

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 616-006.441:616.316-008.8

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АМИНОАЗОТА И АКТИВНОСТИ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В СЛЮНЕ ПРИ ЛИМФОМАХ

Дьяченко Е. И.^{1, 2}, Бельская Л. В.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный педагогический университет», Омск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Дьяченко Елена Игоревна,
ФГБОУ ВО «ОмГПУ»,
наб. Тухачевского, 14, Омск, Россия, 644043.
E-mail: Olseya-120@mail.ru

Статья поступила в редакцию 11.05.2023
и принята к печати 02.06.2023.

РЕЗЮМЕ

Актуальность изучения изменений активности метаболических ферментов в слюне при лимфомах заключается в неинвазивном методе исследования, поиске новых путей в диагностике онкологии для выявления заболевания на ранних стадиях и получения полной картины течения патологического процесса. Активность определенных ферментов значительно выше в слюне, чем в сыворотке крови. Помимо этого, слюна является менее опасной средой для проведения лабораторных исследований, чем кровь, что снижает риск инфицирования медицинского персонала. **Целью исследования** является поиск биохимических маркеров в слюне при ходжкинских и неходжкинских лимфомах, значение которых статистически значимо отличалось от значений тех же маркеров среди здоровых испытуемых, вошедших в контрольную группу. **Материалы и методы.** В исследовании «случай–контроль» добровольцы были разделены на 2 группы: основную группу, с гистологически подтвержденным диагнозом лимфомы Ходжкина (53 человека) или неходжкинской лимфомы (82 человека), и контрольную группу (135 человек) условно здоровых лиц. Включение в группы происходило параллельно. Всем участникам было проведено биохимическое исследование слюны на определение содержания аминного азота, активности ферментов (АлАТ, АсАТ, ГГТ, щелочной фосфатазы). Пациенты основной группы были набраны на базе Клинического онкологического диспансера (Омск, Российская Федерация). **Результаты.** Было обнаружено существенное повышение аминокислотного азота ($p < 0,0084$), АлАТ ($p < 0,0205$), АсАТ ($p < 0,0047$), ГГТ ($p < 0,0291$) в группе пациентов с диагнозом «неходжкинская лимфома» по сравнению с испытуемыми из контрольной группы. **Заключение.** Нами выдвинута предварительная гипотеза о том, что такие аминотрансферазы, как АлАТ, АсАТ и ГГТ, можно применять не только в качестве показателей повреждения печени. Изменение активности аминотрансфераз с одновременным повышением активности аминокислотного азота может отражать выраженное перераспределение азота в организме для синтеза новых заменимых аминокислот, ко-

торые необходимы неопластическим клеткам в качестве структурных компонентов для их роста и пролиферации. Данная работа также подтверждает то, что слюна является информативной диагностической средой, которая может быть применена в рутинной практике врача-клинициста.

Ключевые слова: АлАТ, аминокот, аминотрансферазы, АсАТ, ГГТ, лимфома Ходжкина, неходжкинские лимфомы, слюна.

Для цитирования: Дьяченко Е.И., Бельская Л.В. Изменение содержания аминокоты и активности аминотрансфераз в слюне при лимфомах. *Российский журнал персонализированной медицины.* 2023;3(4):13-19. DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-4-13-19.

CHANGES IN THE CONTENT OF AMINONITROGEN AND ACTIVITY OF AMINOTRANSFERASES IN SALIVA IN LYMPHOMAS

Dyachenko E. I.^{1,2}, Bel'skaya L. V.¹

¹ Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

² Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Dyachenko Elena I.,
Omsk State Pedagogical University,
Tukhachevsky embankment, 14, Omsk,
Russia, 644043.
E-mail: Olseya-120@mail.ru

Received 11 May 2023; accepted 02
June 2023.

