете, недлительном гестозе, острой плацентарной недостаточности содержание ХГЧ имеет тенденцию к росту.

Известно, что не малую роль в синтезе легочного сурфактанта и фетоплацентарной осморегуляции играет гормон пролактин, который образуется из ткани хориона и децидуальной оболочки. В крови беременной различают два вида пролактина: плацентарный и гипофизарный. Последний образуется в гипофизе. Попадая в кровь, его концентрация повышается, особенно через 20 недель беременности и перед родами. Наибольшее содержание данного гормона отмечается в околоплодных водах матери, что превышает его уровень в крови в 100 раз.

К стероидным гормонам плацентарного происхождения относятся: прогестерон, эстриол, эстрадиол, эстрон. Их выработка происходит в синцитиотрофобласте и зависит от состояния маточно-плацентарного кровообращения. Интересно отметить зависимость концентрации данных гормонов от срока беременности. Прогестерон имеет тенденцию к росту во всех триместрах, тогда как, эстрогены в первом триместре беременности имеют невысокие значения концентрации. Выработка последних находится в зависимости от количества трофобласта, уровень которого повышается лишь к 12-15 неделе. Через 20 недель усиленный синтез эстрогенов начинает происходить в плаценте при активном участии плода.

Установлено, что резкое снижение содержания прогестерона и

эстрогенов в организме беременной женщины является маркером при развитии следующих нарушений: внутриутробной задержки развития и гипоксии плода, плацентарной недостаточности, анемии при перенашивании плода [2, 3]. Развитие данных патологий происходит за счет снижения синтеза предшественников данных гормонов в надпочечниках плода. Отмечено, что влияние на плацентарные ткани дефектов процессинга ЕЗ, сосудистых нарушений и изменений в элиминирующей функции печени и почек беременной, также способствует понижению концентрации прогестерона и эстрогенов в организме [2, 3, 4, 28].

Физико – химические свойства прогестерона определяют участие гормона в подавлении сократительной активности миометрия, имплантационных механизмах плодного яйца, а также в поддержании тонуса истмико-цервикального отдела. Кроме того, прогестерон играет непосредственную роль в стимулировании роста матки во время беременности.

К функциональным особенностям эстрогенов относится воздействие на процессы метаболизма и роста матки, развитие гипертрофии эндометрия и миометрия, а также значительное участие в родовом акте.

Таким образом, плацента, выполняя гормонпродуцирующую функцию, осуществляет связь биологических и физиологических процессов в системе мать-плацента-плод. Помимо этого, продуцируемые гормоны, могут принимать участие в патологических реакциях, вызывающих нарушения в состоянии фетоплацентарного комплекса, в частности гестозах.

1.3 Протеолитические ферменты фетоплацентарного комплекса

Большую роль в процессинге развития беременности играют протеолитические ферменты. К ним можно отнести пептидгидролазы, катепсины, аминопептидазы, карбоксипептидазы, ангиотензинпревращающий фермент и нейтральную эндопептидазу. Снижение активности катепсинов

определяет нормализацию процессов обмена на ранних сроках беременности, а также в период имплантации плодного яйца во время перенашивания. Повышение активности катепсинов, в частности катепсина L в плаценте I триместра беременности по сравнению с плацентой, полученной после срочных родов, указывает на участие фермента в процессинге имплантации.

Аминопептидазы играют непосредственную роль в реакциях поддержания гомеостаза организма во время беременности. Секреция аминопептидаз происходит цито- и синцитиотрофобласте плаценты. Физико-химические свойства фермента определяются участием его в реакциях синтеза ангиотензин III из ангиотензина II [11, 16]. Изменение активности аминопептидаз в крови беременной женщины происходит вовремя всего срока беременности, при котором наблюдается тенденция к ее повышению [14, 18]. При преэклампсии отмечается значительное снижение активности ферментов. Увеличение же активности аминопептидаз в плаценте происходит под влиянием развитой гипертензии. Такие изменения показывают непосредственную связь аминопептидаз с адаптационными процессами, возникающими у плода на стрессирующие факторы.

Особый интерес в поддержании процессов развития беременности вызывает цистинаминопептидаза. Секреция фермента происходит в лизосомальной фракции плацентарной ткани [23]. Функциональная активность ЦАП обусловлена разрушением ангиотензина II. Данное вещество ответственно за нормализацию давления крови в организме во время беременности. При развитии преэклампсии у беременной женщины можно отметить уменьшение активности фермента, однако при многоплодии наблюдается обратный процесс.

Непосредственное участие в эмбриональном росте и регуляции иммунных процессов выполняют аминопептидаза М и аминопептидаза N, которые локализованы в плаценте. Первая осуществляет функции гидролиза ангиотензина II, энкефалинов, окситоцина, β -эндорфина и других. Другая аминопептидаза принимает непосредственное участие в угнетении

иммуномодулирующих пептидов. Кроме того, она осуществляет реакции гидролиза соматостатинов, ангиотензина III, нейрокинина А и других.

Таким образом, можно сделать вывод, что процессы сужения плацентарных сосудов и изменения фетоплацентарного кровоснабжения предотвращаются аминопептидазами. Не малая роль в таких реакциях отведена взаимодействию ферментов с вазоактивными пептидами.

К протеолитическим ферментам фетоплацентарного комплекса можно отнести и ангиотензинпревращающий фермент. Его секреция начинается в микроворсинках синцитиотрофобласта, находящегося в плаценте [11, 12, 13]. Фермент осуществляет реакции катализации перехода ангиотензина I в ангиотензин II, кроме того, принимает участие в разрушении вещества Р и брадикинина [19]. Наблюдается зависимость изменения активности АПФ в крови в зависимости от локализации, так в вене пуповины активность фермента возрастает по сравнению с таковой в сыворотке крови матери. Однако снижение активности АПФ отмечено в артерии пуповины в отличие от сыворотки крови матери [46]. Помимо этого, активность фермента зависит от срока беременности. Отмечено, что происходит постепенное увеличение активности АПФ в крови, продолжающееся до III триместра [16]. При развитии патологических процессов, таких как преэклампсия и артериальная гипертензия, наблюдается корреляция активности АПФ в крови беременных в сторону снижения последней [33].

При детальном изучении микроворсинок плаценты человека была выделена карбоксипептидаза Е (кининаза I, КПЕ) [25, 39]. Данный фермент - основной компонент калликреин-кининовой системы. Функциональной особенностью карбоксипептидазы N является ее участие в физиологическом контроле за фетоплацентарной циркуляцией [16]. Кроме того, фермент вовлечен в процессинг разрушения брадикинина в плаценте и сыворотке крови. Это способствует уравниванию его уровня между матерью и плодом, так как существует разность содержания брадикинина в крови сосудов пуповины и сыворотки крови беременной женщины [17, 35].

В регуляции процессов метаболизма между матерью и плодом принимает активное участие нейтральная эндопептидаза. Она обнаружена в трофобласте плаценты, а ее секреция осуществляется клетками стромы хориона, цитотрофобластом и синцитиотрофобластом. Химические свойства фермента определяются его участием в деградации окситоцина, брадикинина, нейротензина, вещества Р и ХГЧ. Иммуногистохимические методы исследования показали, что при преэклампсии происходит увеличение активности НЭП, за счет участия фермента в процессах регуляции уровня ряда пептидов фетоплацентарного комплекса. Данные процессы направлены на поддержание ответа организма на прогрессирующие патологические нарушения во время беременности [9].

Таким образом, можно сделать вывод, что при гестационных осложнениях наблюдающиеся функциональные нарушения в работе протеолитических ферментов фетоплацентарного комплекса, приводят к изменениям обмена регуляторных пептидов [11, 12, 13, 16]. Поэтому изучение участия данных пептидов в формировании реакций адаптации, при патологических состояниях, в период беременности является одной из главных задач для исследователей.

1.3.1 Основные карбоксипептидазы

Карбоксипептидазы - ферменты, синтезируемые в поджелудочной железе и секретирующиеся в тонкой кишке. Данные энзимы гидролизуют отщепление пептидной связи на С – концевых остатках аминокислот. Карбоксипептидазы преимущественно воздействуют на аминокислоты, которые имеют ароматичные или разветвленные цепи углерода. Данные ферменты осуществляют регуляцию содержания в организме биологически активных пептидов [12, 13] в норме и при прогрессирующих патологических процессах [11, 12].

