

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**ПРИМЕНЕНИЕ ИК-ФУРЬЕ-СПЕКТРОСКОПИИ СЛЮНЫ
ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ОЦЕНКИ УРОВНЯ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ***Бельская Л.В. *, Сарф Е.А.*

Омский государственный педагогический университет, 644043, Омск, ул. Тухачевского 14; *e-mail: Ludab2005@mail.ru

ИК-спектроскопия слюны является экспрессным и неинвазивным методом анализа, что позволяет использовать его как для диагностики ряда заболеваний, так и для изучения метаболических процессов и адаптационных изменений, происходящих в организме. Целью настоящего исследования было определение возможности анализа продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) с использованием ИК-спектроскопии слюны на примере онкологических заболеваний. В исследовании приняли участие 203 человека: больные раком легкого ($n=40$), раком молочной железы ($n=50$) и контрольная группа ($n=113$). Пробы слюны собирали утром натощак. Во всех образцах определяли содержание продуктов ПОЛ (диеновых и триеновых конъюгатов, оснований Шиффа, малонового диальдегида – МДА) и регистрировали ИК-спектры поглощения в диапазоне 500–4000 см^{-1} . На ИК-спектрах наблюдали увеличение интенсивностей полос поглощения липидов, что соответствует росту их общего содержания и коррелирует с содержанием МДА, и уменьшение интенсивностей колебаний кислородсодержащих групп, что соответствует отрицательной корреляции с вторичными продуктами ПОЛ. По-видимому, на ИК-спектрах мы регистрируем одновременно как первичные, промежуточные, так и конечные продукты ПОЛ. Получены статистически значимые уравнения регрессии, позволяющие оценивать содержание промежуточных продуктов ПОЛ – триеновых конъюгатов и оснований Шиффа. Полученные результаты свидетельствуют о том, что предложенный метод позволяет проводить наблюдение процессов ПОЛ в динамике, а также характеризовать направление смещения равновесия в данных процессах.

Ключевые слова: слюна; ИК-спектроскопия; перекисное окисление липидов**DOI:** 10.18097/BMCRM00094**ВВЕДЕНИЕ**

Известно, что в регуляции интенсивности адаптационных реакций организма, поддержании нормального метаболического фона, а также функциональной активности клеток важную роль играют процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [1]. Нарушения отдельных звеньев гомеостаза, в том числе баланса между интенсивностью ПОЛ и активностью системы антиоксидантной защиты, могут являться неспецифическими факторами эндогенного риска развития многих хронических неинфекционных заболеваний – атеросклероза, рака, сахарного диабета и т.д. [2]. В целом, усиление ПОЛ является универсальным неспецифическим патогенетическим звеном в развитии заболеваний и патологических процессов [3, 4].

В качестве распространенного метода определения продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа) используют спектрофотометрический метод [5]. Содержание конечного продукта ПОЛ – малонового диальдегида (МДА) – определяют по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [6]. Возможности современных физико-химических методов, в том числе хроматографии и масс-спектроскопии, позволяют определять более широкий спектр продуктов ПОЛ [7]. Однако данные методы являются длительными и дорогостоящими, а также зачастую не предназначены для анализа биологических образцов, содержащих небольшие количества продуктов ПОЛ. Описан метод определения продуктов ПОЛ с применением ИК-спектроскопии, основными достоинствами которого являются экспрессность

и высокая чувствительность [8]. В настоящее время внимание большого числа исследователей привлекает слюна в качестве информативного биоматериала, т.к. она позволяет проводить неинвазивную диагностику и мониторинг параметров организма человека [9-11]. ИК-спектроскопия слюны является одновременно экспрессным и неинвазивным методом анализа, что позволяет использовать ее не только для диагностики ряда заболеваний, но и для изучения метаболических процессов, адаптационных изменений, в том числе и для решения задач медицинской экологии [12].

Цель работы – определение возможности анализа продуктов ПОЛ с использованием ИК-спектроскопии слюны.

