

Заключение. Таким образом, постнатальная химическая десимпатизация приводит к стойкому и длительному дефициту симпатической иннервации, сопровождающемуся увеличением диаметра микрососудов. Качественные изменения стенки сосудов: неравномерное снижение активности щелочной фосфатазы в эндотелии, неравномерный контур сосудов, указывают на гибель части сосудов. В сохранившихся сосудах задерживается формирование многомерной ориентации сосудов, сохраняется преимущественно линейная ориентация, характерная для ранних сроков развития. Уменьшение расстояния между сосудистой стенкой и зоной нейромышечного синапса указывает на изменение уровня обменных реакций.

Список литературы

1. Говырин, В. А. Адаптационно-трофическая функция сосудистых нервов / В. А. Говырин // Развитие научного наследия академика Л.А. Орбели : сб. ст. / отв. ред. В. А. Говырин. – Л. : Наука, 1982. – С. 162–181.
2. Гомоюнова, С. Л. Изменение параметров нервных волокон в нерве и капилляров диафрагмы крыс при химической десимпатизации : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С. Л. Гомоюнова. – М., 1994. – 21 с.
3. Ковригина, Т. Р. Постнатальное развитие икроножной мышцы белой крысы при нарушении симпатической иннервации гуанетидином / Т. Р. Ковригина, В. И. Филимонов, В. В. Шилкин // Морфологические ведомости. – 2008. – № 1, 2. – С. 73–77.
4. Николаев, Г. М. Опыт определения активности ацетилхолинэстеразы в структурах периферической нервной системы / Г. М. Николаев, В. В. Шилкин // Проблемы морфогенеза периферических нервов : сб. науч. тр. ЯГМИ. – Ярославль : Изд-во ЯГМИ, 1983. – С. 64–72.
5. Пирс, Э. Гистохимия / Э. Пирс. – М. : Изд-во иностранной литературы, 1962. – 962 с.
6. Родионов, И. М. Иммунологическая и химическая десимпатизация / И. М. Родионов, В. Н. Ярыгин, А. А. Мухаммедов. – М. : Наука, 1988. – 149 с.
7. Румянцева, Т. А. Влияние химической денервации на нейроны экстра- и интрамуральных ганглиев в постнатальном онтогенезе белой крысы : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Т. А. Румянцева. – СПб., 2002. – 42 с.
8. Чучков, В. М. Системный многофакторный анализ реактивной перестройки микроциркуляторных модулей различных типов скелетных мышц млекопитающих в условиях нарушенного кровотока / В. М. Чучков, Г. П. Котельников, П. А. Гелашвили // Морфологические ведомости. – 2004. – № 3, 4. – С. 68–70.

Ковригина Татьяна Руфимовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры анатомии и физиологии человека, ФГБОУ ВПО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского», Россия, 150000, г. Ярославль, ул. Республиканская, д. 108, тел.: (4852) 30-55-22, e-mail: t-kovrigina@mail.ru.

Филимонов Владимир Иванович, доктор медицинских наук, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, ГБОУ ВПО Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 150000, г. Ярославль, ул. Революционная, д. 5, тел.: (4852) 30-35-52, e-mail : filbob@mail.ru.

УДК 612.015.1+616.153.96: 618.2+616-006

© А.В. Коханов, А.Е. Сухарев, И.С. Ямпольская, Ю.А. Кривенцев, О.А. Луцева, 2013

А.В. Коханов, А.Е. Сухарев, И.С. Ямпольская, Ю.А. Кривенцев, О.А. Луцева

ПЛАЦЕНТАРНАЯ ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА И НАУЧНОЕ НАСЛЕДИЕ ПРОФЕССОРА Р.И. АСФАНДИЯРОВА

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России

Одним из приоритетных направлений научной деятельности выдающегося ученого профессора Р.И. Асфандиярова являлись исследования термостабильной щелочной фосфатазы плацентарного типа. Проведен анализ работ ученого, посвященных изучению локализации этого фермента в эмбриональных, дефинитивных и опухоле-

вых тканях, гипотезам ученого о его биологической роли в остеогенезе и клиническому значению фермента.

Ключевые слова: остеогенез, плацентарная щелочная фосфатаза, энзимогистохимический, иммунофлюоресцентный и иммуноферментный анализ.

