СТАТЬЯ

УДК 616.3:615.281:577.152

АКТИВНОСТЬ ИЗОФЕРМЕНТОВ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Луцева О.А., Коханов А.В., Мусагалиев А.А., Воронкова М.Ю.

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

С целью диагностики острого и хронического воспаления кишечника выполнено параллельное исследование общей активности фермента щелочной фосфатазы (ЩФ) и двух изоферментов ЩФ: кишечной (КЩФ) и термостабильной (ТЩФ) в образцах сывороток крови 154 больных с различными заболеваниями ЖКТ. По результатам хирургического лечения, поступившие экстренно больные были распределены на следующие группы: острый аппендицит (ОА) простой, ОА флегмонозный, ОА гангренозный, аппендикулярный гнойный распространенный перитонит (АП), перфорация язвы желудка (ПЯЖ), ущемленная вентральная грыжа (УГ), острая кишечная непроходимость (ОКН) странгуляционная тонкокишечная и ОКН обтурационная толстокишечная, мезентериальный тромбоз кишечника. В исследование также включены больные, поступившие в гастроэнтерологическое отделение в связи с обострением неспецифического язвенного колита (НЯК) и болезни Крона (БК). Контрольной группой служили образцы сывороток крови пациентов, поступивших в плановом порядке для оперативного лечения неущемленных вентральных грыж. У пациентов с острыми и хроническими заболеваниями обнаружены достоверно повышенные уровни как ЩФ, так и ее кишечной изоформы (КЩФ), однако повышение уровней КЩФ по сравнению с контрольной группой, как правило, выше, чем уровней ЩФ. Максимальна разность между КЩФ и ЩФ наблюдалась в группах больных с УГ, тонкокишечной ОКН и ПЯЖ. Сделан вывод, что заболевания дистальных отделов ЖКТ приводят к более выраженному увеличению активности КЩФ, чем заболевания проксимальных отделов ЖКТ. Высокочувствительный иммуноферментный анализ ТЩФ позволил обнаружить этот изофермент в крови у 12,5 % соматически здоровых пациентов контрольной группы. Частота выявления ТЩФ у больных других групп была максимальной в сыворотках крови пациентов с тонкокишечной (25 %) и толстокишечной ОКН (33,3 %). Окончательная оценка диагностической ценности теста на сывороточный ТЩФ требует дополнительных исследований.

Ключевые слова: острые и хронические заболевания кишечника, щелочная фосфатаза, кишечный и термостабильный изоферменты щелочной фосфатазы, сыворотка крови, диагностическое значение

ACTIVITY OF ALKALINE PHOSPHATASIS IN VARIOUS INFLAMMATORY DISEASES OF THE GASTROINTESTINAL TRACT

Lutseva O.A., Kokhanov A.V., Musagaliev A.A., Voronkova M.Yu.

Astrakhan State Medical University, Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

For the purpose of the diagnosis of acute and chronic intestinal inflammation, a parallel study of the general activity of the enzyme alkaline phosphatase (ALP) and two alkaline phosphatase isoenzymes: intestinal (IALP) and thermostable (TsALP) in samples of 154 sera from patients with different diseases of gastrointestinal tract (GIT) was performed. According to the results of surgical treatment received emergency patients were divided into the following groups: simple acute appendicitis (AA), phlegmonous AA, gangrenous AA, appendicular purulent peritonitis (AP), perforation of the stomach ulcers (PU), strangulated ventral hernia (SH), small intestinal obstruction (IO), obturative colonic obstruction (CO), mesenteric intestinal thrombosis. The study also included patients admitted to the gastroenterology department due to exacerbation of ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). The control group consisted of samples of blood serum of patients admitted in a planned manner for the surgical treatment of nonstrangulated ventral hernias. In patients with acute and chronic diseases, significantly elevated levels of both ALP and its intestinal isoform (IALP) were found, however, elevated levels of IALP compared with the control group are usually higher than levels of ALP. The maximum difference between IALP and ALP was observed in groups of patients with SH, IO and PU. It was concluded that diseases of the distal GIT lead to a more pronounced increase in the activity of IALP than diseases of the proximal GIT. Highly sensitive enzyme immunoassay for TsALP revealed this isoenzyme in blood in 12.5 % of the somatically healthy patients in the control group. The frequency of detection of TsALP in patients of other groups was maximal in the blood serum of patients with IO (25 %) and CO (33.3 %). The final assessment of the diagnostic value of the test for serum TsALP requires additional studies.

