

М.А. Барсукова¹, Е.В. Хомутова^{2,3}, Е.В. Хомутов¹

Вклад лактат- и фосфат-анионов в буферные свойства тканевых гомогенатов при аденокарциноме молочной железы

¹ГОО ВПО Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького,

²ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко»,

³ГО ВПО «Донецкий национальный университет экономики и торговли им. Михаила Туган-Барановского», Донецк

В статье рассмотрена роль сопряженных пар молочная кислота/лактат-анион (LacH/Lac^-) и дигидрофосфат-анион/гидрофосфат-анион ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$) в формировании буферных свойств ткани как фактора, определяющего pH. Буферные свойства гомогенатов ткани аденокарциномы молочной железы и смежной с ней ткани были количественно охарактеризованы буферной емкостью, которую определяли методом потенциометрического титрования, а концентрации анионов кислот определяли спектрофотометрически. Материалом послужили биоптаты аденокарциномы молочной железы (T1-4, N0-1, M0) и смежной с ней ткани 22 пациентов в возрасте от 33 до 75 лет. Обнаружено, что буферная емкость опухолей в 2,5 раза выше чем в нормальной ткани. Установлено, что для опухолевой ткани буферная емкость системы LacH/Lac^- в 3 раза больше, а системы $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ в 2,5 раз больше, чем для нормальной нетрансформированной ткани. Концентрация лактат-анионов ($1,93 \pm 0,50$ vs $0,57 \pm 0,22$; $p < 0,001$) и фосфат-анионов ($2,54 \pm 0,39$ vs $0,70 \pm 0,19$; $p < 0,001$) в гомогенатах опухолевой ткани также достоверно больше их количества в смежной ткани. Обнаружена сильная корреляционная связь между концентрацией фосфат-анионов и величиной буферной емкости для опухолевой ткани ($r = 0,857$; $p = 0,002$) и для смежной ткани ($r = 0,917$; $p < 0,001$). Корреляция между концентрацией лактат-анионов и буферной емкостью для опухолевых тканей может быть оценена как средняя ($r = 0,626$; $p = 0,053$), в то время как для смежной ткани она отсутствует ($r = 0,494$; $p = 0,147$). Полученные результаты дают основание предположить, что кислотно-основные свойства гомогенатов тканей аденокарциномы молочной железы определяются двумя буферными системами LacH/Lac^- и $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$, в то время как кислотно-основной гомеостаз нетрансформированных тканей в основном определяется системой $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$.

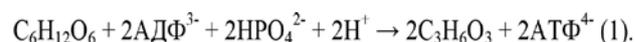
Ключевые слова: аденокарцинома, ацидоз, буферная емкость, лактат

Введение

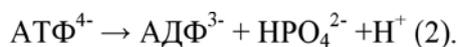
Рак молочной железы занимает лидирующие позиции в онкологической заболеваемости [1]. Обширные, разноплановые исследования механизмов малигнизации и опухолевой прогрессии акцентируют внимание на изменение метаболического профиля опухолевых клеток [2]. В столь обширное понятие входят многие факторы, в том числе и ацидоз. Так, в 2018 году на широко известном медицинском ресурсе «PubMed» по запросу «acidosis & breast cancer» находится более 4000 статей, посвященных вопросам метаболического ацидоза опухолей. Особое внимание уделяется ацидозу не случайно: изменение кислотно-основного состояния запускает различные механизмы опухолевой прогрессии, способствует инвазии и метастазированию [3]. Так, в первую очередь, ацидоз влияет на ферментный профиль опухоли. Свойства белков могут существенно меняться в случае изменения состояния ионизации связыванием или высвобождением свободных протонов H^+ [4].

Исследования с использованием pH-чувствительных контрастных агентов для МРТ показали, что pH межклеточной среды опухолей значительно ниже (6,6–7,0) в сравнении со здоровыми тканями (7,2–7,4) [5, 6]. По данным [7, 8] такой ацидоз обусловлен сочетанием плохой сосудистой перфузии, региональной гипоксии, интенсификацией гликолиза (эффект Варбурга — Кребтри) с сопутствующей гиперпродукцией молочной кислоты.