ABSTRACT

Background. The relevance of studying changes in the activity of metabolic enzymes in saliva in lymphomas lies in the non-invasive method of research, the search for new ways in the diagnosis of oncology to detect the disease in the early stages, as well as to obtain a complete picture of the course of the pathological process. The activity of certain biochemical enzymes is significantly higher in saliva than in blood serum. In addition, saliva is a less hazardous environment for laboratory testing than blood, which reduces the risk of infection for medical personnel. **Objective.** The aim of this work was to search for biochemical markers in saliva in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas, the value of which was statistically significantly different from the values of the same markers among healthy subjects included in the control group. **Design and methods.** In the case-control study, volunteers were divided into 2 groups: the main group, with a histologically confirmed diagnosis of Hodgkin's lymphoma (53 people) or non-Hodgkin's lymphoma (82 people) and the control group (135 people), apparently healthy individuals. Inclusion in groups occurred in parallel. All participants underwent a biochemical study of saliva to determine the content of amine nitrogen, the activity of enzymes

(AlAT, AsAT, GGT, alkaline phosphatase). The patients of the main group were recruited on the basis of the Clinical Oncological Dispensary (Omsk, Russian Federation). **Results.** A significant increase in amino nitrogen ($p < 0,0084$), ALT ($p < 0,0205$), AST ($p < 0,0047$), GGT ($p < 0,0291$) was found in the group of patients diagnosed with non-Hodgkin's lymphoma, compared with subjects from the control group. **Conclusion.** A preliminary hypothesis was put forward that aminotransferases such as ALT, AST and GGT can be used not only as indicators of liver damage. A change in the activity of amine transferases with a simultaneous increase in the activity of amino nitrogen may reflect a pronounced redistribution of nitrogen in the body for the synthesis of new non-essential amino acids that are necessary for neoplastic cells as structural components for their growth and proliferation. This work also confirms that saliva is an informative diagnostic liquid that can be used in the routine practice of a clinician.

Key words: ALT, amino nitrogen, aminotransferases, AST, GGT, Hodgkin's lymphoma, non-Hodgkin's lymphomas, saliva.

For citation: Dyachenko EI, Belskaya LV. Changes in the content of aminonitrogen and the activity of aminotransferases in saliva in lymphomas. Russian Journal of Personalized Medicine. 2023; 3(4):13-19. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-4-13-19.

Список сокращений: АлАТ — аланинаминотрансфераза, АсАТ — аспаратаминотрансфераза, ГГТ — гамма-глутаминтрансфераза, ЗНО — злокачественное новообразование, КГ — контрольная группа, КТ — компьютерная томография, МКБ-10 — Международная классификация болезней Десятого пересмотра, НХЛ — неходжкинская лимфома, УЗИ — ультразвуковая диагностика, ХЛ — лимфома Ходжкина, ЩФ — щелочная фосфатаза.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема диагностики лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы на ранних стадиях до сих пор является актуальной. Согласно статистическим данным по России за 2021 год, общее число больных с впервые выявленным онкологическим заболеванием и вставших на диспансерный учет составило 490 588 человек. Доля пациентов с диагнозом ЗНО (злокачественное новообразование), злокачественные лимфомы (код МКБ 10 C81–86; 88, 90, 96) составила 2,8 % (14 087 чел.). Летальность по данной патологии — 4,3 % [1].

В связи с тем, что методы диагностики лимфом ограничены только общими жалобами пациента на состояние здоровья, назначением общего анализа крови с микроскопией мазка и подсчетом лейкоци-

тарной формулы, проведением биопсии лимфатического узла, УЗИ (ультразвуковое исследование) и КТ (компьютерная томография) [2, 3], возникает потребность в поиске новых подходов к обследованию, которые были бы информативны, просты в применении и экономически эффективны.

