

УДК 612.015.1+616.153.96: 618.2+616-006

ПЛАЦЕНТАРНАЯ ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА – МАРКЕР ЭМБРИОНАЛЬНЫХ И МАЛИГНИЗИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ

Сухарев А.Е., Булах Н.А., Ахушкова Л.М.

АРОУ по содействию научным исследованиям «ГРАНТ»,

Астраханская государственная медицинская академия, Астрахань,

e-mail: alexandr.suharev2010@yandex.ru

(Научные проекты № 10-06-00621а, № 09-06-00933а, поддержанные грантами РГНФ)

Плацентарную щелочную фосфатазу (ПЩФ) относят к белкам, ассоциированным с беременностью и опухолевым ростом. ПЩФ образуется в плаценте и фетальных тканях, в крови беременных женщин выявляется с 10–14 недель в количестве от 1,0 до 40,0 Ед/л, сохраняясь в кровотоке после родов в течение 10–14 дней.

ПЩФ является маркером герминогенных опухолей, обнаруживается в биологических жидкостях, эпителиальных клетках, фибробластах стромы и эндотелии новообразующихся сосудов опухолевой ткани при раке лёгкого и других органов, что следует учитывать при назначении лечения.

Ключевые слова: плацентарная щелочная фосфатаза, беременность, эмбриогенез, малигнизация, диагностическое значение

Плацентарную щелочную фосфатазу (ПЩФ), источником которой в организме матери является плацента [12], относят к белкам, ассоциированным с беременностью и опухолевым ростом [1, 13, 15, 31, 36]. ПЩФ генетически полиморфна и, в отличие от других типов щелочной фосфатазы, выдерживает нагревание до 65 °С в течение 10–15 минут и ингибируется в высокой степени L-фенилаланином и незначительно – L-гомоаргинином, но не L-лейцином, мочевиной и ЭДТА [13, 16, 18, 19]. Обычно ПЩФ синтезируется в плацентарном синцитиотрофобласте и поступает в кровоток матери после 12 недель беременности в количестве от 1,0 до 40,0 Ед/л. 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 [15, 18, 31]. Три общих аллеля ответственны за 97,5% плацентарных фенотипов, в связи с чем, частота редких аллелей достигает 2,5%. Это приводит к появлению редких гибридных фенотипов. Так, при исследовании 5000 плацент разных рас людей выявлено 48 фенотипов ПЩФ [1, 9, 22]. Ещё боль-

шее многообразие вариантов ПЩФ может быть выявлено с помощью моноклональных антител [14, 24]. Исследование ДНК и энзимного полиморфизма ПЩФ используется при изучении популяционных отличий [9, 22, 24, 31].

В онтогенезе экспрессия ЩФ регулируется таким образом, что до 10-й недели беременности в плаценте присутствует ЩФ, похожая по свойствам на печеночную ЩФ взрослого человека, на 10-13 неделях удаётся обнаружить плацентарный изоэнзим, а к 14 неделям этот фермент обеспечивает полную активность ЩФ плаценты, причём синтез его стимулируется эстрогенами [1, 11, 16, 26]. Вероятно, печёночная ЩФ является филогенетически более древней, а плацентарная ЩФ – более поздним продуктом эволюции, т.к. встречается только у некоторых приматов и человека [6, 31].

Промежуточное положение занимает схожая с ПЩФ по аминокислотному составу, антигенным свойствам и чувствительностью к L-фенилаланину, но менее термостабильная тонкокишечная ЩФ (ТКЩФ) человека. Обнаружены гибриды ПЩФ-ТКЩФ [11, 15, 24].

