

## ИССЛЕДОВАНИЕ ИК СПЕКТРОВ СЛЮНЫ ПАЦИЕНТОВ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Л. В. Бельская<sup>1\*</sup>, Е. А. Сарф<sup>1</sup>, И. А. Гундырев<sup>2</sup>

УДК 543.422;612.313.1;612.313.6;616-006.6

<sup>1</sup> Омский государственный педагогический университет, 644043, Омск, Набережная Тухачевского, 14, Россия; e-mail: ludab2005@mail.ru

<sup>2</sup> ООО “Три-Софт”, Омск, Россия

(Поступила 22 августа 2018)

Показана принципиальная возможность диагностики рака легкого и молочной железы методом ИК-фурье-спектроскопии слюны. Статистически достоверные отличия для ИК спектров слюны больных раком легкого наблюдаются в диапазоне 1070–1240 см<sup>-1</sup>, тогда как для пациентов с раком молочной железы — во всем исследуемом диапазоне. Выявлены коэффициенты  $I_{1398/1454}$  и  $I_{1240/1310}$ , изменение которых на фоне онкологической патологии статистически достоверно. Установлены корреляции интенсивности полос поглощения в ИК спектрах с неспецифическими биохимическими параметрами слюны, которые в общем виде характеризуют усиление интоксикации, угнетение системы антиоксидантной защиты и иммунный ответ организма. Перспективным направлением исследования является применение ИК спектроскопии слюны для мониторинга процесса лечения и контроля возникновения рецидива онкологических заболеваний.

**Ключевые слова:** слюна, ИК-фурье-спектроскопия, онкология, диагностика.

The principal possibility of the lung and breast cancer diagnosis by studying of saliva with the use of the method of infrared Fourier spectroscopy is shown. Statistically significant differences in the saliva IR spectra of patients with lung cancer are observed in the range of 1070–1240 cm<sup>-1</sup>, whereas for patients with breast cancer – they are observed in the whole studied spectral range. The coefficients  $I_{1398/1454}$  and  $I_{1240/1310}$  were revealed, the change of which on the background of oncological pathology are statistically significant. The intensity correlations of the saliva absorption bands in the IR spectra with non-specific biochemical parameters, which in general form characterize the enhancement of intoxication, inhibition of the antioxidant defense system and the immune response of the organism, were established. A promising area of research is the use of saliva IR spectroscopy to monitor the treatment process and control the occurrence of cancer recurrence.

**Keywords:** saliva, IR-Fourier spectroscopy, oncology, diagnostics.

**Введение.** Идентификация новых специфических биомаркеров для выявления рака вместе с разработкой надежных и простых в использовании технологий важна для улучшения ранней диагностики и оптимизации лечения онкологических заболеваний [1]. Один из перспективных методов в данном направлении — ИК-фурье спектроскопия [2–4]. Описано применение данного метода для выявления и мониторинга процесса лечения рака молочной железы [5, 6]. Показаны отличия спектров поглощения сыворотки крови больных раком легкого и здоровых людей, а также различия опухолевой ткани и здорового легкого [7, 8]. В литературе уделено внимание диагностике рака желудка [9], кишечника [10, 11], печени [12], предстательной железы [13, 14], щитовидной железы [15], яичников [16], мочевого пузыря [17] и другим видам онкологических заболеваний [18–20].

В настоящее время внимание исследователей привлекает слюна в качестве информативного биоматериала, что позволяет проводить неинвазивную диагностику и мониторинг параметров орга-

---

## STUDY OF IR SPECTRA OF SALIVA OF PATIENTS WITH ONCOLOGIC DISEASES

L. V. Bel'skaya<sup>1\*</sup>, E. A. Sarf<sup>1</sup>, I. A. Gundyrev<sup>2</sup> (<sup>1</sup> Omsk State Pedagogical University, 14 Naberezhnaya Tukhachevskogo Str., Omsk, 644043, Russia; e-mail: ludab2005@mail.ru; <sup>2</sup> Tri-Soft, Omsk, Russia)

низма человека [21, 22]. ИК спектроскопия слюны является одновременно экспрессным и неинвазивным методом анализа. Однако применение ИК спектроскопии слюны для диагностики онкологических заболеваний в литературе не описано. Цель настоящего исследования — определение принципиальной возможности применения ИК-фурье-спектроскопии слюны для диагностики онкологических заболеваний на примере рака легкого и рака молочной железы как наиболее распространенных среди мужского и женского населения.

**Материалы и методы.** В исследовании случай—контроль приняли участие добровольцы, которые были разделены на две группы: основную (с диагнозом рак легкого и рак молочной железы) и контрольную (условно здоровые). Основная группа включала в себя 40 больных раком легкого (плоскоклеточный рак — 16, аденокарцинома — 16, нейроэндокринные опухоли — 8 человек) и 50 больных раком молочной железы. Контрольная группа включала в себя условно здоровых пациентов, у которых при проведении плановой диспансеризации не выявлено патологии легких и молочных желез (55 мужчин и 58 женщин). 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. 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 1 мл. Образцы слюны собирали утром натощак в стерильные пробирки, центрифугировали при 7000 об/мин. Образцы объемом 50 мкл высушивали на подложке из селенида цинка в термостате при 37 °С. ИК спектры поглощения зарегистрированы на ИК-фурье-спектрометре “ФТ-801” (Симекс) в диапазоне 500—4000 см<sup>-1</sup>.

