

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 616.24-006.048-07:616.316-008.831.1

Бельская Л.В.<sup>1</sup>, Косенок В.К.<sup>2</sup>, Массард Ж.<sup>3</sup>

## АКТИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ СЛЮНЫ ПРИ НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЯХ ЛЕГКОГО РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

<sup>1</sup>Омский государственный педагогический университет, 644043, Омск;

<sup>2</sup>Омский государственный медицинский университет, 644099, Омск;

<sup>3</sup>Университетская больница Страсбурга, 67091, Страсбург, Франция

*До настоящего времени остаются актуальными проблемы оптимизации методов диагностики и прогнозирования течения рака легкого, занимающие лидирующие позиции в структуре онкологических заболеваний. Цель исследования: изучение особенностей активности метаболитических ферментов слюны при НЭО легкого в зависимости от степени злокачественности. В исследовании случай – контроль приняли участие 156 человек, которые были разделены на 2 группы: основную (с диагнозом рак НЭО легкого, n=56) и контрольную группу (условно здоровые, n=100). Всем участникам было проведено анкетирование, биохимическое исследование слюны, гистологическая верификация диагноза. Межгрупповые различия оценены непараметрическим критерием. Показано, что на фоне НЭО легкого наблюдаются метаболические изменения, характеризующиеся уменьшением коэффициента де Ритиса ( $p=0.0350$ ) и активности лактатдегидрогеназы ( $p=0.0492$ ), а также увеличением активности аланинаминотрансферазы ( $p=0.0114$ ), щелочной фосфатазы ( $p=0.0150$ ) и  $\alpha$ -амилазы ( $p=0.0328$ ). Статистически достоверные отличия между НЭО разной степени злокачественности (G1+G2 и G3) выявлены для аминотрансфераз (АЛТ –  $p=0.0421$ ; АСТ –  $p=0.0472$ ), щелочной фосфатазы ( $p=0.0454$ ) и  $\alpha$ -амилазы ( $p=0.0263$ ). Показано уменьшение активности исследуемых ферментов на фоне прогрессирования заболевания, в том числе наличия отдаленного и регионарного метастазирования. Наиболее перспективным является изучение активности  $\alpha$ -амилазы слюны для диагностики НЭО высокой степени злокачественности.*

Ключевые слова: слюна; ферменты; рак легкого; нейроэндокринные опухоли.

**Для цитирования:** Бельская Л.В., Косенок В.К., Массард Ж. Активность метаболитических ферментов слюны при нейроэндокринных опухолях легкого различной степени злокачественности. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (11): 677-682. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-11-677-682>

Bel'skaya L.V.<sup>1</sup>, Kosenok V.K.<sup>2</sup>, Massard Zh.<sup>3</sup>

### ACTIVITY OF METABOLIC ENZYMES OF SALIVA WITH NEUROENDOCRINE TUMORS OF THE LUNG OF VARIOUS DEGREES OF MALIGNANCY

<sup>1</sup>Omsk State Pedagogical University, Omsk, 644043, Russian Federation;

<sup>2</sup>Omsk State Medical University, Omsk, 644099, Russian Federation;

<sup>3</sup>University Hospital of Strasbourg, Strasbourg

*Up to the present time, problems of optimizing the methods of diagnosis and predicting the course of lung cancer, which occupies the leading positions in the structure of oncological diseases, remain topical. The purpose of the study was to study the characteristics of the activity of metabolic salivary enzymes in neuroendocrine tumors of the lung, depending on the degree of malignancy. In the case-control study, 156 people took part, divided into 2 groups: primary (neuroendocrine lung tumors, n=56) and control (conventionally healthy, n=100). All the participants went through a questionnaire survey, saliva biochemical counts, and a histological verification of their diagnosis. Between-group differences were measured with the nonparametric test. It is shown that against the background of neuroendocrine lung tumors, metabolic changes are observed characterized by a decrease in the de Ritis coefficient ( $p=0.0350$ ) and lactate dehydrogenase activity ( $p=0.0492$ ), as well as an increase in activity of alanine aminotransferase ( $p=0.0114$ ), alkaline phosphatase ( $p=0.0150$ ) and  $\alpha$ -amylase ( $p=0.0328$ ). Statistically significant differences between neuroendocrine tumors of different degrees of malignancy (G1+G2 and G3) were detected for aminotransferases (ALT -  $p=0.0421$ ; AST -  $p=0.0472$ ); alkaline phosphatase ( $p=0.0454$ ) and  $\alpha$ -amylase ( $p=0.0263$ ). A decrease in the activity of the enzymes studied against the background of the progression of the disease, including the presence of distant and regional metastasis is shown. The most promising is the study of the activity of salivary  $\alpha$ -amylase for the diagnosis of neuroendocrine lung tumors of high degree of malignancy.*

Key words: saliva, enzymes, lung cancer; neuroendocrine tumors.