Keywords: acute and chronic intestinal diseases, alkaline phosphatase, intestinal and thermostable isoenzymes, blood serum, diagnostic value

Высокая вероятность правильного диагноза у пациентов с заболеваниями ЖКТ, в том числе при ургентной абдоминальной патологии, обеспечивается точным исполнением Клинических рекомендаций РФ и стандартов диагностики и оказания медицинской помощи данной группе пациентов [1, 2]. При диагностических затруднениях выполняются более сложные инструментальные исследования и подключаются врачи смежных специальностей [1, 2]. В случае невозможности

решения данной проблемы с помощью общепринятых современных инструментальных методов на помощь может прийти постоянно расширяющийся арсенал современных биомаркеров [3, 4].

Вместе с тем возможности специфических биомаркеров патологии кишечника еще до конца не раскрыты, а поиск кандидатов в новые биомаркеры повреждения слизистой кишечника сохраняет свою актуальность. Учитывая, что у известного фермента щелочной фосфатазы (ЩФ) существует специфическая кишечная изоформа, представляются перспективными исследования ее диагностического значения при различных заболеваниях ЖКТ.

ЩФ – самый распространенный фермент в организме человека, присутствующий в любой ткани. Наибольшее ее количество обнаружено в остеобластах, гепатоцитах, слизистой тонкого кишечника, почечной ткани, в плаценте, лактирующей молочной железе. Оптимум pH активности фермента лежит в диапазоне pH 8,6–10,1, отсюда ЩФ получила свое название щелочная [5, 6].

Биохимический анализ крови на ЩФ является хорошо изученным и высокоэффективным тестом при различной патологии гепато-билиарной системы, почек, костной системы и беременности [6–8].

В организме человека известны три основных типа ЩФ [8]: два тканеспецифических — плацентарный (ПЩФ) и кишечный (КЩФ) и один тканенеспецифический — щелочная фосфатаза почечно-печеночно-костная [9, 10]. Эти три основных класса ЩФ различаются между собой по ингибированию аминокислотами, мочевиной, ЭДТА, устойчивостью к инактивации нагреванием до 56–65 °С, электрофоретической подвижностью и антигенной структурой [5, 7, 11]. С помощью моноклональных антител проводится идентификация и количественное определение остазы – костного изофермента ЩФ [8, 9, 12].

Плацентарная ЩФ в наибольших количествах вырабатывается плацентой и в отличие от других типов ЩФ выдерживает нагревание до 65 °С, в связи с чем имеет второе название – термостабильная щелочная фосфатаза (ТЩФ) [10, 13]. Следовые количества ТЩФ обнаружены в эпителии фаллопиевых труб, яичниках и эндометрии [5, 10], а также в ткани толстого кишечника [14]. ТЩФ – филогенетически самый молодой тип ЩФ. Предполагается, что ген ТЩФ развился из тонкокишечной изоформы [10].

Кишечная или интестинальная ЩФ (КЩФ) синтезируется в основном слизистой тонкого кишечника [10, 14]. Молекула КЩФ содержит до 86,5–90 % аминокислот, идентичных плацентарному изоферменту ЩФ, и только 56 % – общих с ЩФ печёночно-почечно-костного типа [10]. Повышение активности КЩФ в сыворотке крови выявляется у лиц с неспецифическим язвенным колитом, региональным илеитом, кишечными бактериальными инфекциями [10]. Сравнительное исследование активности кишечной и термостабильной плацентарной изоформ ЩФ в сыворотках крови при острых и хронических заболеваниях в литературе не описано.

