

Бельская Л.В.¹, Косенок В.К.², Массард Ж.³

СИСТЕМА ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ СЛЮНЫ ПРИ РАКЕ ЛЁГКОГО

¹Омский государственный педагогический университет, 644043, Омск;

²Омский государственный медицинский университет, 644099, Омск;

³Университетская больница Страсбурга, 67091, Страсбург, Франция

Цель исследования – изучение показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в слюне при раке лёгкого различных гистологических типов. В исследовании случай – контроль приняли участие 740 добровольцев, которые были разделены на три группы: основную (рак лёгкого, n = 347), группу сравнения (незлокачественные лёгочные патологии, n = 178) и контрольную (условно здоровые, n = 215). Всем участникам было проведено анкетирование, биохимическое исследование слюны, гистологическая верификация диагноза. Параметры липопероксидации и антиоксидантной защиты определены спектрофотометрически. Межгрупповые различия оценены непараметрическим критерием. На фоне рака лёгких наблюдается развитие окислительного стресса, что проявляется повышением уровня продуктов липопероксидации, а также снижением антиоксидантной защиты в слюне. Показано, что активность ферментов первого звена антиоксидантной защиты существенно снижается ($p < 0,0001$), тогда как активность пероксидаз слюны повышается ($p = 0,0037$). Показатели неферментативной защиты меняются разнонаправленно: уровень мочевой кислоты при заболеваниях лёгких снижается ($p = 0,0399$), тогда как концентрация альбумина растёт, в данных условиях он начинает проявлять прооксидантные свойства. Выявлены различия между немелкоклеточным и нейроэндокринным раком лёгкого по характеру динамики показателей антиоксидантной защиты. В целом, нарушение баланса системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты является результатом нарушения координации иммунометаболических процессов и свидетельствует о снижении приспособительных реакций организма.

Ключевые слова: слюна; рак лёгкого; перекисное окисление липидов; антиоксидантная защита.

Для цитирования: Бельская Л.В., Косенок В.К., Массард Ж. Система перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты слюны при раке лёгкого. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (9): 530-537. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821.0869-2084-2018-63-9-530-537>

Bel'skaya L.V.¹, Kosenok V.K.², Massard Zh.³

THE SYSTEM OF LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION OF SALIVA IN LUNG CANCER

¹Omsk State Pedagogical University, Omsk, 644043, Russian Federation;

²Omsk State Medical University, Omsk, 644099, Russian Federation

³University Hospital of Strasbourg, Strasbourg

The aim of the study was to study the parameters of the lipid peroxidation system and antioxidant protection in saliva in lung cancer of various histological types. In the case-control study, 740 volunteers participated in the study, which were divided into 3 groups: primary (lung cancer, n = 347), comparison group (non-malignant pulmonary pathologies, n = 178) and control (conditionally healthy, n = 215). Questioning, biochemical examination of saliva, histological verification of the diagnosis were conducted to all participants. The parameters of lipoperoxidation and antioxidant protection are determined spectrophotometrically. Intergroup differences are estimated by a nonparametric criterion. Against the background of lung cancer, the development of oxidative stress is observed, which is manifested in the increase in the level of lipid peroxidation products, as well as in the reduction of antioxidant protection in saliva. It is shown that the activity of the enzymes of the first link of antioxidant protection is significantly reduced ($p < 0.0001$), whereas the activity of salivary peroxidases increases ($p = 0.0037$). The parameters of non-enzymatic protection vary in different directions: the level of uric acid in lung pathologies decreases ($p = 0.0399$), whereas albumin concentration increases, under these conditions, it begins to exhibit pro-oxidant properties. Differences between non-small cell and neuroendocrine lung cancer have been revealed by the nature of the dynamics of antioxidant protection indices. In general, the disturbance of the balance of the lipid peroxidation system and antioxidant protection is the result of a disruption in the coordination of immunometabolic processes and indicates a decrease in adaptive reactions of the organism.

Key words: saliva; lung cancer; lipid peroxidation; antioxidant protection.

For citation: Bel'skaya L.V., Kosenok V.K., Massard Zh. The system of lipid peroxidation and antioxidant protection of saliva in lung cancer. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2018; 63 (9): 530-537 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821.0869-2084-2018-63-9-530-537>

For correspondence: Bel'skaya L.V., PhD in Chemistry, Associate Professor; e-mail: ludab2005@mail.ru

Information about authors:

Bel'skaya L.V., <http://orcid.org/0000-0002-6147-4854>

Kosenok V.K., <http://orcid.org/0000-0002-2072-2460>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 08.05.2018
Accepted 25.05.2018

В последние годы широко обсуждается патогенетическая роль свободных радикалов кислорода и инициируемых ими процессов липопероксидации в развитии заболеваний, в том числе онкологических [1–3]. Окислительный стресс проявляется накоплением повреждённых оснований ДНК, продуктов окисления белков и пероксидации липидов, а также снижением уровня антиоксидантов и связанной с этим повышенной восприимчивостью липидов мембран и липопротеинов к действию прооксидантов [4, 5]. В частности, в лёгких окислительный стресс индуцирует модификацию белков, активацию макрофагов и рекрутирование нейтрофилов в центральных и периферических воздухоносных путях, аккумуляцию токсичных продуктов липопероксидации, пероксида водорода, нитрозотиолов и нитратов в мембранах лёгких и крови, а также в выдыхаемом воздухе [6–10]. Кроме того, окислительный стресс может провоцировать гиперплазию слизистых оболочек жёлёз и апоптоз эпителиальных клеток бронхов [11].