**For citation:** Bel'skaya L.V., Kosenok V.K., Massard Zh. Activity of metabolic enzymes of saliva with neuroendocrine tumors of the lung of various degrees of malignancy. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018; 63 (11): 677-682 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-11-677-682>

**For correspondence:** Bel'skaya L.V., PhD in Chemistry, Head of laboratory; e-mail: [ludab2005@mail.ru](mailto: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 14.08.2018  
Accepted 15.09.2018

Группа нейроэндокринных опухолей (НЭО) объединяет относительно редко встречающиеся эпителиальные новообразования, которые обладают способностью синтезировать биологически активные вещества и пептидные гормоны [1]. Наиболее часто новообразования данного типа возникают в различных отделах пищеварительного тракта и бронхопульмональной системе [2]. Среди всех нейроэндокринных новообразований 25–30% составляют НЭО легкого [3]. Согласно общепринятой классификации выделяют 4 основных подтипа НЭО легкого: типичный карциноид, атипичный карциноид, крупноклеточный и мелкоклеточный рак легкого [4]. В соответствии с современными представлениями, НЭО легкого различают по степени дифференцировки и степени злокачественности (G) [5, 6]. К группе с низкой степенью злокачественности (высокой степенью дифференцировки) относят типичные карциноиды (G1), промежуточной степени соответствуют атипичные карциноиды (G2), тогда как группа низкодифференцированных НЭО высокой степени злокачественности объединяет мелкоклеточный и крупноклеточный рак легкого (G3) [7, 8].

Диагностика НЭО легкого включает определение пептидных гормонов и биогенных аминов [9, 10], а также универсальных маркеров, таких как хромогранин А и нейронспецифическая енолаза [1, 11]. При этом применение перечисленных маркеров зачастую ограничивается мелкоклеточным раком легкого. Исследование биомаркеров не нейроэндокринной природы в отношении диагностики ограничено, в том числе мало внимания уделяется метаболическим ферментам [12]. В данном исследовании в качестве потенциально информативных выбраны следующие ферменты: щелочная фосфатаза (ЩФ), лактатдегидрогеназа (ЛДГ), гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ), аминотрансферазы (АЛТ, АСТ) и  $\alpha$ -амилаза. Следует отметить, что в литературе практически отсутствуют данные об активности данных ферментов как в общем, так и в зависимости от степени злокачественности НЭО легкого.

Активность ферментов традиционно определяют в сыворотке и плазме крови, однако перспективным является использование слюны [13]. Преимущества слюны по сравнению с венозной или капиллярной кровью обуславливаются неинвазивностью сбора и отсутствием риска инфицирования при получении биоматериала [14–16]. При этом слюна не только адекватно отражает биохимический статус и физиологическое состояние человека, но и является потенциально более информативной средой для использования ее как в клинической лабораторной диагностике, так и в специальных научных целях [17–19].

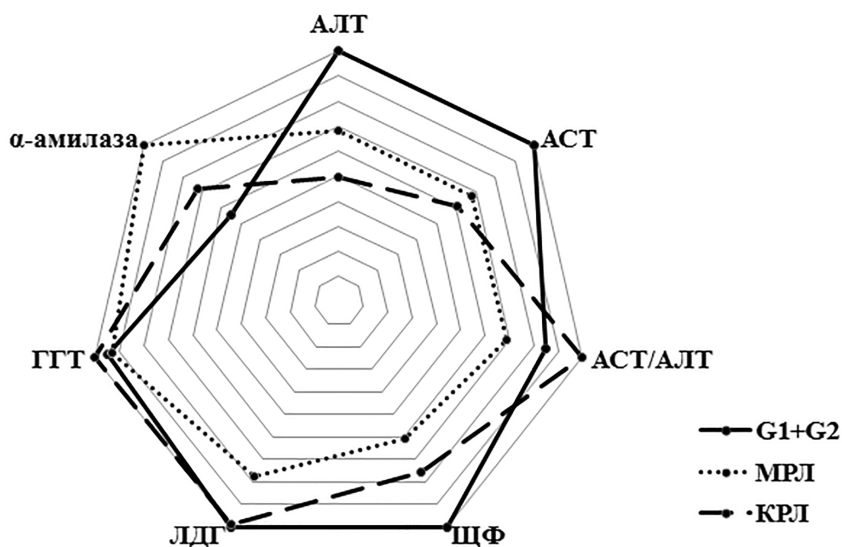
Цель исследования – изучение особенностей активности метаболических ферментов слюны при НЭО легкого в зависимости от степени злокачественности.