Цель исследования: определить средние величины активности кишечного и термостабильного изоферментов щелочной фосфатазы в крови в норме и у больных с различными воспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы исследования

В образцах сывороток крови 154 больных в возрасте от 20 до 76 лет, находившихся на лечении в хирургическом и гастроэнтерологическом отделениях городской клинической больницы № 3 им. С.М. Кирова г. Астрахани в 2016–2018 гг., исследовалась активность фермента щелочной фосфатазы (ЩФ) и ее двух изоферментов кишечного (КЩФ) и термостабильного (ТЩФ) в день поступления пациентов на лечение. Исследование выполнялось только на лицах мужского пола для исключения аномально высоких концентраций изофермента ТЩФ плацентарного происхождения, выявляемых при беременности. Кроме того, по результатам денситометрии из исследования исключены пациенты с высоким уровнем ЩФ, связанным с выраженным остеопорозом и иной патологией опорно-двигательного аппарата.

В исследование были включены пациенты следующих групп: 72 пациента поступивших с диагнозом «острый аппендицит», в том числе 17 больных – с неосложненным острым аппендицитом (ОА), 31 больной – с флегмонозным ОА, 14 – с гангренозным ОА, 10 – с гангренозно-перфоративным ОА, осложненным распространенным гнойным аппендикулярным перитонитом (АП), 16 больных – с перфорацией язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (ПЯЖ), 19 больных – с ущемленными паховыми грыжами (УГ) и 14 – с острой кишечной непроходимостью (ОКН), в том числе 6 – со странгуляционной тонкокишечной непроходимостью и 8 – с обтурационной толстокишечной непроходимостью опухолевого генеза. Кроме того, в исследование включены 3 больных с сосудистой патологией, поступивших и обследовавшихся дежурным

хирургом в приемном отделении и впоследствии с диагностированным компенсированным и субкомпенсированным мезентериальным тромбозом кишечника (МТК).

Отдельной исследуемой группой являлись 14 больных гастроэнтерологического отделения с хроническими заболеваниями кишечника, из них 6 – с неспецифическим язвенным колитом (НЯК) и 8 – с болезнью Крона (БК).

Контрольной группой служили образцы сывороток крови 16 пациентов в возрасте 18–55 лет, поступивших в плановом порядке для оперативного лечения неущемленных вентральных грыж, по результатам обследования соматически здоровых. Все диагнозы были верифицированы клинически и гистологически.

Кровь пациентов собиралась обычной венепункцией кубитальной вены в вакутайнеры, и сыворотка отделялась от форменных элементов центрифугированием.

Измерение активности щелочной фосфатазы в биопробах больных выполнено в клинико-диагностической лаборатории Федерального центра сердечно-сосудистой хирургии (зав. лаб. – к.м.н. О.В. Петрова) на автоматическом биохимическом многоканальном анализаторе «Microlab» с использованием стандартных наборов («Vitalab», Нидерланды) в соответствии с рекомендациями производителя. Активность изоферментов ЩФ определяли по методике определения общей ЩФ на автоматическом биохимическом анализаторе после предварительной пробоподготовки: для идентификации ТЩФ образцы в пробирках Эппендорфа прогревались 10 минут при 65 °С, а для определения интестинальной ЩФ (КЩФ) к образцам добавлялся специфический ингибитор L-гомоаргинин до конечной концентрации 5 ммоль/л. В случаях отрицательного результата анализа на фосфатазную активность прогретой пробы сыворотки, концентрацию ТЩФ в нг/мл в этих образцах дополнительно определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА). Авторами разработан и запатентован способ получения изофермента термостабильной плацентарной щелочной фосфатазы человека (ТЩФ) и на его основе впервые сконструирован набор для ИФА ТЩФ с чувствительностью теста 1 нг/мл, что на порядок превышало чувствительность энзиматического метода идентификации ТЩФ [15].