Статистический анализ полученных данных выполнен с помощью программ Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах — U-критерия Манна—Уитни. Описание выборки проводили с помощью подсчета 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 их обсуждение.** Для каждой группы, включенной в исследование, рассчитаны усредненные ИК спектры слюны (рис. 1). На ИК спектрах слюны можно идентифицировать соответствующие спектральные особенности белков, фосфолипидов и нуклеиновых кислот [23]. Качественных различий между спектрами в исследуемых группах не выявлено, однако наблюдаются смещения полос поглощения (ПП) (табл. 1). Установлено, что для пациентов с раком легкого и раком молочной железы смещения ПП, соответствующих белковым группам, однотипны. Так, полоса амида I в норме расположена вблизи 1655 см<sup>-1</sup>, при наличии онкологической патологии она смещается до 1640 см<sup>-1</sup>, что может быть связано с изменениями вторичных белковых структур. Одновременно ПП амида II

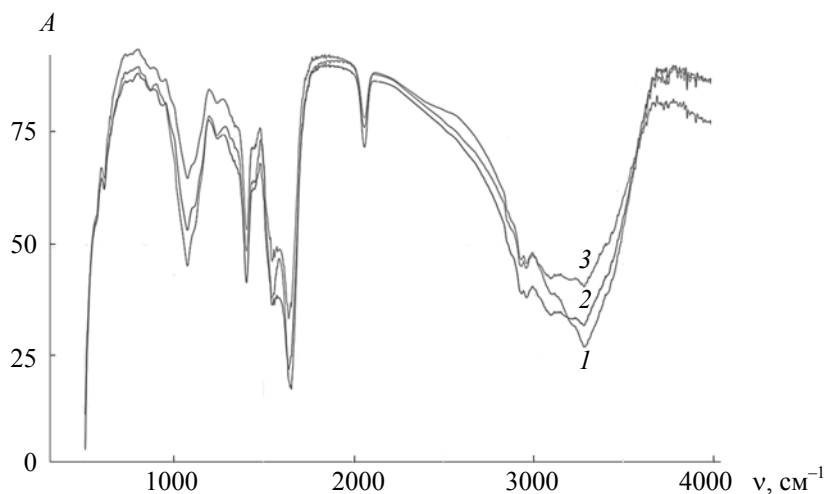


Рис. 1. Усредненные ИК спектры слюны: 1 — контрольная группа, 2 — рак легкого, 3 — рак молочной железы

в норме достигает максимума при  $1547\text{ см}^{-1}$ , в то время как она смещается до  $1549\text{ см}^{-1}$  для обеих основных групп. ПП амида III, расположенная в норме при  $1300\text{ см}^{-1}$ , смещается до  $1310\text{ см}^{-1}$  при раке легкого, до  $1315\text{ см}^{-1}$  при раке молочной железы. Для ПП, соответствующих липидам и жирным кислотам, также выявлено смещение (табл. 1). В частности, ПП карбонильной группы смещается от  $1740$  до  $1735\text{ см}^{-1}$ , тогда как ПП  $1393\text{ см}^{-1}$  на фоне онкологических заболеваний смещается до  $1406\text{ см}^{-1}$ . Для фосфодиэфирных групп смещение наблюдается как для ПП  $1240\text{ см}^{-1}$  до  $1242\text{ см}^{-1}$  при раке молочной железы и  $1244\text{ см}^{-1}$  при раке легкого, так и для  $1075\text{ см}^{-1}$  до  $1076\text{—}1078\text{ см}^{-1}$  при обеих патологиях. В первом случае смещение может указывать на большую долю водородной связи фосфодиэфирных групп в норме, тогда как во втором — на взаимодействие между нуклеиновыми кислотами и водой. Поскольку обе ПП обусловлены в основном вкладом нуклеиновых кислот, эти сдвиги могут характеризовать изменение структуры нуклеиновых кислот в процессе канцерогенеза.

**Т а б л и ц а 1. Основные полосы поглощения ( $\nu$ ,  $\text{см}^{-1}$ ) в ИК спектрах слюны исследуемых групп**

Контроль	Рак легкого	Рак молочной железы	Тип колебаний
3283—3285	3282	3282	$\nu\text{NH}$
3065	3070	3070	$\text{R-NH}_2$ ( $\nu_{\text{as}}\text{NH}$ , $\nu_{\text{s}}\text{NH}$ ) $\text{R-NH}$ ( $\nu\text{NH}$ )
2961—2963	2963	2959	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$
2934	2934—2936	2934	$\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$
2875	2876	2876	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_3$
2850	2855	2855	$\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$
2059	2060	2060	$\nu\text{SCN}^-$
1740	1735	1736	$\nu\text{C=O}$
1655	1640	1640	$\nu\text{CO}$
1547	1549	1549	$\delta\text{NH}$ , $\nu\text{CN}$
1452	1460	1460	$\delta\text{CH}_2$
1393	1406	1406	$\delta\text{CH}_3$
1300	1310	1315	$\delta\text{NH}$ , $\nu\text{CN}$
1240	1244	1242	$\nu_{\text{as}}\text{PO}$
1160—1165	1160	1155	$\nu\text{CO}$ , $\nu\text{CC}$
1121	1120	1120	$\nu_{\text{s}}\text{PO}$ , $\nu\text{CC}$ , $\nu\text{CO}$
1075	1076—1078	1078	$\nu\text{CN}$ , $\nu_{\text{s}}\text{PO}_2^-$
955—960	960	970	$\nu\text{CC}$ , $\nu\text{CO}$ , $\nu\text{CH}_2\text{OH}$
925—935	929—931	929—933	$\nu\text{CC}$ , $\nu\text{CO}$ , $\nu\text{CH}_2\text{OH}$
860	860	860	$\nu\text{PO}$ ( $\text{P}_2\text{O}_7$ ), $\delta\text{OCN}$ , $\delta\text{NH}$
613—615	613—615	613	$\delta\text{CO}$

На следующем этапе проведено сравнение интенсивностей ПП в ИК спектрах слюны больных раком легкого, раком молочной железы и здоровых добровольцев (табл. 2, 3). При этом группа больных раком легкого включала в себя пациентов только мужского пола, поэтому для корректной оценки полученных результатов контрольная группа также разбита на две подгруппы по полу (табл. 2). Показано, что статистически достоверные отличия для ИК спектров слюны больных раком легкого наблюдаются в диапазоне  $1070\text{—}1240\text{ см}^{-1}$ . ПП в данном диапазоне могут быть отнесены к нуклеиновым кислотам [24].