Аналогов проведения исследования биохимических параметров слюны при лимфомах Ходжкина и неходжкинских лимфомах нет как в России, так и за рубежом. Слюна является интересной и информативной биологической жидкостью для проведения биохимических исследований, в том числе и на содержание белка. Примерно 27 % белков плазмы обнаружены в слюне человека [4]. В плазме/сыворотке человека преобладают иммуноглобулины и альбумины, которые составляют 60–80 % от их общего веса. Очевидно, наиболее распространенные 22 белка в плазме составляют 99 % от общего содержания белка. Для сравнения, для цельной слюны 20 самых распространенных белков составляют только 40 % от содержания белка в слюне. Таким образом, слюна представляет собой благоприятную диагностическую жидкость для обнаружения потенциальных биомаркеров [5]. Кроме того, все источники слюны, особенно малые слюнные железы, содержат высокий процент белков, участвующих в метаболизме, что объясняет интерес к слюне как к диагностической жидкости [6–11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании «случай–контроль» принимали участие добровольцы, разделенные на 2 группы: основную, с гистологически подтвержденными диагнозами «лимфома Ходжкина» или «неходжкинская лимфома», и контрольную (условно здоровые испытуемые). Включение в группы происходило параллельно. Всем участникам было проведено биохимическое исследование слюны.

Критериями включения в группу были: возраст пациентов от 30 до 70 лет и старше, отсутствие какого-либо лечения на момент проведения исследования, в том числе хирургического, химиотерапевтического или лучевого, отсутствие признаков активной инфекции (включая гнойные процессы), проведение санации полости рта. Критерии исключения: отсутствие гистологической верификации диагноза. У всех пациентов перед проведением испытания было взято добровольное согласие на участие и обработку персональных данных. Исследования одобрены на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

В группу пациентов с диагнозом «лимфома Ходжкина» вошло 53 человека. Группа с неходжкинскими лимфомами состояла из 82 человек. Также была сформирована контрольная группа из потенциально здоровых добровольцев в количестве 135 человек.

Условия проведения. Пациенты основной группы были набраны в Клиническом онкологическом диспансере (Омск, Российская Федерация).

Пробы слюны собирали в 9–10 часов утра натощак, без дополнительной стимуляции, после чистки зубов, в соответствии с полученными ранее данными о суточной динамике состава слюны, после чего центрифугировали при 7 000 об/мин в течение 10 минут. Определение биохимического состава слюны проведено непосредственно после сбора без хранения и замораживания.

Биохимический анализ образцов слюны включал определение содержания аминокислот, активности ферментов (АлАТ, АсАТ, ГГТ, ЩФ).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием критерия Вилкоксона в зависимых группах и U-критерия Манна-Уитни в независимых группах. Выборка описывалась путем вычисления медианы (Me) и межквартильного размаха в виде 25-го и 75-го процентилей [НУ; ВУ]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Тесноту и направленность корреляционной

связи между показателями оценивали с помощью ранговой корреляции Спирмена. Корреляционную связь считали слабой при значении 0,3 и ниже, средней — при значении 0,3–0,7 и высокой — при значении 0,7 и выше.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Было обнаружено существенное повышение аминокислот (p < 0,0084), АлАТ (p < 0,0205), АсАТ (p < 0,0047), ГГТ (p < 0,0291) в группе пациентов с диагнозом «неходжкинская лимфома» по сравнению с испытуемыми из контрольной группы. Коэффициент корреляции между повышением аминокислот и АлАТ составил $r = 0,3$ (p < 0,90); между аминокислотами и АсАТ — составил $r = 0,4$ (p < 0,00).

Корреляционная связь в парах ГГТ и АлАТ, ГГТ и АсАТ получилась ниже, чем в паре ГГТ и аминокислот, $r = 0,3$ (p < 0,00). Коэффициент корреляции между: ГГТ и АлАТ составил $r = 0,2$ (p < 0,90); ГГТ и АсАТ — $r = 0,3$ (p < 0,00). Также была рассчитана корреляционная связь ГГТ и ЩФ — $r = 0,19$ (p < 0,00), с целью исключения подъема активности аминотрансфераз за счет повреждения печени.