В наших исследованиях методом встречного иммуноэлектрофореза (ВИЭФ), с использованием моноспецифической кроличьей антисыворотки к ПЩФ и последующим гистохимическим окрашиванием агаровых пластинок на щелочную фосфатазу, ПЩФ определяется как в водно-солевых экстрактах на трис-глициновом буфере рН 8,6 (титр 1:512), так и бутаноловых экстрактах плаценты. При этом наибольшее количество фермента экстрагируется бутанолом из её мембранных фрагментов (титр 1:2048). Это также свидетельствует о существовании секретируемой и мембраносвязанной форм ПЩФ [1, 5, 6, 7, 33, 34]. Секретируемая ПЩФ выявляется в водно-солевых экстрактах фетальной лёгочной ткани с 26 недель внутриутробного развития плода человека в 72,7% случаев в титре 1/4–1/8 (4-8 ЕД). К моменту рождения частота обнаружения этого антигена снижается до 30% (титр 1/2–1/4 или 2-4 ЕД). Мембраносвязанная ПЩФ обнаруживается в бутаноловых экстрактах эмбриональных органов человека: в лёгких печени, почках, ЖКТ. Кроме того, кроличья антисыворотка, полученная к бутаноловым экстрактам из мембранной фракции фетального лёгкого, даёт реакцию полной идентичности с антисывороткой к ПЩФ [6], что является ещё одним доказательством продукции ПЩФ в эмбриональной легочной ткани. Высокая активность ПЩФ выявляется также иммуногистохимическим методом в зоне активного новообразования костной ткани эмбрионов человека: зона роста, периостальный слой и эндотелий новообразующихся сосудов и гаверсовых каналов [7, 34].

В сыворотке крови и органах здоровых взрослых людей методом ВИЭФ ПЩФ не идентифицируется [6, 8], однако, минорные количества ПЩФ определяются в сыворотке крови более чувствительными иммуноферментными и иммунорадиологическими методами, как у здоровых беременных женщин, так и у мужчин, значительно повышаясь при патологии [3, 10, 16, 17, 27, 31, 34].

ПЩФ синтезируется в течение всей беременности, однако её физиологическая роль неясна [2, 7, 20, 21, 26, 31, 36]. По данным Onwuameze I.C. et al, (метод иммуноферментного анализа) у 47 небеременных средняя концентрация ПЩФ равна $0,79 \pm 1,54$ МЕ/л и в первые 8 недель беременности (98 женщин) достоверных отличий не отмечено ($0,98 \pm 1,28$ МЕ/л). В процессе развития беременности уровень ПЩФ нарастает и её определение может быть рекомендовано в качестве простого теста для определения плацентарной недостаточности [2, 26]. В отдельных случаях количество ПЩФ в сыворотке крови здоровых беременных может превышать нормальный уровень в 10–25 раз [36]. Снижение уровня ПЩФ в крови беременных отмечено при гестозах, нарушении кальций-фосфор-магниевого гомеостаза, угрозе прерывания беременности [1, 2, 5, 19], а повышение – при диабете беременных [37].

Мы выявили ПЩФ в сыворотке крови у 6,4% беременных женщин на 3–4 неделях беременности (метод ВИЭФ). К моменту родов (10 месяцев) у всех женщин (100%) в сыворотке крови ПЩФ присутствует в количестве 8–16 ЕД Боданского (до 20–32 ЕД – в отдельных случаях). При этом выявляются, как правило, обе изоформы ПЩФ – F и S. Диапазон титра колеблется от 4 до 8 ЕД в 88% случаев, что определено нами как количество ПЩФ, необходимое для нормального протекания беременности. К моменту родов количество ПЩФ увеличивается в большинстве случаев в 2 раза (титр до 16–32 ЕД), что также, вероятно, является показателем компенсированного гомеостаза в системе «мать-плод» [1, 5, 6, 7].

Мы впервые обнаружили ПЩФ в крови родильниц, где она определяется в титре 1/8–1/32 до момента выписки из стационара (8-14 дней). При изучении сывороток крови 26 женщин в более отдаленные сроки постнатального периода (через месяц после родов и более) методом ВИЭФ мы не выявили в них ПЩФ [1].