В качестве заболеваний, при которых увеличение уровня продуктов ПОЛ в биологических жидкостях, в том числе и слюне, хорошо изучено, нами выбраны онкологические заболевания: рак легкого и рак молочной железы как наиболее распространенные среди мужского и женского населения [13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании «случай–контроль» приняли участие добровольцы, которые были разделены на 2 группы: основную (с диагнозом рак легкого и рак молочной железы) и контрольную (условно здоровые). Основная группа включала 40 больных раком легкого (плоскоклеточный рак – 16, аденокарцинома – 16, нейроэндокринные опухоли – 8 человек) и 50 больных раком молочной железы. Контрольная группа включала 113 условно здоровых пациентов (55 мужчин, 58 женщин), у которых при



Таблица 1. Содержание продуктов ПОЛ в слюне исследуемых групп

Параметр	Контрольная группа	Основная группа	p-value
Рак легкого			
ДК, у.е.	4.23 [4.11; 4.33]	4.30 [4.11; 4.37]	0.2365
ТК, у.е.	0.650 [0.586; 0.760]	0.755 [0.696; 0.778]	0.0001*
ОШ, у.е.	0.416 [0.389; 0.438]	0.435 [0.407; 0.446]	0.0413*
МДА, мкмоль/л	8.42 [6.97; 11.54]	8.12 [5.90; 11.88]	0.7062
Рак молочной железы			
ДК, у.е.	4.22 [4.13; 4.32]	4.36 [4.20; 4.50]	0.0021*
ТК, у.е.	0.679 [0.588; 0.806]	0.763 [0.693; 0.780]	0.0385*
ОШ, у.е.	0.411 [0.393; 0.427]	0.468 [0.430; 0.494]	0.0000*
МДА, мкмоль/л	8.38 [6.03; 9.87]	7.09 [5.98; 8.46]	0.0723

Примечание. ДК – диеновые конъюгаты, ТК – триеновые конъюгаты, ОШ – основания Шиффа, * – различия статистически достоверны, $p < 0.05$

проведении плановой диспансеризации не было выявлено патологии легких и молочных желез. Включение в группы происходило параллельно. В качестве критериев включения рассматривали: 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 путем сплевывания в стерильные пробирки, центрифугировали при 7000 об/мин (центрифуга ЦЛн-16, ротор 4). Образцы объемом 50 мкл высушивали на подложке из селенида цинка в термостате при 37°C. ИК-спектры поглощения регистрировали на ИК-Фурье-спектрометре ФТ-801 («СИМЕКС», Россия) в диапазоне 500–4000 см⁻¹.

Во всех образцах определяли содержание продуктов ПОЛ (диеновых и триеновых конъюгатов, оснований Шиффа, МДА) [5, 6].

При определении концентрации ацилгидроперекисей в отдельную пробирку отбирали 200 мкл слюны, добавляли 4 мл смеси гептан–изопропанол (1:1) и встряхивали 10–15 мин, после чего в нее добавляли 1 мл раствора HCl (рН 2) и 2 мл гептана, интенсивно встряхивали, отстаивали в течение 20–25 мин и из полученной в результате расслоенной на фазы смеси отбирали верхний гептановый слой и определяли в нем концентрацию ацилгидроперекисей по степени светопоглощения при длинах волн 220 нм, 232 нм, 278 нм и 400 нм, при этом светопоглощение при длине волны 220 нм (E220) соответствует поглощению изолированных двойных связей, светопоглощение при длине волны 232 нм (E232) соответствует поглощению диеновых конъюгатов, светопоглощение при длине волны 278 нм (E278) соответствует поглощению триеновых конъюгатов, светопоглощение при длине волны 400 нм (E400) соответствует поглощению оснований Шиффа. Для повышения точности определения и устранения приборных погрешностей рассчитывали соотношения E232/E220, E278/E220, E400/E220 и выражали содержание продуктов ПОЛ в относительных единицах: диеновых конъюгатов как E232/E220, триеновых конъюгатов как E278/E220 и оснований Шиффа как E400/E220.