**Материал и методы.** В исследовании случай – контроль приняли участие добровольцы, которые были разделены на 2 группы: основную (с диагнозом рак НЭО легкого) и контрольную группу (условно

здоровые). 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. Контрольная группа включала условно здоровых пациентов ( $n=100$ , возраст  $58,9 \pm 1,5$  года), у которых при проведении плановой диспансеризации не было выявлено патологии легких. Оценка биохимических параметров слюны пациентов контрольной группы проведена без дополнительного разбиения на подгруппы. Исследования одобрены на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

У всех участников до начала лечения проводили забор слюны в количестве 2 мл. Образцы слюны собирали утром натощак путем сплевывания в стерильные пробирки, центрифугировали при 7000 об/мин. Активность АЛТ и АСТ определяли колориметрическим динитрофенилгидразиновым методом по Райтману-Френкелю, ЩФ методом конечной точки по Бессею-Лоури-Броку, ЛДГ кинетическим УФ-методом по скорости окисления НАДН, ГГТ кинетическим методом с использованием L-гамма-глутамил-3-карбокситетра-4-нитроанилида в качестве субстрата по Зейцу-Персину,  $\alpha$ -амилазы кинетическим методом по гидролизу CNP-олигосахаридов с образованием 2-хлор-4-нитрофенола [20, 21]. Дополнительно оценивали значение коэффициента де Ритиса, рассчитанного как соотношение активности АСТ/АЛТ (у.е.).

Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft) и пакета R (версия 3.2.3) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах – U-критерия Манна-Уитни. Описание выборок производили с помощью под-



Сравнительная динамика активности метаболических ферментов для карциноидов, мелкоклеточного и крупноклеточного рака легкого.

Таблица 1

Описание исследуемой группы

Гистология	Число пациентов, %
Типичный карциноид (G1)	12 (21,4%)
Атипичный карциноид (G2)	3 (5,4%)
Мелкоклеточный рак (G3)	34 (60,7%)
Крупноклеточный рак (G3)	7 (12,5%)
Форма роста	
Центральный	21 (37,5%)
Периферический	24 (42,9%)
Медиастинальный	11 (19,6%)
pM	
M0	42 (75,0%)
M1	14 (25,0%)
pT	
T1	4 (9,5%)
T2	19 (45,2%)
T3	4 (9,5%)
T4	15 (35,8%)
pN	
N0	14 (33,3%)
N1-3	28 (66,7%)

счета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ произведен методом Спирмена.

**Результаты.** В исследование включены 56 пациентов Клинического онкологического диспансера г. Омска и 100 практически здоровых людей, выбранных в качестве контрольной группы. Детальное описание основной группы представлено в табл.1.

В ходе проведенных исследований установлено, что на фоне НЭО легкого наблюдается изменение активности метаболических ферментов слюны (табл.2). В частности, растет активность аминотрансфераз (АЛТ – на 22,3%, АСТ – на 2,1%), в результате наблюдается уменьшение коэффициента де Ритиса на 11,3% в основном за счет увеличения активности АЛТ. Также статистически

достоверно увеличивается активность ЩФ и  $\alpha$ -амилазы (+35,7 и +70,7% соответственно), тогда как активность ГГТ не меняется, а ЛДГ снижается на 15,3%.

Анализ активности метаболических ферментов для групп НЭО легкого разной степени злокачественности показал, что активность аминотрансфераз статистически достоверно выше для группы G1+G2, при этом полученные значения выше соответствующих показателей для контрольной группы, тогда как активность аминотрансфераз группы G3 и контрольной практически совпадают (табл.2, 3). Также показано, что активность ЛДГ, ГГТ и  $\alpha$ -амилазы группы G1+G2 и контрольной группы не отличаются, однако активность ЩФ статистически достоверно выше значений, характерных как для контрольной группы (+78,6%), так и для группы G3 (+61,3%). Группа НЭО легкого высокой степени злокачественности отличается уменьшением активности ЛДГ (-19,1%) и увеличением активности  $\alpha$ -амилазы (+72,1%) при постоянном уровне ГГТ (табл. 2).

При более детальном рассмотрении группы НЭО с высокой степенью злокачественности установлено, что активность большинства исследуемых ферментов ниже, чем для группы G1+G2, исключение составляет активность  $\alpha$ -амилазы, возрастающая в случае крупноклеточного и мелкоклеточного рака на 31,0 и 80,7% соответственно (см.рисунок). Дополнительно следует отметить увеличение коэффициента де Ритиса для крупноклеточного рака легкого (+17,7%) в основном за счет уменьшения активности АЛТ (-50,3%,  $p=0,0232$ ). Для крупноклеточного рака легкого также характерно максимальное значение активности ГГТ (22,4 Е/л). В целом для мелкоклеточного рака активность ГГТ, ЛДГ и ЩФ ниже, чем для крупноклеточного, тогда как для аминотрансфераз и  $\alpha$ -амилазы отмечена обратная тенденция.