Таким образом, функция ПЩФ в организме матери представляется неоднозначной. Видимо, этот фермент, участвуя в дефосфорилировании различных соединений, является активным ключевым ферментом многих метаболических процессов в быстрорастущих тканях матери и плода, для обеспечения которых обычных гидролаз было бы недостаточно [9, 19, 20, 21, 26, 29, 33]. Кроме того, ПЩФ принимает участие в активации факторов роста и, возможно, сама обладает такими свойствами [30]. Есть также указания на то, что ПЩФ может играть роль активатора плазминогена, что очень важно для регуляции системы гемостаза беременных и рожениц, у которых, как правило, отмечается гиперкоагуляция [7]. В физиологических условиях ПЩФ, наряду с ХГЧ, плацентарным лактогеном, специфическим бета-гликопротеином беременных и антигеном KI – 67, относят к маркерам дифференцировки трофобласта [23, 25, 28]. Как отмечают Losh A. et Kainz C. [23] клиническое распознавание различий между полным и частичным пузырным заносом (complete hydatidiform mole and partial hydatidiform mole) позволяет прогнозировать повторное развитие беременности, малигнизацию или метастазирование трофобластической болезни беременных. Solehnia M. et al. не опровергают это положение, обнаружив снижение активности ПЩФ в ткани плаценты и сыворотке крови женщин с полным пузырным заносом [28]. ПЩФ может способствовать развитию плода, также как и росту раковых клеток, которые экспрессируют онкоген Ras [24, 30].

Интерес к ПЩФ в онкологии возник после того, как Fishman W. в 1968 г. обнаружил в ткани аденокарциномы лёгкого, плевральном экссудате и сыворотке больного раком лёгкого термостабильную щелочную фосфатазу, иммунохимически идентичную плацентарной, которую он назвал по имени больного «изоэнзим Регана» [16].

С тех пор обнаружено, что злокачественные опухоли могут продуцировать и другие варианты ПЩФ. Отмечена продукция опу-

холевыми тканями раннего плацентарного изоэнзима («не Регана»), характерного для плаценты первых 6 – 10 недель беременности [31], «изоэнзима Нагао» а также тонкокишечного варианта ЩФ («Казахара»), дающим перекрёстную реакцию преципитации с антисывороткой к ПЩФ [15]. Этот изофермент ингибируется L-фенилаланином, L-гомоаргинином, устойчив к нагреванию при 56 °С, но не к 65 °С и обнаруживается в сыворотке крови больных гепатомой, почечно-клеточным раком, семиномой и раком поджелудочной железы [11, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 26, 33, 35].

При заболеваниях печени (гепатит, цирроз) возрастает количество кишечного изофермента ЩФ, дающего перекрёстную иммунохимическую реакцию с плацентарной ЩФ [6, 8, 15, 18]. При злокачественных опухолях печени в крови определяются печёночная и плацентарная ЩФ [8, 16, 18, 24, 31, 32]. По нашим данным, изоэнзимы ПЩФ обнаруживаются в опухолевой, околоопухолевой легочной ткани и коже больных раком легких иммуногистохимическими методами в 61–70% случаев, что ассоциируется с существованием в клинической картине рака паранеопластических синдромов. При этом, количество активного изоэнзима в 8 раз выше в тканях низкодифференцированного или недифференцированного рака легкого, по сравнению с высокодифференцированным, что может быть использовано в иммуноморфологической характеристике этого заболевания [6, 34]. Появление ПЩФ и ПШФ-подобных изоэнзимов в сыворотке крови мы регистрировали методом ВИЭФ в количестве 1–8 ЕД у 52,7% больных с 3 и 4 стадиями рака легкого и лишь в 5,3% случаев – при 1 и 2 стадии, что может служить дополнительным диагностическим и прогностическим признаком [1, 6]. Кроме того, ПЩФ считается маркером герминогенных опухолей и обнаружение её при раке легкого и других локализациях, на наш взгляд, следует учитывать при разработке схем химио-гормонотерапии [4, 10, 27, 35].