1.3.1.1. Карбоксипептидаза E

Карбоксипептидаза E впервые была выделена и очищена из хромаффинных гранул надпочечников быка. Локализуется данный фермент в мозге и островках Лангерганса поджелудочной железы. Основная биологическая функция карбоксипептидазы E состоит в образовании энкефалинов из веществ - предшественников. КПЕ представляет собой одноцепочечный гликопротеин, который в клетках имеет две формы: растворимой и связанной.

Связанная форма с мембранами представляет собой комплекс из C-концевой амфифильной последовательности, которая состоит из 21 гидрофильных и гидрофобных аминокислот. Экстрагирование из мембран можно производить при pH 5,6 1 М раствором NaCl или 1 М NaCl с 1% Тритоном X-100. Помимо последовательности аминокислот в КПЕ присутствует Ca^{2+} -связывающий участок, который обуславливает способность фермента к стабилизации и связыванию с мембранами, однако не имеет влияния на его активность [42].

Максимальная активность КПЕ наблюдается в растворимой форме при pH 5,5-6,0. Химическая функция карбоксипептидазы E состоит в непосредственном отщеплении остатков лизина и аргинина, при этом аргинин гидролизует быстрее, чем лизин [86].

Присутствие фермента во многом определяется локализацией основных пептидов или их предшественников. В аденогипофизе, надпочечниках и островках Лангерганса поджелудочной железы обнаружена наибольшая активность карбоксипептидазы E, а в задней доле гипофиза, стриатуме, гипоталамусе, гиппокампе, коре больших полушарий, среднем мозге обнаружено снижение его активности. Наиболее низкая активность КПЕ отмечается в стволовой части головного мозга, спинном мозге, легких, сердце, желудочно-кишечном тракте, печени и почках. Известно, что фермент ассоциирован со структурными элементами комплекса Гольджи,

эндоплазматического ретикулума и секреторными везикулами. По – видимому, такая локализация состоит в взаимосвязи с течением процессов, оказывающих влияние на предшественников биологически активных пептидов [22].

1.3.1.2 ФМСФ-ингибируемая карбоксипептидаза

Фенилметил-сульфонилфторид-ингибируемая карбоксипептидаза впервые была выделена из фракции серого вещества мозга кошки, за счет подавления ФМСФ работы основной карбоксипептидазы [34].

Физико – химические свойства ФМСФ-КП состоят в участии фермента в реакциях отщепления аргинина от дансил-фен-лей-арг и лей-энкефалин-арг, с последующим образованием дансил-фен-лей и лей-энкефалин соответственно [16, 75].

Фермент обнаруживается во всех отделах мозга и в большинстве тканей, исключение составляют только почки, там наблюдаются следы активности фермента.

Можно отметить сходства ФМСФ-КП с лизосомальной карбоксипептидазой L. Данные ферменты имеют одинаковый ингибиторный профиль и оптимум pH, а также сходную молекулярную массу. Наряду с тем наблюдается разность между этими ферментами в локализации в тканях и специфичности к субстратам. Отличие ФМСФ-КП от карбоксипептидазы С связано с различиями в их субстратной специфичности, а также молекулярной массе.

Максимальная активность ФМСФ-КП отмечена при pH 6,0-6,5, однако на активность фермента имеют непосредственное воздействие такие вещества как 50 мМNaCl, KCl, NaBr, KJ. Наибольшее значение активности фермента установлено в надпочечниках, а снижение его активности характерно для селезенки, печени и семенников. В отделах мозга отмечена корреляция активности фермента в зависимости от отделов. Так высокая

активность, примерно в 2-3 раза, наблюдается в гипофизе, относительно других отделов мозга, а наибольшее снижение активности - в четверохолмии и гиппокампе [4, 18].

Также было выявлено, что в надпочечниках, синтезирующих большое число энкефалинов активность ФМСФ-КП превышала в 8 – 9 раз чем активность КПЕ. Следует добавить, что сродство ФМСФ-КП к дансил-Phe-Leu-Arg превышает сродство КПЕ к этому же субстрату [19].

Следовательно, можно предположить, что обнаруженный фермент участвует в процессинге нейропептидов. Таким образом, представляет интерес изучение активности ФМСФ-ингибируемой КП в плацентарной ткани в норме и при патологии.

1.3.1.3 Катепсин D

Катепсины – ферменты, которые относятся к классу гидролаз. Катепсинам отводится главная роль в деградации белковых молекул. В регуляции белкового обмена важную роль играет протеолиз, в ходе которого происходит постоянное обновление белков.

Катепсины локализованы во всех тканях и органах человека.

По строению активного центра катепсины делятся на три основные группы: сериновые амидгидролазы, тиоловые амидгидролазы и карбоксильные амидгидролазы. В первую группу катепсинов, в активном центре которых содержится остаток серина входят катепсин А и катепсин G.

Наибольшая активность катепсина G была отмечена в лимфоцитах и селезенки. Учеными была показана антимикробная активность фермента, а также способность осуществлять гидролиз следующих белков: компоненты системы комплемента, иммуноглобулины и фибронектин. Физиологическая роль катепсина G в организме человека до конца не была выяснена. Но учеными было отмечено участие фермента в деградации иммунных

комплексов, а также активации системы комплемента или тромбообразовании.

Ко второй группе катепсинов которые содержат в активном центре цистеин, относятся катепсины В, С, Н, L, N и S.

В третью группу входят катепсины, в активном центре которых содержится остаток аспарагиновой кислоты. К группе таких ферментов принадлежат катепсин D и катепсин E.

Катепсин D - карбоксильная эндопептидаза, при участии которой происходит расщепление низкомолекулярных пептидов. Данный фермент проявляет активность в виде разнообразных форм с рН от 5,8 до 7,2 [14, 16]. Наибольшая активность наблюдалась при рН 2,8-4,0. С помощью метода гель-фильтрации была установлена относительная молекулярная масса данного фермента ($M_r = 42000$). В качестве субстрата катепсина D выступает гемоглобин. Фермент способен гидролизовать многие природные субстраты: В – эндорфин, соматостатин, пролактин, вещество Р, В – липотропин, ..

Катепсин D локализован во всех органах и тканях организма. В плаценте активность протеиназы была отмечена в ворсинах синцитиотрофобласта.

Согласно литературным данным, катепсин D не только играет роль в регуляции развития клетки, но и принимает участие в апоптозе последней. Данное обстоятельство обусловлено процессами, происходящими в системе протеолиз-антипротеолиз в результате нарушения баланса при ОПГ-гестозе.

Известны также катепсин F, который катализирует расщепление протеогликанов и катепсин С, который способствует переносу олигопептидов на пептиды или аминокислоты [16]. Следует отметить, что фермент не чувствителен к действию диизопропилфторфосфата, пепстатина и реагентов, которые взаимодействуют с группой SH. А в роли ингибиторов выступают некоторые иммуноглобулины [38].

Согласно литературным данным, во время беременности происходит интенсификация процессов деградации белковых молекул [23]. В первом

триместре процессы плацентации и имплантации способствуют увеличению протеолитической активности. Во втором триместре период формирования плаценты завершается и начинается фаза активного функционирования последней, в результате чего наблюдается иммуносупрессия. Третий триместр характеризуется увеличением ингибиторного звена протеолитической системы. Этот факт может быть обусловлен тем, что происходит рост потенциала свертывания крови. Перед родами активация белкового распада может быть обусловлена повышением фибринолитической активности трофобласта. После родов наблюдается усиление активности ингибиторов протеаз, что служит защитной компенсаторной реакцией [19].

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

Активность ферментов определяли в плацентарной ткани, полученной сразу после родов.

В исследовании чувствовали 19 женщин в возрасте от 20 до 35 лет. Были сформированы 2 группы. Первую группу составляли женщины с физиологическим течением беременности и родов. У всех женщин беременность закончилась срочными родами (срок родов составлял от 38 до 40 недель). Околоплодные воды были светлые. Все дети родились в удовлетворительном состоянии со средней оценкой по шкале Апгар на 1-й минуте – 8,2, на 5-й минуте жизни – 8,6. При гистологическом исследовании последов отмечены умеренно-выраженные компенсаторно-приспособительные процессы.

Ко 2 группе относились пациентки с ОПГ-гестозом легкой степени тяжести. У всех женщин беременность закончилась срочными родами (срок родов составлял от 38 до 40 недель). Околоплодные воды были светлые. Средняя оценка новорожденных по шкале Апгар на 1-й минуте составила – 8,2, на 5-й минуте жизни – 8,4.