Известно, что слюна содержит внеклеточную ДНК, а геномный анализ показывает, что 70 % ДНК слюны происходит из плазмы крови и 30 % от микробиоты полости рта [25]. В плазме крови человека, а значит, и в слюне содержание свободных (внеклеточных) нуклеиновых кислот повышено при некоторых патологических процессах (онкологическом заболевании, воспалении, травме и т. д.) [26]. Так, в крови онкологических больных обнаружены происходящие из опухолевых клеток фрагменты ДНК, “опухолевые” мРНК и микроРНК [27, 28]. Присутствие в крови как здоровых людей, так и онкологических больных циркулирующих ДНК и РНК обусловлено двумя процессами — клеточным распадом (апоптозом и некрозом) и клеточной секрецией [29]. Клеточный распад ведет к высвобождению клеточного содержимого, фрагментации молекул и их фагоцитозу. Циркулирующие в кровотоке опухолевые клетки также могут вносить вклад в пул внеклеточных молекул [30]. Установлено,

что нормальные клетки претерпевают, как правило, упорядоченный процесс апоптоза с образованием и поступлением в кровоток дискретных фрагментов преимущественно мононуклеосомного размера (~150 пар оснований), тогда как для опухолевых клеток более характерен некроз (образующиеся при этом ДНК гетерогенны и имеют размер в интервале 200—400 пар оснований) [28]. В зависимости от стадии процесса и, соответственно, размера опухоли доля “опухолевых” ДНК варьирует в широких пределах (от 3 до 93 % общей массы циркулирующей ДНК) [31].

Для группы пациентов с раком молочной железы отличий в спектрах значительно больше (табл. 3). Согласно [32], колебания фосфодиэфирных групп, нуклеиновых кислот и фосфолипидов, обнаруженных между 1300 и 800  $\text{см}^{-1}$ , являются полезными спектральными биомаркерами для выявления рака. Для характеристики клеточной активности (например, при прогрессировании рака) может быть использована ПП 970  $\text{см}^{-1}$ , которая описывает процессы фосфорилирования белков, а также содержание клеточной ДНК [33]. В области 1500—1300  $\text{см}^{-1}$  могут быть обнаружены колебания метильных и метиленовых групп молекул белков, липидов, а также карбоксильных групп жирных кислот и аминокислот [34]. ПП в интервале 1700—1580  $\text{см}^{-1}$  могут характеризовать ДНК и РНК, а также давать информацию об изменениях конформационной структуры белков [35, 36]. ПП 1740—1710  $\text{см}^{-1}$  в основном приписываются поглощению фосфолипидов, однако полоса при 1714  $\text{см}^{-1}$  может быть отнесена к поглощению нуклеиновых кислот, что может использоваться в качестве прогностического маркера, в частности, при лейкемии [37]. Так, интервал 3050—2800  $\text{см}^{-1}$ , который содержит колебания метильных и метиленовых групп насыщенных и ненасыщенных алкильных цепей, может оказаться полезным для оценки проницаемости мембран клеток, а также процессов окислительной модификации белков [38].

Следует отметить, что во всем спектральном диапазоне интенсивность ПП при раке молочной железы и раке легкого ниже, чем для образцов контрольной группы (табл. 2, 3). Исключение составляет диапазон 2800—3050  $\text{см}^{-1}$ , что может быть связано с более выраженными процессами перекисного окисления липидов клеточных мембран и нарастанием эндогенной интоксикации на фоне онкологической патологии.

**Т а б л и ц а 2. Интенсивность полос поглощения в спектрах здоровых мужчин и пациентов с раком легкого**

$\nu$ , $\text{см}^{-1}$	Контроль (М), $n = 55$	Рак легкого, $n = 40$	$p$
613—615	35.3 [29.0; 41.0]	35.6 [31.6; 41.7]	0.5273
860	11.5 [6.4; 18.3]	11.4 [6.1; 19.0]	0.8042
925—935	14.9 [9.3; 22.5]	16.7 [8.0; 21.9]	0.9638
960—970	18.3 [14.3; 26.1]	16.5 [10.0; 23.5]	0.0972
1070—1080	57.2 [44.8; 65.6]	44.2 [35.5; 54.7]	<b>0.0007*</b>
1120—1130	46.4 [37.2; 53.4]	37.4 [29.6; 49.4]	<b>0.0060*</b>
1155—1165	34.7 [28.4; 41.9]	28.7 [22.8; 38.1]	<b>0.0152*</b>
1240	26.6 [20.8; 32.6]	21.6 [16.4; 30.4]	<b>0.0447*</b>
1310	26.4 [21.4; 32.7]	24.1 [19.1; 34.2]	0.2564
1400	52.9 [45.3; 67.5]	58.4 [47.6; 69.3]	0.8150
1460	36.2 [29.4; 47.2]	33.0 [25.4; 43.8]	0.1153
1550	70.5 [56.7; 79.9]	62.7 [55.0; 76.1]	0.1678
1640	93.9 [78.2; 97.2]	83.5 [63.5; 98.9]	0.2653
1735	17.5 [10.3; 22.3]	13.2 [9.8; 19.4]	0.1834
2060	23.6 [13.4; 36.9]	19.4 [12.8; 28.6]	0.2337
2850	44.2 [34.8; 52.9]	47.1 [37.0; 58.4]	0.5365
2875	47.9 [36.7; 55.5]	50.7 [38.7; 62.9]	0.4784
2930	58.5 [45.2; 66.9]	61.9 [49.0; 73.0]	0.5365
2950	59.3 [46.9; 68.0]	62.1 [50.3; 74.5]	0.5319
3070	65.7 [49.7; 75.5]	66.4 [54.4; 78.8]	0.8751
3266	82.1 [64.9; 87.8]	72.6 [43.3; 88.1]	0.1185
3280	83.4 [65.8; 89.1]	72.9 [43.8; 89.1]	0.0958

\* Различия статистически достоверны,  $p < 0.05$ .

