

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ БИОМАРКЕР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Бахмутов Д. Н.*, Лазебник Л. Б.**, Гудкова И. Е.*, Ярышев Н. Г.***, Камкин Н. Н.***

DIAGNOSTIC OF ONCOLOGY DISEASES BY THE FLEXIBLE BIOMARKER

Bahmutov D. N., Lazebnik L. B., Gudkova I. E., Yaryshev N. G., Kamkin N. N.

Бахмутов Д. Н.* — зав. стоматологическим отделением, ГАУЗ «Троицкая городская больница ДЗ г. Москвы», главный внештатный специалист по стоматологии Троицкого и Новомосковского административных округов (ТиНАО) г. Москвы, к.м.н.

Bahmutov D. N.* — Head of stomatological department of SAHI «Troitsk city hospital», Chief supernumerary Specialist of dentistry at Troitsk and Novomoskovsk administrative districts of Moscow (TiNAD), MC

Гудкова И. Е.* — врач-онколог ГАУЗ «ТГБ ДЗМ», главный внештатный специалист по онкологии ТиНАО г. Москвы

Gudkova I. E.* — Physician — oncologist (SAHI) «Troitsk city hospital», Chief Supernumerary Specialist of oncology at Troitsk and Novomoskovsk administrative districts of Moscow

Лазебник Л. Б.** — зав.кафедрой терапии, гериатрии и профилактики Московского государственного медико-стоматологического университета им. А. И. Евдокимова, проф., д.м.н.

Lazebnik L. B.** — Chief of the Therapy, Geriatrics and Prevention Department of the A. I. Evdokimov Moscow state university of medicine and dentistry, MD, Professor

Ярышев Н. Г.***, Московский государственный педагогический университет, доц., к.х.н.

Yaryshev N. G.***, Moscow State Pedagogical University, assistant professor, MD

Камкин Н. Н.***, Московский государственный педагогический университет, инженер, к.х.н.

Kamkin N. N.***, Moscow State Pedagogical University, engineer, MD

* Государственное автономное учреждение здравоохранения города Москвы «Троицкая городская больница Департамента здравоохранения города Москвы», (ГАУЗ «ТГБ ДЗМ»)

* State Autonomous healthcare institution City of Moscow (SAHI) «Troitsk city hospital», Chief supernumerary Specialist of dentistry at Troitsk and Novomoskovsk administrative districts of Moscow (TiNAD),

** Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова,

** A. I. Evdokimov Moscow state university of medicine and dentistry

*** Московский государственный педагогический университет

*** Moscow State Pedagogical University

**Бахмутов
Денис Николаевич**

Bahmutov D. N.

E-mail:

denis 198203@mail.ru

Резюме

Цель исследования. Разработать метод диагностики онкологических заболеваний по анализу выдыхаемого человеком воздуха.

Материалы и методы. Было обследовано 79 человек, из которых у 47 имелись верифицированные онкологические заболевания различной локализации, у 32 человек (контрольная группа) онкологических заболеваний выявлено не было. Возраст колебался в пределах от 47 до 72 лет. Онкологический процесс был представлен 2–4 стадиями

Изоотионаты как класс соединений с недавних пор стали привлекать внимание исследователей, занимающихся изучением рака. Определяемое нами органическое соединение нельзя однозначно отнести к продукту метаболизма опухолевой клетки. Вполне возможно, оно может являться как результатом реакций метаболизма организма и вырабатываться в ответ на увеличение количества онкологических клеток в организме, так и быть привнесенным извне и накапливаться в организме больного с онкологическим заболеванием. Именно эта концепция может объяснить его наличие в выдыхаемом воздухе у больных с различными формами формами и локализациями ракового процесса. Выявленные соединения, относящиеся к ненасыщенным жирным кислотам и азот-содержащим основаниям, можно отнести к продуктам метаболизма опухолевых клеток. Появление их в выдыхаемом воздухе, может быть объяснено тем, что они транспортируются через кровь от опухоли к альвеолам легкого. Однако мы не можем утверждать, что пройдя через альвеолы и смешиваясь с другими соединениями в легких, они не претерпевают изменений. Иными словами те соединения, которые определяются в выдыхаемом воздухе, могут не соответствовать тем, которые определяются в крови, что, впрочем, не мешает им иметь диагностическую значимость.