Диагноз поставлен на основании клинических проявлений, клинико-лабораторных данных; оценку степени тяжести гестоза проводили по унифицированной шкале Гоека-Савельевой. При гистологическом исследовании последов в данной группе обнаружены умеренно-выраженные компенсаторно-приспособительные процессы, в некоторых случаях отмечены очаговые нарушения микроциркуляции, инволютивно-дистрофические изменения, признаки инфекции.

Ткани взвешивали, навески гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком в 10 мМ натрий-ацетатном буфере

(рН 5,6), содержащем 50 мМ NaCl, в соотношении 1:50 (вес:объем).

2.2 Методы исследования

2.2.1 Метод определения активности карбоксипептидазы E

Активность КПЕ определяли флуориметрическим методом [18, 73]. В качестве субстрата использовали дансил-Phe-Ala-Arg.

В опытные пробы вносили 50 мкл гомогената ткани и 150 мкл 50 мМ натрий-ацетатного буфера, содержащего 50 мМ NaCl (рН 5,6).

Контрольные пробы содержали 50 мкл гомогената ткани, смесь 140 мкл вышеуказанного буфера и 10 мкл 25 мкМ водного раствора ингибитора ГЭМЯК. Пробы преинкубировали при 37°C в течение 8 минут. Реакцию начинали прибавлением 50 мкл водного 210 мкМ раствора дансил-Phe-Ala-Arg, нагретого до 37°C. Пробы инкубировали при 37°C в течение 60 минут. Для остановки реакции к пробам добавляли 50 мкл 1 М раствора HCl.

Продукт реакции дансил-Phe-Ala экстрагировали в 1,5 мл хлороформа при интенсивном встряхивании в течение 1 минуты. Для разделения хлороформной и водной фаз пробы центрифугировали (1000 об/мин) в течение 10 минут.

Флуоресценцию хлороформной фазы измеряли на флюорате-02-АБЛФ-Т при $\lambda_{ex}=360$ нм и $\lambda_{em}=530$ нм в кварцевой кювете с длиной оптического пути 10 мм. 1 мкМ раствор дансил-Phe-Ala в хлороформе использовали в качестве стандарта.

Здесь и далее количественное содержание белка определяли методом Лоури [78].

Активность фермента определяли по разности флуоресценции в пробах, не содержащих и содержащих ГЭМЯК, и выражали в нмоль дансил-Phe-Ala, образовавшегося за 1 минуту инкубации в пересчёте на 1 мг белка.

2.2.2 Метод определения активности ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы

Активность ФМСФ-КП определяли флуориметрическим методом [18, 73].

В опытную пробу к 50 мкл гомогената ткани вносили 150 мкл 50 мМ натрий-ацетатного буфера, содержащего 50 мМ NaCl (рН 5,6), в контрольную пробу – 140 мкл буфера и 10 мкл 25 мкМ спиртового раствора ФМСФ. Пробы преинкубировали при 37°C в течение 8 минут. Реакцию начинали прибавлением 50 мкл нагретого до 37°C 210 мкМ водного раствора дансил-Phe-Ala-Arg. Пробы инкубировали при 37°C в течение 60 минут. Для остановки реакции к пробам добавляли 50 мкл 1М раствора HCl.

Продукт реакции дансил-Phe-Ala экстрагировали в 1,5 мл хлороформа при интенсивном встряхивании в течение 1 минуты. Пробы центрифугировали (1000 об/мин) в течение 10 минут. Флуоресценцию хлороформной фазы измеряли на флюорате – 02 - АБЛФ-Т при $\lambda_{ex}=360$ нм и $\lambda_{em}=530$ нм в кювете с длиной оптического пути 1 см.

Активность фермента определяли по разности флуоресценции в пробах, не содержащих и содержащих ФМСФ, и выражали в нмоль дансил-Phe-Ala, образовавшегося за 1 мин инкубации в пересчёте на 1 мг белка. Концентрацию белка определяли методом Лоури [78].

Метод основан на способности белка окрашиваться раствором Фолина. В качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали бычий сывороточный альбумин.

2.2.3 Метод определения активности катепсина D

При определении активности катепсина D использовали 7,5%-ый гомогенат ткани на натрий-ацетатном буфере (рН 3,3). Препарат фермента

(20 мкл) смешивали с 60 мкл 100 мМ натрий-ацетатного буфера (pH 3,3) и преинкубировали 8 мин при температуре 37°C. Начинали реакцию прибавлением в опытные пробы 20 мкл 8% раствора гемоглобина, полученного из бычьей крови. Реакцию останавливали через 40 мин прибавлением 100 мкл 5% раствора трихлоруксусной кислоты. В контрольные пробы добавляли 20 мкл 8% раствора гемоглобина. Пробы центрифугировали 30 мин при 4000 об/мин. После центрифугирования отбирали 100 мкл надосадочной жидкости и определяли количество образовавшегося тирозина методом Лоури [78]. Пробы колориметрировали на КФК-3 при $\lambda=750$ нм. Активность фермента определяли как разность в оптической плотности между опытными и контрольными пробами. Активность фермента выражали в нмоль тир, образовавшегося за 1 мин инкубации в пересчете на 1 мг белка. Количество белка в пробах определяли методом Лоури.

2.3 Статистическая обработка результатов исследования

Для оценки достоверности различий между средними значениями использовали t-критерий Стьюдента. Это параметрический критерий, используемый для проверки гипотез о достоверности разницы средних при анализе количественных данных с нормальным распределением и одинаковой вариантой.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Активность КПЕ в плацентарной ткани в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести

В своей работе мы исследовали изменение активности карбоксипептидазы Е в плацентарной ткани при нормальном течении беременности и при ОПГ-гестозах легкой степени тяжести.

На основании исследования 19 образцов плацентарной ткани рожениц в возрасте от 20 до 35 лет результаты были разделены на 2 группы по типу течения беременности (табл. 1).

Таблица 1. Активность карбоксипептидазы Е в плацентарной ткани при нормальном течении беременности и при ОПГ-гестозах легкой степени тяжести (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1мг белка, $M \pm m$, $n = 19$)

№	Исследуемый показатель	I группа (физиологически нормальное течение беременности, $n=10$)	II группа (с ОПГ-гестозом легкой степени тяжести $n=9$)
1	КПЕ	$0,219 \pm 0,085$	$0,075 \pm 0,013$

На рисунке 1 представлены результаты определения активности КПЕ в плацентарной ткани женщин в норме и при ОПГ гестозе легкой степени тяжести.