**Т а б л и ц а 3. Интенсивность полос поглощения в спектрах здоровых женщин и пациенток с раком молочной железы**

$\nu$ , $\text{см}^{-1}$	Контроль (Ж), $n = 58$	РМЖ, $n = 50$	$p$
613—615	35.9 [31.8; 42.8]	33.1 [29.8; 36.8]	<b>0.0316*</b>
860	9.8 [5.6; 19.1]	5.4 [3.2; 11.5]	<b>0.0083*</b>
925—935	14.6 [7.6; 20.1]	10.0 [4.7; 16.2]	<b>0.0430*</b>
960—970	17.9 [12.1; 23.8]	9.3 [6.8; 17.5]	<b>0.0001*</b>
1070—1080	52.3 [42.9; 63.9]	31.7 [22.7; 42.9]	<b>0.0000*</b>
1120—1130	41.9 [33.6; 48.8]	28.1 [19.0; 37.3]	<b>0.0000*</b>
1155—1165	32.4 [25.3; 38.4]	20.7 [14.0; 29.6]	<b>0.0000*</b>
1240	23.4 [18.6; 28.3]	14.9 [9.8; 22.6]	<b>0.0000*</b>
1310	21.8 [18.2; 27.9]	17.9 [11.4; 25.8]	<b>0.0050*</b>
1400	44.6 [36.8; 56.4]	44.8 [28.9; 60.7]	0.4957
1460	31.2 [25.9; 37.5]	24.2 [15.7; 31.2]	<b>0.0013*</b>
1550	60.6 [48.2; 68.3]	50.7 [37.5; 70.6]	0.1956
1640	86.6 [61.2; 96.8]	62.7 [43.4; 84.3]	<b>0.0008*</b>
1735	13.8 [9.5; 18.9]	9.6 [7.6; 13.3]	<b>0.0009*</b>
2060	23.6 [12.8; 32.8]	16.1 [11.5; 25.2]	<b>0.0410*</b>
2850	38.0 [28.6; 47.9]	40.8 [30.7; 54.9]	0.2009
2875	39.6 [29.9; 50.4]	41.9 [31.3; 58.1]	0.2492
2930	49.2 [38.6; 60.6]	52.9 [36.5; 69.3]	0.3823
2950	49.9 [38.8; 62.3]	52.8 [36.3; 70.4]	0.4704
3070	55.2 [41.9; 68.7]	54.1 [38.4; 72.0]	0.8060
3266	73.9 [50.9; 85.9]	53.6 [42.3; 72.0]	<b>0.0047*</b>
3280	75.3 [52.1; 87.3]	54.3 [42.8; 72.9]	<b>0.0035*</b>

Полученные результаты подтверждаются использованием многомерных статистических методов, в частности дискриминантного анализа (рис. 2). На диаграмме рассеяния канонических значений видно, что точки, соответствующие образцам контрольной группы, располагаются левее вертикальной оси 0-0, тогда как точки, соответствующие пациенткам с раком молочной железы и легкого, расположены правее. Четкого разделения относительно горизонтальной оси не отмечено, что, по-видимому, обусловлено общими для данных групп изменениями в организме человека на фоне онкологической патологии.

Дополнительную диагностическую значимость могут иметь не только интенсивности поглощения на определенных длинах волн, но и соотношения интенсивностей отдельных ПП. Так, потенциально информативным может быть отношение интенсивностей ПП 2955/2921  $\text{см}^{-1}$ , которое показы-

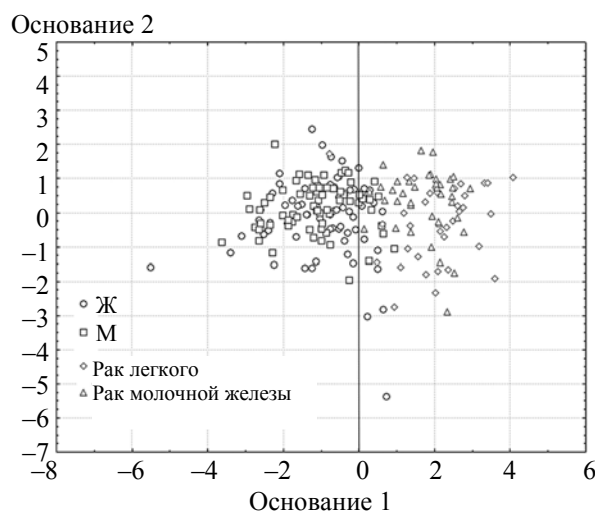


Рис. 2. Диаграмма рассеяния канонических значений для исследуемых групп

вает соотношение разветвленных и неразветвленных молекул липидов и жирных кислот ( $\text{CH}_3/\text{CH}_2$ ). На фоне онкологической патологии это соотношение ниже, чем в норме [12], что указывает на менее разветвленные цепи и/или более длинные цепи липидов и жирных кислот по сравнению с нормой. Отношение интенсивностей ПП 1744/1082  $\text{см}^{-1}$  может представлять соотношение липиды (жирные кислоты)/нуклеиновые кислоты. Повышение данного коэффициента при раке свидетельствует о том, что содержание липидов и жирных кислот увеличивается по сравнению с нуклеиновыми кислотами. Отношение интенсивностей ПП 1640/1535  $\text{см}^{-1}$  можно использовать для отражения вторичных белковых структур [39]. Отношение интенсивностей ПП 1398/1454  $\text{см}^{-1}$  также характеризует изменения во вторичной структуре белков и процессы, связанные с нарушением гипометилирования [36]. Авторы [7] сравнивали раковые и нераковые ткани легких с помощью ИК-фурье-спектроскопии и обнаружили, что четыре относительных коэффициента интенсивности  $I_{1640/1550}$ ,  $I_{1460/1400}$ ,  $I_{1240/1310}$  и  $I_{1080/1160}$  являются полезными коэффициентами для разделения злокачественных и здоровых тканей.

Нами показано, что для обеих групп изменение соотношений интенсивностей ПП при переходе от здоровых добровольцев к онкологическим больным однотипно (табл. 4, 5). При этом статистически достоверно увеличивается отношение  $I_{1398/1454}$ , которое представляет собой отношение интенсивности ПП метиленовых групп боковых цепей аминокислот (1398  $\text{см}^{-1}$ ) и боковых цепей аминокислот в белках и липидах (1454  $\text{см}^{-1}$ ). Отношение  $I_{1460/1400}$  представляет собой величину, обратную  $I_{1398/1454}$ , поэтому закономерно уменьшается при переходе от контрольной группы к основным. Отношение  $I_{1240/1310}$  уменьшается, причем более существенно уменьшение интенсивности ПП фосфолипидов (1240  $\text{см}^{-1}$ ), чем амида III (1310  $\text{см}^{-1}$ ). Для рака молочной железы статистически достоверно также уменьшение отношения  $I_{1640/1535}$ , характеризующее интенсивности ПП амида I и амида II (табл. 5).