ОБСУЖДЕНИЕ

При биохимическом анализе слюны на состояние ферментативной системы, отвечающей за метаболизм белков, было обнаружено повышение содержания аминокислот в группе пациентов с диагнозом «неходжкинская лимфома» по сравнению с контрольной группой. Критерий Манна-Уитни составил $p = 0,0084$, что отражает статистически значимое различие по данному показателю. Стоит отметить, что существенное повышение аминокислот происходит только в группе пациентов с диагнозом «неходжкинская лимфома», тогда как в группе пациентов с диагнозом «лимфома Ходжкина» аминокислоты находились примерно на том же уровне, что и в контрольной группе. Повышение аминокислотного показателя может быть вызвано метаболическим перепрограммированием при онкологии, отражающемся в усиленной биосинтетической, биоэнергетической, а также антиоксидантной активности [12].

Параллельно с уровнем аминокислот у пациентов с неходжкинской лимфомой отмечается статистически значимое повышение активности АлАТ (p = 0,0205), АсАТ (p = 0,004) и ГГТ (p = 0,0290) по сравнению с контрольной группой здоровых людей. Обычно данные ферменты ассоциируются с «печеночными» маркерами. С биохимической точки зрения АлАТ, АсАТ и ГГТ относятся к классу ферментов аминотрансфераз, главной биологиче-

Таблица 1. Биохимические показатели слюны в исследуемых группах с расчетом статистически значимых различий между показателями с использованием критерия Mann-Whitney U Test

Table 1. Biochemical parameters of saliva in the study groups with the calculation of statistically significant differences between measures using the Mann-Whitney U Test

Показатели	Контрольная группа	Неходжкинские лимфомы	Ходжкинские лимфомы	К и ХЛ	К и НХЛ	ХЛ и НХЛ
	Me	Me	Me	(p < 0,05)	(p < 0,05)	(p < 0,05)
АЛТ (Ед/л)	3,77 [2,85–5,08]	4,46 [3,12–6,27]	4,38 [2,54–6,92]	0,1754	0,0205*	0,7644
АСТ (Ед/л)	5,75 [3,67–7,42]	6,58 [4,42–9,63]	5,75 [4,17–9,67]	0,2450	0,0047*	0,3890
Амино-соединения (мкмоль/л)	4,14 [3,87–4,51]	4,25 [4,00–5,01]	4,09 [3,86–4,44]	0,4390	0,0084*	0,0032*
ЩФ (Ед/л)	60,84 [41,29–93,44]	80,40 [43,46–106,48]	91,27 [60,84–136,90]	0,0000*	0,0351*	0,0349*
ГГТ (Ед/л)	21,2 [18,3–24,4]	22,2 [18,7–27,7]	21,5 [19,8–25,8]	0,1228	0,0291*	0,6248

Примечание: медиана (Me) и межквартильный размах в виде 25-го и 75-го перцентилей [НУ; ВУ]; обработка непараметрическим методом с использованием критерия Вилкоксона в зависимых группах и U-критерия Манна-Уитни в независимых группах (p < 0,05.)

* Различия между показателями считали статистически значимыми при p < 0,05.

ской ролью которых является перенос альфа-аминогруппы с аминокислоты на альфа-кетокислоту, в результате чего образуются новая аминокислота и новая кетокислота. Происходит перераспределение аминного азота в тканях организма [13]. Это заключительный этап синтеза заменимых аминокислот, если они в данный момент необходимы клеткам. Неопластическая клетка обладает активной пролиферативной способностью. Для обеспечения метаболизма, деления и созревания ей необходимо больше как заменимых, так и незаменимых аминокислот. Таким образом, в данном случае, при неходжкинской лимфоме повышение активности аминотрансфераз в комплексе с повышенным уровнем аминокислот можно рассматривать как отражение постоянного удовлетворения активного потребления аминокислот раковыми клетками. Данную гипотезу подтверждает рассчитанный уровень корреляции между АлАТ, АсАТ, ГГТ и аминокислотом соответственно. Коэффициент корреляции между повышением аминокислоты и АлАТ составил

$r = 0,3$ (p < 0,90); между аминокислотой и АсАТ — $r = 0,4$ (p < 0,00).