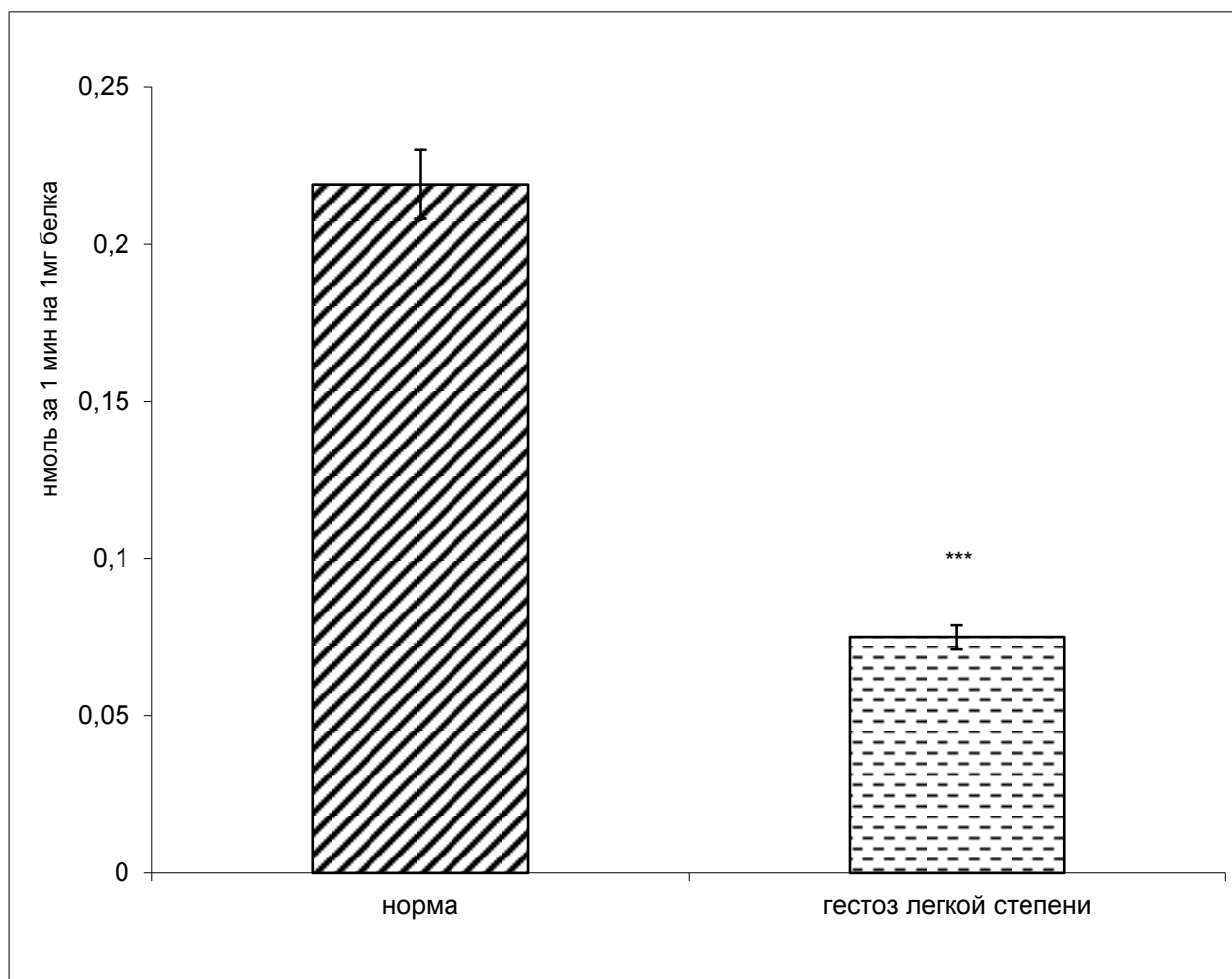


*Рисунок 1. Активность карбоксипептидазы E в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка; $M \pm m$; *** - $p < 0,001$ относительно нормы)*

Установлено снижение активности КПЕ в образцах группы. Активность исследуемого фермента уменьшалась в 2,9 раза по сравнению со значениями активности КПЕ при физиологическом течении беременности.

Известно, что при патологическом течении беременности происходят функциональные изменения, приводящие к нарушению продуцирования гормонов плацентой. Главная роль отводится таким гормонам фетоплацентарного комплекса, как ХГЧ, инсулин, плацентарный лактоген, пролактин, С-пептид [64, 67, 68]. Известно, что КПЕ принимает участие в процессинге гормонов пептидной природы [77, 78]. Исходя из этого, участие

КПЕ в образовании гормонов и биологически активных веществ является возможным

Развитие ОПГ - гестоза сопровождается нарушением целостности клеточных мембран плаценты, при этом изменяется соотношение холестерина и фосфолипидов. Кроме этого нормальное функционирование клеточных мембран становится невозможным [31].

При патологической беременности наблюдается интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ). Данное обстоятельство может быть обусловлено снижением антиоксидантной активности сыворотки крови за счет уменьшения активности системы церулоплазмин-трансферин, роль которой заключается в нейтрализации токсичных продуктов обмена, выделяющихся при ПОЛ [7, 31]. Вышеперечисленные изменения, вероятно, являются одной из основных причин повреждения мембран плаценты.

Снижение активности компонентов антиоксидантной системы и, в то же время, активация ПОЛ способствуют возможности интенсификация процессов окислительной модификации не только липидов, но и белков клеточных мембран, что, в свою очередь, приводит к появлению ферментативной и гормональной недостаточности плаценты [22, 26].

Нельзя не обратить внимание на то обстоятельство, что развитие гестоза любой степени тяжести, является стрессорным воздействием для фетоплацентарной системы [8, 24]. Учеными было выявлено, что при патологическом течении беременности, уровень кортикотропин-релизинг фактора, а также опиоидных пептидов возрастает [25].

Кортикотропин-релизинг фактор способствует уменьшению уровня гонадотропинов, в том числе ХГЧ. Данное обстоятельство приводит к тому, что уровень синтеза прогестерона и эстрогенов, которые, в свою очередь, обладают антиоксидантной активностью, начинает снижаться. Таким образом, наблюдается выраженное негативное воздействие ПОЛ на клеточные мембраны, что может являться причиной снижения активности КПЕ.

Полученные нами результаты, относительно изменения активности карбоксипептидазы Е в плацентарной ткани женщин при ОПГ- гестозе легкой степени тяжести по отношению к контрольной группе, согласуются с данными ряда исследователей о снижении уровня гормонов белковой природы в фетоплацентарном комплексе [52, 53].

Карбоксипептидаза Е локализована во всех тканях и органах как в растворимой, так и в мембраносвязанной формах [13].

По-видимому, наблюдаемое изменение активности исследуемого фермента может являться следствием ОПГ – гестоза, развитие которого приводит к интенсификации ПОЛ. В результате чего наблюдается образование токсических веществ, оказывающих негативное воздействие на структурно-функциональные свойства мембран.

Таким образом, можно предположить, что КПЕ принимает участие в процессинге биологически активных пептидов и поддержании гомеостаза в ФПК во время физиологической беременности, а также вовлекается в патогенез гестационных осложнений.

3.2 Активность ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы в плацентарной ткани в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести

В своей работе мы исследовали изменение активности фенилметилсульфонилфторид-ингибируемой карбоксипептидазы в плацентарной ткани при нормальном течении беременности и при ОПГ-гестозах легкой степени тяжести.

ФМСФ-КП – экзопептидаза, которая отщепляет остатки основных АК с С-концов пептидов. Физико-химические свойства, субстратная специфичность и тканевая локализация исследуемого фермента позволяют предположить ее участие в процессинге пептидов. В связи с этим исследование активности ФМСФ-ингибируемой КП в плацентарной ткани в норме и при патологии представляет особый интерес

На основании обследования 19 образцов плацентарной ткани женщин в возрасте от 20 до 35 лет результаты были разделены на 2 группы по типу течения беременности (табл. 2).

Таблица 2. Активность ФМСФ-КП в плацентарной ткани при нормальном течении беременности и при ОПГ-гестозах легкой степени тяжести (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка, $M \pm m$, $n = 19$)

№	Исследуемый показатель	I группа (физиологически нормальное течение беременности, $n=10$)	II группа (с ОПГ-гестозом легкой степени тяжести $n=9$)
1	ФМСФ-КП	$0,137 \pm 0,048$	$0,061 \pm 0,018$

На рисунке 2 представлены результаты определения активности ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы в плацентарной ткани женщин в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести.