Известно, что основную роль в формировании окислительного стресса играют активные формы кислорода и азота, обладающие высокой реакционной способностью и вызывающие, в частности, окислительную модификацию биополимеров (белков, липидов, нуклеиновых кислот, углеводов), что в итоге приводит к нарушению тканевого дыхания во внутренней мембране митохондрий и процессов гидроксирования в микросомах [12]. Система ингибирования избыточного аутоокисления состоит из неферментативного и ферментативного звеньев [13]. К специфическим антиоксидантным ферментам можно отнести супероксиддисмутазу (СОД), каталазу, глутатионпероксидазу, глутатионредуктазу и трансферазы [14, 15]. Эта группа ферментов, локализующихся преимущественно внутриклеточно, обладает способностью разрушать свободные радикалы, а также участвовать в разложении гидроперекисей нерадикальным путём. Среди неферментных антиоксидантов можно выделить мочевую кислоту, аскорбат и альбумины, способные перехватывать избыточно продуцируемые свободные радикалы [16, 17].

Продукты липопероксидации и антиоксидантной защиты традиционно определяют в плазме крови, однако существует возможность использования слюны в качестве субстрата [18–20]. Следует отметить, что исследование слюны имеет преимущества по сравнению с использованием венозной или капиллярной крови, что обусловлено неинвазивностью сбора и отсутствием риска инфицирования при получении биоматериала [21]. При этом слюна адекватно отражает биохимический статус и физиологическое состояние человека, что позволяет использовать её в клинической лабораторной диагностике [22, 23].

Цель исследования – изучение показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в слюне при раке лёгкого различных гистологических типов.

Материал и методы. В исследовании приняли участие добровольцы, которые были разделены на три группы: основную (с диагнозом рак лёгкого), группу сравнения (с незлокачественными заболеваниями лёгких) и контрольную группу (условно здоровые). Основная группа включала пациентов с гистологически подтверждённым диагнозом рак лёгкого (аденокарцинома, плоскоклеточный и нейроэндокринный рак лёгкого). Контрольную группу составили условно здоровые паци-

енты, у которых при проведении плановой диспансеризации не было выявлено патологии лёгких. Включение в группы происходило параллельно. В качестве критериев включения рассматривались: возраст пациентов 30–75 лет, 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 участников до начала лечения проводили забор слюны в количестве 2 мл. Образцы слюны собирали утром натощак путём сплевывания в стерильные пробирки, центрифугировали при 7000 об/мин. Спектрофотометрическими методами определяли содержание субстратов для процессов липопероксидации – диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа по методу И.А. Волчегорского [24], альбумина – по реакции с бромкрезоловым зелёным, мочевой кислоты – уриказным методом с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) [25]. Содержание конечного продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой методом В.Б. Гаврилова [26]. Активность СОД определяли по накоплению продукта автоокисления адреналина супероксидным анион-радикалом в щелочной среде [27], активность каталазы – по методике М.А. Королюка [28]. Антиоксидантную активность (АОА) выявляли по регистрации скорости окисления восстановленной формы 2,6-дихлорфенолиндофенола (2,6-ДХФИФ) кислородом, растворённым в реакционной среде, активность пероксидазы определяли по интенсивности окисления перекиси водорода в присутствии бензидина [29, 30].

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)) и одобрено на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

Статистический анализ выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft, США) и пакета R (версия 3.2.3) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах – U-критерия Манна–Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчёта медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. В исследование включены 525 пациентов Клинического онкологического диспансера г. Омска и 215 практически здоровых людей, выбранных в качестве контрольной группы. Основная группа включала 347 больных раком лёгкого с различными гистологическими типами (плоскоклеточный рак – 116, аденокарцинома – 174, нейроэндокринные опухоли – 57 человек). Группу сравнения составили 178 больных с незлокачественной лёгочной патологией (гамартомы – 77, туберкулёмы – 41, саркоидоз – 29, фибромы – 31 человек). Средний возраст больных составил $59,2 \pm 1,1$ года для основной группы, $56,0 \pm 2,1$ года для группы сравнения и $52,1 \pm 2,5$ года для контрольной группы.

На первом этапе проведена проверка характера распределения и гомогенности дисперсий в группах. Согласно тесту Шапиро–Уилка содержание всех определя-

Показатели системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты слюны

Параметр	Контроль, n = 215 (1)	ДНО, n = 178 (2)	Рак лёгкого, n = 347 (3)
Мочевая кислота, мкмоль/моль	104,76 [46,37; 178,90]	79,64 [32,18; 151,38]	86,54 [36,29; 166,67]
	-	$p_{1-2} = 0,0321$	$p_{1-3} = 0,0399$
Альбумин, ммоль/л	0,298 [0,199; 0,484]	0,309 [0,173; 0,510]	0,317 [0,178; 0,490]
Каталаза, мкат/л	4,85 [3,77; 6,11]	2,94 [2,24; 4,28]	2,69 [2,05; 4,13]
	-	$p_{1-2} < 0,0001$	$p_{1-3} < 0,0001$ $p_{2-3} < 0,0001$
СОД, усл. ед.	63,16 [34,21; 105,26]	60,53 [34,21; 102,63]	60,53 [26,32; 109,21]
Антиоксидантная активность, ммоль/л	1,67 [1,41; 2,14]	1,60 [1,31; 2,14]	1,75 [1,45; 2,08]
Пероксидаза, усл. ед.	0,415 [0,300; 0,790]	0,450 [0,300; 0,860]	0,510 [0,300; 1,080]
	-	-	$p_{1-3} = 0,0037$, $p_{2-3} = 0,0043$
Диеновые конъюгаты, усл. ед.	3,93 [2,89; 4,13]	3,90 [3,79; 4,07]	3,84 [2,88; 4,09]
	-	-	$p_{1-3} < 0,0001$, $p_{2-3} < 0,0001$
Триеновые конъюгаты, усл. ед.	0,894 [0,828; 0,973]	0,954 [0,825; 1,222]	0,979 [0,843; 1,233]
	-	$p_{1-2} < 0,0001$	$p_{1-3} < 0,0001$, $p_{2-3} < 0,0001$
Основания Шиффа, усл. ед.	0,543 [0,508; 0,575]	0,558 [0,495; 0,682]	0,562 [0,504; 0,675]
	-	$p_{1-2} = 0,0253$	$p_{1-3} = 0,0483$
МДА, мкмоль/л	6,75 [5,90; 8,38]	7,18 [5,73; 9,32]	7,35 [5,64; 9,32]

Примечание. ДНО – доброкачественные новообразования легкого.