Метод определения МДА основан на том, что при высокой температуре в кислой среде МДА реагирует с ТБК, образуя окрашенный триметиновый комплекс розового цвета с максимумом поглощения при 535 нм. К 200 мкл слюны добавляли 2 мл дистиллированной воды, 1 мл 0.6 % ТБК в ледяной уксусной кислоте. Пробу кипятили 30 мин, охлаждали и добавляли 1 мл 5% КОН и 2 мл изопропилового спирта. Центрифугировали при 6000 об/мин 20 мин, затем колориметрировали при 535 нм и 580 нм против контроля, содержащего вместо слюны воду.

Статистический анализ полученных данных выполнен при помощи программ Statistica 10.0 (StatSoft) непараметрическим методом с использованием в зависимых группах критерия Вилкоксона, в независимых группах – U-критерия Манна-Уитни. Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей [LQ; UQ]. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. Корреляционный анализ проведен с использованием критерия Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследования проведено определение продуктов ПОЛ в слюне здоровых добровольцев, а также больных раком легкого и молочной железы. Поскольку группа больных раком легкого включала пациентов только мужского пола, для корректной оценки полученных результатов контрольная группа также разбита на 2 подгруппы по полу. В исследуемых группах отмечено статистически достоверное увеличение содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ (табл. 1). При этом следует отметить уменьшение содержания МДА на 3.6% на фоне рака легкого, на 15.4% на фоне рака молочной железы.

На следующем этапе для всех добровольцев, включенных в исследование, получены ИК-спектры слюны (рис. 1).

На ИК-спектре слюны можно выделить три основные группы макромолекул: липиды (3000–2800 см⁻¹), белки (1700–1600 см⁻¹ и 1560–1500 см⁻¹) и нуклеиновые кислоты (1250–1000 см⁻¹). Широкая полоса поглощения при 3273 см⁻¹ соответствует амиду А. Узкая полоса средней интенсивности при 2057 см⁻¹ относится к тиоцианатным анионам (SCN⁻). Две узкие полосы, расположенные при 1649 см⁻¹ и 1543 см⁻¹,