На следующем этапе исследовано влияние формы роста НЭО легкого на активность метаболических ферментов слюны (табл.4). Показано, что минимальная активность аминотрансфераз наблюдается для медиастинальной формы роста и в этом случае значения максимально близки к контрольным, включая рассчитанный коэффициент АСТ/АЛТ. Активность ЩФ, ЛДГ и  $\alpha$ -амилазы также минимальна, однако для ГГТ выявлены максимальные значения активности среди всех исследуемых групп (+17,6% относительно контрольной группы). Для периферической формы роста отмечены максимальные значения активности всех ферментов за исключением  $\alpha$ -амилазы. При этом в большинстве случаев выявленные различия с центральным раком легкого статистически достоверны, а для активности ЛДГ подтверждены отличия и от медиастинальной формы роста. Центральные НЭО лёгкого характеризуются минимальным значением коэффициента де Ритиса (-18,5%) и максимальной активностью  $\alpha$ -амилазы (+172,2% по сравнению с контрольной группой).

При прогрессировании заболевания уменьшается активность аминотрансфераз до стадии  $T_3N_{0-3}M_0$ , затем остается примерно постоянной, при этом значение коэффициента де Ритиса в этом же направлении растет, достигая максимума при  $T_3N_{0-3}M_0$ , а затем резко снижается (табл. 5). Также при увеличении размера первичной опухоли уменьшается активность ЩФ и ЛДГ, причем наиболее существенное уменьшение активности происходит вплоть до стадии  $T_3N_{0-3}M_0$ , а затем меняется незначительно. Для ГГТ отмечена обратная тенденция: до стадии  $T_3N_{0-3}M_0$  активность практически не меняется, а

Таблица 2

Активность метаболических ферментов при НЭО легкого

Показатель, Е/л	Контроль, n=100	НЭО, n=56	p-value
АЛТ	3,46 [2,38; 4,85]	4,23 [2,77; 6,65]	0,0114
АСТ	5,67 [3,33; 7,75]	5,79 [3,71; 9,38]	-
АСТ/АЛТ	1,51 [1,18; 2,06]	1,34 [1,08; 1,78]	0,0350
ЩФ	60,84 [43,46; 86,92]	82,57 [54,33; 117,34]	0,0150
ЛДГ	1366,0 [819,0; 2054,0]	1156,5 [574,6; 1777,3]	0,0492
ГГТ	21,0 [18,1; 25,2]	21,0 [19,1; 25,1]	-
$\alpha$ -амилаза	233,4 [124,4; 480,4]	398,3 [175,7; 617,1]	0,0328

Таблица 3

**Активность метаболических ферментов в зависимости от степени злокачественности**

Показатель, Е/л	G1+G2	G3	p-value
АЛТ	4,31 [3,00; 6,46]	3,96 [2,23; 5,78]	0,0421
АСТ	7,00 [4,25; 9,25]	5,63 [3,63; 8,29]	0,0472
АСТ/АЛТ	1,37 [1,17; 1,80]	1,33 [1,05; 1,71]	-
ЩФ	108,65 [73,88; 147,76]	67,36 [51,07; 102,13]	0,0454
ЛДГ	1405,0 [697,8; 2319,0]	1136,0 [481,9; 1596,5]	-
ГГТ	21,3 [14,5; 23,6]	20,8 [19,2; 25,7]	-
$\alpha$ -амилаза	242,3 [160,8; 599,0]	417,0 [250,4; 635,2]	0,0263

затем резко увеличивается. Активность  $\alpha$ -амилазы закономерно увеличивается в направлении от  $T_2N_{0,3}M_0$  до  $T_4N_{0,3}M_0$  (табл. 5).

Наличие отдаленного и регионарного метастазирования вносит существенный вклад в изменение активности метаболических ферментов (табл. 6). Так, в обоих случаях снижается коэффициент де Ритиса (-14,7 и -13,5%), активность ЩФ (-38,0 и 43,0%), ЛДГ (-26,1 и -14,0% для  $N_{1,3}M_0$  и  $N_{1,3}M_1$  соответственно). Активность  $\alpha$ -амилазы и в том, и в другом случае растет, однако при наличии как отдаленного, так и регионарного метастазирования активность  $\alpha$ -амилазы практически в 2 раза выше, чем только при метастазировании в лимфоузлы. Диспропорционально меняется активность ГГТ: растет при  $N_{1,3}M_0$  (+8,1%) и снижается при  $N_{1,3}M_1$  (-4,8%).

**Результаты.** На фоне НЭО легкого наблюдаются метаболические изменения, характеризующиеся уменьшением коэффициента де Ритиса за счет повышения активности АЛТ на фоне повышения активности ЩФ и  $\alpha$ -амилазы, а также понижения активности ЛДГ (табл.2). Повышение активности АЛТ также можно рассматривать как усиление роли аланингликозного пути с выбросом из клеток глюкозы за счет ее дефосфорилирования