Результаты обработаны методами описательной статистики с помощью прикладных пакетов программ Excel и представлены в виде средней арифметической, ошибки средней арифметической, медианы, 5 % и 95 % интервала. Учитывая, что практически во всех группах распределение отличалось от нормального, достоверность различий между группами оценивали по непараметрическому критерию U Манна – Уитни. Достоверными считали различия при $pU < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате параллельного определения в сыворотке крови у пациентов хирургического и гастроэнтерологического отделений активности общей ЩФ и ее изоферментов КЩФ и ТЩФ обнаружено, что в крови у пациентов всех групп с заболеваниями ЖКТ уровни активности сывороточной ЩФ и КЩФ были достоверно ($p < 0,01$) выше контрольных цифр (пациенты с вентральными неущемленными грыжами).

Установлено, что активность общей ЩФ сыворотки крови у пациентов с неосложненными формами ОА в среднем увеличивалась почти в 2 раза, при флегмонозном – в 2,8 раза, гангренозном – в 3,5 раза и при перфоративно-гангренозном ОА с развитием распространенного гнойного перитонита уровни ЩФ превышали средние контрольные величины более чем в 4 раза (таблица). Результаты представлены в таблице в виде средних величин, медианы и крайних значений.

У больных с ущемленными паховыми грыжами при поступлении, по сравнению с контрольной группой больных, активность ЩФ в крови также возрастала (в среднем до 218 %). При тромбозе мезентериальных сосудов среднее повышение ЩФ – до 193 %. Повышение активности ЩФ более чем в 2 раза обнаружено также у больных с перфорацией язвы желудка и двенадцатиперстной кишки (ДПК) и у пациентов, поступивших с обострением хронических заболеваний ЖКТ – НЯК и БК (соответственно до 245 %, 256 % и 223 %). Максимально высокие значения активности общей ЩФ выявлены в сыворотках крови пациентов с тонкокишечной и толстокишечной ОКН (соответственно до 305 % и 376 %).

Обнаружено, что в контрольной группе 1,8 % активности сывороточной ЩФ (таблица) приходилось на кишечную изоформу (КЩФ). При ОА различной степени тяжести, в том числе осложненном аппендикулярным перитонитом, относительное содержание фракции КЩФ в общей ЩФ также не превышало 1,9 %. Повышение доли КЩФ выше 2 % отмечено только в группах пациентов с УГ, ПЯЖ и странгуляционной тонкокишечной ОКН.

Активность ЩФ, КЩФ и ТЩФ в сыворотках крови у больных с острыми и хроническими заболеваниями ЖКТ (M ± m, медиана, интервал)