Так как в группе больных с неходжкинскими лимфомами в некоторых случаях встречались пациенты с патологией печени, то был проведен анализ корреляционной связи между такими показателями, как ГГТ, ЩФ и аминокислоты, поскольку гамма-глутамилтрансфераза и ЩФ неспецифично повышаются при любой патологии печени, желчного пузыря и холестаза. Корреляционная связь в паре ГГТ и ЩФ составила $r = 0,19$ (p < 0,00); ГГТ и аминокислоты — $r = 0,3$ (p < 0,00). Также была рассчитана корреляционная связь между ГГТ и АлАТ — $r = 0,2$ (p < 0,90); ГГТ и АсАТ — $r = 0,3$ (p < 0,00);

Можно предположить, что статистически значимое увеличение активности «печеночных» трансаминаз не обусловлено исключительно патологией печени, желчного пузыря и его протока. Повышение данных ферментов может отражать общую картину активного патологического процесса в организме.

Аминотрансферазы ГГТ, АсАт, АлАт являются цитозольными и митохондриальными ферментами клеток. Их выход во внеклеточное пространство происходит за счет увеличения проницаемости клеточной стенки или при ее цитолизе. Повышение активности данных аминотрансфераз в слюне или крови отражает агрессивность патологического процесса. Трансаминирование происходит не только в печени, но и во многих других тканях организма. Выдвигается предположение, что за счет активной пролиферации и метаболизма неопластических клеток с аберрантным генетическим материалом (в нашем исследовании это наблюдалось при неходжкинской лимфоме) нарушается клеточный гомеостаз. В результате нарушения гомеостаза у неопластических клеток может увеличиться проницаемость клеточной мембраны, ионы и вода устремляются внутрь, затем клетка набухает и подвергается лизису, что приводит к выходу внутриклеточных структур и компонентов, тем самым повреждаются близлежащие клетки, а также возникает неспецифический иммунный ответ. За счет этого мы можем наблюдать повышение внутриклеточных трансаминаз (АсАТ, АлАТ и ГГТ) [14].

С практической точки зрения дальнейшее изучение активности показателя аминокислоты вместе с аминотрансферазами может быть применено для диагностики скрытых агрессивных патологических процессов на ранних стадиях еще до проявления отягощенной клинической симптоматики.

Необходимо провести еще ряд исследований, в которых будет проводиться анализ повышения аминокислоты, ГГТ, АсАт и АлАт у пациентов: только с патологией печени без ЗНО; с ЗНО, но без патологии печени. Также стоит изучить степень повышения аминокислоты и аминотрансфераз при других типах злокачественных новообразований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в соответствии с полученными данными можно сделать вывод: увеличение содержания аминокислоты вместе с активностью аминотрансфераз отражает перераспределение аминокислоты и усиленный синтез новых заменимых аминокислот, необходимых неопластическим клеткам в качестве строительного материала при пролиферации клеток. Повышение содержания внутриклеточных ферментов во внеклеточном пространстве отражает агрессивный цитолитический процесс. Исходя из вышесказанного, наличие биохимических данных, отражающих одновременно активную пролиферацию (аминокислота) и при

