ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ (ПЩФ) ЧЕЛОВЕКА В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ МАЛИГНИЗАЦИИ

Сухарев А.Е., Беда Н.А., Ермолаева Т.Н., Воронина О.Ю.

Астраханское региональное общественное учреждение гуманитарных проблем «ГРАНТ»

Астрахань, Россия (Научный проект № 07-06-00617а поддержан грантом РГНФ)

Иммунохимическими, энзимохимическими и иммуногистохимическими методами с помощью кроличьей моноспецифической антисыворотки к термостабильной ПЩФ определяли изоферменты щелочной фосфатазы (ЩФ) в 712 образцах сывороток крови, водно-солевых и бутаноловых экстрактов, а также - срезов тканей фетальных, дефинитивных и малигнизированных органов человека в различные периоды онтогенеза.

По данным литературы, ПЩФ является изоэнзимом с аллельным полиморфизмом, кодирующимся локусами, которые имеют 3 общих аллеля и более 15 редких. Различают 6 общих фенотипов ПЩФ S, FS, F, I, SI и FI согласно их изоэлектрической подвижности в крахмальном геле (S - медленная, F- быстрая и I - промежуточная). Более 50 фенотипических вариантов ПЩФ выявляется с помощью моноклональных антител при изучении популяционных отличий. Гибридные энзимы, возникающие вследствие случайной комбинации мономеров, сходны по физико-химическим и антигенным характеристикам, но имеют различия в активности, изоэлектрических точках и термостабильности.

В раннем онтогенезе (до 10-й недели беременности) происходит сдвиг в развитии, при котором за ранней экспрессией в плаценте ЩФ печёночного типа на 10-13 неделях следует индукция и последующее увеличение уровня ЩФ плацентарного типа. Под влиянием эстрогенов ПЩФ синтезируется в плацентарном синцитиотрофобласте и поступает в кровоток матери после 12 недель беременности в количестве от 1,0 до 400,0 Ед/л. Вероятно, печёночная ЩФ является филогенетически более древней, а ПЩФ - более поздним продуктом эволюции, т.к. встречается только у высших животных (некоторые приматы и человек). По мнению авторов, определение термостабильной ПЩФ может быть рекомендовано в качестве простого теста для определения плацентарной недостаточности.

Большое сходство с ПЩФ имеет термолабильная тонкокишечная ЩФ (ТКЩФ) человека. Предполагают, что кишечный ген появился на более ранней стадии эволюции, а ген ПЩФ развился из кишечного гена путём дупликации и последующих мутаций.

По нашим данным, наибольшее количество ПЩФ экстрагируется бутанолом из мембранных фрагментов плаценты после водной экстракции на трис-глициновом буфере pH 8,6; соответственно, 2048 и 512 Ед/л. Гистохимически высокая активность ЩФ отмечается в эндотелии сосудов, синцитиотрофобласте плаценты. Методом встречного иммуноэлектрофореза (ВИЭФ) ПЩФ выявляется в водных и бутаноловых экстрактах 73%

образцов фетальной лёгочной ткани с 26 недель внутриутробного развития в количестве 4-8 Ед/л. К моменту рождения частота обнаружения этого антигена снижается до 30% (2-4 ЕД/л), а в дефинитивной ткани лёгких он не определяется. Небольшие количества ПЩФ (1-2 Ед/л) определяются в бутаноловых (но не водных) экстрактах других фетальных органов и на срезах тканей: печень, почки, кишечник, эндотелий сосудов костей. В сыворотках крови плодов ПЩФ не обнаруживается, что делает допустимым предположение о внеплацентарной её продукции в лёгочной ткани и других органах плода. Мы выявили ПЩФ в 8% образцов сывороток крови женщин первых двух месяцев беременности в количестве 1 - 8 Ед/л, когда плацента ещё не сформирована, а также волнообразное повышение уровня от 8 до 32 ЕД/л в динамике у 100% родильниц в течение двух недель послеродового периода, когда плаценты уже нет, что также указывает на возможность её экстраплацентарного происхождения в организме матери. Увеличение уровня ПЩФ до 32 Ед/л в сыворотке крови беременных отмечается с завершением процесса плацентации и началом периода интенсивного развития головного мозга, роста и дифференцировки органов плода (4 - 5 мес.).