Нозология		ЩФ мМЕ/мл	КЩФ мМЕ/мл	ТЩФ нг/мл, % выявления
Контроль (вентральные грыжи)	n = 16	105,0 ± 8,59 104 (54–180)	1,9 ± 0,21 2 (1–4)	0,13 ± 0,085 0 (0–1), 12,5%
О. аппендицит неосложненный	n = 17	197,2 ± 12,01 195 (93–296)*	3,7 ± 0,39 4 (1–7)*	0,24 ± 0,136 0 (0–2), 17,6%
О. аппендицит флегмонозный	n = 31	296,4 ± 17,64 282 (93–520)*	5,2 ± 0,32 5 (2–10)*	0,19 ± 0,086 0 (0–2) 16,1%
О. аппендицит гангренозный	n = 14	367,3 ± 30,57 367 (105–555)*	6,8 ± 0,59 7 (2–11)*	0,29 ± 0,163 0 (0–2) 16,1%
Аппендикулярный перитонит	n = 10	437,4 ± 47,19 451 (109–610)*	8,0 ± 0,82 8 (3–12)*	0,40 ± 0,306 0 (0–3), 20,0%
Перфоративная язва желудка	n = 16	257,1 ± 31,27 241,5 (92–523)*	5,7 ± 0,69 5 (2–12)*	0,13 ± 0,085 0 (0–1) 12,5%
Ущемленные грыжи	n = 19	228,5 ± 28,98 231 (62–494)*	5,0 ± 0,52 5 (2–11)*	0,11 ± 0,072 0 (0–1) 10,5%
Острая странгуляционная тонкокишечная непроходимость	n = 8	320,6 ± 45,45 326 (104–562)*	6,9 ± 0,85 7 (3–11)*	0,25 ± 0,164 0 (0–1) 25,0%
Острая обтурационная толстокишечная непроходимость	n = 6	394,3 ± 73,88 381 (162–641)*	7,3 ± 1,12 7,5 (3–11)*	1,17 ± 0,833 0 (0–5) 33,3%
Субкомпенсированный мезотромбоз кишечника	n = 3	202,7 ± 42,17 200 (131–277)*	4,0 ± 0,58 4 (3–5)*	0
Хронический неспецифический язвенный энтероколит	n = 6	269,0 ± 50,32 269 (103–441)*	5,3 ± 0,84 5 (3–9)*	0,17 ± 0,167 0 (0–1) 16,7%
Болезнь Крона толстой кишки	n = 8	234,6 ± 33,48 233,5 (118–405)*	4,4 ± 0,63 4 (3–8)*	0,38 ± 0,263 0 (0–2) 12,5%

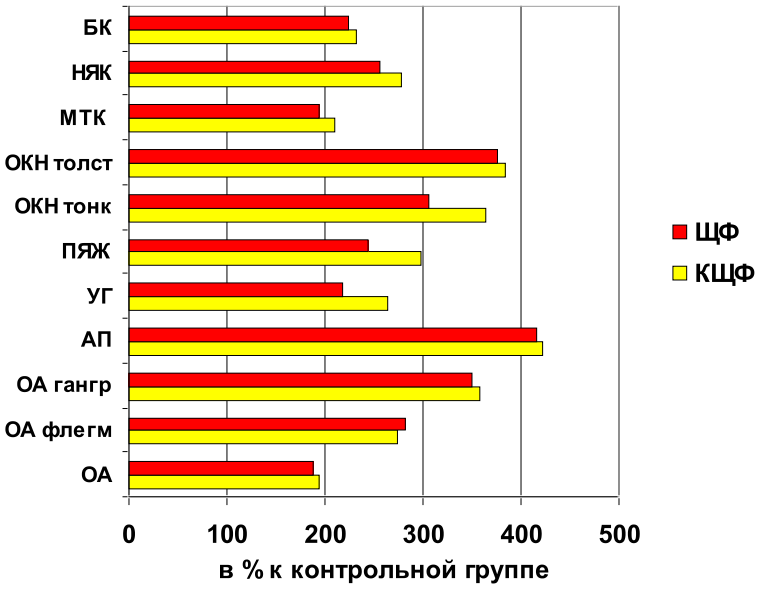
Примечание. * – достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$).

Установлено, что, так же как и активность ЩФ, активность КЩФ сыворотки крови у пациентов с неосложненными формами ОА в среднем увеличилась по сравнению с контрольной группой почти в 2 раза, при флегмонозном – в 2,7 раза, при гангренозном – в 3,5 раза, а при перфоративно-гангренозном ОА с развитием распространенного гнойного перитонита уровни ЩФ превышали средние контрольные величины более чем в 4 раза (таблица).

У больных с УГ при поступлении активность КЩФ в крови возрастала приблизительно до уровней общей ЩФ (в среднем до 258%). При МТК среднее повышение КЩФ – до 211%. Повышение активности КЩФ более чем в 2 раза также обнаружено у больных с ПЯЖ и у пациентов с обострением НЯК и БК (соответственно до 294%, 279% и 232%). Максимально высокие значения активности общей КЩФ выявлены в сыворотках крови пациентов с тонкокишечной и толстокишечной ОКН (соответственно до 355% и 378%).