Однако, исходя из суммарного уравнения гликолиза (1) с учетом стехиометрии и сохранения заряда при физиологических значениях pH в реакции расходуется два протона и образуются две нейтральные молекулы достаточно слабой молочной кислоты:



Поэтому гликолиз не может являться источником протонов, создающих ацидоз, в то время как генерация избыточных протонов происходит при гидролизе АТФ в ходе клеточных реакций, требующих затрат энергии [8]:



Время жизни АТФ в клетке не превышает нескольких сотен секунд [9], и по его истечении высвободившиеся протоны снижают рН среды. В этом ключе именно АТФ можно рассматривать как промежуточный продукт между гликолизом и клеточными реакциями с затратами АТФ.

Постоянство кислотно-основного баланса биологических жидкостей человеческого организма достигается совместным действием различных буферных систем. Механизмы компенсации метаболического ацидоза включают обменные реакции, в результате которых избыток H^+ нейтрализуется с образованием нейтральных молекул [10]. Поскольку в опухолях наблюдается стойкое снижение рН, справедливо будет предположить, что механизмы компенсации не способны полностью устранить избыток H^+ .

Для опухолей принципиально характерна интенсификация катаболических процессов: совместно с усилением гидролиза АТФ в опухолевых клетках отмечается также увеличение экспрессии эктонуклеотидаз (CD39 и CD73) [11, 12]. Результатом их действия является накопление продуктов катаболизма нуклеозидфосфатов [2], в том числе аденозина и фосфат-анионов (H_2PO_4^-).

Учитывая усиление катаболических процессов в опухолевых тканях, в частности гликолиза, а также увеличение гидролиза аденозинфосфорных кислот, можно допустить формирование собственной буферной системы опухолей, состоящей в основной из сопряженных пар молочная кислота/лактат (LacH/Lac^-) и дигидрофосфат/гидрофосфат ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$). Количественной характеристикой буферных свойств растворов является буферная емкость (β). Величину β многокомпонентной системы, образованной слабыми кислотами и их анионами, можно теоретически рассчитать путем дифференцирования условий равновесия, электронейтральности и материального баланса и выразить через уравнение (3):

$$\beta = \beta_{\text{H}_2\text{O}} + \beta_{\text{HА}_1} + \dots + \beta_{\text{HА}_3} = 2,303 \left(\left[\text{H}^+ \right] + \frac{K_{\text{H}_2\text{O}}}{\left[\text{H}^+ \right]} + \frac{c_1 K_1 \left[\text{H}^+ \right]}{\left(K_1 + \left[\text{H}^+ \right] \right)^2} + \dots + \frac{c_i K_i \left[\text{H}^+ \right]}{\left(K_i + \left[\text{H}^+ \right] \right)^2} \right) \quad (3),$$

где $\beta_{\text{HА}_n}$ — значение буферной емкости индивидуальной буферной системы многокомпонентного раствора,

$\beta_{\text{H}_2\text{O}}$ — буферная емкость воды,

$K_{\text{H}_2\text{O}}$ — константа автопротолиза воды,

c — концентрация индивидуальной буферной системы многокомпонентного раствора,

K_i — константа диссоциации индивидуального буферного вещества многокомпонентного раствора.

Из уравнения видно, что буферная емкость многокомпонентных систем является величиной аддитивной, и на буферную емкость системы в любом диапазоне рН будут оказывать влияния все компоненты раствора. Таким образом, аддитивность буферной емкости многокомпонентной системы опухоли может являться препятствующим механизмом нормализации рН в опухолевом узле.

Целью настоящего исследования было изучение роли лактат-анионов и фосфат-анионов в формировании буферных свойств тканей аденокарциномы молочной железы и окружающей, не трансформированной нормальной ткани.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования был выбран операционный материал — биоптаты аденокарциномы молочной железы (Т1-4, N0-1, M0) и смежной, не трансформированной ткани 22 пациентов в возрасте от 33 до 75 лет. Образцы были предоставлены Онкохирургическим отделением №2 Республиканского онкологического центра имени профессора Г.В. Бондаря.

Пробоподготовка биологического материала

Навески тканей гомогенизировали механически при температуре 0°C с добавлением 0,9% раствора NaCl в соотношении 1:4. Затем, с целью удаления жировой фракции и осаждения не разрушенных элементов, центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин.

Концентрации лактат- и фосфат-анионов определяли спектрофотометрически с использованием набора реагентов производства фирмы «Ольвекс Диагностикум» Россия, измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре SPECORD 200 PLUS.

Поскольку биологические жидкости и тканевые гомогенаты с химической точки зрения являются сложными многокомпонентными растворами, потенциометрическое титрование представляется наиболее простым, прямым и эффективным методом исследования качественного состава буферных компонентов в биологических жидкостях и тканевых гомогенатах [13].