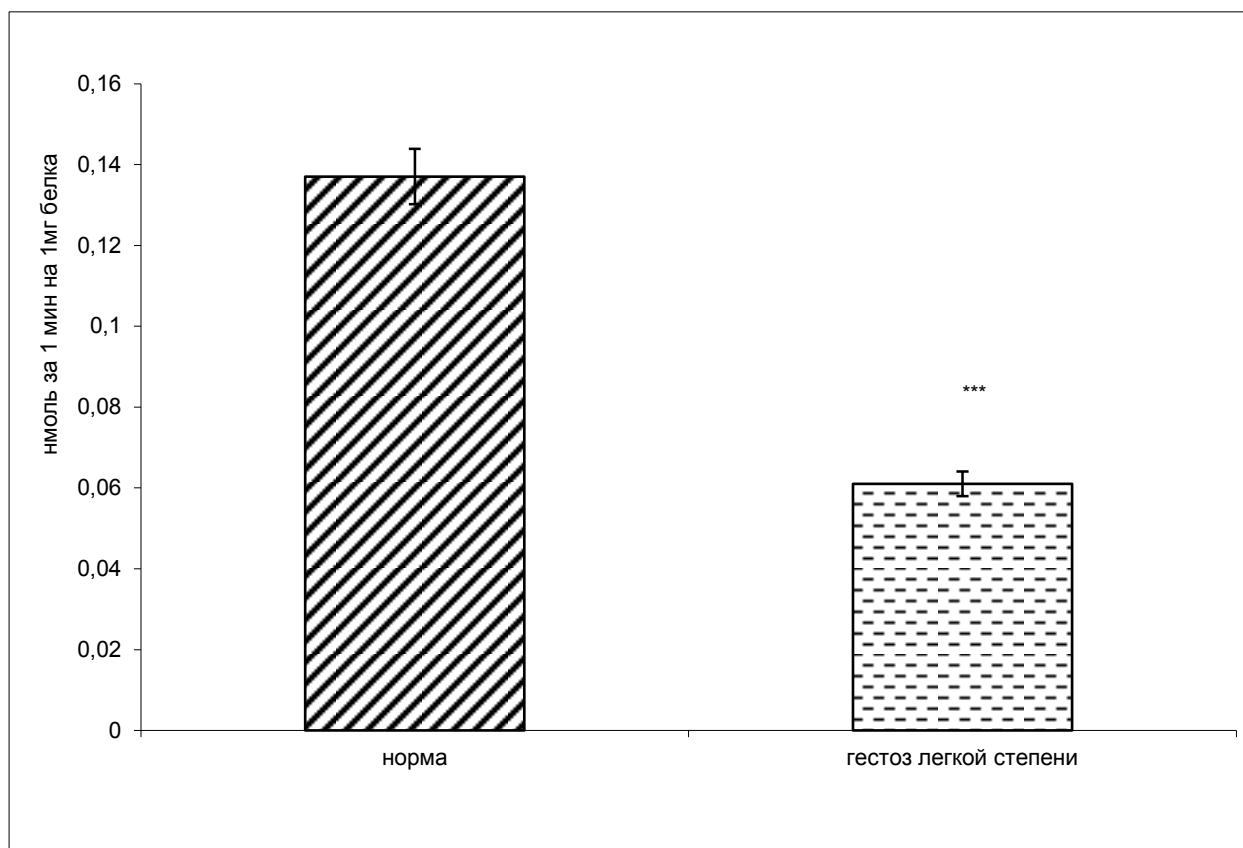


*Рисунок. 2. Активность ФМСФ-КП в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести (нмоль продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка; $M \pm m$; *** - $p < 0,001$ относительно нормы)*

Полученные данные свидетельствуют о достоверном снижении активности ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы в плацентарной ткани женщин контрольной группы в 2,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению со значениями активности ФМСФ-КП в образцах контрольной группы.

В связи с тем, что ФМСФ-КП существует в мембраносвязанной форме [12, 13], снижение активности фермента можно также объяснить возможными изменением состояния мембран под действием продуктов ПОЛ которые имеют место и при ОПГ-гестозах [7, 8].

3.3 Активность катепсина D плацентарной ткани в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести

В своей работе мы исследовали изменение активности катепсина D в плацентарной ткани при нормальном течении беременности и при ОПГ-гестозах легкой степени тяжести.

Катепсин D - карбоксильная эндопептидаза, участвующая в процессах системы протеолиз-антипротеолиз, в которой происходит нарушение баланса при ОПГ-гестозах. Поэтому представляет интерес изучение активности катепсина D при патологическом течении беременности.

На основании обследования 19 образцов плацентарной ткани рожениц в возрасте от 20 до 35 лет результаты были разделены на 2 группы по типу течения беременности (табл. 3).

Таблица 3. Активность катепсина D в плацентарной ткани при нормальном течении беременности и при ОПГ-гестозах легкой степени тяжести (нмоль тир продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1 мг белка, $M \pm m$, $n = 19$)

№	Исследуемый показатель	I группа (физиологически нормальное течение беременности, $n=10$)	II группа (с ОПГ-гестозом легкой степени тяжести $n=9$)
1	Катепсин D	$0,251 \pm 0,067$	$0,528 \pm 0,077$

На рисунке 3 представлены результаты определения активности катепсина D в плацентарной ткани женщин в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести.

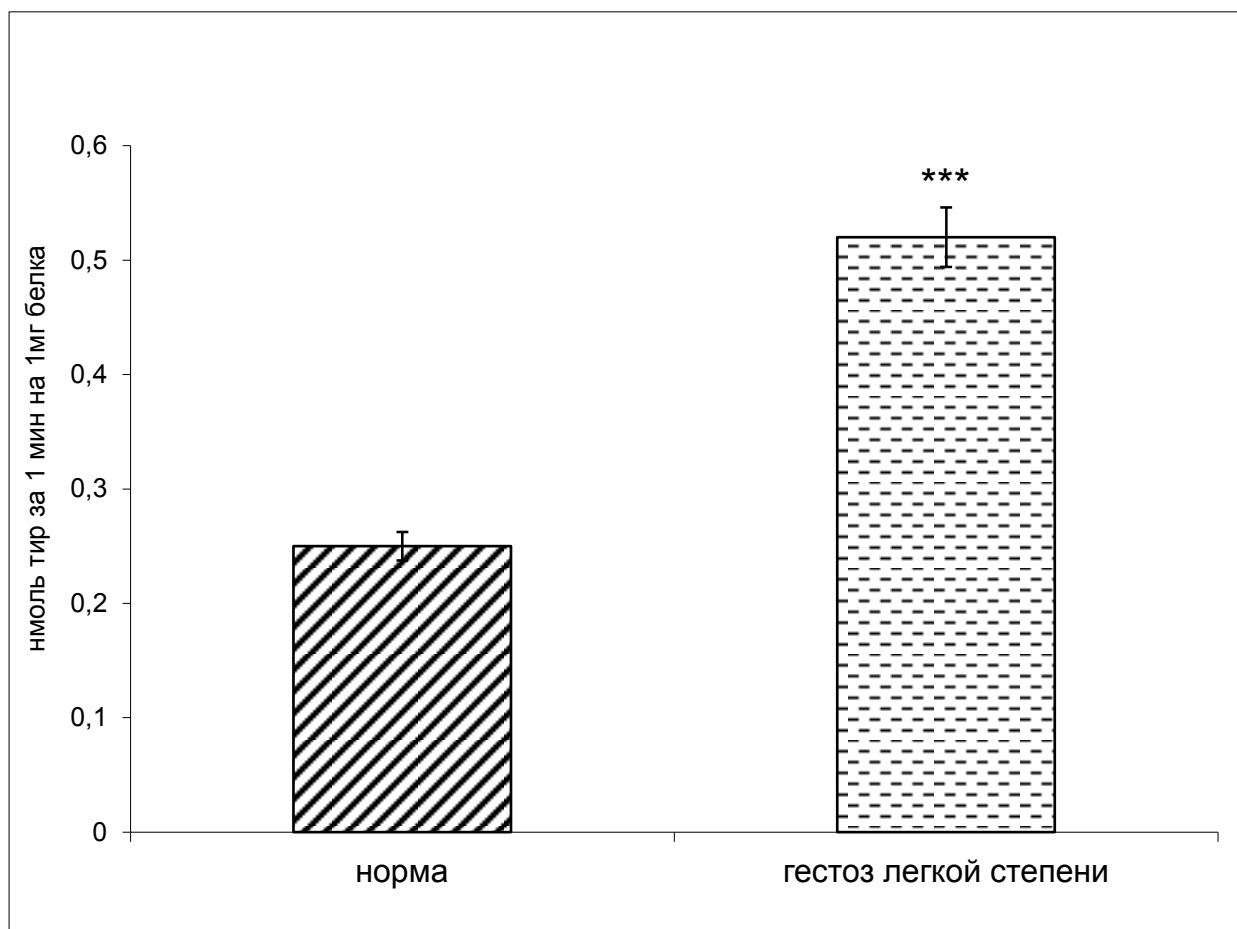


*Рисунок.3. Активность катепсина D в плаценте в норме и при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести (нмоль тир продукта, образовавшегося за 1 мин инкубации на 1мг белка; $M \pm m$; *** - $p < 0,001$ относительно нормы)*

Полученные результаты свидетельствуют о достоверном увеличении активности исследуемого фермента в образцах опытной группы 2,1 раза ($p < 0,001$) по отношению к контрольной группе.

Известно, что течение патологической беременности сопровождается интенсификацией ПОЛ [3, 5, 23]. Свободнорадикальное окисление происходит в результате снижения антиоксидантной активности. А это, в свою очередь, служит причиной повреждения структуры мембран лизосом. Повреждение мембран приводит к тому, что уровень кислых гидролаз в цитозоле начинает возрастать, в результате чего активируются процессы аутолиза [7]. Следствием аутолитических реакций является нарушение

метаболизма. Интенсификация протеолиза негативным образом влияет на ферменты и гормоны пептидной природы, вызывая инактивацию и изменяя функциональное значение последних.

При физиологически нормальной беременности также наблюдается увеличение скорости деградации белковых молекул. При этом, нарушения работы ингибиторов протеаз не происходит. В роли последних выступают белки острой фазы, которые дезактивируют ферменты [22].

Как было отмечено выше, аутолитические реакции являются причиной нарушения целостности мембран и приводят к высвобождению ферментов. А они, в свою очередь, вызывают повторную альтерацию ткани [6].