при высокой активности ЩФ [22, 23]. Известно, что ЩФ участвует в процессах трансмембранного фосфорилирования, обеспечивая наряду с гормональной системой вход и выход глюкозы в клетки, что напрямую влияет на уровень глюкозы в крови, играет роль в поддержании уровня фосфатов, необходимых для биоэнергетики. В связи с этим наблюдается торможение конечных путей обмена глюкозы, о чем говорит низкая активность АСТ, участвующая в понижении коэффициента де Ритиса. Подобные изменения ферментативной активности могут отражать стимуляцию периферических зон обмена, особенно белкового, на фоне торможения центральных путей метаболизма. В ряде исследований показано, что предоперационное значение коэффициента де Ритиса представляет собой независимый прогностический фактор для рака почки [24, 25]. В частности, значение коэффициента более 1.50 считается прогностически неблагоприятным признаком. Однако, при определении активности аминотрансфераз в слюне, а не сыворотке крови, нами получены противоположные данные. Показано, что на фоне НЭО легкого значение коэффициента де Ритиса статистически достоверно уменьшается, подобный эффект был ранее показан для немелкоклеточного рака легкого (1.27 [0.93; 1.70] для аденокарциномы и 1.19 [0.95; 1.61] для плоскоклеточного рака легкого) [21]. При этом максимальное уменьшение коэффициента де Ритиса отмечено для распространенных форм рака легкого, а также на фоне отдаленного и регионарного метастазирования (табл.4-6).

Анализ активности ЛДГ показал, что НЭО легкого характеризуется понижением активности данного фермента (табл.2), причем снижение активности в основном обусловлено вкладом мелкоклеточного рака легкого (табл.3). Максимальная активность ЛДГ соответствует периферической форме роста опухоли, при прогрессировании заболевания равномерно уменьшается (табл. 4, 5). Известно, что высокий уровень ЛДГ в сыворотке крови при раке легкого является прогностически неблагоприятным признаком и ассоциирован с незначительным

Таблица 4

**Влияние формы роста НЭО легкого на активность ферментов**

Показатель, Е/л	Медиастинальный (1)	Центральный (2)	Периферический (3)
АЛТ	3,38 [1,38; 6,46]	4,31 [3,92; 6,77]	4,38 [3,23; 6,80]
	-	$p_{1,2}=0,0486$	-
АСТ	5,50 [1,33; 10,25]	5,75 [4,20; 8,50]	6,75 [3,75; 9,42]
АСТ/АЛТ	1,54 [0,95; 1,90]	1,23 [1,07; 1,43]	1,52 [1,17; 1,86]
	-	-	$p_{2,3}=0,0492$
ЩФ	65,19 [54,33; 86,92]	67,36 [39,11; 106,48]	99,96 [60,84; 134,73]
	-	-	$p_{2,3}=0,0182$
ЛДГ	1148,0 [482,8; 1389,0]	906,8 [331,7; 1448,0]	1599,5 [1062,0; 2281,0]
	-	-	$p_{2,3}=0,0438, p_{1,3}=0,0409$
ГГТ	24,7 [20,8; 31,1]	20,8 [18,5; 24,8]	20,5 [17,3; 23,6]
	-	-	$p_{1,3}=0,0105$
$\alpha$ -амилаза	300,0 [121,3; 1107,0]	635,2 [417,0; 796,8]	317,4 [160,8; 530,1]
	-	-	$p_{2,3}=0,0382$

ответом на проводимую терапию [26, 27]. Как фермент, участвующий в анаэробном метаболизме, ЛДГ может влиять на злокачественный потенциал опухоли посредством различных механизмов, в частности увеличения пролиферации, жизнеспособности и инвазивной способности опухолевых клеток, а также уменьшения апоптоза [28, 29]. Расхождения с литературными данными могут быть связаны с использованием слюны в качестве биосубстрата, а также с определением суммарного содержания всех изоферментов ЛДГ, что не позволяет в полной мере оценить вклад ЛДГ5 как наиболее перспективного в диагностическом плане [30].

Активность ЩФ статистически достоверно выше на фоне НЭО легкого, чем для контрольной группы, что коррелирует с литературными данными [31, 32]. Дополнительно показано различие уровня ЩФ между опухолями разной степени злокачественности, а именно: повышенная активность ЩФ для карциноидных опухолей легкого. Однако, как и в случае ЛДГ, максимальная активность отмечена для периферической формы роста, при прогрессировании заболевания актив-

Таблица 5

Активность метаболических ферментов в зависимости от размера опухоли

Показатель, Е/л	T <sub>1</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>0</sub>	T <sub>2</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>0</sub>	T <sub>3</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>0</sub>	T <sub>4</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>0</sub>
АЛТ	8,33 [4,96; 25,68]	4,08 [2,08; 7,92]	3,38 [2,38; 5,88]	3,38 [1,77; 5,38]
	-	-	<i>p</i> =0,0492	<i>p</i> =0,0357
АСТ	13,82 [5,54; 33,94]	6,17 [3,58; 9,83]	5,42 [2,92; 10,58]	5,50 [2,33; 7,08]
АСТ/АЛТ	1,21 [1,06; 1,55]	1,52 [1,11; 1,80]	1,55 [1,21; 1,79]	1,32 [1,02; 1,86]
ЩФ	115,17 [68,45; 161,89]	99,96 [65,19; 134,73]	70,62 [53,24; 91,27]	67,36 [52,15; 117,34]
ЛДГ	1843,0 [844,0; 2389,5]	1326,0 [906,8; 1941,0]	1072,9 [445,0; 1649,0]	996,9 [400,8; 1407,0]
ГГТ	20,9 [16,9; 24,0]	21,1 [18,4; 25,2]	21,1 [19,6; 22,9]	23,9 [19,4; 30,8]
α-амилаза	Нет данных	242,3 [78,5; 379,5]	383,3 [250,4; 796,8]	530,1 [190,6; 599,0]

ность ЩФ снижается. Данный факт объясняется тем, что локальные стадии заболевания без регионарных и отдаленных метастазов составляют в основном опухоли типа G1+G2, для которых активность ЩФ выше.