Исследование проводили методом потенциометрического титрования на рН-метре Mettler Toledo MP220 с комбинированным электродом.

Непосредственно перед титрованием приготовленный ранее тканевой гомогенат смешивали со 100% ацетонитрилом в пропорции 1:2. Смесь выдерживали 30 минут при температуре $+4^\circ\text{C}$, затем центрифугировали 15 минут при 3000 об./мин. Фиксированный объем супернатанта (10 мл) доводили до рН 3 добавлением 0,1 М раствора HCl.

В роли титранта использовали 0,01 М раствор NaOH, приготовленный непосредственно перед титрованием. Титрант добавляли с шагом 0,1 мл.

Количественно буферные свойства выражали через буферную емкость (β), рассчитанную по формуле (2):

$$\beta = \frac{C_{a(b)} \cdot \Delta V}{\Delta \text{pH} \cdot V_T} \quad (4)$$

где $C_{a(b)}$ — молярная концентрация титранта (NaOH); V_T — объем исходного образца гомогената (в мл);

ΔV — объем добавленного титранта (в мл);
 ΔpH — соответствующее изменение pH раствора.

Суммарное значение буферной емкости гомогенатов в заданных интервалах рассчитывали путем интегрирования кривой буферной емкости от pH по методу Симпсона. Полученные результаты проверены на соответствие закону нормального распределения по критерию Шапиро-Уилка ($p > 0,1$) и обработаны методами параметрической статистики (п.о. STATISTICA 10).

Результаты и обсуждение

Так как целью работы было изучение вклада небелковых компонентов в формирование буферной емкости биологических образцов, то гомогенаты тканей обрабатывали ацетонитрилом. Он позволяет осадить из образцов белковые молекулы, проявляющие собственные буферные свойства и препятствующие корректному определению буферной емкости системы $LacH/Lac^-$ по причине близких значений рКа.

В то же время ацетонитрил, как апротонный растворитель со сравнительно высокой диэлектрической проницаемостью ($\epsilon=38$), изменяет значения рКа лактат-анионов и фосфат-анионов, и, соответственно, их областей буферирования. Для количественной оценки этого эффекта в присутствии ацетонитрила был приготовлен модельный раствор: к 4 мл смеси, состоящей из 10 ммоль/л молочной кислоты и 20 ммоль/л

ортофосфорной кислоты, добавили 8 мл 100% ацетонитрила. Полученный модельный раствор титровали вышеописанным методом (рис. 1).

Термодинамическое значение рКа молочной кислоты равно 3,83, а рКа₂ фосфорной кислоты — 7,21 [14]. Однако, в присутствии органических растворителей рКа увеличивается в силу изменения диэлектрической проницаемости среды [15]. Анализ кривой титрования модельного раствора показывает: добавление ацетонитрила смещает значения рКа молочной кислоты до значения 4,8, а рКа₂ фосфорной кислоты до 7,9. В общем случае, внесение ацетонитрила в раствор смещает рКа веществ и измеряемую величину pH для гомогенатов на 1,0 в щелочную сторону.

Так, на рис. 1 максимум в диапазоне значений pH 3–4 соответствует рКа₁ фосфорной кислоты, максимум в области pH 4,3–5,3 соответствует рКа молочной кислоты, максимум в области значений pH 7,4–8,9 соответствует рКа₂ фосфорной кислоты. Интерпретируя кривые буферной емкости тканевых гомогенатов, допустимо трактовать значения β в вышеописанных диапазонах как буферные свойства системы $LacH/Lac^-$ и $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ (рис. 2).

Результаты расчета общей суммарной буферной емкости (в диапазоне pH 3–9), а также pH гомогенатов при добавлении ацетонитрила приведены в табл. 1.

