

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ОБМЕНА ЛАКТАТА И СОДЕРЖАНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

А.А. Подгайная, Я.В. Янч, В.Т. Чешевиќ
Полесский государственный университет, Пинск

Введение. Нарушение регуляции углеводно-липидного обмена является одним из наиболее заметных метаболических изменений при раке. Раковые клетки используют углеводный и липидный обмен для получения энергии, компонентов для построения биологических мембран и сигнальных молекул, необходимых для пролиферации, выживания, инвазии, метастазирования и ответа на воздействие микроокружения опухоли и терапии рака [0].

Активность ферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и гидроксибутиратдегидрогеназы (ГБДГ) повышаются при многих заболеваниях. Диагностическое значение суммарной активности невелико и ограничивается определением с целью исключения опухолевого и гемолитического процессов, а также для дифференциальной диагностики синдрома Жильбера (нормальная активность) и хронического гемолиза (повышенная активность) [0]. Потребность в поглощении глюкозы и сопутствующий усиленный гликолитический энергетический обмен являются одной из наиболее важных особенностей раковых клеток [0].

Липопротеины низкой плотности (ЛПНП) являются одним из основных переносчиков холестерина в крови. ЛПНП являются атерогенными (способствующими развитию атеросклероза). В свою очередь, повышение уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в крови является благоприятным фактором уменьшающим риск развития атеросклероза. Помимо участия в процессе обратного транспорта холестерина, было показано, что ЛПВП модулируют воспалительные процессы, свертывание крови и вазомоторные реакции, к тому же обладают антиоксидантными свойствами и способствуют иммунным реакциям и межклеточной передаче сигналов [0]. Триглицериды (ТГ) являются основной формой накопления жирных кислот, а также главным источником энергии. При онкологических заболеваниях возникают системные нарушения липидного обмена. Они проявляются вследствие нарушений процессов распределения липидов по организму и их выделения; транспорта в ткани; избыточного накопления в органах, не относящихся к жировой ткани; промежуточного процесса биосинтеза; обмена в жировой ткани (избыточное или недостаточное его образование и отложение). Нормальное всасывание жиров, их эмульгирование, расщепление на глицерин и жирные кислоты, и образование соединений с желчными кислотами может нарушаться при участии липазы. При недостатке ее активности, который возникает при заболеваниях поджелудочной железы, а также дефиците желчных кислот (цирроз) возникает нарушение всасывания жиров [0].

Изменение биохимических параметров плазмы крови зачастую является достаточно ранним чувствительным диагностическим критерием при различных патологических состояниях. Известно, что развитие злокачественной опухоли вызывает специфические изменения в составе крови пациента.

Целью данной работы явилось исследование активности ферментов метаболизма лактата и содержания липопротеинов в сыворотке крови пациентов с онкологическими заболеваниями.

Материалы и методы исследования. В результате проведения серии экспериментов, была исследована сыворотка крови 54 пациентов с онкологическими заболеваниями и 71 условно-здоровых людей. Предметом исследования явилась активность ферментов метаболизма молочной кислоты (ЛДГ, ГБДГ), а также содержание компонентов липидного обмена (ЛПНП, ЛПВП, ТГ).

Активность гидроксибутиратдегидрогеназы в образцах сыворотки крови пациентов с онкологическими заболеваниями определяли спектрофотометрическим методом с использованием набора реагентов Fenox Medical Solutions "ГБДГ". Для проведения исследования смешивали рабочий раствор и образец сыворотки крови, тщательно перемешивали и инкубировали 1 минуту при 37 °С. Далее проводили измерение оптической плотности опытной пробы по отношению к воздуху на длине волны 340 нм. Повторно измеряли оптическую плотность опытной пробы через 3 минуты инкубации при 37 °С по отношению к воздуху на длине волны 340 нм. Активность выражали в Е/л.

Для определения активности лактатдегидрогеназы использовали набор реагентов НТПК "Анализ Х". Рабочий реагент смешивали с образцом сыворотки крови и через 1 минуту инкубации при

37 °С измеряли оптическую плотность опытной пробы по отношению к воздуху на длине волны 340 нм. Повторно измеряли оптическую плотность опытной пробы через 1 минуту инкубации при 37°С по отношению к воздуху на длине волны 340 нм. Активность выражали в Е/л.