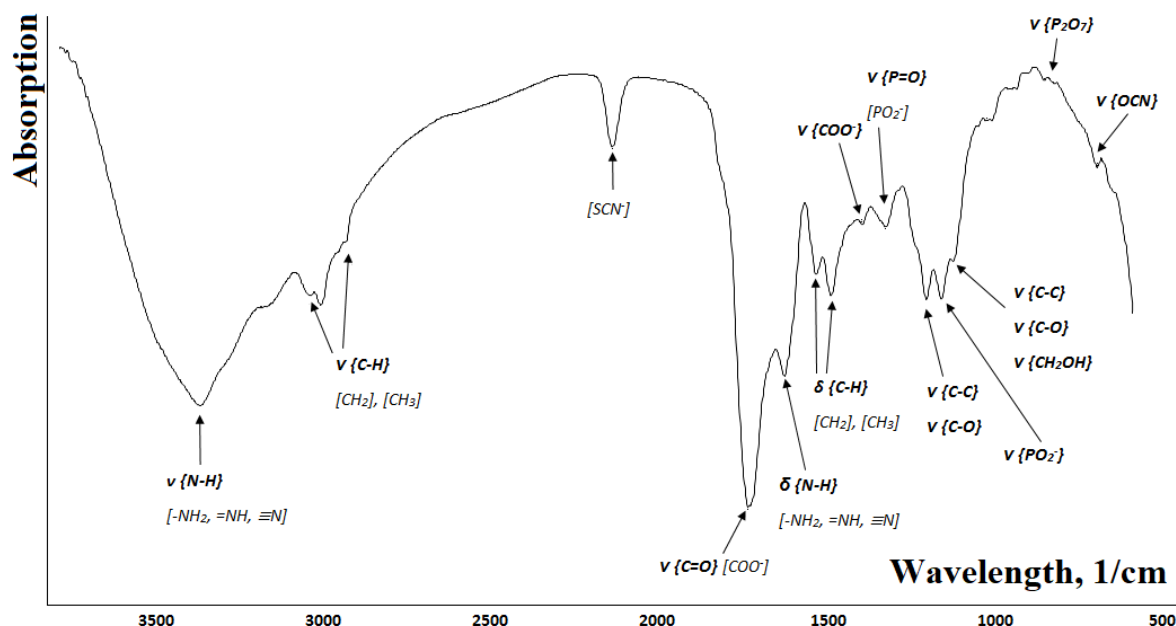


Рисунок 1. Пример ИК-спектра слюны

Таблица 2. Полосы поглощения липидов на ИК-спектрах слюны

ПП, см ⁻¹	Литературные данные, см ⁻¹ [14, 15]	Типы колебаний	Интерпретация спектра
970	967–972	$\nu_{as} C=C$	транс-конформация углеродного скелета
1082	1075–1090	$\nu_s PO_2$	фосфолипиды
1180	1160–1179	$\nu_{as} C-O$	сложноэфирные связи в липидах
1400	1400	$\nu C=O + \delta_s CH_3$	алифатические цепи жирных кислот
1460	1454–1473	$\delta CH_2, \delta_{as} CH_3$	алифатические цепи жирных кислот
1735	1720–1740	$\nu C=O$	липиды, эфиры холестерина, оксиды жирных кислот
2850	2847–2855	$\nu_s CH_2$	липиды, длинноцепочечные жирные кислоты
2875	2872–2875	$\nu_s CH_3$	липиды, жирные кислоты
2930	2915–2924	$\nu_{as} CH_2$	липиды, длинноцепочечные жирные кислоты
2950	2955–2960	$\nu_{as} CH_3$	липиды, эфиры холестерина, жирные кислоты

Примечание. ν – валентные колебания (ν_s – симметричные, ν_{as} – ассиметричные), δ – деформационные колебания

классифицированы как полосы поглощения амида I и II, соответственно. Полоса, наблюдаемая при 1075 см⁻¹ в спектрах слюны, соответствует фрагментам сахаров. Оставшиеся менее интенсивные полосы поглощения соответствуют метиленовым группам боковых цепей аминокислот в белках и липидах (1452 см⁻¹), боковых цепей аминокислот (1396 см⁻¹), амиду III/фосфолипидам (1286–1320 см⁻¹) и фрагментам сахаров, гликозилированных белков и фосфатным группам в нуклеиновых кислотах (1080–950 см⁻¹). Более детально полосы поглощения, соответствующие функциональным группам липидов и жирных кислот в составе слюны, описаны в таблице 2.

На ИК-спектрах слюны в группах больных раком легкого и раком молочной железы наблюдается общая тенденция изменения интенсивности полос поглощения (табл. 3, 4).

Из литературных данных известно, что дополнительную диагностическую значимость могут иметь не только

интенсивности поглощения на определенных длинах волн, но и соотношения интенсивностей отдельных полос поглощения [16]. В связи с этим дополнительно рассчитаны коэффициенты I1400/I1460 – соотношение интенсивностей деформационных колебаний метильной и метиленовой групп жирных кислот, I2850/I1735 – соотношение валентных колебаний неокисленных и окисленных липидов, I2950/I2875 – соотношение, характеризующее длину и степень упорядоченности углерод-углеродных цепей липидов и жирных кислот. Показано, что коэффициент I2950/I2875 при онкологической патологии уменьшается, тогда как коэффициенты I1400/I1460 и I2850/I1735 растут (табл. 3, 4). Можно предположить, что на фоне обеих патологий наблюдается увеличение доли насыщенных связей в структуре липидов (рост коэффициента I1400/I1460) при увеличении общего содержания липидов в слюне. Однако уровень окисленных продуктов при этом снижается (рост коэффициента I2850/I1735). При расчете коэффициентов

Таблица 3 Интенсивность полос поглощения в ИК спектрах слюны больных раком легкого и контрольной группы