емых параметров не соответствует нормальному распределению ($p < 0,05$). Проведённый тест на гомогенность дисперсий (тест Баргллетта) в группах позволил отклонить гипотезу, согласно которой дисперсии гомогенны по группам ($p = 0,00017$). Поэтому для обработки полученных данных были применены непараметрические методы статистики.

В ходе проведённых исследований установлено статистически достоверное уменьшение содержания диеновых конъюгатов на фоне одновременного роста уровня триеновых конъюгатов и оснований Шиффа (табл.1). Для подтверждения гипотезы о том, что выявленные изменения обусловлены наличием онкологического заболевания, проведена оценка перечисленных биохимических параметров на фоне незлокачественной опухолевой патологии (группа сравнения). Показано, что при переходе от контрольной группы к группе сравнения, а затем к основной наблюдаются следующие изменения: увеличивается содержание триеновых конъю-

гатов и оснований Шиффа, а также конечного продукта перекисного окисления МДА. В этом же направлении уменьшается содержание диеновых конъюгатов, что подтверждает факт увеличения окислительного стресса как на фоне неопухолевых заболеваний, так и при раке лёгкого. Следует отметить статистически достоверное снижение активности антиоксидантной защиты слюны, причём это отражается как на ферментативном, так и на неферментативном звеньях (см. табл.1). Так, активность каталазы снижается на 39,4 и 44,5%, а концентрация мочевой кислоты уменьшается на 24,0 и 17,4% для группы сравнения и основной группы соответственно.

На следующем этапе исследования проведено изучение показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты для различных гистологических форм рака лёгкого (табл. 2, 3).

Интересно, что содержание МДА как конечного продукта перекисного окисления липидов повышается при всех гистологических типах опухоли, однако отдельные

Таблица 2

Система липопероксидации при раке лёгкого различных гистологических типов

Параметр	Контроль, n=215 (1)	АК, n = 174 (2)	ПРЛ, n = 116 (3)	НЭО, n = 57 (4)
Диеновые конъюгаты, усл. ед.	3,90 [3,79; 4,07]	3,87 [2,99; 4,10]	3,81 [2,82; 4,05]	3,88 [2,85; 4,15]
	-	$p_{1-2} = 0,0036$	$p_{1-3} = 0,0005$	-
Триеновые конъюгаты, усл. ед.	0,894 [0,828; 0,973]	0,946 [0,836; 1,188]	0,985 [0,827; 1,231]	0,961 [0,797; 1,275]
	-	$p_{1-2} = 0,0003$	$p_{1-3} < 0,0001$	$p_{1-4} = 0,0366$
Основания Шиффа, усл. ед.	0,543 [0,508; 0,575]	0,556 [0,503; 0,671]	0,579 [0,513; 0,681]	0,563 [0,503; 0,676]
	-	$p_{1-2} = 0,0420$	$p_{1-3} = 0,0001$	$p_{1-4} = 0,0417$
МДА, мкмоль/л	6,75 [5,90; 8,38]	7,18 [5,81; 9,32]	7,52 [5,64; 9,49]	6,92 [5,77; 9,40]
	-	$p_{1-2} = 0,0012$	$p_{1-3} = 0,0009$	$p_{1-4} = 0,0357$

Примечание. Здесь и в табл. 3: АК – аденокарцинома; ПРЛ – плоскоклеточный рак; НЭО – нейроэндокринные опухоли легкого.

Система антиоксидантной защиты слюны при раке лёгкого различных гистологических типов

Параметр	Контроль, n = 215 (1)	АК, n = 174 (2)	ПРЛ, n = 116 (3)	НЭО, n = 57 (4)
Мочевая кислота, мкмоль/моль	104,76 [46,37; 178,90]	76,92 [34,62; 165,47]	99,77 [45,31; 167,05]	90,73 [25,00; 168,22]
Альбумин, ммоль/л	0,298 [0,199; 0,484]	0,337 [0,183; 0,535]	0,315 [0,178; 0,495]	0,297 [0,172; 0,398]
Каталаза, мкат/л	4,85 [3,77; 6,11]	2,74 [2,05; 4,30]	2,70 [2,11; 3,83]	2,52 [1,78; 3,76]
СОД, усл.ед.	- 63,16 [34,21; 105,26]	$p_{1-2} < 0,0001$ 61,84 [23,68; 110,53]	$p_{1-3} < 0,0001$ 56,58 [27,63; 90,79]	$p_{1-4} < 0,0001$ 68,42 [28,95; 136,84]
Антиоксидантная активность, ммоль/л	1,67 [1,41; 2,14]	1,77 [1,41; 2,10]	1,81 [1,60; 2,10]	1,56 [1,37; 1,83]
Пероксидаза, усл.ед.	0,415 [0,300; 0,790]	0,535 [0,360; 0,925]	0,470 [0,220; 0,630]	0,495 [0,220; 0,660]