Сравнивая величины повышения активности сывороточной ЩФ и КЩФ в % к контролю нами установлено (рисунок), что, как правило, активность КЩФ выше, чем ЩФ (исключение ОА флегмонозный). При этом при неосложненном ОА КЩФ превышает ЩФ на 7%, при гангренозном ОА – на 8%, а при аппендикулярном перитоните (АП) – только на 4,5% (за счет значительного роста активности не только КЩФ, но и других изоферментов ЩФ). Такое же превышение КЩФ над ЩФ около 8% обнаружено в группах пациентов с БК и толстокишечной непроходимостью. Более высокая разность между КЩФ и ЩФ наблюдалась в группах больных с мезентериальным тромбозом (18%) и неспецифическим язвенным энтероколитом (23%), а максимальная разность была характерна только для пациентов с УГ (46%), тонкокишечной непроходимостью (58%) и перфоративной язвой желудка и двенадцатиперстной кишки (53%).

Таким образом, из полученных данных следует, что заболевания дистальных отделов ЖКТ приводят к более выраженному увеличению активности КЩФ, чем заболевания проксимальных отделов ЖКТ.



Величины повышения активности сывороточной ЩФ и КЩФ в % к контролю

После прогревания при 65 °С сывороток крови пациентов всех групп с заболеваниями ЖКТ фосфатазная активность в них не определялась, однако с помощью ИФА с чувствительностью 1 нг/мл в некоторых группах у части пациентов нами обнаружены следовые количества изофермента ТЩФ. Частота выявления ТЩФ в контрольной группе составила 12,5 %, у пациентов с неосложненным, флегмонозным, гангренозным и перфоративно-гангренозным ОА – соответственно 17,6; 16,1; 16,1 и 20 %.

Частота выявления ТЩФ у больных с УГ составила 10,5, у больных с ПЯЖ – 12,5 %, у пациентов с обострением НЯК и БК (соответственно 16,7 % и 12,5 %)%, у трех пациентов с МТК ТЩФ не обнаружен. Максимально высокая частота обнаружения ТЩФ выявлена в сыворотках крови пациентов с тонкокишечной и толстокишечной ОКН (соответственно до 25 % и 33,3 %). Полученные результаты определения ТЩФ при различных заболеваниях ЖКТ статистически значимо между собой и от контрольной группы не отличались. Окончательная оценка диагностической ценности теста на ТЩФ требует дополнительных исследований.

Выводы

Известно, что до 95–98 % активности общей ЩФ сыворотки имеет печеночное и костное происхождение. У пациентов с острыми и хроническими заболеваниями обнаружены достоверно повышенные уровни как ЩФ, так и ее кишечной изоформы (КЩФ), однако повышение уровней КЩФ по сравнению с контрольной группой, как правило, выше, чем уровней ЩФ. Максимальна разность между КЩФ и ЩФ наблюдалась в группах больных с ущемленными паховыми грыжами, тонкокишечной непроходимостью (58 %) и перфоративной язвой желудка и двенадцатиперстной кишки (53 %). Сделан вывод, что заболевания дистальных отделов ЖКТ приводят к более выраженному увеличению активности КЩФ, чем заболевания проксимальных отделов ЖКТ.

Высокочувствительный иммуноферментный анализ термостабильной плацентоподобной изоформы ЩФ (ТЩФ) позволил обнаружить этот изофермент в крови у 12,5 % соматически здоровых пациентов контрольной группы, поступивших на плановую операцию герниопластики. Частота выявления ТЩФ у больных других групп с различными заболеваниями ЖКТ достоверно не отличалась от контрольной группы и была максимальной в сыворотках крови пациентов с тонкокишечной и толстокишечной ОКН (соответственно до 25 % и 33,3 %). Окончательная оценка диагностической ценности теста на сывороточный ТЩФ требует дополнительных исследований.