Длина волны, см ⁻¹	Контроль (М), n=55	Рак легкого, n=40	p-value	Δ, %
970	18.3 [14.3; 26.1]	16.5 [10.0; 19.9]	0.0972	-9.8
1082	57.2 [44.8; 65.6]	44.1 [34.9; 53.7]	0.0007*	-22.9
1180	34.7 [28.4; 41.9]	28.2 [22.2; 37.8]	0.0152*	-18.7
1400	52.9 [45.3; 67.5]	58.4 [47.6; 69.3]	0.8150	+10.4
1460	36.2 [29.4; 47.2]	33.0 [25.4; 43.8]	0.1153	-8.8
1735	17.5 [10.3; 22.3]	13.2 [9.8; 19.4]	0.1834	-24.6
2850	44.2 [34.8; 52.9]	47.1 [37.0; 58.4]	0.5365	+6.6
2875	47.9 [36.7; 55.5]	50.7 [38.7; 62.9]	0.4784	+5.8
2930	58.5 [45.2; 66.9]	61.9 [49.0; 73.0]	0.5365	+5.8
2950	59.3 [46.9; 68.0]	62.1 [50.3; 74.5]	0.5319	+4.7
I2950/I2875	1.24 [1.20; 1.27]	1.22 [1.20; 1.24]	0.0365*	-2.0
I1400/I1460	1.54 [1.35; 1.80]	1.74 [1.46; 1.95]	0.0058*	+13.2
I2850/I1735	2.72 [2.00; 3.61]	3.58 [2.55; 4.31]	0.0418*	+31.6

Примечание. * – различия статистически достоверны, $p < 0.05$

корреляции отмечено, что для конечного продукта липопероксидации МДА наблюдаются положительные корреляции с интенсивностью полос поглощения 1400 см⁻¹ ($r = 0.4016$), 1460 см⁻¹ ($r = 0.4247$), 2850 см⁻¹ ($r = 0.3369$), 2875 см⁻¹ ($r = 0.3487$), 2930 см⁻¹ ($r = 0.3575$) и 2950 см⁻¹ ($r = 0.3445$). Для вторичных продуктов ПОЛ выявлены отрицательные корреляции с полосами поглощения 970 см⁻¹ ($r = -0.1738$), 1082 см⁻¹ ($r = -0.2310$), 1180 см⁻¹ ($r = -0.1911$) и 1735 см⁻¹ ($r = -0.2445$). Выявленные корреляционные связи статистически значимы ($p < 0.05$). Для диеновых конъюгатов статистически значимых коэффициентов корреляции с интенсивностями полос поглощения на ИК-спектрах слюны не выявлено. Таким образом, на фоне онкологической патологии наблюдается рост уровня первичных и вторичных продуктов ПОЛ, а также снижение уровня МДА по данным биохимического анализа (табл. 1). Тогда как на ИК-спектрах наблюдается увеличение интенсивностей полос поглощения липидов, что соответствует росту их общего содержания и коррелирует с содержанием МДА, и уменьшение интенсивностей колебаний кислородсодержащих групп, что соответствует отрицательной корреляции с вторичными продуктами ПОЛ (табл. 3, 4).

Для определения содержания продуктов ПОЛ методом ИК-спектроскопии были рассчитаны уравнения множественной регрессии:

$$DK = 4.355 - 0.0032 \cdot I1735 - 0.0421 \cdot \frac{I1400}{I1460} \quad (R^2 = 0.1289)$$

$$TK = 0.749 - 0.0026 \cdot I1460 + 0.0038 \cdot I2875 - 0.0023 \cdot I1460 \quad (R^2 = 0.3148)$$

$$OШ = 0.469 - 0.0007 \cdot I1082 \quad (R^2 = 0.4417)$$

$$MDA = 16.34 + 0.0611 \cdot I1460 + 0.1160 \cdot I2930 - 0.1391 \cdot I2850 - 9.3831 \cdot \frac{I2850}{I1735} + 0.1646 \cdot I1180 - 0.1143 \cdot I970 - 0.0853 \cdot I1735 \quad (R^2 = 0.4168)$$

Проверка на основе критерия Фишера показала, что уравнения статистически значимы для триеновых конъюгатов и оснований Шиффа ($p < 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

ИК-спектроскопия позволяет определить совокупный уровень ряда метаболитов, образующихся в процессе патологических изменений, инициированных токсикозом, и, соответственно, оценить степень нарушения метаболических процессов [17].