Определение концентрации триглицеридов в образцах сыворотки крови осуществляли спектрофотометрическим ферментативным методом с липидпротвертляющей системой после ферментативного гидролиза липазой. Для этих целей использовали набор реагентов Fenox Medical Solutions для определения триглицеридов “ТРИГЛИЦЕРИДЫ”. Опытные пробы смешивали с раствором реагентов и инкубировали 10 минут при температуре 25 °С. После этого проводили измерения оптической плотности пробы и стандартного образца по отношению к холостой пробе на длине волны 500 нм. Содержание триглицеридов выражали в мг/дл.

Концентрацию липопротеинов низкой плотности определяли при помощи набора реагентов Fenox Medical Solutions “ХЛНП”. Смешивали рабочий реагент 1 и образец сыворотки крови человека. Далее инкубировали 5 минут при 37 °С и по истечению этого времени вносили реагент 2, осторожно перемешивали и инкубировали 5 минут при 37 °С. После этого измеряли поглощение опытной и калибровочной пробы по отношению к холостой пробе на длине волны 600 нм. Концентрацию ЛПНП выражали в мг/дл.

Содержание в сыворотке крови липопротеинов высокой плотности определяли с использованием реагентов Fenox Medical Solutions “ХЛВП”. Для проведения исследования смешивали образец сыворотки с реагентом 1 и аккуратно перемешивали. Далее инкубировали 5 минут при 37 °С и после этого добавляли реагент 2, повторно инкубировали пробы 5 минут при 37 °С. По истечению времени измерили поглощение опытной и калибровочной пробы по отношению к холостой пробе на длине волны 600 нм. Концентрацию ЛПВП выражали в мг/дл.

Обработку данных проводили при помощи пакета программ GraphPad Prizm 8.0. Нормальность распределения выборки определяли методом Шапиро-Уилка, а достоверность различий между выборками с помощью t-критерия Стьюдента. На основании данных, полученных в результате проведения выше указанных тестов, был проведен корреляционный анализ с использованием коэффициента Спирмена или Пирсона.

Результаты исследования и их обсуждение. В результате проведенных экспериментов обнаружено статистически достоверное снижение активности ЛДГ (на 15%) у онкобольных по сравнению с контрольной группой (рисунок 1).

В содержании триглицеридов и ЛПНП в сыворотке крови не было выявлено статистически значимых различий между больными и здоровыми людьми. В то же время наблюдали значительное понижение (на 27,1%) концентрации липопротеинов высокой плотности у пациентов с онкологическими заболеваниями (рисунок 2).

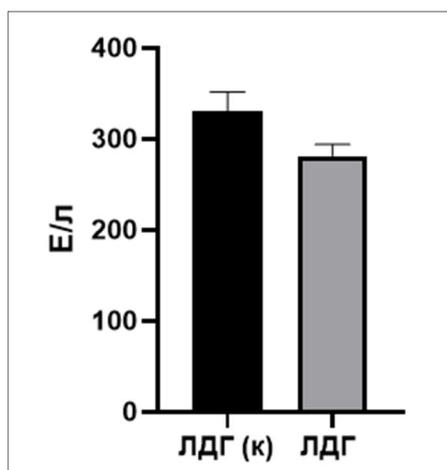


Рисунок 1 – Содержание ЛДГ в контрольной и опытной группах

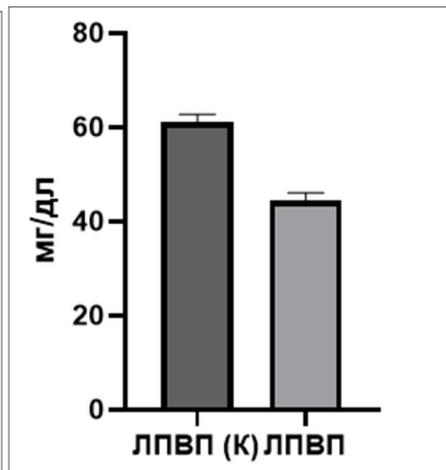


Рисунок 2 – Содержание ЛПВП в контрольной и опытной группах

Для онкологических пациентов была установлена прямопропорциональная корреляционная взаимосвязь между активностями ферментов ЛДГ и ГБДГ ($r = 0,5148$, $p < 0,0001$) (рисунок 3).