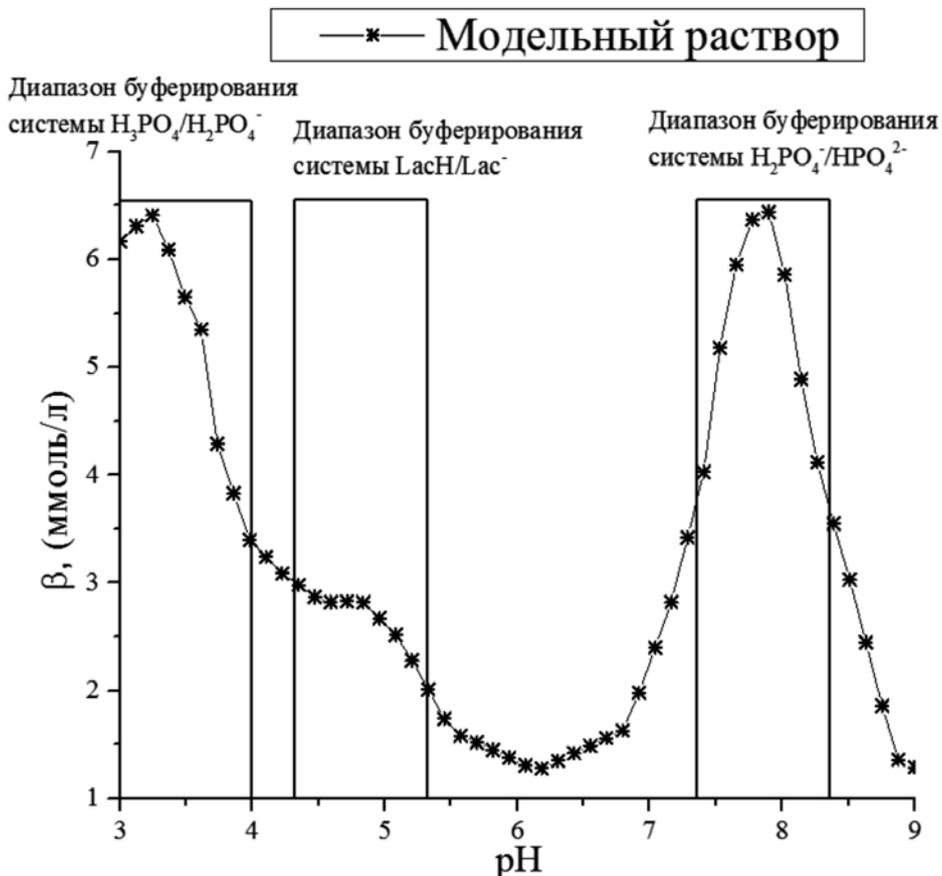


Рис. 1. Кривая буферной емкости модельного раствора

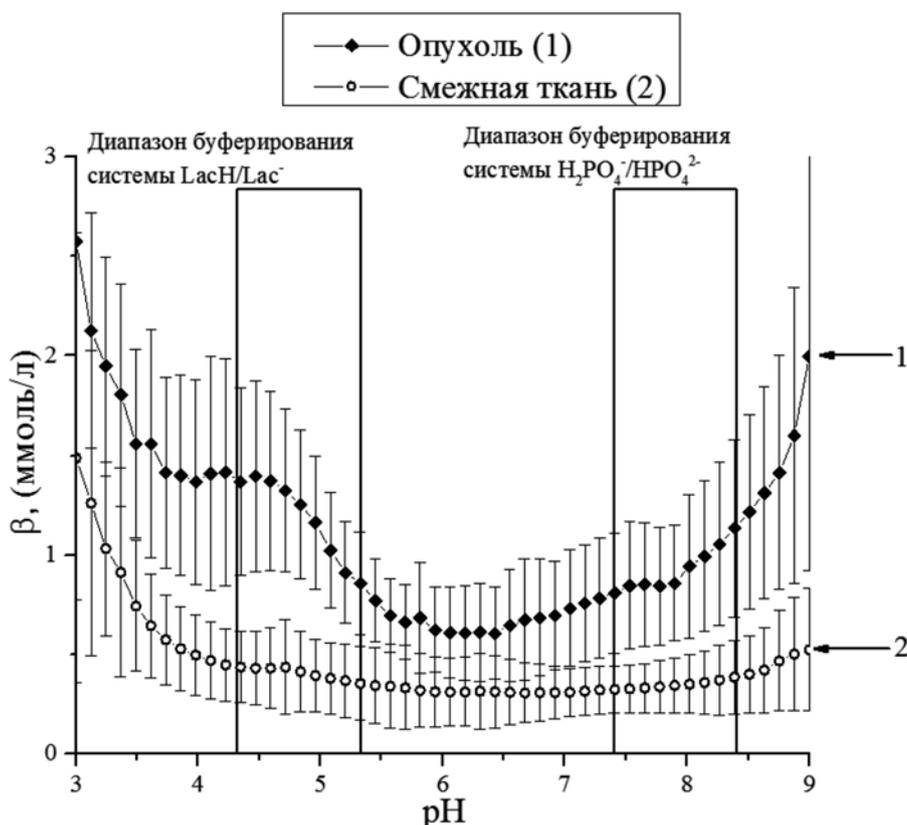


Рис. 2. Кривые буферной емкости гомогенатов опухолевой (1) и смежной ткани (2) (ммоль/л)