Максимальные изменения наблюдаются в спектральной области 3000–2850 см⁻¹. Здесь расположены валентные колебания антисимметричных и симметричных метильных и метиленовых групп липидов и фосфолипидов в мембранах. Известно, что интенсивность этих полос увеличивается с увеличением возраста и развития заболевания [18]. Появление олефиновой концевой группы указывает на взаимодействие липидов и фосфолипидов мембран с гидроксильными свободными радикалами, которые образуются при окислительном стрессе. Полоса поглощения 1738 см⁻¹ отражает валентные колебания карбонильной группы (C=O) и характеризует сложноэфирные связи между жирными кислотами и глицерином в молекулах липидов. Однако этот тип связи может также образовываться при перекисном окислении цепей жирных кислот [19]. Логично предположить, что увеличение интенсивности этой полосы свидетельствует об увеличении окисления липидов в образце, что было подтверждено в литературе [20].

По-видимому, на ИК-спектрах мы регистрируем одновременно как первичные, промежуточные, так и конечные продукты ПОЛ, в связи с чем однозначная интерпретация наблюдаемых изменений затруднена. Дополнительно следует учитывать сложный состав исследуемой биологической жидкости и возможность суммирования сигнала различных молекул в результирующем спектре поглощения. Тем не менее в ходе

Таблица 4. Интенсивность полос поглощения в ИК спектрах слюны больных раком молочной железы и контрольной группы

Длина волны, см ⁻¹	Контроль (Ж), n=58	РМЖ, n=50	p-value	Δ, %
970	17.9 [12.1; 23.8]	9.3 [6.8; 17.5]	0.0001*	-48.1
1082	52.3 [42.9; 63.9]	31.7 [22.7; 42.9]	0.0000*	-39.4
1180	32.4 [25.3; 38.4]	20.7 [13.9; 29.6]	0.0000*	-36.1
1400	44.6 [36.8; 56.4]	44.8 [28.9; 60.7]	0.4957	+0.4
1460	31.2 [25.9; 37.5]	24.2 [15.7; 31.2]	0.0013*	-22.4
1735	13.8 [9.5; 18.9]	9.6 [7.6; 13.3]	0.0009*	-30.4
2850	38.0 [28.6; 47.9]	40.8 [30.7; 54.9]	0.2009	+7.4
2875	39.6 [29.9; 50.4]	41.9 [31.3; 58.1]	0.2492	+5.8
2930	49.2 [38.6; 60.6]	52.9 [36.5; 69.3]	0.3823	+7.5
2950	49.9 [38.8; 62.3]	52.8 [36.3; 70.4]	0.4704	+5.8
I2950/I2875	1.24 [1.21; 1.27]	1.20 [1.17; 1.23]	0.0000*	-3.5
I1400/I1460	1.45 [1.26; 1.77]	1.79 [1.59; 1.99]	0.0000*	+23.1
I2850/I1735	2.71 [1.86; 3.85]	4.52 [2.79; 6.03]	0.0000*	+66.8

Примечание. РМЖ - рак молочной железы, * – различия статистически достоверны, $p < 0.05$

данной работы получено статистически значимое уравнение регрессии, позволяющее оценивать содержание наиболее токсичного из продуктов ПОЛ – основания Шиффа. Однако учитывая невысокие значения коэффициента детерминации R^2 , определение продуктов ПОЛ данным методом будет скорее полуколичественным. Тем не менее это может быть использовано для изучения метаболических процессов, адаптационных изменений, в том числе и для решения задач медицинской экологии, особенно в тех случаях, когда важны не абсолютные значения содержания компонентов, а динамика их изменения на фоне тех или иных условий.