этом цитолитические процессы (внутриклеточные трансаминазы), при отсутствии инфекционного агента, но в совокупности с определенными жалобами пациента можно использовать как показатель скрытого агрессивного патологического процесса, а также вовремя заподозрить неоплазию.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors stated no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году. / Под ред. А. Д. Каприна, В. В. Старинского, А. О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П. А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022, илл. 239 с. ISBN 978-5-85502-275-9.
2. Клинические рекомендации: Агрессивные нефолликулярные лимфомы — диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, первичная медиастинальная В-клеточная лимфома, лимфома Беркитта. / Ред. совет: И. В. Поддубная, Е. Н. Паровичникова, А. Д. Каприн, С. Р. Варфоломеева. 2022. 221 с.
3. Клинические рекомендации: Лимфома Ходжкина. / Ред. совет: Общероссийский национальный союз «Ассоциация онкологов России», Российское общество онкогематологов, Национальное гематологическое общество, Национальное общество детских гематологов и онкологов. 2022. 473 с.
4. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med.* 2010; 4(1): 171–89.
5. Loo JA, Yan W, Ramachandran P, Wong DT. Comparative human salivary and plasma Proteomes. *J Dent Res.* 2010; 89 (10): 1016–23.
6. Franco-Martínez L, Hernández JMG, Horvatić A, et al. Differences on salivary proteome at rest and in response to an acute exercise in men and women: A pilot study. *Journal of Proteomics.* 2020; 214: 103629.
7. Hartenbach FARR, Velasquez É, Nogueira FCS., et al. Proteomic analysis of whole saliva in chronic periodontitis. *Journal of Proteomics.* 2020; 213: 103602.
8. Millea KM, Krull IS, Chakraborty AB, et al. Comparative profiling of human saliva by intact protein LC/ESI-TOF mass spectrometry. *Biochim. Biophys. Acta.* 2007; 1774 (7): 897–906.
9. Sembler-Møller ML, Belstrøm D, Locht H, Pedersen AML. Proteomics of saliva, plasma, and salivary gland tissue in Sjögren's syndrome and non-Sjögren patients identify novel biomarker candidates. *Journal of Proteomics.* 2020; 225: 103877.

10. Schulz BL, Cooper-White J, Punyadeera CK. Saliva proteome research: current status and future outlook. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2013; 33 (3): 246–259.
11. Thomadaki K, Helmerhorst EJ, Tian N, et al. Whole-saliva proteolysis and its impact on salivary diagnostics. *J. Dent. Res.* 2011; 90 (11): 1325–1330.
12. Lieu EL, Nguyen T, Rhyne S, Kim J. Amino acids in cancer. *Official journal of the Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology/Experimental & Molecular Medicine.* 2020; 52: 15–30. doi.org/10.1038/s12276-020-0375-3.
13. Hensley CT, Wasti AT, DeBerardinis RJ. Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *J. Clin. Investig.* 2013; 123, 3678–3684.
14. Green CR, et al. Branched-chain amino acid catabolism fuels adipocyte differentiation and lipogenesis. *Nat. Chem. Biol.* 2016; 12, 15–21.
15. Stagg J, Smyth MJ. *Oncogene*, 2010, Vol. 29, pp. 5346–5358.
16. Yang L, Venneti S, Nagrath D. Glutaminolysis: a hallmark of cancer metabolism. *Annu Rev. Biomed. Eng.* 2017; 19, 163–194.
17. Locasale JW. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle. *Nat. Rev. Cancer.* 2013; 13, 572–583.

Информация об авторах:

Дьяченко Елена Игоревна, врач-ординатор 2 курса по специальности «клиническая лабораторная диагностика» ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории биохимии, ФГБОУ ВО «ОмГПУ»;

Бельская Людмила Владимировна, к.х.н., заведующий научно-исследовательской лабораторией биохимии, ФГБОУ ВО «ОмГПУ».

Authors information:

Dyachenko Elena I., resident doctor of the 2nd course in the specialty of clinical laboratory diagnostics Almazov National Medical Research Centre; Junior Researcher, Biochemistry Research Laboratory, Omsk State Pedagogical University;

Bel'skaya Lyudmila V., PhD, Head of Laboratory, Biochemistry Research Laboratory, Omsk State Pedagogical University.