Нельзя не обратить внимание на то обстоятельство, что развитие гестоза любой степени тяжести является стрессирующим фактором для фетоплацентарного комплекса. На фоне этого в плацентарной ткани повышается уровень кортикотропин - релизинг фактора и опиоидных пептидов. Кортикотропин - релизинг фактор способствует снижению уровня гонадотропных гормонов, а именно ХГЧ, что, в свою очередь, приводит к снижению синтеза прогестерона и эстрогенов, обладающих антиоксидантной активностью [7, 8, 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе было исследовано изменение активности карбоксипептидазы Е, катепсина D и ФМСФ-КП в плацентарной ткани при физиологической и патологическом течении беременности.

Снижение уровня эстрогенов и прогестерона в ФПК является причиной уменьшения активности протеолитических ферментов, что сопровождается интенсификацией процессов внутриклеточного протеолиза в плацентарной ткани при участии катепсинов.

В результате активации внутриклеточного протеолиза происходит накопление пептидов эндогенного происхождения, которые образуются при деградации лизосомальных протеаз в цитоплазме. Повышенное содержание продуктов деградации последних наблюдается как при физиологически нормальном течении беременности, так и при беременности, сопровождающейся гестозом любой степени тяжести. Накопление таких пептидов эндогенного происхождения может привести к развитию синдрома эндогенной интоксикации [12, 13, 24].

Образовавшиеся продукты оказывают повреждающее действие на сосудистую систему, ухудшают кровообращение, а также негативно влияют на функции всех систем и органов во время течения патологического процесса [7].

Наблюдаемое изменение активности катепсина D в плацентарной ткани при ОПГ-гестозе легкой степени тяжести может являться следствием интенсификации процессов ПОЛ и внутриклеточного протеолиза. Исследуемый фермент, вероятно, вовлекается в патогенез гестоза легкой степени тяжести, который, в свою очередь, сопровождается регуляторными перестройками, контролирующими активность гидролаз плаценты.

Суммируя полученные результаты и литературные данные можно прийти к выводу, что плацентарные пептидазы, участвуя в процессинге, модуляции и инактивации биологически активных пептидов, играют важную

роль в поддержании гомеостаза в ФПК во время физиологической беременности, а так же полученные результаты свидетельствуют о вовлечении пептид-гидролаз плаценты в патогенез гестационных осложнений.

Возможно, полученные нами результаты могут являться основными показателями для дальнейшего исследования гомеостаза фетоплацентарной системы и поиска способов коррекции метаболических изменений в плацентарной ткани при патологическом течении беременности с ОПГ-гестозом.

ВЫВОДЫ

1. Исследовано изменение активности карбоксипептидазы E, катепсина D и ФМСФ-КП в плацентарной ткани при физиологическом и патологическом течении беременности.

2. Выявлено достоверное снижение активности карбоксипептидазы E и ФМСФ-КП в образцах плацентарной ткани опытной группы по сравнению со значениями исследуемых ферментов в контрольной группе. КПЕ и ФМСФ-КП являются мембраносвязанными ферментами, поэтому наблюдаемые изменения могут быть обусловлены интенсификацией ПОЛ и нарушением целостности мембраны.

3. Отмечено повышение активности катепсина D в образцах плацентарной ткани опытной группы по сравнению со значением исследуемого фермента в контрольной группе. Вероятно, изменение активности фермента является следствием интенсификации протеолиза в результате стрессорной реакции, которой является ОПГ-гестоз.

4. При дальнейших исследованиях гомеостаза фетоплацентарной системы, полученные нами результаты могут играть важную роль и послужить основой для разработки способов коррекции метаболических изменений в плацентарной ткани при патологическом течении беременности с ОПГ-гестозом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян, Э. К. Антиоксиданты в комплексной терапии позднего токсикоза и связанной с ним хронической гипоксии плода / Н. В. Афанасьева, А. Н. Стрижаков // Акушерство и гинекология. – 1991. – № 3. – С. 30-34.
2. Анастасьева, В. Г. Морфофункциональные нарушения фетоплацентарного комплекса при плацентарной недостаточности / В. С. Мериакри. – М.: Издательский центр «Новосибирск», 1997. – 107 с.
3. Аржанова, О. Н. Плацентарная недостаточность: диагностика и лечение / Н. Г. Кошелева, Т. Г. Ковалева, Г. Л. Громыко, О. В. Тышкевич и др. – М.: Издательский центр «Академия», 2000. – 32 с.
4. Афанасьева, Н. В. Исходы беременности и родов при фетоплацентарной недостаточности различной степени тяжести / А. Н. Стрижаков // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – № 2. – С. 7-13.
5. Баркаган, З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / А. П. Момот. – М.: Издательский центр «Ньюдиамед», 2001. – 298 с.
6. Беднарский, Л. С. Применение эндоваскулярной лазерной терапии в комплексном лечении ОПГ-гестоза / Н. А. Чайка, В. К. Ярославский, Л. А. Данилова, Л. Л. Резников // Акушерство и гинекология. – 1995. – № 6. – С. 18-22.
7. Болдырев, А. А Введение в биохимию мембран / Е. И. Кяйвярйнен, В. А. Илюха и др. – М.: Издательский цент «Наука», 1986. – 112 с.
8. Бурлев, В. А. Свободно-радикальное окисление в системе мать—плацента—плод при акушерской патологии: автореф. дис. ... канд. биол. наук / В. А. Бурлев. – Москва, 1992. – 24 с.

9. Бычков, В. И. Диагностика и лечение хронической фетоплацентарной недостаточности / Е. Е. Образцова, С. В. Шамарин // Акушерство и гинекология. – 1999. – № 6. – С. 3-6.
10. Васильева, З. В. Функция почек и показатели эндогенной интоксикации при гестозах / А. В. Тягунова, В. В. Дрожжева, Т. А. Конькова // Акушерство и гинекология. – 2003. – № 1. – С. 16-20.
11. Вернигора, А. Н. Механизмы регуляции активности и биологическая роль карбоксипептидазы Н – фермента процессинга нейропептидов / М. Т. Генгин // Биохимия. – 1995. – № 12. – С. 1491-1497.
12. Вернигора, А. Н. Частичная характеристика основной фенилметилсульфонилфторид-ингибируемой карбоксипептидазы из головного мозга кошки / Н. Н. Никишин, М. Т. Генгин // Биохимия. – 1995. – № 11. – С. 1860-1866.
13. Вернигора, А. Н. Распределение активности фенилметилсульфонилфторид-ингибируемой карбоксипептидазы в нервной ткани котов / М. Т. Генгин, Д. А. Салдаев, Н. В. Щетинина // Нейрохимия. – 1997. – № 4. – С. 423 - 425.
14. Вернигора, А. Н. Влияние глюкокортикоидов на активность растворимой и мембраносвязанной форм карбоксипептидазы Н *in vivo* / Н. Н. Никишин, М. Т. Генгин // Биохимия. – 1995. – № 6. – С. 93-98.
15. Вернигора, А. Н. Распределение активности основных карбоксипептидаз в тканях лабораторных животных разных видов / Н. В. Щетинина, Д. А. Салдаев, М. Т. Генгин // Нейрохимия. – 2002. – № 1. – С. 25-27.
16. Вернигора, А. Н. 40 лет изучения ангиотензинпревращающего фермента: проблемы и достижения / М. Т. Генгин // Биохимия. – 1998. – № 2. – С. 3-14.
17. Логутова, Л. С. Современные подходы в комплексной терапии беременных с гестозом тяжелой степени / Н. Х. Хапий, Ж. Ю. Пырскова // Акушерство и гинекология. – 1998. – № 2. – С. 12–14.