Известно, что клетки нормального легкого способны продуцировать α-амилазу, причем доказано, что речь идет именно о слюнной, а не панкреатической α-амилазе [33]. В частности, повышенная экспрессия α-амилазы характерна для аденокарциномы легкого [34, 35]. В подавляющем большинстве исследований активность α-амилазы определяли в ткани опухоли после хирургического лечения или биопсии, в редких случаях в сыворотке крови [36], однако ни в одном из исследований для этой цели не использовали слюну человека. В ходе данного исследования показано, что активность α-амилазы, определяемая в слюне, статистически достоверно увеличивается при НЭО легкого (*p*=0,0328). При этом наблюдается тенденция увеличения активности α-амилазы с ростом степени злокачественности, достигая максимальных значений при мелкоклеточном раке легкого. Также установлено увеличение активности данного фермента при центральной форме роста опухоли и прогрессировании заболевания, в частности наличии отдаленного и регионарного метастазирования. Интересно, что при НЭО активность α-амилазы слюны на 12,3% выше, чем на фоне аденокарциномы, о чем имеются единичные сведения в литературе [21, 37]. Повышение активности слюнной α-амилазы может быть ответом на развитие системной эндогенной интоксикации, которая более выражена в случае НЭО, в особенности мелкоклеточного рака легкого [38].

ГГТ также составляет одну из детоксицирующих систем организма, он принимает участие в разрушении серотонина, гистамина, а также протеолизе денатурированных белков, что позволяет рассматривать его, как маркер интоксикации [39]. Статистически достоверное по-

вышение активности ГГТ выявлено на стадии T<sub>4</sub>N<sub>0-3</sub>M<sub>0</sub>, при наличии регионарного метастазирования, а также при медиастинальной форме роста НЭО легкого (табл.4-6). Увеличение активности ГГТ может быть связано с повышенным образованием активных форм кислорода опухолевой тканью [40, 41]. Тем не менее различий активности ГГТ слюны в зависимости от степени злокачественности рака легкого не выявлено (табл.2).

В целом, при прогрессировании заболевания сохраняется общая тенденция в динамике исследуемых параметров (табл. 5, 6). Активность ферментов максимальна на ранних стадиях заболевания и уменьшается вплоть до появления отдаленных метастазов. Исключение составляют α-амилаза и ГГТ. Как было показано ранее, это может быть связано с увеличением в данном направлении уровня эндогенной интоксикации [42].

Ограничения проведенного исследования связаны с небольшим числом ферментов, включенных в исследование, в частности перспективным является рассмотрение активности антиоксидантных ферментов, а также изоферментов ЛДГ и ЩФ для уточнения и расширения выявленных закономерностей. Интересным является обоснование применения полученных результатов для мониторинга течения заболевания, что требует изучения динамики исследуемых параметров на фоне различных видов лечения, в том числе химиотерапевтического и лучевого.

**Заключение.** На фоне НЭО легкого наблюдается изменение активности метаболических ферментов. Статистически достоверные отличия между опухолями разной степени злокачественности выявлены для аминотрансфераз, ЩФ и α-амилазы. Показано уменьшение активности исследуемых ферментов на фоне прогрессирования заболевания, в том числе наличия отдаленного и регионарного метастазирования. Наиболее перспективным, на наш взгляд, является изучение активности α-амилазы слюны для диагностики мелкоклеточного рака легкого.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Таблица 6

Активность ферментов слюны в зависимости от наличия/отсутствия отдаленного и регионарного метастазирования

Показатель, Е/л	N <sub>0</sub> M <sub>0</sub> (1)	N <sub>1-3</sub> M <sub>0</sub> (2)	N <sub>1-3</sub> M <sub>1</sub> (3)
АЛТ	4,46 [3,38; 6,46]	3,85 [2,08; 5,50]	4,88 [4,00; 6,46]
	-	-	<i>p</i> <sub>2-3</sub> =0,0498
АСТ	6,50 [4,25; 9,25]	5,38 [3,04; 7,46]	6,54 [4,58; 9,33]
АСТ/АЛТ	1,56 [1,17; 1,80]	1,33 [1,08; 1,75]	1,35 [0,97; 1,59]
ЩФ	108,65 [82,57; 147,76]	67,36 [56,50; 117,34]	61,93 [36,94; 84,75]
	-	<i>p</i> <sub>1-2</sub> =0,0464	<i>p</i> <sub>1-3</sub> =0,0082
ЛДГ	1434,5 [1062,0; 2281,0]	1060,5 [441,8; 1613,0]	1233,0 [535,7; 1583,0]
	-	<i>p</i> <sub>1-2</sub> =0,0417	-
ГГТ	20,9 [18,4; 23,6]	22,6 [18,8; 26,5]	19,9 [19,2; 21,0]
α-амилаза	242,3 [160,8; 599,0]	349,6 [121,3; 477,1]	609,3 [458,8; 924,3]