A.V. Kokhanov, A.E. Sukharev, I.S. Yampolskaya, Yu.A. Kriventsev, O.A. Lutseva

THE PLACENTAL ISOFORM OF ALKALINE PHOSPHATASE AND SCIENTIFIC HERITAGE OF PROFESSOR R.I. ASFANDIYAROV

One of the priority areas of scientific activity of the prominent scientist, Professor R.I. Asfandiyarov, was the study of placental alkaline phosphatase thermostable type. The analysis of scientific papers devoted to the study of localization of this enzyme in fetal, definitive and tumor tissues, scientific hypotheses about biological role in osteogenesis and clinical significance of this enzyme was made.

Key words: osteogenesis, placental alkaline phosphatase, enzymohistochemical and immunofluorescence analysis, enzyme immunoassay.

Введение. Безвременно ушедший из жизни выдающийся ученый, профессор Растям Измаилович Асфандияров внес неоценимый вклад в многочисленные направления морфологической науки. Выделим один из объектов пристального внимания исследователя, которому в последнее десятилетие он посвятил значительную долю своей научной деятельности. Речь идет о важнейшем ферменте энергетического обмена – термостабильной щелочной фосфатазе плацентарного типа, имеющей, по гипотезе профессора Р.И. Асфандиярова, важнейшее значение в злокачественном остеогенезе [1, 3]. Так как этот изофермент щелочной фосфатазы, секретируемый остеобластами, оказался иммунохимически идентичным ферменту, содержащемуся в плаценте, в научной литературе эта изоформа часто именуется плацентарной щелочной фосфатазой (ПЩФ) [1, 3].

ПЩФ вне зависимости от источника ее происхождения, в отличие от других типов щелочной фосфатазы, выдерживает нагревание до 65° С в течение 10–15 мин, в связи с чем имеет название термостабильная плацентарная щелочная фосфатаза (ТЩФ, ТПЩФ) [1, 2, 5].

Щелочные фосфатазы (ЩФ) являются Zn-содержащими гликопротеинами с серином в активном центре, гидролизующими различные фосфатные эфиры при щелочных значениях pH. Оптимум pH лежит в диапазоне pH 8,6–10,1, отсюда ЩФ получила свое название [1, 2, 3]. Молекулярные массы ЩФ колеблются от 100 до 200 кД, как правило, ЩФ активны в димерном состоянии или в виде более крупных комплексов [3].

В организме человека известны три основных типа ЩФ: два тканеспецифических – плацентарный и кишечный и один тканенеспецифический – щелочная фосфатаза почечно-печечно-костная [1, 3]. Эти три основных класса щелочных фосфатаз различаются между собой по ингибированию аминокислотами, мочевиной, этилендиаминтетраацетатом натрия (ЭДТА), устойчивостью к инактивации нагреванием до 56–65° С, электрофоретической подвижностью и антигенной структурой.

ЩФ широко распространены в тканях человека, особенно в слизистой оболочке кишечника, остеобластах, стенках желчных протоков печени, плаценте и лактирующей молочной железе. Определение активности ЩФ в крови издавна применяется в клинической лабораторной диагностике при различной патологии, в том числе при патологии костной ткани. Идея исследований в ортопедии и костной онкологии теста на ПЩФ принадлежит профессору Р.И. Асфандиярову [1].

Повышенный интерес к ПЩФ возник после того, как W. Fishman в 1968 г. [5] обнаружил в ткани аденокарциномы легкого, плевральном экссудате и сыворотке больного раком легкого термостабильную щелочную фосфатазу, иммунохимически идентичную плацентарной, которую он назвал по имени больного «изоэнзим Регана». Этот фермент был идентичен по свойствам ферменту, выделенному из плаценты: ингибировался L-фенилаланином и сохранял свою активность при pH 8,6–10,6 в присутствии L-лейцина, L-гомоаргинина, мочевины и ЭДТА, а также при нагревании до 65° С в течение 10 мин [5].

ПЩФ человека является димером с молекулярной массой около 120 кД и состоит из субъединиц молекулярной массой 58–64 кД [3]. Гибридные энзимы ПЩФ (S, FS, F, I, SI и FI) возникают вследствие случайной комбинации трех мономеров согласно их электрофоретической подвижности в крахмальном геле (S-медленный, F-быстрый и I-промежуточный). Все они сходны по физико-химическим и антигенным характеристикам, но отличаются по активности; изоэлектрическим точкам, термостабильности [3, 4, 5].