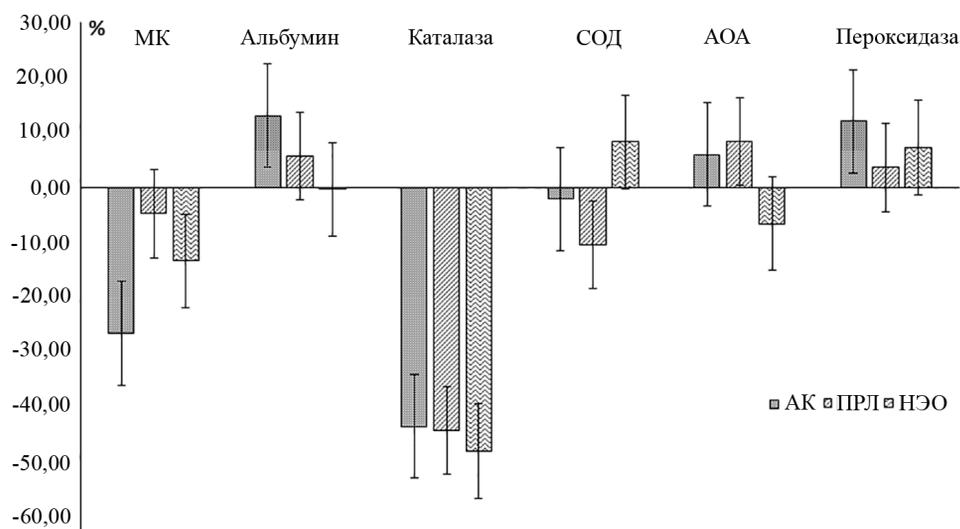
компоненты системы липопероксидации изменяются разнонаправленно (см. табл.2). Так, уровень диеновых конъюгатов самый низкий в группе пациентов с плоскоклеточным раком лёгкого, тогда как уровень оснований Шиффа в данной группе максимален. Для аденокарциномы и нейроэндокринных опухолей наоборот. Расчёт коэффициента корреляции по Спирмену показал, что существует отрицательная корреляционная связь между уровнем диеновых и триеновых конъюгатов ($r = -0,3665$, $r = -0,5532$ и $r = -0,7987$) и положительная корреляционная связь между содержанием триеновых конъюгатов и оснований Шиффа ($r = 0,7283$, $r = 0,7555$ и $r = 0,7717$ для аденокарциномы, плоскоклеточного и нейроэндокринного рака соответственно).

Дополнительно отмечено увеличение концентрации альбумина при немелкоклеточном раке лёгких (+13,1% для аденокарциномы, +5,7% для плоскоклеточного рака лёгких), тогда как для нейроэндокринных опухолей уровень альбумина не превышает значений, характерных для контрольной группы (табл.3).

Содержание мочевой кислоты уменьшается для всех гистологических типов рака лёгкого, однако в случае аденокарциномы этот эффект более выражен (-26,6%). На фоне немелкоклеточного рака лёгких снижается ак-

тивность каталазы и СОД, для нейроэндокринных опухолей лёгкого динамика активности каталазы и СОД разнонаправленна (рис.1). Антиоксидантная активность слюны растёт на фоне немелкоклеточного рака лёгкого, тогда как на фоне нейроэндокринного рака снижается. Интересно отметить, что для пероксидазы наблюдается только рост активности независимо от гистологического типа рака лёгкого (см. рис.1, табл.3).

Значения показателей системы антиоксидантной защиты и липопероксидации в слюне тесно взаимосвязаны. Так, активность пероксидазы демонстрирует наличие отрицательной корреляционной связи с уровнем диеновых конъюгатов ($r = -0,2817$, $r = -0,2187$ и $r = -0,2384$ для аденокарциномы, плоскоклеточного и нейроэндокринного рака лёгкого соответственно). Также отмечена отрицательная корреляция содержания МДА и активности пероксидазы для всех гистологических типов рака лёгкого и положительная корреляция уровня МДА и концентрации альбумина для нейроэндокринных опухолей ($r = 0,2632$). Однако корреляция активности пероксидазы и каталазы выявлена только для немелкоклеточного рака лёгкого ($r = 0,2631$ и $r = 0,5085$ для аденокарциномы и плоскоклеточного рака), аналогично и для концентрации альбумина ($r = 0,4813$ и $r = 0,2086$



Изменение показателей антиоксидантной защиты слюны на фоне рака лёгкого различных гистологических типов.

соответственно). Для нейроэндокринных опухолей лёгкого концентрация альбумина коррелирует с антиоксидантной активностью слюны ($r = 0,4218$), а также активностью СОД ($r = 0,2223$), тогда как антиоксидантная активность взаимосвязана с активностью каталазы ($r = 0,4130$).

Обсуждение результатов. МДА является конечным продуктом перекисного окисления липидов, маркером липидной перекисидации [31]. Показано, что содержание МДА повышается при раке лёгких, однако статистически достоверного увеличения данного показателя выявить не удалось, несмотря на многочисленные подтверждения данного факта в литературных источниках [32–35]. В ряде исследований установлено, что МДА и продукты перекисного окисления липидов способны ингибировать рост клеточных культур рака лёгкого, в частности аденокарциномы [36, 37]. Кроме того, высокая экспрессия ферментов, подавляющих перекисное окисление липидов, в первичных очагах поражения и метастатических лимфатических узлах была связана с плохим прогнозом у пациентов с аденокарциномой лёгких [38]. В связи с этим было высказано предположение, что повышенное перекисное окисление липидов может представлять собой некоторую метаболическую адаптацию, способствующую образованию продуктов, которые могут ингибировать рост рака лёгких [39].

В ходе настоящего исследования выявлено, что уровень диеновых конъюгатов уменьшается при раке лёгкого по сравнению с контрольной группой. Недостаточный уровень первичных продуктов липоперекисидации может являться результатом устойчивости опухолевой ткани к инициаторам перекисного стресса и модификации функционирования ферментных систем, регулирующих перекисное окисление липидов [40, 41]. Уровень вторичных продуктов на фоне рака лёгкого повышается, что может являться адаптивным процессом, направленным на выведение из клеток более токсичных метаболитов – диеновых конъюгатов и МДА.