Прямую корреляционную зависимость наблюдали между уровнями ЛПНП и ЛПВП, ТГ и ЛПНП как для условно-здоровых людей, так и для онкологических пациентов.

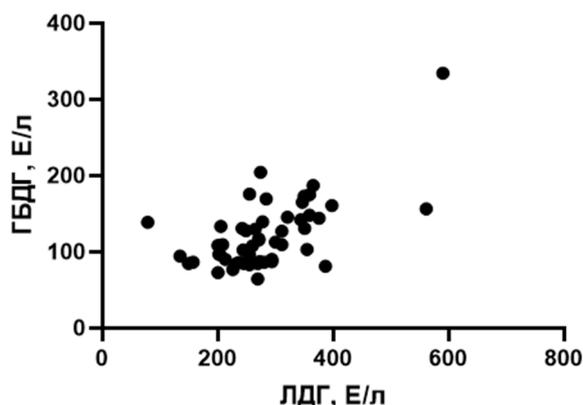


Рисунок 3. – Корреляционная зависимость между активностью ЛДГ и ГБДГ у пациентов с онкологией

Заключение. Результаты исследований показывают, что активность фермента ЛДГ у онкобольных пациентов снижается, по сравнению с контрольной группой, что может быть связано с кардиотоксичностью противоопухолевой терапии с одной стороны, с другой стороны активность ЛДГ может снижаться вследствие значительного усиления гликолиза и образования конечного продукта пирувата, который в высоких концентрациях способен подавлять активность ЛДГ. Концентрация липопротеинов высокой плотности у пациентов с онкологией значительно ниже, чем у контрольной группы. Снижение уровня ЛПВП специфических клинических проявлений не имеет, но предрасполагает к развитию ишемической болезни сердца, а также является диагностическим признаком ряда других заболеваний, которые могут развиваться как сопутствующие при онкологических заболеваниях. Содержание триглицеридов и липопротеинов низкой плотности не является явным маркером нарушения липидного обмена при онкологических заболеваниях, так как изменения данных параметров наблюдали в контрольной группе и группе онкологических пациентов. Таким образом, выбранные показатели могут быть использованы в комплексе с другими важными параметрами при диагностике нарушений метаболизма лактата и обмена холестерина при онкологических заболеваниях.

Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь (договор № 65 от 05.05.2021) в рамках ГПНИ «Биотехнологии-2» (Рег. № НИР 20212457).

Список использованных источников

1. Cheng, H. Lipid Metabolism and Cancer. *Life* / H Cheng, M Wang // *Life*. – 2022. – Vol. 12, № 6. – P. 1–34.
2. Yangzhe, Z. Current Status and Future Perspectives of Lactate Dehydrogenase Detection and Medical Implications: A Review / Z. Yangzhe, Q. Min, Y. Minghui // *Biosensors*. – 2022. – Vol. 12 iss. 12. – P. 2–17.
3. Вдовин, В. М. Патопфизиология, клиническая патопфизиология в 2 ч. Ч. 1: Общая патопфизиология: учебно-методическое пособие / В. М. Вдовин, Р. И. Кирсанов, Л. А. Костюченко; под редакцией В. М. Вдовина. – Барнаул: АГМУ, 2019. – С. 300.
4. Кутина А.В. Катионы в сыворотке крови человека / А. В. Кутина, А. А. Кузнецова, Ю. В. Наточин. *Успехи физиол. наук*. – 2005. – Т. 36, №3. – С. 3–32.
5. Лабораторная диагностика липидного обмена: учебное пособие / Н. Г. Плехова, Е. В. Просекова, С. В. Зиновьев, М. С. Долгополов. – Владивосток : ТГМУ, 2020. – 45 с.