Таблица 1. Кислотно-основные параметры гомогенатов смежной и опухолевой тканей (M±σ)

Образец	pH гомогенатов	Суммарная β (ммоль/л) в диапазоне pH 3–9
Смежная ткань	7,95±0,19	2,60±0,88
Опухоль	7,42±0,31	6,51±1,99

t-Критерий Стьюдента p<0,001 p=0,003

Из табл. 1 видно, что pH гомогенатов опухолевых узлов достоверно ниже, чем в смежной ткани, но суммарная β опухолевой ткани в 2,5 раза выше. Полученные результаты не противоречат гипотезе о неспособности компенсаторных механизмов адекватно нивелировать накопление H⁺ и подтверждают наличие в опухоли повышенного содержания продуктов катаболизма.

Суммарную буферную емкость биоптатов смежной и опухолевой ткани оценивали в описанном ранее диапазоне pH (4,3–5,3 для лактат-анионов и 7,4–8,4 для фосфат-анионов).

На рисунке 3 приведено распределение тестируемых образцов опухолевой и смежной ткани по показателям суммарных значений β в диапазонах буферирования лактат-анионов (а) и фосфат-анионов (б).

Как видно из рис. 3, значения β биоптатов опухолевых узлов отличаются большей вариабельностью в сравнении со смежной тканью и превышают их в 3 раза для лактат-анионов и 2,5 для фосфат-анионов.

Концентрации указанных метаболитов опухолевых узлов (для 10 случаев), как и в случае с β, отличаются большей вариабельностью, нежели в смежной ткани, и превышают их в 3,7 раз для лактат-анионов и 3,4 для фосфат-анионов. Исходя из гистологических заключений о типах исследованных опухолей подобный разброс можно объяснить опухолевой гетерогенностью. В результате клеточного разнообразия в пределах одной опухоли, внутриопухолевая гетерогенность проявляется в неоднородности генетического и эпигенетического статусов, генной и белковой экспрессии, морфологического строения и других характеристик опухоли [16]. Значительная часть образцов относилась ко II стадии рака молочной железы (T2 в 72,7% случаев). Отсутствие поражения регионарных лимфоузлов отмечено в 54,5% случаев (N0). Касательно степени анаплазии, высокодифференцированный рак G1 был зарегистрирован всего в 13,6% случаев. Превалирующую часть опухолей охарактеризовали как умеренно (G2 – 31,8%) и низкодифференцированный рак (G3 – 54,5%).

Как результат, значительная вариабельность значений как буферной емкости, так и концентраций низкомолекулярных метаболитов, определяется межиндивидуальными различиями опухолей. При этом, в каждом отдельном случае, сохраняется соотношение исследуемых величин.