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп.2-19, 21-41 см. REFERENCES)

1. Кушлинский Н.Е., Красильников М.А. *Биологические маркеры опухолей: фундаментальные и клинические исследования*. М.: Издательство РАМН; 2017.
20. Клиническая биохимия. Сборник инструкций. Новосибирск: ЗАО «Вектор-Бест»; 2011.
42. Бельская Л.В., Косенок В.К., Массард Ж., Завьялов А.А. Состояние показателей липопероксидации и эндогенной интоксикации у больных раком легкого. *Вестник РАМН*. 2016; 71(4): 313-22.

REFERENCES

1. Kushlinskiy N.Ye., Krasil'nikov M.A. Biological markers of tumors: fundamental and clinical studies. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2017. (in Russian)
2. Asamura H., Kameya T., Matsuno Y., Noguchi M., Tada H., Ishikawa Y., Yokose T., Jiang S.X., Inoue T., Nakagawa K., Tajima K., Nagai K. Neuroendocrine neoplasms of the lung: a prognostic spectrum. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(1): 70-6.
3. Gustafson B.I., Kidd M., Chan A., Malfertheiner M.V., Modlin I.M. Bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Cancer*. 2008; 113(1): 5-21.
4. Travis W.D., Brambilla E., Burke A.P., Marx a., Nicholson A.G. WHO Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon: IARC; 2015.
5. Rekhtman N. Neuroendocrine Tumors of the Lung: an update. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2010; 134(11): 1628-38.
6. Hendifar A.E., Marchevsky A.M., Tuli R. Neuroendocrine Tumors of the Lung: Current Challenges and Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated Disease. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017; 12(3): 425-36.
7. Wolin E.M. Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated and Intermediate Differentiated Neuroendocrine Tumors of the Lung. *CHEST*. 2017; 151(5):1141-6.
8. Kim J.Y., Hong S.-M., Ro J.Y. Recent updates on grading and classification of neuroendocrine tumors. *Annals of Diagnostic Pathology*. 2017; 29: 11-6.
9. Miękus N., Bączek T. Non-invasive screening for neuroendocrine tumors—Biogenic amines as neoplasm biomarkers and the potential improvement of “gold standards”. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016; 130: 194–201.
10. Korse C.M., Buning-Kager J.C.G.M., Linders T.C., Heijboer A.C., van den Broek D., Tesselaar M.E.T., van Tellingen O., van Rossum H.H. A serum and platelet-rich plasma serotonin assay using liquid chromatography tandem mass spectrometry for monitoring of neuroendocrine tumor patients. *Clinica Chimica Acta*. 2017; 469:130–5.
11. Chan D.L., Clarke S.J., Diakos C.I., Roach P.J., Bailey D.L., Singh S., Pavlakis N. Prognostic and predictive biomarkers in neuroendocrine tumor's. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2017; 113:268–82.
12. Buccheri G., Ferrigno D. Serum biomarkers of non-neuron-endocrine origin in small-cell lung cancer: a 16-year study on carcinoembryonic antigen, tissue polypeptide antigen and lactate dehydrogenase. *Lung cancer*. 2000; 30: 37-49.
13. Wong D.T. Salivary Diagnostics. Wiley-Blackwell: 2008.
14. Malathi N, Mythili S, Vasanthi HR. Salivary Diagnostics: A Brief Review. *ISRN Dentistry*. 2014; 2014:158786.
15. 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.
16. Nunes L.A., Mussavira S, Bindhu O.S. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochem. Med. (Zagreb)*. 2015; 25(2): 177–92.
17. Liu J., Duan Y. Saliva: A potential media for disease diagnostics and monitoring. *Oral Oncology*. 2012;48: 569-77.
18. 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.
19. Shipper RG, Silletti E, Vingerhoeds MH. Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. *Archives of Oral Biology*. 2007; 52: 1114-35.