Изоэнзимам ПЩФ, как опухолевым маркерам, посвящено большое число публикаций, в том числе, фундаментальных обзоров и монографий [16, 24, 31]. Согласно гипотезе, объясняющей синтез неопластической клеткой белков, не свойственных данному типу клеток в норме, этот процесс является следствием депрессии генома, сопровождающего неопластическую трансформацию [16, 24, 31]. Установлено, что ПЩФ обнаруживается в злокачественных опухолях гортани, пищевода, желудка, толстой кишки, печени, простаты, яичек и яичников. При этом ПЩФ является маркером определённых клеток трофобласта, желточного мешка и зародышевых клеток, которые, при возникновении из них опухолевых линий, продуцируют значительные количества этого энзима, что может быть использовано в уточняющей диагностике, контроле лечения и мониторинге заболевания [4, 6, 10, 24, 25, 28].

Список литературы

1. Беда Н.А. Плацентарная щелочная фосфатаза и острофазовые белки в иммунохимической оценке течения беременности и некоторой онкопатологии: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. – С. 9–27.
2. Бурлев В.А., Зайдиева З.С., Тютюник В.Л., Лапшина И.И. Клинико-диагностическое значение плацентарной щелочной фосфатазы у беременных // Проблемы репродукции. – 2000. – №5. – URL: 7. <http://rusmedserv.com/article/articleprint/335/-/1/47>.
3. Громышевская Л.Л., Тагьяноко Н.В., Радзевич И.М. и др. Изоферменты щелочной фосфатазы: клиническое и экспериментальное исследование при остром гепатите, циррозе, обтурационной желтухе // Успехи гепатологии / под ред. А.Ф. Блюгера. – Рига, 1980. – Вып. 8. – С. 145–164.
4. Мацко Д.Е., Иванцов А.О. Патологическая анатомия герминогенных опухолей // Практическая онкология. – 2006. – Т.7, №1. – С. 6–15.
5. Москаленко Н.П. Иммунохимическое исследование плацентарной щелочной фосфатазы у беременных женщин при поздних гестозах: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – С. 22–28.
6. Сухарев А.Е. Тканевые и сывороточные острофазовые белки в клинической оценке неспецифических заболеваний и рака легких: автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 1992. – 28 с.
7. Сухарев А.Е., Вайчулис Ю.В., Асфандияров Р.И., Л.Ф. Панченко и др. Плацентарная щелочная фосфатаза и острофазовые белки в клинико-лабораторной оценке факторов повышенного геморрагического риска в акушерстве: монография. – М.-Астрахань, 2006. – С. 44–67.
8. Сухарев А.Е., Яценко К.С., Богодух В.И., Вайчулис Ю.В. Определение изоэнзимов плацентарной щелочной фосфатазы методом встречного иммуноэлектрофореза в сыворотках крови больных гепатобилиарной патологией // Лабор. Дело. – 1987. – № 8. – С. 572–574.
9. Bekman G., Vennberg K., Bekman L. et al. Polymorphism of placental alkaline phosphatase on the level of DNA and protein in the Mordovian population // Genetika. – 1996. – Mar. Vol. 32, № 3. – P. 420–4.
10. Ben-Arie A., Hagay Z., Ben-Hur H. et al. Elevated serum alkaline phosphatase may enable early diagnosis of ovarian cancer // Eur.J.Obstet. Gynecol.Reprod.Biol. – 1999. – Vol. 86, № 1. – P. 69–71.
11. Bentouati L., Samadi M., Hachem H. et al. Hyperphosphatasemia related to three intestinal alkaline phosphatase isoforms: biochemical study // Clinica Chimica Acta. – 1990. – № 189. – P. 145–152.
12. Berger J., Micanovic R., Greenspan R.J., Udenfriend S. Conversion of placental alkaline phosphatase from a phosphatidylinositolglycan-anchored protein to an integral transmembrane protein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1989. – № 86. – P. 1457–1460.
13. De Broe M., Pollet D. Multicentr Evaluation of Human Placental Alkaline Phosphatase as a Possible Tumor-Associated Antigen in Serum // Clinical Chemistry. – 1988. – № 34. – P. 10-16.
14. De Voorde A., De Groote G., De Waele F. et al. Screening of sera and tumor extracts of cancer patients using monoclonal antibody directed against human placental alkaline phosphatase // Eur. J. Cancer Clin. Oncol. – 1985. – Vol. 21, № 1. – P. 65-71.
15. Endo T., Higashino K., Hada T. Et al. Structures of the Asparagine-linked Oligosaccharides of an Alkaline Phosphatase, Kasahara Isozyme, Purified from FL Amnion Cells // Cancer Resarch. – 1990. – № 50. – P. 1079-1084.
16. Fishman W.H., Singer R.W. Ectopic Isoenzymes. Expression of Embryonic Genes in Neoplasia // Cancer-Comprehensive Treatise. – London. – 1975. – Vol. 3, № 5. – P. 57-80.
17. Henley J.D.; Young R.H.; Wade C.L.; Ulbright T.M. Seminomas with exclusive intertubular growth: a report of 12 clinically and grossly inconspicuous tumors // Am-J-Surg-Pathol. – 2004. – Vol. 28, № 9. – P. 1163–8.