Гистологический тип опухоли, в свою очередь, определяет направление сдвига равновесия между первичными и конечными продуктами липоперекисидации. В случае плоскоклеточного рака лёгких это равновесие сдвинуто в сторону конечных продуктов, тогда как для аденокарциномы – наоборот. При нейроэндокринных опухолях лёгкого также происходит усиление окислительных процессов, но оно вызвано значительно более тяжёлым течением заболевания, при котором организм включает все возможные защитные механизмы. Это, вероятно, приводит к тому, что на фоне повышения уровня первичных продуктов перекисного окисления липидов конечные продукты образуются в незначительных количествах, что может быть обусловлено более высокой резистентностью опухолевых клеток к окислительному стрессу.

Известно, что каталаза и СОД являются первым звеном защиты от свободнорадикального окисления, устраняя активные формы кислорода – супероксидный радикал и перекись водорода [42]. Для обоих ферментов отмечено понижение активности, более выраженное для каталазы (см. табл.1). СОД в плазме крови представлена особой формой экстрацеллюлярной СОД, которая синтезируется и выделяется клетками эндотелия сосудов. Внутриклеточные формы СОД не вносят вклада в активность фермента, так как быстро подвергаются деградации. Форма, не связанная с эндотелием сосудов,

составляет около 10% от общего количества фермента. Можно предположить, что снижение активности СОД происходит как за счёт снижения доли свободной формы, так и за счёт инактивации фермента активными формами кислорода. В отличие от СОД каталаза собственной внеклеточной формы не имеет, в связи с чем активностью данного фермента представлена ферментом, вышедшим из клеток в результате их повреждения или разрушения. Более существенное снижение активности каталазы может свидетельствовать о недостаточной компенсации окислительного стресса на фоне патологических процессов в лёгких.

Из данных литературы известно, что в тканях опухолей лёгкого повышается активность СОД, тогда как активность каталазы снижается, а содержание глутатионпероксидазы практически не меняется по сравнению с нормальными тканями лёгких [14, 43]. Иммуногистохимически показано уменьшение или отсутствие экспрессии каталазы в опухолевых клетках в отличие от соседних здоровых эпителиальных клеток дыхательных путей. Параллельные изменения антиоксидантной активности, белка и экспрессии мРНК отмечались в клетках аденокарциномы лёгкого, что в свою очередь может влиять на уровни провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-1 β). Таким образом, воспаление в лёгких может способствовать повышению уровня СОД и снижению активности каталазы, что может привести к повышенному содержанию H₂O₂ и создавать внутриклеточную среду, благоприятную для повреждения ДНК и развития рака [44]. Согласно полученным результатам, активность СОД в слюне пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого снижается, тогда как при нейроэндокринных опухолях повышается (см.табл.3), что, по-видимому, объясняется особенностями метаболизма опухолевой ткани в каждом конкретном случае.

Показатель АОА отражает содержание в биологических жидкостях низкомолекулярных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами (витамины, серосодержащие аминокислоты, глутатион, мелатонин и т.д.) [30]. Несмотря на выявленное снижение активности СОД и каталазы на фоне немелкоклеточного рака лёгкого АОА слюны растёт, что может быть связано с большим вкладом неферментных систем, в частности альбумина. Для нейроэндокринного рака лёгкого АОА снижается, что коррелирует с большим снижением активности каталазы, а также отсутствием роста концентрации альбумина (см. табл.3).

Пероксидазная активность слюны является комплексным показателем, поскольку отражает суммарную активность слюнной пероксидазы (лактопероксидазы) и миелопероксидазы [45, 46]. В ряде исследований показано, что увеличение экспрессии миелопероксидазы способствует возрастанию риска повреждения ДНК [47]. Окислители на основе миелопероксидазы (НОС1) участвуют в биоактивации канцерогенов (например, полициклических ароматических углеводородов) и превращении их в реакционноспособные метаболиты, которые могут ковалентно связываться с ДНК и приводить к мутациям в онкогенах и генах опухолевых супрессоров [48]. Под действием миелопероксидазы происходит генерация NO⁺, который вызывает S-нитрозилирование белка, что может приводить, например, к инактивации каспазы-3 [49]. Таким образом, миелопероксидаза может участвовать в ингибировании апоптотического каскада, что способствует росту опухоли [50].

Альбумин определяет неспецифическую антиоксидантную защиту биологических жидкостей, поскольку обладает антирадикальными и антиперекисными свойствами за счёт наличия тиоловых групп [51]. Известно, что 40% аминокислот, входящих в состав альбумина, обладают антиокислительными свойствами. В свою очередь продукты протеолитического распада альбумина способны связывать продукты свободных радикалов либо модифицировать их функциональные группировки. Помимо этого, имеет место и радиопротекторный эффект SH-групп, связанный с их ингибирующим действием на активированные кислородные метаболиты и стабилизацией мембран [52]. SH-содержащие соединения также могут вовлекаться в ферментативное восстановление фенольных антиоксидантов, при этом происходит окисление молекул альбумина, что может приводить к изменению четвертичной структуры молекулы и модификации её активных центров со снижением функциональной активности [53]. Окисление SH-групп белка или взаимодействие тиоловой группы с NO может приводить к появлению прооксидантных свойств альбумина [17]. Известно, что активные формы кислорода и продукты их реакции с другими биомолекулами, в частности липоперекиси, влияют на конформацию альбумина, а, следовательно, на его связывающие свойства [54, 55]. Повышение концентрации альбумина может быть связано с изменением объема транспорта различных метаболитов и в первую очередь жирных кислот, что является важным звеном перестройки энергетического метаболизма при росте злокачественной опухоли [56, 57].