У здоровых небеременных женщин ПЩФ в кровотоке, а также в экстрактах и срезах тканей дефинитивных органов нашими методами мы не выявили (контроль). Однако с помощью иммуноферментного анализа ПЩФ обнаруживается в «следовых» количествах (от 0,03 до 0,7 Ед/л) у здоровых доноров обоего пола (литературные данные), что также свидетельствует о существовании внеплацентарного источника ПЩФ в норме.

Для поздних этапов онтогенеза (пожилой возраст) характерно появление злокачественных новообразований. При этом изоэнзимы ПЩФ и ТКЩФ обнаруживаются в 61,5 – 70% случаев в малигнизированных (в том числе – околоопухолевых) тканях при раке легкого и других органов у женщин и мужчин (антигенная реверсия) и определяются методом ВИЭФ в количестве 1- 32 ЕД/л в сыворотках крови у 132 из 351 (37,6%) онкологических больных. Концентрация ПЩФ в экстрактах тканей низкодифференцированных раковых опухолей в 8 раз выше, по сравнению с высокодифференцированными карциномами, а в сыворотках крови количество изоферментов находится в прямой корреляции со стадией рака и ассоциируется с метастатическим или реактивным поражением печени (прогностическое значение).

Таким образом, в системе «мать-плод» имеет место физиологическое повышение плацентарной и внеплацентарной ПЩФ, а система «организм – опухоль больного», может рассматриваться как патологическая модель внеплацентарной (опухолевой и паранеопластической) продукции ПЩФ, вероятно, с эстрогенной регуляцией её синтеза. Полученные результаты могут быть использованы при коррекции теоретических подходов к химио-гормонотерапии ПЩФ - содержащих злокачественных опухолей.

РЕГИСТРАЦИОННАЯ ФОРМА

(срок предоставления – до 5 октября 2007 г.)

Фамилия, имя, отчество (полностью)	Сухарев Александр Евгеньевич
Ученая степень, ученое звание	д.м.н., с.н.с., профессор РАЕ
Учреждение, должность	ГКБ № 4, г. Астрахань, хирург-онколог
Адрес (с индексом)	414004, г. Астрахань, а/я 78
E-mail	anbeda@mail.ru
Название доклада	ИММУНОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ (ПЩФ) ЧЕЛОВЕКА В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ МАЛИГНИЗАЦИИ
Название конференции	ВЗЭНК: ФИЗИОЛОГИЯ ОНТОГЕНЕЗА
Оплата целевого взноса участника конференции (сумма, номер платежного документа, дата оплаты)	660 (шестьсот шестьдесят) руб. за две стр., чек-ордер от 27.09. 2007 г.

ЧЕК-ОРДЕР

Филиал N 8625/0170
Астраханское отделение · 8625 Сбербанка

Операция 0000000000012226996
Дата 27.09.2007 10:59:53.223
Оператор 10772
Сумма 660.00
Комиссия 19.80
Итого 679.80
Шестьсот семьдесят девять рублей 80 коп.

Абонент 00094625
Беда Наталья Александровна
Адрес г.Астрахань, ул Николая
Островского д.160 кв.45

Получатель ООО "Издательский дом
"Академия Естествознания"
ИНН 5836621480
Счет 40702810500001022115
ОАО "ИМПЭКСБАНК", МОСКВА
БИК 044525788
Кор.счет 30101810400000000788
Вид платежа Организационный взнос
участника конференции. НДС не облагается
за публикацию
тезисов А.Е. Сухарева
и соавт.

Сертификат чека AHFHNKFO

Плательщик 00094625
Беда Наталья Александровна

Подпись работника банка _____