

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

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 кровотоки 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 термолabile 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 иммуоэлектрофореза (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 иммуоферментного 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 лёгкого 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.

Научный проект № 07-06-00617а поддержан грантом РГНФ.