Мочевая кислота может быть медиатором свободнорадикальных реакций, а также выступать в качестве антиоксиданта [58]. Её вклад в общую антиокислительную способность плазмы крови в отношении перекисей составляет 30–65%, гидроперекисей – 10–15% [59]. В ряде исследований показано, что мочевая кислота способна защищать липопротеины от окислительного стресса [60]. В связи с этим уменьшение концентрации мочевой кислоты, выявленное для всех гистологических типов рака лёгкого, а также для неопухольчатых патологий лёгких, закономерно на фоне общего снижения антиоксидантной защиты. Расчёт коэффициента корреляции по Спирмену подтверждает существование положительной корреляции между концентрацией мочевой кислоты и уровнем диеновых конъюгатов ($r = 0,4157$), отрицательной между содержанием мочевой кислоты и уровнем триеновых конъюгатов и оснований Шиффа ($r = -0,3035$ и $r = -0,2732$ соответственно).

Заключение. Таким образом, на фоне рака лёгких наблюдается развитие окислительного стресса, что проявляется повышением уровня продуктов липопероксидации, а также снижением антиоксидантной защиты в слюне. Показано, что активность ферментов первого звена антиоксидантной защиты существенно снижается, тогда как активность пероксидаз слюны растёт. Показатели неферментативной защиты меняются разнонаправленно: уровень мочевой кислоты при патологиях лёгких снижается, тогда как концентрация альбумина растёт, в данных условиях он начинает проявлять прооксидантные свойства. Выявлены различия между немелкоклеточным (плоскоклеточный рак и аденокарцинома) и нейроэндокринным раком лёгкого по характеру динамики показателей антиоксидантной защиты. В целом нарушение баланса системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты является результатом

нарушения координации иммунометаболических процессов и свидетельствует о снижении приспособительных реакций организма.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп.1-2, 4-6, 8-12, 14-15, 18-23, 31-41, 43-53, 55, 57, 59-60 см. REFERENCES)

3. Горожанская Э.Г., Свиридова С.П., Байкова В.Н., Зубрихина Г.Н., Добровольская М.М., Сытов А.В. Окислительный стресс в тромбоцитах при онкопатологии. *Биомедицинская химия*. 2015; 61(4): 519-25.
7. Макарова Е.В., Вахламов В.А., Шония М.Л., Меньков Н.В., Соловьева Т.И., Архипова Е.В., Варварина Г.Н., Новиков В.В. Выявление предикторов развития воспалительного процесса в бронхах начинающих курильщиков. *Современные технологии в медицине*. 2015; 7(3): 77-83.
13. Николаев И.В., Колобкова Л.Н., Ландесман Е.О., Степанова Е.В., Королева О.В. Антиоксидантная и пероксидазная активность слюны при воспалительных заболеваниях пародонта и возможность их коррекции. *Биомедицинская химия*. 2008; 54(4): 454-62.
16. Чанчаева Е.А., Айзман Р.И., Герасев А.Д. Современное представление об антиоксидантной системе организма человека. *Экология человека*. 2013; 7: 50-8.
17. Созарукова М.М., Проскурина Е.В., Владимиров Ю.А. Сывороточный альбумин как источник и мишень свободных радикалов в патологии. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2016; 1: 61-67.
24. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г. Сопоставление различных подходов к определению продуктов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии*. 1989; 1: 127-31.
25. *Клиническая биохимия. Сборник инструкций*. Новосибирск: ЗАО «Вектор-Бест»; 2011.
26. Гаврилов В.Б., Бидула М.М., Фурманчук Д.А., Конев С.В., Алейникова О.В. Оценка интоксикации организма по нарушению баланса между накоплением и связыванием токсинов в плазме. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1999; 2: 13–7.
27. Сирота Т.В. Участие карбонат/бикарбонатных ионов в супероксид генерирующей реакции автоокисления адреналина. *Биомедицинская химия*. 2015; 61(1): 115-24.
28. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. 1988; 1: 16–9.
29. Кондрахин И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник. М.: Колос; 2004.
30. Бельская Л.В., Сарф Е.А., Косенок В.К., Массард Ж. Антиоксидантная активность смешанной слюны человека в норме. *Экология человека*. 2017; 6: 36-40.
42. Герасименко М.Н., Зуков Р.А., Титова Н.М., Дыхно Ю.А., Модестов А.А., Попов Д.В. Антиоксидантная система и маркеры окислительного стресса при раке почки. *Сибирский онкологический журнал*. 2012; 5(53): 40-43.
54. Шейбак В.М. Транспортная функция сывороточного альбумина: цинк и жирные кислоты. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2015; 14(2): 16-22.
56. Смолякова Р.М., Прохорова В.И., Жарков В.В., Лаппо С.В. Оценка связывающей способности и транспортной функции сывороточного альбумина у больных раком легкого. *Новости хирургии*. 2005; 13(1-4): 78-84.

58. Галунска Б., Паскалев Д., Янкова Т., Чанкова П. Двухикий янус биохимии: мочевая кислота – оксидант или антиоксидант? *Нефрология*. 2004; 4(8): 25-31.