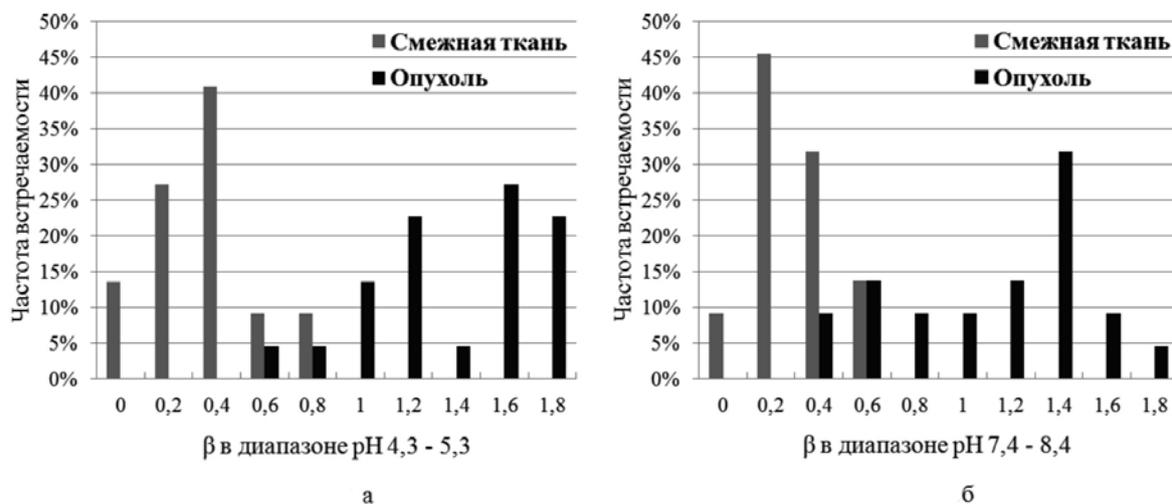


Рис. 3. Распределение тестируемых образцов по буферной емкости в диапазоне лактат- анионов (рис. 3.а) и фосфат-анионов (рис. 3.б)

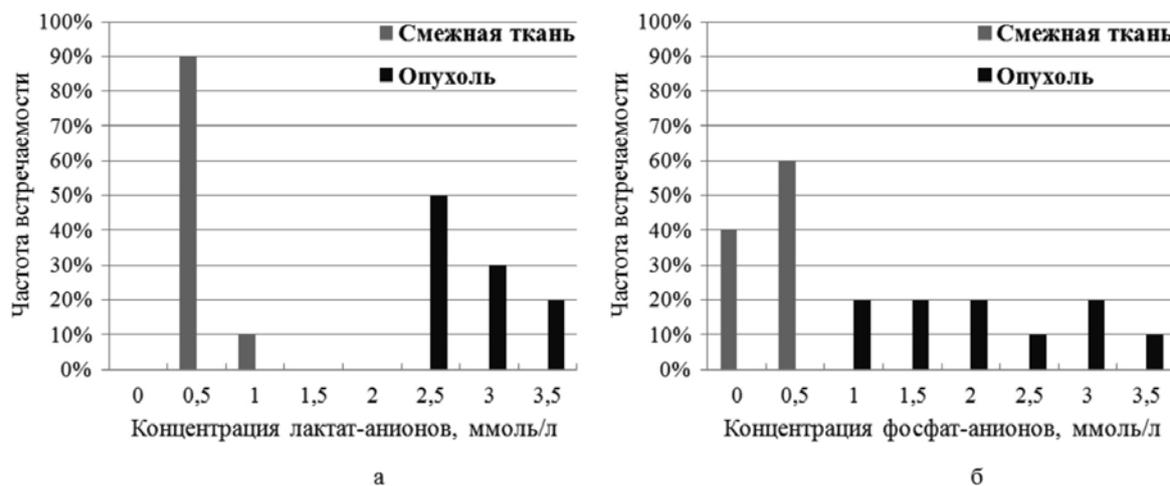


Рис. 4. Распределение тестируемых образцов по концентрации в диапазоне лактат- анионов (рис. 4.а) и фосфат-анионов (рис. 4.б)

Таблица 2. Значения суммарной буферной емкости и концентрации лактат- и фосфат-анионов (M±σ)

Образец	Суммарная β в диапазоне pH LacH/Lac ⁻ (4,3–5,3), ммоль/л	Суммарная β в диапазоне pH H ₂ PO ₄ ⁻ /HPO ₄ ²⁻ (7,4–8,4), ммоль/л	Концентрация лактат-анионов, ммоль/л	Концентрация фосфат-анионов, ммоль/л
Смежная ткань	0,43±0,20	0,40±0,18	0,57±0,22	0,70±0,19
Опухоль	1,29±0,35	1,02±0,39	1,93±0,50	2,54±0,39
t-Критерий Стьюдента	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

Чтобы определить вклад лактат- и фосфат-анионов в формирование суммарной β, концентрации вышеуказанных анионов были определены независимым спектрофотометрическим методом. Результаты определения суммарной β и концентраций исследуемых анионов в исследуемых образцах приведены в табл. 2.

Для выяснения вклада лактат- и фосфат-анионов в формирование буферных свойств исследуемых биологических образцов был рассчитан коэффициент корреляции Пирсона (r-Пирсона) концентраций анионов и соответствующих им диапазонов β.

Коэффициент корреляции, описывающий вклад лактат-анионов в буферные свойства смежной ткани, демонстрирует незначительность их вклада по причине слабого типа связи и недостоверности (r=0,494; p=0,147). Наличие сильной корреляции (r=0,917; p<0,001) свидетельствует о преимущественном вкладе фосфат-анионов в буферные свойства смежной ткани, что еще раз подчеркивает важность фосфатного буфера в формирование внутриклеточного гомеостаза.