20. Clinical biochemistry. Collection of instructions [Klinicheskaya biokhimiya. Sbornik instruksiy]. Novosibirsk: ZAO «Vektor-Best»; 2011. (in Russian)
21. Bel'skaya L.V., Kosenok V.K. The activity of metabolic enzymes in the saliva of lung cancer patients. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*. 2017; 7(6): 646-53.
22. Elf S.E., Chen J. Targeting glucose metabolism in patients with cancer. *Cancer*. 2014; 120: 774.
23. Vander Heiden M.G., Cantley L.C, Thompson C.B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*. 2009; 324: 1029.
24. Bezan A., Mrcic E., Krieger D., Stojakovic T., Pummer K., Zigeuner R., Hutterer G.C., Pichler M. The Preoperative AST/ALT (De Ritis) Ratio Represents a Poor Prognostic Factor in a Cohort of Patients with Nonmetastatic Renal Cell Carcinoma. *The Journal of Urology*. 2015; 194: 30-5.
25. Lee H., Choi Y.H., Sung H.H., Han D.H., Jeon H.G., Jeong B.C., Seo S.I., Jeon S.S., Lee H.M., Choi H.Y. De Ritis ratio (AST/ALT) as a significant prognostic factor in patients with upper tract urothelial cancer treated with surgery. *Clinical Genitourinary Cancer*; 2016.
26. Huijgen H.J., Sanders G., Koster R.W., Vreeken J., Bossuyt P. The clinical value of lactate dehydrogenase in serum: a quantitative review. *Eur. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1997; 35(8): 569-79.
27. Hermes A., Gatzemeier U., Waschki B., Reck M. Lactate dehydrogenase as prognostic factor in limited and extensive disease stage small cell lung cancer – A retrospective single institution analysis. *Respiratory Medicine*. 2010; 104: 1937-42.
28. Wang Z-X., Yang L-., Qiu M-Z., Wang Z-Q., Zhou Y-X., Wang F., Zhang D-S., Wang F-H., Li Y-H., Xu R-H. Prognostic value of preoperative serum lactate dehydrogenase levels for resectable gastric cancer and prognostic nomograms. *Oncotarget*. 2016; 26(7): 945-56.
29. Yao F., Zhao T., Zhong C., Zhu J., Zhao H. LDHA is necessary for the tumorigenicity of esophageal squamous cell carcinoma. *Tumor Biology*. 2013; 34: 25-31.
30. Augoff K., Hryniewicz-Jankowska A., Tabola R. Lactate dehydrogenase 5: An old friend and a new hope in the war on cancer. *Cancer Letters*. 2015; 358(1): 1-7.
31. Malathi M., Shrinivas B.R. Relevance of serum alkaline phosphatase as a diagnostic aid in lung pathology. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 2001; 45(1): 119-21.
32. Dokic-Lisanin M., Pantovic V., Jovanovic Z., Samardzic G., Jurisic V. Values of alkaline phosphatase and their isoenzyme profiles in patients with cancer in respect to bone and liver metastasis. *Arch. Oncol.* 2013; 21(1): 14-6.
33. Nakamura Y., Tomita N., Nishide T., Emi M., Horii A., Ogawa M., Mori T., Kosaki G., Okabe T., Fujisawa M., Ohsawa N., Kameya T., Matsubara K. Production of salivary type  $\alpha$ -amylase in human lung cancer. *Gene*. 1989; 77: 107-12.
34. Lenler-Petersen P., Grove A., Brock A., Jernes R. Alpha-amylase in resectable lung cancer. *Eur. Respir. J.* 1994; 7: 941-5.
35. Turkeli S., Atici A.G., Kayhan S., Yilmaz Y.A. Analysis of pleural amylase levels in chest disease clinic. *Journal of Experimental and Clinic Medicine*. 2013; 30: 349-52.
36. Sakai M., Yamamoto T., Onizuka M., Sakakibara Y., Noguchi M. A direct measurement of serum amylase levels produced by lung cancer. *Ann. Thorac. Surg.* 2005; 79:1409-11.
37. Wang H., Wu Q. A case of amylase-producing small cell lung cancer. *Clinical Biochemistry*. 2016; 49(7-8): 613-6.
38. Grigoleit J-S., Kullmann J.S., Overbeck R., Schedlowski M., Engler H. Salivary  $\alpha$ -amylase response to endotoxin administration in humans. *Psychoneuroendocrinology*. 2013; 38: 1819-23.
39. Whitfield J.B. Gamma Glutamyl Transferase. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2001; 38(4): 263-355.
40. Pompella A., De Tata V., Paolicchi A., Zunino F. Expression of  $\gamma$ -glutamyltransferase in cancer cells and its significance in drug resistance. *Biochemical Pharmacology*. 2006; 71: 231-8.
41. Van Hemelrijck M., Jassem W., Walldius G., Fentiman I.S., Hammar N., Lambe M., Garmo H., Jungner I., Holmberg L. Gamma-glutamyltransferase and risk of cancer in a cohort of 545,460 persons – the Swedish AMORIS study. *European Journal of Cancer*. 2011; 47: 2033-41.
42. Bel'skaya L.V., Kosenok V.K., Massard Zh., Zav'yalov A.A. Status Indicators of Lipid Peroxidation and Endogenous Intoxication in Lung Cancer Patients. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2016; 71(4): 313-22. (in Russian)

Поступила 14.08.18

Принята к печати 15.09.18