REFERENCES

1. Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine*. 2010; 49: 1603-16.
2. Choudhari S.K., Chaudhary M., Gadbaal A.R., Sharma A., Tekade S. Oxidative and antioxidative mechanism in oral cancer and precancer: a review. *Oral Oncology*. 2014; 50(1): 10-8.
3. Gorozhanskaya E.G., Sviridova S.P., Baykova V.N., Zubrikhina G.N., Dobrovolskaya M.M., Sytov A.V. Oxidative stress in platelets in oncopathology. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2015; 61(4): 519-25. (in Russian)
4. Gęgotek A., Nikliński J., Żarković N., Żarković K., Waeg G., Łuczaj W., Charkiewicz R., Skrzydlewska E. Lipid mediators involved in the oxidative stress and antioxidant defense of human lung cancer cells. *Redox Biology*. 2016; 9:210-9.
5. Federico A., Morgillo F., Tuccillo C., Ciardiello F., Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int. J. Cancer*. 2007; 121:2381-6.
6. Boots A.W., Haenen G.R., Bast A. Oxidant metabolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2003; 22(46): 14s-27s.
7. MakarovaYe.V., Vakhlamov V.A., Shoniya M.L., Men'kov N.V., Solov'yeva T.I., ArkhipovaYe.V., Varvarina G.N., Novikov V.V. Identifying the predictors of the development of the inflammatory process in the bronchi of beginner smokers. *Sovremennyye tekhnologii v meditsine*. 2015; 7(3): 77-83. (in Russian)
8. Park H.S., Kim S.R., Lee Y.C. Impact of oxidative stress on lung diseases. *Respirology*. 2009; 14(1): 27-38.
9. Barreiro E., Fermoselle C., Mateu-Jimenez M., Sánchez-Font A., Pijuan L., Gea J., Curull V. Oxidative stress and inflammation in the normal airways and blood of patients with lung cancer and COPD. *Free Radical Biology & Medicine*. 2013; 65:859-71.
10. Filaire E., Dupuis C., Galvaing G., Aubreton S., Laurent H., Richard R., Filaire M. Lung cancer: What are the links with oxidative stress, physical activity and nutrition. *Lung cancer*. 2013; 82:383-9.
11. Lin J.L., Thomas P.S. Current perspectives of oxidative stress and its measurement in chronic obstructive pulmonary disease. *COPD*. 2010; 7(4): 291-306.
12. Morry J., Ngamcherdtrakul W., Yantasee W. Oxidative stress in cancer and fibrosis: Opportunity for therapeutic intervention with antioxidant compounds, enzymes, and nanoparticles. *Redox Biology*. 2017; 11: 240-53.
13. Nikolayev I.V., Kolobkova L.N., LandesmanYe.O., StepanovaYe.V., Koroleva O.V. Antioxidant and peroxidase activity of saliva in inflammatory periodontal diseases and the possibility of their correction. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2008; 54(4): 454-62. (in Russian)
14. Khan A., Tania M., Zhang D., Chen H. Antioxidant Enzymes and Cancer. *Chin J Cancer Res*. 2010; 22(2): 87-92.
15. Abiaka C., Al-Awadi F., Al-Sayer H., Gulshan S., Behbehani A., Farghally M. Activities of Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Cancer Patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2002; 16: 167-71.
16. ChanchayevaYe.A., Ayzman R.I., Gerasev A.D. Modern idea of the antioxidant system of the human body. *Ekologiya cheloveka*. 2013; 7: 50-8. (in Russian)
17. Sozarukova M.M., ProskurinaYe.V., Vladimirov YU.A. Serum albumin as a source and target of free radicals in pathology. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2016; 1: 61-7. (in Russian)
18. Östürk L.K., Akyüz S., Yarat A., Koç S., Gül N., Doğan B.N. Salivary lipid peroxidation and total sialic acid levels during healthy gestation and postpartum: a longitudinal study. *Clinical Biochemistry*. 2010; 43: 430-4.
19. Wong D.T. Salivary Diagnostics. Wiley-Blackwell; John Wiley & Sons; Philadelphia, PA, USA. 2008.
20. Giebutowicz J., Wroczynski P., Samolczyk-Wanyura D. Comparison of antioxidant enzymes activity and the concentration of uric acid in the saliva of patients with oral cavity cancer, odontogenic cysts and healthy subjects. *J. Oral Pathol. Med*. 2011; 40: 726-730.
21. Miller C.S. Foley J.D., Bailey A.L., Campell C.L., Humphries R.L., Christodoulides N., Floriano P.N. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark. Med*. 2010; 4(1): 171-89.
22. Soares Nunes L.A., Mussavira S., Bindhu O.S. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochemia Medica*. 2015; 25(2): 177-92.
23. Arunkumar S., Arunkumar J. S., Krishna N.B., Shakunthala G.K. Developments in diagnostic applications of saliva in oral and systemic diseases - A comprehensive review. *Journal of Scientific and Innovative Research*. 2014; 3(3): 372-87.
24. Volchegorskiy I.A., Nalimov A.G., Yarovinskiy B.G. Comparison of different approaches to the determination of products in heptane-isopropanol extracts of blood. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1989; 1: 127-31. (in Russian)
25. Clinical biochemistry. Collection of instructions. Novosibirsk: ZAO «Vektor-Best». 2011. (in Russian)
26. GavriloV.V.B., Bidula M.M., Furmanchuk D.A., Konev S.V., Aleynikova O.V. Assessment of organism intoxication due to imbalance between the accumulation and binding of toxins in plasma. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 1999; 2: 13-7. (in Russian)
27. Sirota T.V. Participation of carbonate / bicarbonate ions in the superoxide of the generating reaction of autooxidation of adrenaline. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2015; 61(1): 115-24. (in Russian)
28. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., TokarevV.Ye. Method for determination of catalase activity. *Laboratornoye delo*. 1988; 1: 16-9. (in Russian)
29. Kondrakhin I.P. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics: reference book. M.: Kolos, 2004. (in Russian)
30. Bel'skaya L.V., Sarf Ye.A., Kosenok V.K., Massard ZH. Antioxidant activity of mixed human saliva is normal. *Ekologiya cheloveka*. 2017; 6: 36-40. (in Russian)
31. Hultqvist M., Hegbrant J. Plasma concentrations of vitamin C, vitamin E and/or malondialdehyde is markers of oxygen free radical production during hemodialysis. *Clinical Nephrology*. 1997; 47(1): 37-46.
32. Smriti K., Pai K.M., Ravindranath V., Pentapati K.C. Role of salivary malondialdehyde in assessment of oxidative stress among diabetics. *Journal of oral biology and craniofacial research*. 2016; 6(1): 42-5.
33. Su H., Gornitsky M., Velly A.M., Yu H., Benarroch M., Schipper H.M. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radical Biology & Medicine*. 2009; 46: 914-21.
34. Rai B., Kharb S., Jain R., Anand S.C. Salivary lipid peroxidation product malondialdehyde in precancer and cancer. *Advanced in Medical and Dental Science*. 2008; 2(1): 7-8.
35. Shivashankara A.R., Kavya P.M. Salivary total protein, sialic acid, lipid peroxidation and glutathione in oral squamous cell carcinoma. *Biomedical Research*. 2011; 22 (3): 355-9.
36. Ji C., Rouzer C.A., Marnett L.J., Pietenpol J.A. Induction of cell cycle arrest by the endogenous product of lipid peroxidation, malondialdehyde. *Carcinogenesis*. 1998; 19: 1275-83.
37. Schonberg SA, Rudra PK, Noding R, Skorpen F, Bjerve KS, Krokan HE. Evidence that changes in Se-glutathione peroxidase levels affect the sensitivity of human tumor cell lines to n-3 fatty acids. *Carcinogenesis*. 1997; 18: 1897-904.
38. Iwasaki M, Ogawa J, Inoue H, Kijima H, Watanabe K. Immunohistochemical properties of lipid peroxidation and prognosis in adenocarcinoma of the lung. *J Cardiovas.c Surg*. 1998; 39: 233-6.
39. Nowak D., Janczak M. Effect of chemotherapy on serum end-products of lipid peroxidation in patients with small cell lung cancer: Association with treatment results. *Respiratory Medicine*. 2006; 100: 157-66.
40. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Review*. 2012; 70(5): 257-65.