18. Higashino K., Kudo S., Yamamura Y. Further investigation of a variant of the placental alkaline phosphatase in human hepatic carcinoma // *Cancer Research*. – 1974. – Vol. 34, № 12. – P. 3347–3351.
19. Hung H.C., Chang G.G. Differentiation of the slow-binding mechanism for magnesium ion activation and zinc ion inhibition of human placental alkaline phosphatase // *Protein. Sci.* – 2001. – Jan. Vol. 10, № 1. – P. 34–45.
20. Iqbal S.I., Davies T., Holland S. et al. Alkaline phosphatase isoenzymes and Clinical features in hypophosphatasia // *Ann.Clin.Biochem.* – 2000. – № 37. – P. 775–80.
21. Kaneda T., Shiraki K., Hirano K., Nagata I. Detection of maternofetal transfusion by placental alkaline phosphatase levels // *J. Pediatr.* – 1997 – May. Vol. 130, № 5. – P. 730–5.
22. Kumari S.A., Kumar N.S., Chitra K.Y. Caste variation of two placental phosphatases // *Gene. Geogr.* – 1996. Vol.10, № 2. – P. 75–77.
23. Loch A., Kainz C. Immunohistochemistry in the diagnosis of the gestational trophoblastic disease // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* – 1996. – Sep. Vol.75, № 8. – P. 753–6.
24. Millan J. L. *Mammalian Alkaline Phosphatases*: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. – 2006. – P. 187–205.
25. Nayar R., Snell J., Silverberg S.G., Lage J.M. Placental site noduli occurring in a fallopian tube // *Hum. Pathol.* – 1996. – Nov. Vol. 27, № 11. – P. 1243–5.
26. Onwuameze I.C., Onwubere B.J., Ezeoke A.C. Serum heat-stable alkaline phosphatase activity in normal pregnancy // *East. Afr. Med. J.* – 1999. – Vol. 76, № 6. – P. 341–3.
27. Redkar S.L., Damle S.R. Placental alkaline phosphatase in patients with seminoma measured by ELISA as compared to RIA// *Indian.J.Cancer.* – 1997 – Jun. Vol. 34, № 2. – P. 73–6.
28. Salehnia M., Farzad T.R., Tachikhani M. et al. Alkaline phosphatase histochemistry and biochemistry in the diagnosis of complete hydatidiform mole // *Pathol.Oncol.Res.* – 2000. – Vol. 6, № 2. – P. 105–10.
29. Sembaj A., Carriazo C., Moreno Barral J. Placental alkaline phosphatase of high molecular weight in plasma of pregnant women in the last trimester of gestation // *Rev. Fac. Cien. Med. Univ. Nac. Cordoba.* – 2000. – Vol. 57, № 1. – P. 115–9.
30. She Q.B., Mukherjee J.J., Chung T., Kiss Z. Placental alkaline phosphatase, insulin and adenine nucleotides or adenosine synergistically promote long-term survival of serum-starved mouse embryo and human fetus fibroblasts // *Cell.Signal.* – 2000. – Vol. 12, № 9-10. – P. 659-65.