Для образцов опухолей обнаружена средняя корреляционная связь между концентрацией

лактат-анионов и β в диапазоне буферирования 4,3–5,3 ($r=0,626$; $p=0,053$). Отсутствие сильной корреляционной связи в диапазоне буферирования лактат-анионов вероятно связано с вкладом других веществ, проявляющих собственные буферные свойства в данном диапазоне. Относительно концентрации фосфат-анионов и β в области буферирования 7,4–8,4 мы наблюдаем сильную связь ($r=0,857$; $p=0,002$).

Результаты могут быть объяснены усилением катаболических процессов в опухоли [2], и указывают на наличие как минимум двух гомеостатических буферных систем в тканях аденокарциномы молочной железы.

Из вышеизложенного можно заключить, что кислотно-основные свойства гомогенатов тканей аденокарциномы молочной железы определяются двумя буферными системами LacH/Lac^- и $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$, в то время как кислотно-основный гомеостаз в нетрансформированных тканях в основном определяется системой $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$.

Выводы

1. Суммарная буферная емкость опухолевых узлов в 2,5 раза выше буферной емкости смежной ткани. Показано, что для опухолевой ткани свойственно ацидотическое микроокружение, индуцированное накоплением низкомолекулярных метаболитов.

2. Установлено, что для опухолевой ткани буферная емкость системы LacH/Lac^- в 3 раза больше, а буферная емкость системы $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ в 2,5 раз больше, чем для нетрансформированной ткани. Концентрация лактат-анионов ($1,93 \pm 0,50$ vs $0,57 \pm 0,22$, $p < 0,001$) и фосфат-анионов ($2,54 \pm 0,39$ vs $0,70 \pm 0,19$, $p < 0,001$) в гомогенатах опухолевой ткани также достоверно больше их количества в смежной ткани.

3. Обнаружена сильная корреляционная связь между концентрацией фосфат-анионов и величиной буферной емкости для опухолевой ткани ($r=0,857$; $p=0,002$) и для смежной ткани ($r=0,917$; $p < 0,001$). Корреляция между концентрацией лактат-анионов и буферной емкостью для опухолевых тканей может быть оценена как средняя ($r=0,626$; $p=0,053$), в то время как для смежной ткани она отсутствует ($r=0,494$; $p=0,147$). Кислотно-основные свойства гомогенатов тканей аденокарциномы молочной железы определяются двумя буферными системами LacH/Lac^- и $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$, в то время как кислотно-основный гомеостаз в нетрансформированных тканях в основном определяется системой $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