В 1970 г. T. Nakayama и M. Yoshida выявили в плевральной жидкости больного карциномато-

зом плевры термостабильную щелочную фосфатазу, иммунохимически идентичную плацентарной, но отличающуюся от изоэнзима Регана чувствительностью к L-лейцину и ЭДТА [3]. Этот изоэнзим ПЩФ получил название «изоэнзим Нагао» (тоже по имени больного) [3].

Отмечена продукция опухолевыми тканями тонкокишечного варианта ЩФ (изоэнзим Казаха-ра), дающего перекрестную реакцию преципитации с антисывороткой к ПЩФ [3]. 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 и раком поджелудочной железы [3].

По сравнению с другими типами фосфатазы ПЩФ – более филогенетически поздний продукт эволюции [1, 3], так как встречается только у высших животных (некоторые приматы и человек). Предполагают, что ген ПЩФ развился из тонкокишечной изоформы (ТКЩФ) путем дупликации и последующих мутаций [3]. По данным разных авторов, ТКЩФ имеет до 56 % идентичных аминокислот с ЩФ печеночного типа и 86,5–90,0 % – с ПЩФ. Обнаружены гибриды ПЩФ-ТКЩФ [3].

Цель: проанализировать научное наследие профессора Р.И. Асфандиярова, посвященное исследованию связи между локализацией, концентрацией и ферментативной активностью ПЩФ и оценке патогенетической роли и диагностического значения этого изофермента при различной патологии.

Материалы и методы исследования. В образцах ткани определяли локализацию и количество и активность ПЩФ параллельно двумя методами: иммунофлюоресцентного и энзимогистохимического анализа.

В экстрактах и гистологических срезах ПЩФ определяли с помощью моноспецифических антисывороток на ПЩФ, полученных в лабораториях ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» на кроликах в разные годы кандидатом медицинских наук М.А. Володиным, доктором медицинских наук А.Е. Сухаревым и доктором медицинских наук А.В. Кохановым. Тест-антиген представлен раствором ПЩФ, выделенной из плаценты методом водно-солевой и бутаноловой экстракции на трис-глициновом буфере (рН 8,6) и очищенной по методу Lehman [3, 4] или по авторским методикам вышеперечисленных исследователей.

Для обнаружения и локализации ПЩФ как антигена на криостатных срезах тканей использовали реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РИФ). В качестве первых антител к ПЩФ применяли авторские моноспецифические антисыворотки. В качестве вторых антител применяли коммерческие антитела против иммуноглобулина кролика, меченные флуоресцином изотиоцианатом (ФИТЦ), производства НИИ вакцин и сывороток им. Н.Ф. Гамалея. Препараты фиксировали метиловым спиртом, ацетоном или другим химическим фиксатором, входящим в состав диагностического набора. Поверхность фиксированного мазка сначала обрабатывали сывороткой против ПЩФ, а затем мечеными ФИТЦ антителами. Один этап отделяли от другого промывкой. Для уменьшения неспецифического свечения фона применяли обработку мазка бычьим сывороточным альбумином, меченным родамином или голубым Эванса. Учет результатов реакции осуществляли с помощью люминесцентного микроскопа. Оценивали характер свечения, форму, размер объектов и их взаимное расположение.

Для обнаружения и локализации ПЩФ по ферментативной активности использовали гистохимический метод инкубации с субстратом нафтолфосфатом – AS и окраски прочным синим BB с предварительным прогреванием препарата. Параллельно исследовали содержание ПЩФ в водно-солевых и бутаноловых экстрактах этих же образцов плаценты методом встречного иммуноэлектрофореза (ВИЭФ).

В экстрактах тканей и сыворотках крови ПЩФ выявляли методом встречного иммуноэлектрофореза (ВИЭФ) по Кону. Иммуноэлектрофореграммы отмывали в забуференном физиологическом растворе хлорида натрия и обрабатывали смесью нафтол-AS-фосфат и прочный синий PP [2, 3]. Линии преципитации, образованные антисывороткой и ПЩФ, окрашиваются в интенсивный синий цвет. Чувствительность ВИЭФ для ПЩФ равнялась 1 ЕД Боданского.