41. Sotgia F, Martinez-Outschoorn U.E., Lisanti M.P. Mitochondrial oxidative stress drives tumor progression and metastasis. *BMC Medicine*. 2011; 9: 62.
42. Gerasimenko M.N., Zukov R.A., Titova N.M., Dykhno YU.A., Modestov A.A., Popov D.V. Antioxidant system and markers of oxidative stress in kidney cancer. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal*. 2012; 5(53): 40-3. (in Russian)
43. Ho JC, Chan-Yeung M, Ho SP, Mak JCW, Ip MSM, Ooi GC, Wong MP, Tsang KW, Lam WK. Disturbance of systemic antioxidant profile in nonsmall cell lung carcinoma. *Eur. Respir J*. 2007; 29: 273-8.
44. Chung-man Ho J, Zheng S, Comhair SA, Farver C, Erzurum SC. Differential expression of manganese superoxide dismutase and catalase in lung cancer. *Cancer Res*. 2001; 61: 8578-85.
45. Wei P.F., Ho K.Y., Ho Y.P., Wu YM, Yang YH, Tsai CC. The investigation of glutathione peroxidase, lactoferrin, myeloperoxidase and Interleukin-1beta in gingival crevicular fluid: implications for oxidative stress in human periodontal diseases. *J. Periodontal Res*. 2004; 39(5): 287-93.
46. Ihalin R., Loimaranta V., Tenovuuo J. Origin, structure, and biological activities of peroxidases in human saliva. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2006; 445:261-8.
47. Whiteman M, Spencer JP, Jenner A, Halliwell B. Hypochlorous acid-induced DNA base modification: potentiation by nitrite: biomarkers of DNA damage by reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999; 257: 572-6.
48. Van Schooten FJ, Boots AW, Knaapen AM, Godschalk RW, Maas LM. Myeloperoxidase (MPO) -463G->A reduces MPO activity and DNA adduct levels in bronchoalveolar lavages of smokers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004; 13: 828-33.
49. Abu-Soud HM, Hazen SL. Nitric oxide modulates the catalytic activity of myeloperoxidase. *J Biol Chem*. 2000; 275: 5425-30.
50. Mika D, Guruvayoorappan C. Myeloperoxidase: the yin and yang in tumour progression. *J Exp Ther Oncol*. 2011; 9: 93-100.
51. Cha M.K., Kim I.H. Glutathione-linked thiol peroxidase activity of human serum albumin: a possible antioxidant role of serum albumin in blood plasma. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1996; 222(2): 619-25.
52. Quinlan G.J., Mumby S., Martin G.S., Bernard GR, Gutteridge JM, Evans TW. Albumin influences total plasma antioxidant capacity favorably in patients with acute lung injury. *Crit. Care. Med*. 2004; 32(3): 755-9.
53. Frei E. Albumin binding ligands and albumin conjugate uptake by cancer cells. *Diabetology&MetabolicSyndrome*. 2011; 3:11. <http://www.dmsjournal.com/content/3/1/11>
54. Sheybak V.M. Transport function of serum albumin: zinc and fatty acids. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2015; 14(2): 16-22. (in Russian)
55. Oetl K., Stauber R.E. Physiological and pathological changes in the redox state of human serum albumin critically influence its binding properties. *Br. J. Pharmacol*. 2007; 151(5): 580-590.
56. Smolyakova R.M., Prokhorova V.I., Zharkov V.V., Lappo S.V. Assessment of binding ability and transport function of serum albumin in patients with lung cancer. *Novosti khirurgii*. 2005; 13(1-4): 78-84. (in Russian)
57. Astashkin A.V., Kozlyuk V.V., Raitsimring A.M. ESEEM measurements with time-resolved detection of the entire ESE signal shape. *J. Magn. Reson*. 2000; 145(2): 357-63.
58. Galunska B., Paskalev D., Yankova T., Chankova P. Two-faced Janus biochemistry: uric acid - an oxidant or an antioxidant? *Nefrologiya*. 2004; 4 (8): 25-31.(in Russian)
59. Christen S., Bifrare Y., Siegenthaler C., Leib S.L., Tauber M.G. Marked elevation in cortical urate and xantineoxidoreductase activity in experimental bacterial meningitis. *Brain Res*. 2001; 900: 244-51.
60. Koprash S., Richter K., Leonardt W. Urate attenuates oxidation of native low-density lipoprotein by hydrochlorite and the subsequent lipoprotein-induced respiratory burst activities of polymorphonuclear leukocytes. *Molec. Cell Biochem*. 2000; 206: 51-6.

Поступила 08.05.18

Принята к печати 25.05.18