- Hortobagyi G., de la Garza Salazar J., Pritchard K. et al. The Global Breast Cancer Burden: Variations in Epidemiology and Survival // Clin. Breast. Cancer. — 2005. — Vol. 6(5). — P. 391-401. — doi:10.3816/cbc.2005.n.043.
- DeBerardinis R., Chandel N. Fundamentals of cancer metabolism // Sci. Adv. — 2016. — Vol. 2(5). — e1600200. — doi:10.1126/sciadv.1600200.
- Yuan Y., Jiang Y., Sun C., Chen Q. Role of the tumor microenvironment in tumor progression and the clinical applications (Review) // Oncol Rep. — 2016. — Vol. 35(5). — P. 2499-2515. — doi:10.3892/or.2016.4660.
- Schönichen A., Webb B., Jacobson M., Barber D. Considering Protonation as a Posttranslational Modification Regulating Protein Structure and Function // Annu Rev Biophys. — 2013. — Vol. 42(1). — P. 289-314. — doi:10.1146/annurev-biophys-050511-102349.
- Gillies R., Raghunand N., Garcia-Martin M., Gatenby R. pH imaging. A review of pH measurement methods and applications in cancers // IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine. — 2004. — Vol. 23(5). — P. 57-64. — doi:10.1109/memb.2004.1360409.
- Helmlinger G., Yuan F., Dellian M., Jain R. Interstitial pH and pO₂ gradients in solid tumors in vivo: High-resolution measurements reveal a lack of correlation // Nat Med. — 1997. — Vol. 3(2). — P. 177-182. — doi:10.1038/nm0297-177.
- Gillies R., Gatenby R. Adaptive landscapes and emergent phenotypes: why do cancers have high glycolysis? // J. Bioenerg Biomembr. — 2007. — Vol. 39(3). — P. 251-257. — doi:10.1007/s10863-007-9085-y.
- Swietach P., Vaughan-Jones R., Harris A., Hulikova A. The chemistry, physiology and pathology of pH in cancer // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. — 2014. — Vol. 369(1638). — P. 20130099-20130099. — doi:10.1098/rstb.2013.0099.
- Skog S., Tribukait B., Sundius G. Energy metabolism and ATP turnover time during the cell cycle of Ehrlich ascites tumour cells // Exp Cell Res. — 1982. — Vol. 141(1). — P. 23-29. — doi:10.1016/0014-4827(82)90063-5.
- Литвицкий П.Ф. Нарушения кислотно-основного состояния // Вопросы современной педиатрии. — 2011. — Т. 10(1) — С. 83-92.
- Zhang B. CD73 promotes tumor growth and metastasis // Oncoimmunology. — 2012. — Vol. 1(1). — P. 67-70. — doi:10.4161/onci.1.1.18068.
- Jiang T., Xu X., Qiao M. et al. Comprehensive evaluation of NT5E/CD73 expression and its prognostic significance in distinct types of cancers // BMC Cancer. — 2018. — Vol. 18(1). — doi:10.1186/s12885-018-4073-7.
- Билобров В.М., Хомутова Е.В. Определение буферных свойств растворов, моделирующих биологические жидкости // Вестник Донецкого национального университета. — 2009. — Естественные науки (1). — С. 285-289.
- Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. — М.: Химия, 1979.
- Reichardt C., Welton T. Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry. 4th Ed. By Christian Reichardt and Thomas Welton // Angewandte Chemie International Edition. — 2011. — Vol. 50(48). — doi:10.1002/anie.201105531.

16. Герашенко Т.С., Денисов Е.В., Литвяков Н.В. и др. Внутритрохолевая гетерогенность: природа и биологическое значение // Биохимия. — 2013. — № 78 (11). — С. 1531-1549.

Поступила в редакцию 28.01.2019 г.

M.A. Barsukova¹, E.V. Khomutova^{2,3}, E.V. Khomutov¹

The contribution of lactate and phosphate anions to the buffer properties of tissue homogenates of breast adenocarcinoma

¹Donetsk National Medical University,

²L.M. Litvinenko Institute of Physical Organic and Coal Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine,

³Donetsk National University of Economics and Trade after M. Tugan-Baranovsky, Donetsk

The article discusses the role of conjugated lactic acid/lactate anion (LacH/Lac⁻) and dihydrogenphosphate anion/hydrogenphosphate anion (H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻) pairs in the formation of the buffer properties of tissue as a factor determining pH. The buffer properties of homogenates of the tissue of adenocarcinoma of the mammary gland and the adjacent tissue were quantitatively characterized by the buffer capacity which was determined by potentiometric titration. The concentrations of acid anions were determined spectrophotometrically. The material was biopsy specimens of mammary gland adenocarcinoma (T1-4, N0-1, M0) and adjacent tissue of 22 patients aged from 33 to 75 years. It was found that the buffer capacity of tumors is in 2.5 times higher than in normal tissue. It was established that for the tumor tissue, the buffer capacity of the LacH/Lac⁻ system is in 3 times higher, and the buffer capacity of the H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻ system is in 2.5 times greater than for normal untransformed tissue. Concentrations of lactate anions (1,93 ± 0,50 vs 0,57 ± 0,22; p < 0,001) and phosphate anions (2,54 ± 0,39 vs 0,70 ± 0,19; p < 0,001) in homogenates of the tumor tissue were significantly higher in tumor tissue in comparison with the adjacent tissue. A strong correlation was found between the concentration of phosphate anions and the buffer capacity for tumor tissue (r = 0,857; p = 0,002) and for adjacent tissue (r = 0,917; p < 0,001). The correlation between the concentration of lactate anions and the buffer capacity for tumor tissues can be estimated as average (r = 0,626; p = 0,053), while it is absent for the adjacent tissue (r = 0,494; p = 0,147). The results suggest that the acid-base properties of homogenates of mammary adenocarcinoma tissues are determined by two buffer systems: LacH/Lac⁻ and H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻, while the intracellular acid-base homeostasis of non-transformed tissues is mainly determined by the H₂PO₄⁻/HPO₄²⁻ system.

Key words: adenocarcinoma, acidosis, buffer capacity, lactate