Таким образом, результаты наших исследований вызывают высокую заинтересованность в дальнейшем изучении выдыхаемого онкологическим пациентом воздуха. Простота и доступность исследования позволяет его рассматривать, как перспективный метод скрининговой диагностики онкологических заболеваний

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2014; 103 (3):55-60

Summary

It is known that the interest of express diagnostic oncology degasses is growing up every year. Recently, researchers from different countries proved highly effective studies of exhaled air in the diagnosis of breast cancer, cancer of lung and gastrointestinal tract. The purpose of our study was to identify a biomarker in the air of patients using chromatography-mass spectrometer. We examined 79 patients. 47 patients with clinically and histologically proven oncology diseases (II–IV stage), and 32 patients as a control group — without cancer. Chromatograms were obtained, which was defining from 50 to 70 individual compounds. The overwhelming majority of cancer patients present organic matter — a biomarker and absent in the healthy group. At this stage of the technical capabilities of the equipment made it possible to carry out only a qualitative determination of this biomarker.

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2014; 103 (3):55-60

Актуальность темы

Известно, что одним из самых распространенных заболеваний в мире является рак. В своем докладе за 2010 год Всемирная Организация Здравоохранения привела данные, что от рака умирает 7,6 миллиона человек в год. (12, 14) В Российской Федерации отмечается тенденция к росту заболеваемости злокачественными новообразованиями и смертности от них. С 2000 по 2005 г. количество больных, у которых впервые в жизни установлен диагноз злокачественное новообразование, увеличилось на 4,6 % и достигло 469 195 человек. В структуре онкологической заболеваемости в РФ в целом преобладали злокачественные новообразования следующих локализаций: опухоли трахеи, бронхов, легкого (13,8 %), кожи (11,0 %; вместе с меланомой — 12,4 %), желудка (10,4 %), молочной железы (10,0 %), ободочной кишки (5,9 %), прямой кишки, ректосигмоидного соединения и ануса (4,8 %), лимфатической и кровеносной

тканей (4,4 %), тела матки (3,4 %), почек (3,1 %), поджелудочной железы (2,9 %), шейки матки (2,7 %), яичников (2,6 %), мочевого пузыря (2,6 %). Рак желудка и толстого кишечника занимают первые места по числу смертельных исходов среди других онкологических заболеваний. (1, 6)

Ранняя диагностика рака позволяет эффективно бороться с его негативными последствиями. Для выявления онкологических заболеваний в настоящее время широко применяются цитологические, гистологические, эндоскопические, рентгенологические и другие специальные методы обследования, так как простой визуальный осмотр без применения перечисленных выше методов недостаточно эффективны для выявления заболевания. (2, 3, 4, 5) Однако использование дополнительных методов увеличивает трудозатраты и не всегда бывает доступным для человека в повседневной жизни. Исходя из этого, нами

была поставлена задача, разработать экспресс метод диагностики онкологических заболеваний, позволяющий при минимальных трудозатратах определять наличие или отсутствие онкологического процесса в организме с достаточно высокой степенью точности. Объектом исследования был выбран выдыхаемый человеком воздух. Известно, что в его составе определяется до 200 химических соединений, которые могли бы для

нас иметь большое диагностическое значение. (7, 8, 10) Помимо этого известно, что в последнее время исследователями из разных стран доказана высокая эффективность исследования выдыхаемого воздуха в диагностике рака молочных желез, легких, ЖКТ. (9, 11, 13, 15, 16, 17)

Цель исследования: Разработать метод диагностики онкологических заболеваний по анализу выдыхаемого человеком воздуха.

Материал и методы исследования

Было обследовано 79 человек, из которых у 47 имелись верифицированные онкологические заболевания различной локализации, у 32 человек (контрольная группа) онкологических заболеваний выявлено не было. Возраст колебался в пределах от 47 до 72 лет. Онкологический процесс был представлен 2–4 стадиями. В группу больных входили:

- 7 человек с раком желудка
- 6 человек с раком прямой кишки
- 6 человек с раком легкого
- 5 человек с раком молочной железы
- 5 человека с раком кожи
- 6 человека с раком мочевого пузыря
- 5 человека с раком матки
- 7 человек с раком предстательной железы

Для выполнения анализа использовалась следующая аппаратура:

1. Лабораторный аналитический масс-спектрометр с электронной ионизацией (70 эВ).
2. Лабораторный аналитический газовый хроматограф с термопрограммируемым термостатом и капиллярной аналитической колонкой, электронным управлением газовых кранов и клапанов.
3. Лабораторный двухканальный термодесорбер с обогреваемой газовой линией.
4. Аспиратор лабораторный двухканальный с электронным таймером и автоматическим отключением.

Технический результат достигался при выполнении следующих этапов:

1. Пробоподготовка.

Выдыхаемый воздух отбирался в емкости, изготовленные из инертного материала. После отбора фиксированное количество газообразного образца, при помощи аспиратора в заданных постоянных условиях, прокачивалось через трубку заполненную сорбентом. Таким образом, полученные и концентрированные на сорбенте образцы, подвергались дальнейшему анализу на хромато-масс-спектрометре, снабженным термодесорбером.