Список литературы

1. Затевахин И.И., Кириенко А.И., Кубышкин В.А. Абдоминальная хирургия. Национальное руководство. Краткое издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 912 с.

2. Будзак И.Я. К вопросу о дифференциальной диагностике воспалительных и функциональных заболеваний кишечника // Гастроэнтерология. 2013. Т. 48. № 2. С. 81–85.

3. Фадеева Н.А., Корнеева И.А., Князев О.В., Парфенов А.И. Биомаркеры активности воспалительных заболеваний кишечника // Терапевтический архив. 2018. № 12. С. 107–111.

4. Goldberg R.F., Austen W.G., Zhang X., Munene G., Mostafa G., Biswas S., McCormack M., Eberlin K.R., Nguyen J.T., Tatlidede H.S., Warren H.S., Narisawa S., Millán J.L., Hodin R.A. Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2008. Vol. 105. № 9. P. 3551–3556. DOI: 10.1073/pnas.0712140105.

5. Millán J.L. Mammalian alkaline phosphatases. From biology to applications in medicine and biotechnology. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2006. 322 p.

6. Николаев А.А. Структура и функции плацентарной щелочной фосфатазы (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2015. № 3. С. 24–29. DOI: 10.17116/repro201521324-29.

7. Коханов А.В., Ямпольская И.С., Бисалиева Р.А., Мамиев О.Б., Мяснянкин А.А. Пять параметров фермента щелочной фосфатазы в сыворотках крови беременных женщин и их значение для диагностики плацентарной недостаточности // Фундаментальные исследования. 2014. № 10–8. С. 1509–1513.

8. Whyte M.P. Alkaline phosphatase and the measurement of bone formation. Clinical Disorders of Bone and Mineral Metabolism / Editors – J.T. Potts and B. Frame. 1983. P. 120–125.

9. Асфандияров Р.И., Лазько А.Е., Коханов А.В. Изомеры щелочной фосфатазы и остеогенез // Морфология. 2002. Т. 121. № 2–3. С. 13.

10. Сухарев А.Е., Вайчулис Ю.В., Асфандияров Р.И., Панченко Л.Ф. и др. Плацентарная щелочная фосфатаза и острофазовые белки в клинико-лабораторной оценке факторов повышенного геморрагического риска в акушерстве: монография. М.: Астрахань, 2009. С. 44–67.

11. Коханов А.В., Сухарев А.Е., Ямпольская И.С., Кривенцев Ю.А., Луцева О.А. Плацентарная щелочная фосфатаза и научное наследие профессора Р.И. Асфандиярова // Астраханский медицинский журнал. 2013. № 1. С. 133–137.

12. Коханов А.В. Иммунохимические показатели в клинической оценке черепно-мозговой и скелетной травмы: автореф. дис. … докт. мед. наук. Москва, 2009. 47 с.

13. Сухарев А.Е., Булах Н.А., Ахушкова Л.М. Плацентарная щелочная фосфатаза – маркер эмбриональных и малигнизированных тканей // Успехи современного естествознания. 2011. № 4. С. 41–46.

14. Wada A., Wang A.P., Isomoto H., Satomi Y., Takao T., Takahashi A., Awata S., Nomura T., Fujii Y., Kohno S., Okamoto K., Moss J., Millán J.L., Hirayama T. Placental and intestinal alkaline phosphatases are receptors for Aeromonas sobria hemolysin. Int. J. Med. Microbiol. 2005. Vol. 294. P. 427–435.

15. Коханов А.В., Белопасов В.В., Мяснянкин А.А., Ямпольская И.С., Луцева О.А. Способ получения и очистки плацентарной щелочной фосфатазы // Патент РФ № 2492868. патентообладатель ГБОУ ВПО АГМА. 2013, Бюл. № 13.