Следует отметить, что существующие методы определения продуктов ПОЛ достаточно трудоемки и полученные результаты плохо воспроизводимы. В связи с этим, большинство исследований ограничиваются только анализом МДА, что не всегда информативно. Как было отмечено выше, на фоне онкологических заболеваний уровень МДА в целом снижается, что не означает снижение интенсивности процессов ПОЛ, а лишь отражает их смещение в сторону более токсичных промежуточных продуктов [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный в данной работе метод позволяет проводить наблюдение процессов ПОЛ в динамике, а также характеризовать направление смещения равновесия в данных процессах. Выявлены статистически значимые различия в интенсивностях ряда полос поглощения на ИК-спектрах между контрольными группами и группами пациентов с онкологическими заболеваниями (рак легкого, рак молочной железы), которые коррелируют с изменением содержания продуктов ПОЛ для данных групп. К ограничениям исследования следует отнести изучение только процессов ПОЛ по ИК-спектрам, тогда как следует также учитывать

факт присутствия белков, которые также могут подвергаться окислительному воздействию.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования одобрены на заседании комитета по этике БУЗ Омской области «Клинический онкологический диспансер» от 21 июля 2016 г., протокол № 15.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bartsch, H., Nair, U.J. (2014) Lipid peroxidation-derived DNA adducts and the role in inflammation-related carcinogenesis. *Cancer and Inflammation Mechanisms: Chemical, Biological, and Clinical Aspects*. John Wiley & Sons, Inc., 61-73.
2. Omel'chuk, N.N., Tatarintseva, R.YA., Stasitite-Bunyavichene, D.S., Zlatinskaya, G.R., Ukhov, A.A. (2014) Correction of processes of lipid peroxidation and antioxidant systems with the help of natural biomodulator perga in workers in heavy industry. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*, **10**, 39-43.
3. Gorozhanskaya, E.G., Sviridova, S.P., Baykova, V.N., Zubrikhina, G.N., Dobrovol'skaya, M.M., Sytov, A.V. (2015) Oxidative stress in platelets in oncopathology. *Biomeditsinskaya khimiya*, **61**(4), 519-525.
4. Barrera, G. (2012) Oxidative Stress and Lipid Peroxidation Products in Cancer Progression and Therapy. *ISRN Oncology*, Article ID 137289, 21 pages. DOI: 10.5402/2012/137289
5. Volchegorskiy, I.A., Nalimov, A.G., Yarovinskiy, B.G. (1989) Comparison of different approaches to the determination of products in heptane-isopropanol blood extracts. *Voprosy meditsinskoy khimii*, **1**, 127-131.
6. Gavrilov, V.B., Bidula, M.M., Furmanchuk, D.A., Konev, S.V., Aleynikova, O.V. (1999) Evaluation of intoxication of the body by the imbalance between the accumulation and binding of toxins in plasma. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, **2**, 13-17.
7. Nekrasov, E.V. (2012) Methods of analysis of lipid peroxidation products in biomedical research. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*, **46**, 98-108.
8. Dzhadoyeva, A.A., Polimova, A.M., Proskurina, Ye.V., Proskurin, M.A. & Vladimirov, Yu.A. (2016) Determination of lipids and their oxidation products by IR spectroscopy. *Zhurnal analiticheskoy khimii*, **76**(6), 570-576.
9. Bel'skaya, L.V., Sarf, E.A., Makarova, N.A. (2018) Use of Fourier Transform IR Spectroscopy for the Study of Saliva Composition. *J Appl Spectrosc.* **85**(3), 445-451. DOI: 10.1007/s10812-018-0670-0
10. Shipper, R.G., Silletti, E., Vingerhoeds, M.H. (2007) Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. *Archives of Oral Biology*, **52**, 1114-1135. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2007.06.009