Результаты исследования и их обсуждение. Иммуноморфологические исследования с антисывороткой к ПЩФ методом непрямой иммунофлуоресценции подтвердили наличие ПЩФ в эмбриональной печени, почках, ЖКТ, легких, эпифизах длинных костей. Обнаружена высокая активность и содержание ПЩФ гистохимическим и иммуногистохимическим методами в зоне активного новообразования костной ткани (зона роста, периостальный слой и эндотелий новообразующихся сосудов и гаверсовых каналов) [1, 3]. Значительное увеличение количества ПЩФ в сыворотке/плазме крови наблюдается при росте костей, остеомалации и связано с высокой интенсивностью остеогенеза [1]. Следовательно, идентификация ПЩФ в тканях и биологических жидкостях может быть использована в уточняющей диагностике, контроле лечения и мониторинге злокачественных новообразований.

Большой почитатель иммуногистохимических методов исследования, профессор Р.И. Асфандияров, обладая уникальной тест-системой для иммунофлюоресцентного анализа ПЩФ и ее иммунохимических аналогов, продуцируемых остеобластами и другими клеточными линиями, продуктивно использовал появившуюся возможность. Он проводил сравнительное исследование локализации ПЩФ не только в эмбриональной, дефинитивной и опухолевой костной ткани, но и в других тканях. В частности, в плаценте [2, 3] им установлено, что высокая активность ПЩФ в здоровой доношенной плаценте отмечается в эндотелии сосудов и синцитиотрофобласте. Сравнительное энзимогистохимическое и иммуноморфологическое определение изоэнзимов щелочной фосфатазы в криостатных срезах доношенной плаценты показало достоверную взаимосвязь активности ПЩФ со степенью зрелости плаценты [2].

Профессором Р.И. Асфандияровым с соавторами обнаружена тесная корреляция в содержании ПЩФ, выявляемого в различных образцах плаценты методами ВИЭФ и иммунолюминисцентного анализа, но не энзимогистохимической техникой. Таким образом, обнаружены различия между содержанием и ферментативной активностью этого белка в ткани плаценты. Показано, что низкое содержание ПЩФ в плаценте выявляется как при ее недостаточности, так и при наличии других признаков неблагоприятного течения беременности и родов, выявляемых из медицинской документации (угроза прерывания беременности, гипоксия плода, задержка внутриутробного развития плода, много- и маловодие, неблагополучный акушерский анамнез предыдущих беременностей) [2, 3].

В последние годы, понимая важное диагностическое значение теста на ПЩФ при различных физиологических и патологических состояниях организма [2, 3], профессор Р.И. Асфандияров содействовал программе производства теста на этот белок для нужд практического здравоохранения [4]. Им установлено, что не существует взаимосвязи между активностью ЩФ и содержанием ПЩФ, в связи с чем неправильно ставить знак равенства между этими двумя анализами. В этой связи существовала необходимость разработки высокочувствительной тест-системы для индикации сывороточных уровней ПЩФ, которая была осуществлена в стенах нашей академии. Профессор Р.И. Асфандияров являлся не только соавтором, но и двигателем разработки нового высокочувствительного иммуноферментного теста для индикации и количественного определения сывороточных уровней плацентарной изоформы щелочной фосфатазы, открывающего новые горизонты в диагностике опухолей костной системы [4].

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) на ПЩФ достигнута чувствительность теста, которая составила 50 нг/мл. В сыворотке крови здоровых мужчин и женщин ПЩФ обнаруживался в минимальных количествах : от 100 до 1600 нг/мл или 0,06–1,85 ЕД/л. Этот уровень чувствительности теста позволяет выявлять различия в концентрациях ПЩФ не только в сыворотках беременных различного срока гестации, но и больных с онкопатологией опорно-двигательного аппарата.

Синтез основного фермента остеобластов – щелочной фосфатазы (ЩФ) считается одним из самых характерных свойств клеток остеобластической линии. Точно механизм действия щелочной фосфатазы не установлен. Однако, по мнению профессора Р.И. Асфандиярова, данный фермент отщепляет фосфатные группы от других протеинов, благодаря чему, увеличивается локальная концентрация фосфора и разрушается ингибитор минерализации – пирофосфат. Однако данный фермент имеет несколько изоформ (костную, печеночную, кишечную, плацентарную), влияющих на суммарную активность. Термолабильная костная изоформа ЩФ имеет высокую степень связи с характером минерализации кости и именно в этом аспекте исследуется в травматологии и ортопедии [4].