31. Stigbrand T., Millan J.L., Fishman W.H. The genetic basis of alkaline phosphatase isoenzyme expression // *Isozymes current topics in biological and medical research.* – New York, 1982. – Vol. 6. – P. 93–117.
32. Stinghen S.T.; Moura J.F.; Zancanella P., Rodrigues G.A.; Pianovski M.A.; Lalli E.; Arnold D.L.; Minozzo J.C.; Calfe L.G.; Ribeiro R.C.; Figueiredo B.C. Specific immunoassays for placental alkaline phosphatase as a tumor marker // *J-Biomed-Biotechnol.* – 2006. – № 5. – P. 560–87.
33. Sukharev A.E., Beda N.A., Mamaeva S.A., Vaichulis J.V. Immunochemical study of placental alkaline phosphatase (PLAP), lactoferrin (LF) and C-reactiv protein (CRP) in blood serum of pregnant and parturient women // *Biomarkers and environment. Cechtuma* – 2001. – Vol. 4, № 1-2. – P. 27.
34. Sukharev A., Asphandijarov R., Ermolajeva T., Beda N., et al. The detection of placental alkaline phosphatase (PLAP) in embrionic and malignant tissues // *J. of Bone and Mineral Metabolism.* – Vol. 19, suppl. 2001. – P. 68. (The Third Intern. Conf. On Cancer-induced Bone Diseases, nov. 16-18, 2001, Awaji, Japan).
35. Sung M.T., MacLennan G.T., Lopez-Beltran A., Zhang S., et al. Primary mediastinal seminoma... // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2008. –Jan. Vol. 32, № 1. – P. 146–55.
36. Vongthavaravat V., Nurnberger M.M., Balodimos N. et al. Isolated elevation of serum alkaline phosphatase level in an uncomplicated pregnancy a case report // *Am.J.Obstet.Gynecol.* – 2000. – Vol. 183, № 2. – P. 505–6.
37. Wojcicka-Bentyn J.; Czajkowski K.; Sienko J.; Grymowicz M.; Bros M. Extremely elevated activity of serum alkaline phosphatase in gestational diabetes: a case report // *Am-J-Obstet-Gynecol.* – 2004. – Feb. Vol. 190, № 2. – P. 566–7.

PLACENTAL ALKALINE PHOSPHATASE IS THE MARKER OF EMBRYONAL AND MALIGNANT TISSUES

Suharev A.E., Bulakh N.A., Akhushkova L.M.

*APOY on assistance scientific researches «GRANT»,
the Astrakhan state medical academy, Astrakhan,
e-mail: alexandr.suharev2010@yandex.ru*

Placenta and cancer tissues are source of placental alkaline phosphatase (PLAP) in blood sera of pregnant women and oncology patients accordingly. PLAP reveal on the placental and fetal tissues, and blood circulation from first two months of pregnancy, and kept in sera after delivery during 10-14 days from 1 to 40 MU, respectively.

The PLAP is the marker of germinal tumors on the biological fluid, epithelial cells, stromal fibroblasts and endothelium new-formed vessels of cancer tissues of the lung and other organs. That is notice for treatment.

**Keywords: placental alkaline phosphatase, pregnancy, embrygeny, malignancy,
diagnostic estimate**