11. Tóthová, L., Kamodyová, N., Červenka, T., Celec, P. (2015) Salivary markers of oxidative stress in oral diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **5**. DOI: 10.3389/fcimb.2015.00073
12. Manzhurov, I.L., Lezhnin, V.L. (2015) Multifactorial assessment of the influence of the environment on the development of cancer. *Ekologiya cheloveka*, **1**, 3-9.
13. Zlokachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2016 godu (zabolevayemost' i smertnost'). Pod red. A.D. Kaprina, V.V. Starinskogo, G.V. Petrovoy. M.: MNIIO im. P.A. Gertsena, 2018. 250 s.
14. Movasaghi, Z., Rehman, S., Rehman, I. (2008) Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, **43**(2), 134-179. DOI: 10.1080/05704920701829043
15. Olsztyńska-Janus, S., Pietruszka, A., Kielbowicz, Z., Czarnecki, M.A. (2017) ATR-IR study of skin components: Lipids, proteins and water. Part I: Temperature effect. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **188**, 37-49. DOI: 10.1016/j.saa.2017.07.001
16. Bel'skaya, L.V., Sarf, E.A., Gundyrev, I.A. (2019) Study of the IR spectra of the saliva of cancer patients. *J Appl Spectrosc.*, **85**(6), 1076-1084. DOI: 10.1007/s10812-019-00762-z
17. Krasnov, V.V., Gordetsov, A.S. (2009) Infrared spectral analysis of blood serum as a reflection of the level of violation of metabolic processes in infectious diseases in children. *Sovremennyye tekhnologii v meditsine*, **1**, 39-43.
18. Anastassopoulou, J., Kyriakidou, M., Kyriazis, S., Mavrogenis, A.F., Mamareli, V., Mamarelis, I., Petra, M., Malesiou, E., Kotoulas, C., Kolovou, P., Koutoulakis, E., Markouizou, A., Theophanides, T. (2018) Oxidative stress in ageing and disease development studied by FT-IR spectroscopy. *Mechanisms of Ageing and Development*, **172**, 107-114. DOI: 10.1016/j.mad.2017.11.009
19. Oleszko, A., Olsztyńska-Janus, S., Walski, T., Grzeszczuk-Kuć, K., Bujok, J., GaBecka, K., Czernski, A., Witkiewicz, W., Komorowska, M. (2015) Application of FTIR-ATR Spectroscopy to Determine the Extent of Lipid Peroxidation in Plasma during Haemodialysis. *BioMed Research International*. Article ID 245607, 8 pages. DOI: 10.1155/2015/245607
20. Dreissig, I., Machill, S., Salzer, R., Krafft, C. (2009) Quantification of brain lipids by FTIR spectroscopy and partial least squares regression. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **71**(5), 2069-2075. DOI: 10.1016/j.saa.2008.08.008
21. Bel'skaya, L.V., Kosenok, V.K., Massard, G. (2016) Endogenous Intoxication and Saliva Lipid Peroxidation in Patients with Lung Cancer. *Diagnostics*, **6**(4), 39. DOI: 10.3390/diagnostics6040039

Поступила: 30.03.2019

После доработки: 18.04.2019

Принята к публикации: 13.05.2019

THE USE OF FOURIER TRANSFORM IR SPECTROSCOPY OF SALIVA FOR RAPID ASSESSMENT OF THE LEVEL OF LIPID PEROXIDATION PRODUCTS

L.V. Bel'skaya*, E. A. Sarf

Omsk State Pedagogical University, 14 Tukhachevsky Str., Omsk, 644043 Russia; *e-mail: Ludab2005@mail.ru

Infrared spectroscopy of saliva is an express and non-invasive method of analysis, applicable for diagnostics of various diseases and for studying metabolic processes and adaptive changes in the body. The goal of this study was to determine possibility of analyzing the products of lipid peroxidation (LPO) by using IR spectroscopy of saliva on the example of oncological diseases. The study involved 203 patients with lung cancer (n = 40), breast cancer (n = 50) and the control group (n = 113). Saliva samples were collected in the morning after overnight fast. The content of LPO products (conjugated dienes, and trienes, Schiff bases, malonic dialdehyde MDA) was determined in all samples and the IR absorption spectra were recorded in the range of 500–4000 cm⁻¹. In the IR spectra, an increase in the intensity of the absorption bands of lipids was observed; it corresponded to an increase in the total lipid content and correlated with the content of MDA, and a decrease in the intensity of vibrations of oxygen-containing groups, which corresponded to a negative correlation with secondary LPO products. Apparently, on the IR spectra, we simultaneously register both primary, intermediate, and final LPO products. Statistically significant regression equations were obtained, allowing to estimate the content of intermediate LPO products - conjugated triene, and Schiff bases. The proposed method allows to monitor LPO processes, as well as to characterize the direction of the equilibrium shift in these processes.

Key words: saliva; IR spectroscopy; lipid peroxidation

Received: 30.03.2019; revised: 18.04.2019; accepted: 13.05.2019.