18. Владимиров, Ю. А. Перикисное окисление липидов в биологических мембранах / А. И. Арчаков, Г. М. Франк и др. - М.; Издательский центр «Наука», 1972. – 252 с.
19. Возовик, А. В. Коррекция фетоплацентарной недостаточности у беременных с нетоксическим узловым зобом / А. В. Возовик // Материалы V Российского Форума «Мать и Дитя». – 2003. № 3. – С. 44-45.
20. Габелова, К. А. Фиксированные иммунные комплексы и NO-синтетазная активность плаценты при гестозе / А. В. Арутюнян, Л.Б. Зубжицкая // Акушерство и гинекология. – 2000. – №1. – С. 22-24.
21. Гармашева, Н. Л. Патологические основы охраны внутриутробного развития человека / Н. Н. Константинова. – М.: Издательский центр «Ленинградское отделение», 1985. – 159 с.
22. Грищенко, В. И. Совершенствование диагностики и терапии перинатальной патологии / Н. А. Щербина Н. А. // Акушерство и гинекология. –1990. – № 10. – С. 3-6.
23. Громыко, Г. Л. Современные представления о механизмах регуляции кровообращения в плаценте при физиологической и осложненной беременности / А. О. Шпаков // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. – 1995. – № 4. – С. 35-41.
24. Губский, Ю. И. Роль антиоксидантных витаминов в ограничении токсинов / И. А. Сильченко, А. И. Селезнева и др. – М.: Издательский центр / М.: «Наука», 1981. –106 с.
25. Гутикова, Л. В. Клинико-биохимическая оценка эффективности применения липорастворимых антиоксидантов при гестозе / Л. В. Гутикова // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 1. – С. 10-13.
26. Демидович, Е. О. Особенности плодового почечного кровотока при фетоплацентарной недостаточности / И.В. Игнатко. – М.:Издательский центр «Москва»,2003. –57 с.

27. Дмитриев, Л. Ф. Взаимосвязь окислительного фосфорилирования и перекисного окисления липидов / Л.Н. Давлетина, И.И. Иванов // Биологические мембраны. –1985. – № 8. – С. 795–799.
28. Ломакин, М. С. Биологически активные вещества, ассоциированные с плацентой / Н.Г. Арцимович // Акушерство и гинекология. – 1991. – № 9. – С. 6-10.
29. Кошелева, Н. Г. Новые подходы к лечению угрожающих преждевременных родов / О.Н. Аржанова, Г.Л. Громыко Г.Л. //Вестник Российской ассоциации акушеров гинекологов. –1996. – № 1. – С.55–60.
30. Кошелева, Н. Г. Профилактика гипертензивных форм гестоза с помощью магне В₆ при невынашивании беременности в анамнезе / Е.В. Никологорская // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 1. – С. 40-42.
31. Кулаков, В. И. Клинико-биохимические аспекты патогенеза гестозов/ Л.Е. Мурашко, В.А. Бурлев // Акушерство и гинекология. – 1995. – № 6. – С. 3-5.
32. Кулаков, В. И. Клиническое значение сывороточного железа и ферритина у беременных с железодефицитной анемией и гестозом / В. А. Бурлев, Е. Н.Коноводова, Л. Е. Мурашко и др. – М.: Издательский центр «Москва», 1998. – 67 с.
33. Маркелова, Н. Б. Изменения клеточного иммунитета при гестозах беременных и их коррекция: автореф.дис. ... канд. биол. наук / Н.Б. Маркелова. – Волгоград, 2004. – 25 с.
34. Мерзлякова, А. А. Показатели аутоиммунных антител и состояние системы гемостаза у беременных с рано развившимся гестозом / А. Ф. Добротина, Н. А. Егорова // Нижегородский медицинский журнал. – 2002. – № 4. – С. 16-19.
35. Орджоникидзе, Н. В. Новое в лечении беременных с синдромом задержки развития плода / П. А. Клименко, Г.Д. Дживигелова // Акушерство и гинекология. –1996. – № 3. – С. 32–36.

36. Павлович, Л. Л. Патогенетическое обоснование применения w-3-полиненасыщенных жирных кислот при осложненном течении беременности / Л. Л. Павлович // Акушерство и гинекология. – 1998. – № 1. – С. 48-52.
37. Паращук, Ю. С. Фетоплацентарная недостаточность / О.В. Грищенко, И. В. Лахно, О. И. Шевченко и др. – М.: Издательский центр «Академия», 1999. – 45 с.
38. Пестрикова, Т. Ю. Ведение беременности и родов высокого риска / Т. В. Чиждова, М. И. Петричко и др. – М.: Издательский центр «Сувенир», 1994. – 287 с.
39. Подтетенев, А. Д. Тактика ведения родов при гестозе / Г.В. Братчикова. – М.: Издательский центр «РУДН», 2004. – 237 с.
40. Радзинский, В. Е. Плацентарная недостаточность при гестозе / И. М. Ордянец // Акушерство и гинекология. – 1999. – № 1. – С.11-16.
41. Радзинский, В. Е. Биохимия плацентарной недостаточности / П. Я.Смалько. – М.: Издательский центр «Российского университета дружбы народов», 2001. – 276 с.
42. Савельева, Г. М. Плацентарная недостаточность / М. В. Федорова, П. А.Клименко, Л. Г. Сичинава – М.: Издательский центр «Медицина», 1991. – 272 с.
43. Савельева, Г. М. Принципы профилактики и лечения ОПГ-гестозов / Р. И.Шалина, Г. Д. Дживелегова, А. З.Кашежева, Д.С. Гандур // Акушерство и гинекология. – 1992. – № 3-7. – С.14-17.
44. Савельева, Г. М. Современные проблемы этиологии, патогенеза, терапии и профилактики гестозов / Р. И. Шалина // Акушерство и гинекология. – 1998. – № 5. – С. 6-9.
45. Салов, И. А. Закономерности развития системных обменных нарушений при гестозе / Н. П. Чеснокова, Т. Н. Глухова // Акушерство и гинекология. – 2004. – № 3. – С.4-6.

46. Сидельникова, В. М. Актуальные проблемы невынашивания беременности / Г. Т. Сухих. – М.: Издательский центр «Москва», 1999. – 138 с.
47. Трубникова, Л. И. Структурные компоненты биологических жидкостей у беременных с гестозом / С. Н. Шатохина, Т. В. Кузнецова, Ф. А. Измайлова, В. Д. Таджиева // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 2. – С. 35-39.
48. Тютюнник, В. Л. Морфофункциональное состояние системы мать—плацента—плод при плацентарной недостаточности и инфекции / В.А. Бурлев, З. С. Зайдиева // Акушерство и гинекология. – 2003. – № 6. – С. 11-16.
49. Федорова, М. В. Плацентарная недостаточность / М. В. Федорова // Акушерство и гинекология. – 1997. – № 6. – С. 40-43.
50. Федорова, М. В. Плацента и ее роль при беременности / Е. П. Калашникова. – М.: Издательский центр «Медицина», 1986. – 256 с.
51. Хейфец, С. Н. Состояние калликреин-кининовой системы крови при гестозе / Т. Л. Дуда, В. Н. Курасов // Акушерство и гинекология. – 1989. – № 5. – С. 31-33.
52. Шалина, Р. И. Мембранные нарушения в патогенезе ОПГ-гестозов / Р. И. Шалина // Акушерство и гинекология. – 1997. – № 1. – С. 36-43.
53. Шаповаленко, С. А. Комплексная диагностика и лечение плацентарной недостаточности у беременных на разных стадиях гестации / С. А. Шаповаленко // Вестник Российской ассоциации акушеров–гинекологов. – 2001. – № 2. – С. 43-47.
54. Шехтман, М. М. Железодефицитная анемия и беременность / М.М. Шехтман // Гинекология. – 2000. – № 6. – С. 164-170.
55. Шмагель, К. В. Плацентарный лактоген: функции, клиническое значение / В. А. Черешнев // Акушерство и гинекология. – 2003. – № 3. – С. 9-12.

56. Al-Hameri, M. A. Proteolytic activity of placenta with EPH-gestosis determined by casein and azocasein / M. Chlabicz, M. Gacko // *Ginekol Pol.* – 2001. – Vol. 72, № 6. – P. 478-482.
57. Ahmed, I. Processing of Procorticotropin-Releasing Hormone (Pro-CRH): Molecular Forms of CRH in Normal and Preeclamptic Pregnancy / B. P. Glynn, A. V. Perkins, M. G. Castro, J. Rowe, E. Morrison, E. A. Linton // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2000. – Vol. 85. – № 2. – P. 755-764.
58. Eipper, B. A. Expression of prohormone processing enzymes in neuroendocrine and non-neuroendocrine cells / C. B. Green, R. E. Mains // *Monogr. Natl. Cancer. Inst.* – 1992. - № 13. – P. 163-168.
59. Emanuel, R. L. Corticotrophin releasing hormone levels in human plasma and amniotic fluid during gestation / B. G. Robinson, E. W. Seely, S. W. Graves, I. Kohane, D. Saltzman, R. Barbieri, J. A. Majzoub // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 1994. – Vol. 40. – P. 257-262.
60. Erdos, E. G. The angiotensin-I-converting enzyme / R. A. Skidgel // *Lab. Invest.* – 1987. – Vol. 56. – P.345-348.
61. Evans, P. Characterisation of cathepsin B and collagenolytic cathepsin from human placenta / D. J. Etherington // *Eur J Biochem.* – 1978. – Vol. 83. – P. 87-97.
62. Facchinetti, F. Changes in beta-endorphin in fetal membranes and placenta in normal and pathological pregnancies / G. Garuti, F. Petraglia, F. Mercantini, A. R. Genazzani // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 1990. – Vol. 69. – P. 603-607.
63. Fadalti, M. Placental corticotropin-releasing factor. An update /I. Pezzani, L. Cobellis, F Springolo, M. M. Petrovec, G. Ambrosini, F. M. Reis, F. Petraglia // *Ann N Y Acad Sci.* – 2000. – Vol. 900. – P. 89-94.
64. Florio, P. Inhibins and activins in pregnancy / S. Luisi, P. Ciarmela, F. M. Severi, C. Bocchi, F. Petraglia // *Mol Cell Endocrinol.* – 2004. – Vol. 225. – P. 93-100.
65. Florio, P. The measurement of maternal plasma corticotropin-releasing factor (CRF) and CRF-binding protein improves the early prediction of preeclampsia /