**Т а б л и ц а 4. Соотношение интенсивностей в спектрах здоровых мужчин и пациентов с раком легкого**

Отношение интенсивностей	Контроль (М), $n = 55$	РЛ, $n = 40$	$p$	$\pm\Delta$ , %
$I_{2955/2921}$	1.016 [1.008; 1.026]	1.017 [1.002; 1.026]	0.6175	+0.1
$I_{1744/1082}$	0.314 [0.213; 0.390]	0.321 [0.254; 0.455]	0.2806	+2.2
$I_{1640/1535}$	1.276 [1.168; 1.423]	1.247 [1.138; 1.340]	0.4280	-2.3
$I_{1398/1454}$	1.541 [1.339; 1.726]	1.743 [1.458; 1.946]	<b>0.0060*</b>	+13.1
$I_{1460/1400}$	0.649 [0.579; 0.747]	0.574 [0.514; 0.686]	<b>0.0060*</b>	-11.6
$I_{1240/1310}$	1.004 [0.936; 1.044]	0.887 [0.832; 0.954]	<b>0.0000*</b>	-11.7
$I_{1080/1160}$	1.554 [1.365; 1.833]	1.514 [1.409; 1.669]	0.5692	-2.6

**Т а б л и ц а 5. Соотношение интенсивностей в спектрах поглощения здоровых женщин и пациентов с раком молочной железы**

Отношение интенсивностей	Контроль (Ж), $n = 58$	РМЖ, $n = 50$	$p$	$\pm\Delta$ , %
$I_{2955/2921}$	1.013 [0.999; 1.020]	1.006 [0.990; 1.022]	0.2451	-0.7
$I_{1744/1082}$	0.272 [0.202; 0.427]	0.309 [0.230; 0.452]	0.1468	+13.6
$I_{1640/1535}$	1.351 [1.227; 1.521]	1.184 [1.124; 1.317]	<b>0.0001*</b>	-12.4
$I_{1398/1454}$	1.417 [1.252; 1.740]	1.786 [1.591; 1.991]	<b>0.0000*</b>	+26.0
$I_{1460/1400}$	0.706 [0.575; 0.799]	0.560 [0.502; 0.629]	<b>0.0000*</b>	-20.7
$I_{1240/1310}$	1.013 [0.968; 1.061]	0.887 [0.825; 0.955]	<b>0.0000*</b>	-12.4
$I_{1080/1160}$	1.614 [1.457; 1.834]	1.584 [1.430; 1.730]	0.2751	-1.9

Далее проведено сравнение полученных коэффициентов на различных стадиях заболеваний (табл. 6, 7). Для обеих патологий сложно установить однозначный характер изменения исследуемых параметров. Так, отношение интенсивностей ПП 2955/2921  $\text{см}^{-1}$  при раке молочной железы равномерно снижается при переходе от локальных стадий заболевания к распространенным, достигая минимума при метастатическом поражении, тогда как для рака легкого минимальное отношение отмечено при стадии  $T_1N_{0-3}M_0$ .

**Т а б л и ц а 6. Соотношение интенсивностей в спектрах слюны пациентов с различными стадиями рака молочной железы**

Отношение интенсивностей	T <sub>1</sub> N <sub>0-2</sub> M <sub>0</sub> , n = 16	T <sub>2</sub> N <sub>0-2</sub> M <sub>0</sub> , n = 10	T <sub>3-4</sub> N <sub>0-2</sub> M <sub>0</sub> , n = 14	T <sub>1-4</sub> N <sub>0-2</sub> M <sub>1</sub> , n = 10
<i>I</i> <sub>2955/2921</sub>	1.008 [0.997; 1.023]	1.002 [0.990; 1.027]	1.000 [0.978; 1.020]	0.972 [0.971; 1.018]
<i>I</i> <sub>1744/1082</sub>	0.282 [0.231; 0.354]	0.366 [0.228; 0.450]	0.533 [0.392; 0.689]	0.267 [0.185; 0.437]
	—	—	<i>p</i> = 0.0472	—
<i>I</i> <sub>1640/1535</sub>	1.158 [1.093; 1.272]	1.257 [1.139; 1.353]	1.193 [1.121; 1.248]	1.317 [1.253; 1.373]
	—	—	—	<i>p</i> = 0.0390
<i>I</i> <sub>1398/1454</sub>	1.915 [1.703; 2.040]	1.800 [1.697; 2.087]	1.644 [1.515; 1.824]	1.573 [1.343; 1.727]
	—	—	<i>p</i> = 0.0082	<i>p</i> = 0.0166
<i>I</i> <sub>1460/1400</sub>	0.522 [0.490; 0.589]	0.556 [0.479; 0.589]	0.610 [0.549; 0.660]	0.636 [0.579; 0.745]
	—	—	<i>p</i> = 0.0081	<i>p</i> = 0.0162
<i>I</i> <sub>1240/1310</sub>	0.848 [0.770; 0.902]	0.875 [0.831; 0.981]	0.883 [0.827; 0.910]	0.980 [0.974; 0.987]
	—	—	—	<i>p</i> = 0.0030
<i>I</i> <sub>1080/1160</sub>	1.552 [1.472; 1.767]	1.609 [1.386; 1.675]	1.630 [1.417; 1.752]	1.473 [1.288; 1.573]

Пр и м е ч а н и е. *p* — статистически достоверные различия по сравнению с контролем.