Относительно термостабильного фермента плацентарной изоформы (ПЩФ) профессор Р.И. Асфандияров высказывался о нем как о маркере не минерализации, а злокачественной трансформации костной ткани. Серия проводимых им исследований плацентарной изоформы (ПЩФ) при костных опухолях от гипотезы до сравнительного исследования локализации ПЩФ в эмбриональной, дефинитивной и опухолевой костной ткани, реализовались в разработке иммуноферментной тест-системы на ПЩФ для диагностики опухолей костной системы.

Заключение. Полученные профессором Р.И. Асфандияровым с соавторами сведения о ПЩФ имеют как теоретическое значение для понимания роли этого фермента в функционировании эмбрионального и опухолевого остеогенеза, плаценте и других органах, так и клиническое применение в качестве онкомаркера или теста для оценки плацентарной недостаточности.

Анализ работ профессора Растяма Измайловича Асфандиярова, касающихся только одного аспекта его обширного научного наследия, свидетельствует о многогранности интересов и энциклопедичности знаний выдающегося ученого.

Список литературы

1. Асфандияров, Р. И. Изомеры щелочной фосфатазы и остеогенез / Р. И. Асфандияров, А. Е. Лазько, А. В. Коханов // Морфология. – 2002. – Т. 121, № 2–3. – С. 13.
2. Асфандияров, Р. И. Локализация, количество и активность плацентарной щелочной фосфатазы в норме и при патологии плаценты / Р. И. Асфандияров, А. Е. Сухарев, А. В. Коханов и др. // Астраханский медицинский журнал. – 2010. – Т. 5, № 1 (прил.). – С. 77–79.
3. Сухарев, А. Е. Плацентарная щелочная фосфатаза и острофазовые белки в клинико-лабораторной оценке факторов повышенного тромбогеморрагического риска в акушерстве / А. Е. Сухарев, Ю. В. Вайчулис, Р. И. Асфандияров и др. – М.-Астрахань : Изд-во АГМА, 2006. – 282 с.
4. Коханов, А. В. Разработка тест-системы для индикации сывороточных уровней плацентарной изоформы щелочной фосфатазы / А. В. Коханов, О. В. Мусатов, А. А. Мяснянкин и др. // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – № 3. – С. 245–246.
5. Fishman, W. H. Immunologic and biochemical approaches alkaline phosphatase isoenzyme analysis: the Regan isoenzyme / W. H. Fishman // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 1969. – Vol. 166. – P. 745–749.

Коханов Александр Владимирович, доктор медицинских наук, доцент кафедры биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121, тел. (8512) 52-51-64, e-mail: kokhanov@mail.ru.

Сухарев Александр Евгеньевич, доктор медицинских наук, главный онколог комитета по здравоохранению Администрации г. Астрахани, тел.: (8512) 30-82-29.

Ямпольская Ирина Сергеевна, заочный аспирант кафедры биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, г. Астрахань, 414000, ул. Бакинская, д. 121, тел.: (8512) 52-51-64, e-mail: agma@astranet.ru.

Кривенцев Юрий Алексеевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры биохимии с курсом клинической лабораторной диагностики, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, г. Астрахань 414000, ул. Бакинская, д. 121, тел. 52-51-64, e-mail: agma@astranet.ru.

Луцева Оксана Алексеевна, студентка V курса лечебного факультета, ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздрава России, Россия, г. Астрахань, 414000, ул. Бакинская, д. 121, тел. 52-51-64, e-mail: agma@astranet.ru.

УДК (312):611.08:611.121

© О.Ю. Лежнина, А.А. Коробкеев, 2013

О.Ю. Лежнина, А.А. Коробкеев

АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТОПОГРАФИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА

ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России

Проведен сравнительный анализ 500 историй болезни пациентов с инфарктом миокарда и данными коронароангиографии. Представлены анатомические закономерности локализации инфаркта миокарда при различных вариантах ветвлений венечных артерий с учетом возраста и пола пациентов. Объективные данные прижизненной коронароангиографии отражают закономерности локализации участков снижения васкуляризации определенных топографических отделов сердца.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, венечные артерии, статистический анализ, анатомические закономерности.

O.Yu. Lezhnina, A.A. Korobkeev

THE ANATOMIC FEATURES OF MYOCARDIAL INFARCTION TOPOGRAPHY

The comparative analysis of 500 hospital charts of patients with myocardial infarction, including the data of coronary angiographies was made. The anatomic regularities of myocardial infarction localization at different variants of coronary branchings in consideration with age and gender were presented. The objective data of vital coronary angiography were reflected the regularities of localization of reduction vascularization areas of appointed topographic parts of the heart.