- A. Imperatore, F. Sanseverino, M. Torricelli, F. M. Reis, P. J. Lowry, F. Petraglia // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2004. – Vol. 89. – P. 4673-4677.
66. Fricker, L. D. Enkephalin convertase: potent, selective and irreversible inhibitors / T. H. Plummer, S. H. Snyder // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* – 1983. – Vol. 11. – P. 994-1000.
67. Hanssens, M. Angiotensin II levels in hypertensive and normotensive pregnancies / M. J. Keirse, B. Spitz, F. A. van Assche // *Br J Obstet Gynaecol.* – 1991. – Vol. 98. – P. 155-161.
68. Hariyama, Y. Placental aminopeptidase A as a possible barrier of angiotensin II between mother and fetus / A. Itakura, M. Okamura, M. Ito, Y. Murata, T. Nagasaka, H. Nakazato, S. Mizutani // *Placenta.* – 2000. – Vol. 21. – P. 621-627.
69. Jojovic, M. Epidermal growth factor, vascular endothelial growth factor and progesterone promote placental development in rat whole-embryo culture / F. Wolf, U. Mangold // *Anat Embryol (Berl).* – 1998. – Vol. 198. – P. 133–139.
70. de Jong, C.L. The renin-angiotensin-aldosterone system in preeclampsia. A review / G. A. Dekker, B. M. Sibai // *Clin Perinatol.* – 1991. – Vol. 18. – P. 683-711.
71. Grechura, M. Changes in central nervous system during preeclampsia / G. Opala // *Wiad Lek.* – 2005. – Vol. 58. – P. 433-446.
72. Ivanchenko, S. A. The biochemical mechanisms of the metabolic disorders in gestosis/ S. A. Ivanchenko // *Lik Sprava.* –1999. –Vol. 30. – P. 19-21.
73. Iwase, A. Characterization of a secretase activity for placental leucine aminopeptidase / S. Nomura, S. Mizutani // *Arch Biochem Biophys.* – 2001. – Vol. 393. – P. 163-169.
74. Iwashita, M. Gonadotropin-releasing hormone increases serum human chorionic gonadotropin in pregnant women / Y. Kudo, Y. Shinozaki, Y. Takeda // *Endocr J.* – 1993. – Vol. 40. – P. 539-544.
75. Kingdom, J. C. McQueen J., Connell J.M., Whittle M.J. Fetal angiotensin II levels and vascular (type I) angiotensin receptors in pregnancies complicated by

- intrauterine growth retardation / J. McQueen, J. M. Connell, M. J. Whittle // Br J Obstet Gynaecol. – 1993. – Vol. 100. – P. 476-482.
76. Kregge, J. H. A proposed relationship between vasopressinase altered vasopressin and preeclampsia / V. L. Katz // Med Hypotheses. – 1990. – Vol. 31. – P. 283-287.
77. Kreze, A Jr. Primary aldosteronism caused by aldosterone-producing adenoma in pregnancy – complicated by EPH gestosis/ P. Kothaj, M. Dodakova, S. Rohon // Wien Klin Wochenschr. –1999. – Vol. 55. – P. 855-867.
78. Lowry, O. H. Rosebrought N.J., Farr A.G., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent / N. J. Rosebrought, A. G. Farr, R. J. Randall // J Biol. Chem. –1951. –Vol. 193. – P. 256-275.
79. Makatsariia, A. D. Thrombophilia and fetal loss syndrome / MG. Genievskaia //Vestn Ross Akad Med Nauk. – 2001. – Vol. 25. – P. 35-40.
80. Makrigiannakis, A. Uterine and embryonic trophoblast CRH promotes implantation and maintenance of early pregnancy / E. Zoumakis, S. Kalantaridou, G. Chrousos, A. Gravanis // Ann N Y Acad Sci. – 2003. – Vol. 97. – P. 85-92.
81. Michalski, U. A rare differential diagnosis a pregnancy gestosis/ W. Bauer, R. Gojowczyk, C. Lochle, E. Pross // Dtsch Med Wochenschr. – 1999. – Vol. 86. – P. 164-172.
82. Reznik, S. E. Immunohistochemical, localization of carboxypeptidases E and D in the human placenta and umbilical cord / C. M. Salafia, J. M. Lage, L. D. Fricker // Histochem. Cytochem. – 1998. – Vol. 46. – P. 1359-1368.
83. Salafia, C. M. Placental pathology of fetal growth restriction. / C. M. Salafia // Clin.Obstet. Gynecol. – 1997. – Vol. 40. – P. 740–755.

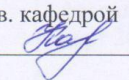
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки
06.03.01 Биология
Профиль подготовки «Биохимия»

Утверждаю:
Зав. кафедрой  Г.А. Карпова
« 23 » 01 2018 г.

Задание

По ВКР студента Закривидорога Надежда Александровна

Тема работы: «Состояние пептидергической системы при поздних гестозах».

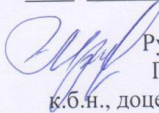
Утверждена приказом по Университету от « 04 » 04 2018 г. № 276/0

Срок сдачи студентом законченной работы « 25 » мая 2018 г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

№ п/п	Перечень подлежащих разработке вопросов:	Сроки выполнения этапов	Примечания
1.	Собеседование с научным руководителем, обсуждение темы и структуры ВКР, формулировка цели, задач	январь 2018	<i>Выполнено</i>
2.	Поиск научной, справочной литературы по теме ВКР, анализ современных научных достижений в области исследования по теме ВКР	январь 2018	<i>Выполнено</i>
3.	Составление библиографического списка изученной литературы	январь 2018	<i>Выполнено</i>
4.	Поиск и изучение методов исследования в рамках ВКР	февраль - март 2018	<i>Выполнено</i>
5.	Подготовка главы «Обзор литературы»	февраль - март 2018	<i>Выполнено</i>
6.	Подготовка главы «Материалы и методы исследования»	февраль - март 2018	<i>Выполнено</i>
7.	Составление плана проведения эксперимента, подготовка к выполнению эксперимента	март - апрель 2018	<i>Выполнено</i>
8.	Проведения исследований метода определения активности карбоксипептидазыЕ, ФМСФ-ингибируемой карбоксипептидазы, определения активности катепсина D	март-апрель 2018	<i>Выполнено</i>
9.	Исследование активность КПЕ в клетках плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности с ОПГ-гестозом, ФМСФ-КП в плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности с ОПГ-гестозом, катепсина D в плацентарной ткани при физиологической и патологической беременности	февраль-май 2018	<i>Выполнено</i>
10.	Обработка и анализ полученных результатов эксперимента. Собеседование с научным руководителем	февраль-май 2018	<i>Выполнено</i>
11.	Оформление результатов исследования в виде таблиц, диаграмм, графиков	февраль-май 2018	<i>Выполнено</i>
12.	Подготовка главы «Результаты исследования и их обсуждение»	май 2018	<i>Выполнено</i>
13.	Итоговое оформление ВКР	май 2018	<i>Выполнено</i>
14.	Подготовка презентации на защиту ВКР, подготовка к защите ВКР	июнь 2018	<i>Выполнено</i>

Дата выдачи задания «23» 01 2018 г.


Руководитель
Гамзин С.С.,
к.б.н., доцент кафедры
«Общая биология и биохимия»

Задание принял к исполнению
Закривидорога Н.А.