**Т а б л и ц а 7. Соотношение интенсивностей в спектрах слюны пациентов с различными стадиями рака легкого**

Отношение интенсивностей	T <sub>1</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>0</sub> , n = 8	T <sub>2</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>0</sub> , n = 12	T <sub>3-4</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>0</sub> , n = 10	T <sub>1-4</sub> N <sub>0-3</sub> M <sub>1</sub> , n = 10
<i>I</i> <sub>2955/2921</sub>	1.008 [1.001; 1.019]	1.025 [1.004; 1.029]	1.021 [1.005; 1.027]	1.015 [0.995; 1.023]
<i>I</i> <sub>1744/1082</sub>	0.395 [0.303; 0.556]	0.262 [0.198; 0.354]	0.319 [0.250; 0.436]	0.467 [0.293; 0.509]
<i>I</i> <sub>1640/1535</sub>	1.128 [0.974; 1.160]	1.318 [1.273; 1.524]	1.275 [1.215; 1.464]	1.190 [1.012; 1.273]
<i>I</i> <sub>1398/1454</sub>	1.474 [1.219; 2.033]	1.629 [1.369; 1.810]	1.904 [1.705; 1.993]	1.775 [1.640; 1.933]
<i>I</i> <sub>1460/1400</sub>	0.689 [0.509; 0.823]	0.618 [0.553; 0.730]	0.525 [0.502; 0.587]	0.565 [0.517; 0.610]
<i>I</i> <sub>1240/1310</sub>	0.943 [0.771; 0.975]	0.943 [0.865; 0.987]	0.832 [0.827; 0.910]	0.872 [0.845; 0.917]
<i>I</i> <sub>1080/1160</sub>	1.405 [1.304; 1.602]	1.521 [1.410; 1.731]	1.588 [1.472; 1.797]	1.520 [1.253; 1.553]

Пр и м е ч а н и е. *p* — статистически достоверные различия по сравнению с контролем.

В целом следует отметить, что максимальное отличие исследуемых коэффициентов от контрольной группы в случае рака молочной железы наблюдается на начальных стадиях заболевания (рис. 3, *а*), в случае рака легкого — на запущенных стадиях (рис. 3, *б*). При этом статистически достоверные отличия между стадиями заболеваний выявлены только для рака молочной железы. Неоднозначный характер динамики исследуемых показателей в группе пациентов с раком легкого может быть связан с гетерогенностью группы, которая объединяет пациентов с несколькими гистологическими типами данного заболевания. Однако небольшой объем выборки не позволяет провести корректное статистическое сравнение различных гистологических типов и стадий, что требует продолжения исследований в выбранном направлении.

Выявленные закономерности изменения коэффициентов могут быть объяснены соответствующими изменениями биохимического состава слюны на фоне исследуемых патологий. Так, для группы пациентов с раком легкого выявлены корреляции коэффициента *I*<sub>1398/1454</sub> с показателями липопероксидации (диеновые конъюгаты, *r* = -0.3856) и эндогенной интоксикации (*r* = -0.3608). Аналогично для коэффициента *I*<sub>1240/1310</sub> показано существование корреляционной взаимосвязи с показателями липопероксидации (триеновые конъюгаты, *r* = 0.4176), эндогенной интоксикации (*r* = 0.3563), а также с активностью каталазы (*r* = 0.3416), концентрацией сиаловых кислот (*r* = 0.4176). Ранее нами показано [40], что на фоне рака легких в слюне снижается содержание первичных продуктов липопероксидации (диеновых конъюгатов), тогда как уровень вторичных продуктов растет. Недостаточный

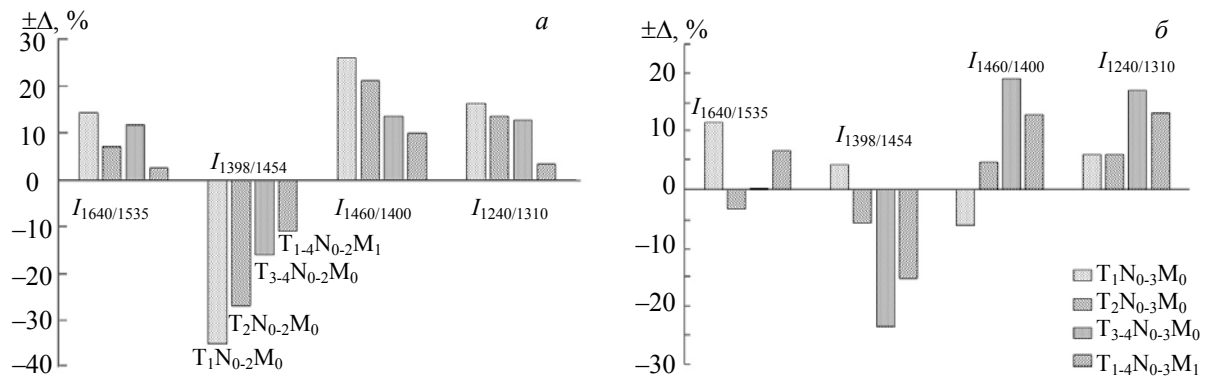


Рис. 3. Относительное изменение коэффициентов для пациентов с раком молочной железы (а) и раком легкого (б)

уровень первичных продуктов липопероксидации может быть результатом устойчивости опухолевой ткани к инициаторам перекисного стресса и модификации функционирования ферментных систем, регулирующих перекисное окисление липидов. Уровень вторичных продуктов на фоне рака легкого повышается, что может быть адаптивным процессом, направленным на выведение из клеток более токсичных метаболитов. Активность каталазы, которая является первым звеном защиты от свободнорадикального окисления, на фоне рака легких существенно уменьшается, что также согласуется с уменьшением коррелирующего с ней коэффициента  $I_{1240/1310}$ . Для концентрации сиаловых кислот показано уменьшение на фоне рака легкого, более выраженное на запущенных стадиях заболевания и при метастатическом поражении [41].

Для рака молочной железы выявлены корреляции коэффициентов  $I_{1640/1535}$  и  $I_{1240/1310}$  с содержанием диеновых конъюгатов ( $r = 0.3261$  и  $0.3364$ ) и параметрами эндогенной интоксикации ( $r = 0.5448$  и  $0.6487$ ). Дополнительно следует отметить существование корреляции между коэффициентом  $I_{1240/1310}$  и активностью аргиназы слюны, что согласуется с фактом статистически достоверного повышения активности данного фермента на фоне рака молочной железы. Выявлена корреляция активности ксантиноксидазы с коэффициентом  $I_{1640/1535}$ . Увеличение активности ксантиноксидазы свидетельствует об усилении генерирования активных форм кислорода и увеличении ее супероксидобразующей и канцерогенной активности. Этот эффект более выражен для пациентов с раком молочной железы. Для коэффициента  $I_{1398/1454}$  отмечена отрицательная корреляция с общей антиоксидантной активностью слюны ( $r = -0.3084$ ), а также суммарным содержанием иммуноглобулинов ( $r = -0.3161$ ), что свидетельствует об угнетении системы антиоксидантной защиты на фоне онкопатологии. Коэффициент  $I_{1640/1535}$  демонстрирует отрицательную корреляцию с уровнем ИЛ-2 ( $r = -0.5794$ ) и ИЛ-4 ( $r = -0.3994$ ), коэффициент  $I_{1240/1310}$  с уровнем ИЛ-2 ( $r = -0.3148$ ) и ИЛ-18 ( $r = -0.3052$ ), тогда как коэффициент  $I_{1398/1454}$  с уровнем ИЛ-6 ( $r = -0.4286$ ). ИЛ-2 запускает иммунный ответ и активирует факторы, участвующие как в противовирусной и антибактериальной, так и в противоопухолевой защите. ИЛ-4 отвечает за гуморальный иммунный ответ, обладает местной противоопухолевой активностью, подавляет продукцию цитокинов воспаления, а также регулирует множественные биологические процессы, такие как пролиферацию, дифференцировку и апоптоз в различных типах клеток. Содержание как ИЛ-2, так и ИЛ-4 растет на фоне рака молочной железы, что согласуется с уменьшением коэффициентов  $I_{1640/1535}$  и  $I_{1240/1310}$  (табл. 5). ИЛ-6 играет ключевую роль в развитии воспаления и иммунного ответа на инфекцию или повреждение тканей. При этом статистически достоверно уровень ИЛ-6 увеличивается на запущенных стадиях заболевания, что может коррелировать с уменьшением коэффициента  $I_{1398/1454}$  при переходе от стадии  $T_1N_{0-2}M_0$  к  $T_{1-4}N_{0-2}M_1$  (табл. 6).

Таким образом, выявлены корреляции интенсивности ПП в ИК спектрах и их комбинации с неспецифическими биохимическими параметрами слюны, которые в общем виде характеризуют усиление интоксикации, угнетение системы антиоксидантной защиты и иммунный ответ организма. Данный факт ограничивает применение исследуемых коэффициентов в клинической лабораторной диагностике. К ограничениям исследования также можно отнести включение только двух видов онкологических заболеваний и небольшие объемы выборок. В продолжении исследования планируется работать на основе полученных данных классификатор с использованием различных методов (линейного дискриминантного анализа, наивного байесовского классификатора, метода опорных векто-



ров (SVM), градиентного бустинга (GBM), случайного леса (Random Forest), метода  $k$ -ближайших соседей ( $k$ NN)), а также оценить показатели диагностической чувствительности и специфичности выявленных коэффициентов методом кросс-валидации. На наш взгляд, перспективна оценка возможности применения ИК спектроскопии слюны для мониторинга процесса лечения онкологических заболеваний, а также контроля возникновения рецидива.

**Заключение.** Показана принципиальная возможность диагностики рака легкого и молочной железы с использованием метода ИК-фурье-спектроскопии. Статистически достоверные отличия для ИК спектров слюны больных раком легкого наблюдаются в диапазоне 1070—1240 см<sup>-1</sup>, тогда как для пациентов с раком молочной железы — во всем исследуемом диапазоне. Выявлены коэффициенты  $I_{1398/1454}$  и  $I_{1240/1310}$ , изменение которых на фоне онкологической патологии статистически достоверно. Максимальное отличие исследуемых коэффициентов в случае рака молочной железы наблюдается на начальных стадиях заболевания, в случае рака легкого — на запущенных стадиях, что может быть перспективно для диагностики рака молочной железы на ранних стадиях.

- [1] A. J. JrAtkinson, W. A. Colburn, V. G. DeGruttola, D. L. DeMets, G. J. Downing, D. F. Hoth, J. A. Oates, C. C. Peck, R. T. Schooley, B. A. Spilker, J. Woodcock, S. L. Zeger. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **69** (2001) 89—95
- [2] Г. М. Зубарева, В. М. Микин, Г. Е. Бордина, И. А. Беляева, Н. П. Лопина, С. М. Зубарев, А. В. Каргаполов. *Стоматология*, **5** (2009) 7—10 [G. M. Zubareva, V. M. Mikin, G. Ye. Bordina, I. A. Belyayeva, N. P. Lopina, S. M. Zubarev, A. V. Kargapolov. *Russ. Stomatologiya*, **5** (2009) 7—10]
- [3] P. Seredin, D. Goloshchapov, V. Kashkarov, Y. Ippolitov, K. Bambery. *Results in Physics*, **6** (2016) 315—321
- [4] A. A. Bunaciu, Ş. Fleschin, H. Y. Aboul-Enein. *Rev. Roum. Chim.*, **60**, No. 5-6 (2015) 415—426
- [5] F. Elmi, A. F. Movaghar, M. M. Elmi, H. Alinezhad, N. Nikbakhsh. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **187** (2017) 87—91
- [6] J. Depciuch, E. Kaznowska, S. Golowski, A. Kozirowska, I. Zawlik, M. Cholewa, K. Szmuc, J. Cebulski. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **143** (2017) 261—268
- [7] X. Wang, X. Shen, D. Sheng, X. Chen, X. Liu. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **122** (2014) 193—197
- [8] X. Sun, Y. Xu, J. Wu, Y. Zhang, K. Sun. *J. Surg. Res.*, **179** (2013) 33—38
- [9] D. Sheng, Y. Wu, X. Wang, D. Huang, X. Chen, X. Liu. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **116** (2013) 365—369
- [10] E. Kaznowska, J. Depciuch, K. Szmuc, J. Cebulski. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **134** (2017) 259—268
- [11] L. Dong, X. J. Sun, Z. Chao, S. Y. Zhang, J. B. Zheng, R. Gurung, J. K. Du, J. S. Shi, Y. Z. Xu, Y. F. Zhang, J. G. Wu. *Spectrochim. Acta A*, **122** (2014) 288—294
- [12] D. Sheng, F. Xu, Q. Yu, T. Fang, J. Xia, S. Li, X. Wang. *J. Mol. Struct.*, **1099** (2015) 18—23
- [13] M. J. Baker, E. Gazi, M. D. Brown, J. H. Shanks, N. W. Clarke, P. Gardner. *J. Biophoton*, **2** (2009) 104—113
- [14] E. Gazi, M. Baker, J. Dwyer, N. P. Lockyer, P. Gardner, J. H. Shanks, R. S. Reeve, C. A. Hart, N. W. Clarke, M. D. Brown. *Eur. Urology*, **50** (2006) 750—761
- [15] Y. Liu, Y. Xu, Y. Liu, Y. Zhang, D. Wang, D. Xiu, Z. Xu, X. Zhou, J. Wu, X. Ling. *Brit. J. Surg.*, **98** (2011) 380—384
- [16] K. Gajjar, J. Trevisan, G. Owens, P. J. Keating, N. J. Wood, H. F. Stringfellow, P. L. Martin-Hirsch, F. L. Martin. *Analyst*, **138** (2013) 3917—3926
- [17] J. Ollesch, M. Heinze, H. M. Heise, T. Behrens, T. Brüning, K. Gerwert. *J. Biophotonics*, **7** (2014) 210—221
- [18] X. Q. Zhang, Z. Xu, X. F. Ling, Y. Z. Xu, J. G. Wu. *Spectrosc. Spect. Anal.*, **30** (2010) 30—34
- [19] J. Trevisan, P. P. Angelov, P. L. Carmichael, A. D. Scott, F. L. Martin. *Analyst*, **137** (2012) 3202—3215
- [20] J. G. Kelly, M. N. Singh, H. F. Stringfellow, M. J. Walsh, J. M. Nicholson, F. Bahrami, K. M. Ashton, M. A. Pitt, P. L. Martin-Hirsch, F. L. Martin. *Cancer Lett.*, **274** (2009) 208—217
- [21] P. C. Caetano Júnior, J. Ferreira-Strixino, L. Raniero. *Res. Biomed. Eng.*, **31** (2015) 116—124
- [22] L. M. Rodrigues, T. D. Magrini, C. F. Lima, J. Scholz, H. da Silva Martinho, J. D. Almeida. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **174** (2017) 124—129

- [23] Л. В. Бельская, Е. А. Сарф, Н. А. Макарова. Журн. прикл. спектр., **85**, № 3 (2018) 436—442 [L. V. Bel'skaya, E. A. Sarf, N. A. Makarova. J. Appl. Spectr., **85**, N 3 (2018) 445—451]
- [24] E. Bogomolny, S. Argov, S. Mordechai, M. Huleihel. Biochim. Biophys. Acta, **1780**, N 9 (2008) 1038—1042
- [25] T. Nonaka, D. T. W. Wong. The Enzymes, **42** (2017) 125—151
- [26] В. Н. Кондратова, И. В. Ботезату, В. П. Шелепов, А. В. Лихтенштейн. Рос. биотерапевт. журн., **12**, № 3 (2013) 3—10 [V. N. Kondratova, I. V. Botezatu, V. P. Sheleпов, A. V. Likhtenshteyn. Ross. Bioterapevt. Zhurn., **12**, N 3 (2013) 3—10]
- [27] V. Garcia, J. M. Garcia, C. Pena, J. Silva, G. Domínguez, Y. Lorenzo, R. Diaz, P. Espinosa, J. G. de Sola, B. Cantos, F. Bonilla. Cancer Lett., **263** (2008) 312—320
- [28] N. Miura, H. Nakamura, R. Sato, T. Tsukamoto, T. Harada, S. Takahashi, Y. Adachi, K. Shomori, A. Sano, Y. Kishimoto, H. Ito, J. Hasegawa, G. Shiota. Cancer Sci., **97** (2006) 1366—1373
- [29] M. Stroun, P. Maurice, V. Vasioukhin, J. Lyautey, C. Lederrey, F. Lefort, A. Rossier, X. Q. Chen, P. Anker. Ann. N. Y. Acad. Sci., **906** (2000) 161—168
- [30] H. Schwarzenbach, C. Alix-Panabieres, I. Muller, N. Letang, J. P. Vendrell, X. Rebillard, K. Pantel. Clin. Cancer Res., **15** (2009) 1032—1038
- [31] G. Jian, Z. Songwen, Z. Ling, D. Qinfang, Z. Jie, T. Liang, Z. Caicun. J. Cancer Res. Clin. Oncol., **136** (2010) 1341—1346
- [32] G. I. Dovbeshko, V. I. Chegel, N. Y. Gridina, O. P. Repnytska, Y. M. Shirshov, V. P. Tryndiak, I. M. Todor, G. I. Solyanik. Biopolymers, **67**, N 6 (2002) 470—486
- [33] S. Argov, R. K. Sahu, E. Bernshtain, A. Salam, G. Shohat, U. Zelig, S. Mordechai. Biopolymers, **75**, N 5 (2004) 384—392
- [34] Y. Yang, J. Sule-Suso, G. D. Sockalingum, G. Kegelaer, M. Manfait, A. J. El Haj. Biopolymers, **78**, N 6 (2005) 311—317
- [35] Q. B. Li, X. J. Sun, Y. Z. Xu, L. M. Yang, Y. F. Zhang, S. F. Weng, J. S. Shi. Clin. Chem., **51**, N 2 (2005) 346—350
- [36] Z. Ganim, H. S. Chung, A. W. Smith, L. P. Deflores, K. C. Jones, A. Tokmakoff. Acc. Chem. Res., **41**, N 3 (2008) 432—441
- [37] C. P. Schultz. Technol. Cancer Res. Treatment, **1**, N 2 (2002) 95—104
- [38] C. Petibois, G. Deleris. Trends Biotechnol., **24**, N 10 (2006) 455—462
- [39] S. Zhou, Z. Xu, X. F. Ling, Q. B. Li, Y. Z. Xu, L. Zhang, H. M. Zhao, L. X. Wang, K. Y. Hou, X. S. Zhou, J. G. Wu. Chin. J. Oncol., **28**, N 7 (2006) 512—514
- [40] L. V. Bel'skaya, V. K. Kosenok, Zh. Massard. Diagnostics, **6**, N 4 (2016) 39
- [41] Л. В. Бельская, В. К. Косенок, Ж. Массард. Современ. технол. мед., **10**, № 2 (2018) 110—117