2. Подготовка сорбционных трубок.

Сорбционные трубки перед непосредственно отбором кондиционировались при температуре на 30оС выше максимальной температуры хроматографического разделения в течение не менее 2-х часов в токе инертного газа. Перед кондиционированием трубки хранились в герметичных емкостях, заполненных инертным газом.

3. Проведение анализа.

После подбора параметров хроматографического анализа, все образцы были проанализированы в одинаковых условиях. Идентификацию анализируемых смесей проводили по результатам масс-спектрального анализа по положительным ионам, при ионизации электронным ударом с энергией ионизирующего излучения 70 эВ. Интерпретацию выполняли соотношением полученных масс-спектров с данными масс-спектральных библиотек, полученных в аналогичных условиях ионизации.

4. Хранение образцов.

Отобранные образцы хранились в инертных емкостях не более недели. Трубки с сорбентом, после концентрирования на них образца, хранению не подлежали.

Результаты исследования

По результатам анализа были получены хроматограммы, в которых определялось от 50 до 70 индивидуальных соединений. В ходе обработки полученных данных, было обнаружено органическое соединение из группы изотиоцианатов (далее по тексту биомаркер), которое присутствовало у подавляющего числа онкологических больных и отсутствовало в группе здоровых.

На данном этапе исследования нами проведено только качественное определение данного биомаркера. Таким образом, основным критерием определения пациентов в группу с онкологическим заболеванием было наличие биомаркера, его же отсутствие на хроматограмме свидетельствовало о том, что человек здоров.

Биомаркер в группе онкологических больных выявлен в 91,5% случаев. Результаты, полученные в исследовании, по конкретным локализациям рака приведены в таблице № 1

В контрольной группе биомаркер определялся в 6,25% случаев от всех проведенных исследований.

Так же в исследовании у группы онкологических больных были выявлены следующие характерные соединения, относящиеся к группе ненасыщенных жирных кислот и азот-содержащих оснований, представленные в таблице № 2

Однако в отличие от биомаркера присутствие каждого из этих соединений в отдельности в группе онкологических больных по каждой локализации не превышало более 50%.

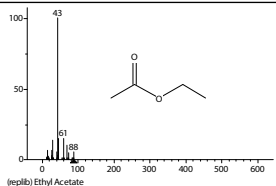
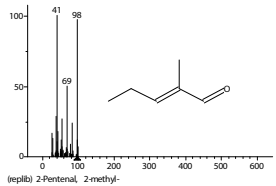
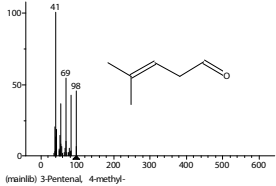
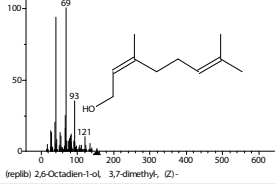
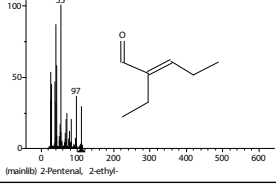
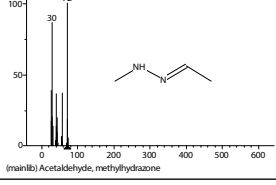
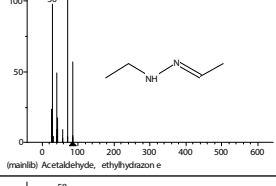
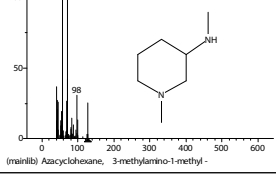
Таблица № 1.

Процент выявляемости биомаркера в выдыхаемом воздухе у больных раковым процессом различной локализации

Локализация рака	% встречаемости биомаркера
Рак желудка	85.7
Рак прямой кишки	100.0
Рак легкого	100.0
Рак молочной железы	80.0
Рак кожи	100.0
Рак мочевого пузыря	83.3
Рак матки	100.0
Рак предстательной железы	85.7

Таблица № 2.

Соединения, выявляемые в выдыхаемом воздухе, у 50% больных с раковым процессом различной локализации.

№	RT	NAME	
1	7.7	EthylAcetate	
2	15.9	2-methyl-2-Pentenal	
3	16.0	4-methyl-3-Pentenal	
4	18.5	, 3,7-dimethyl-2,6-Octadien-1-ol	
5	19.6	2-ethyl-2-Pentenal	
6	7.3	Acetaldehyde, methylhydrazone	
7	10.5	Acetaldehyde, ethylhydrazone	
8	21.5	3-methylamino-1-methyl-azacyclohexane	

9	21.8	Octanal	
10	22.3	1-(3-Aminopropyl)-4-methylpiperazine	
11	22.6	4-propyl-Piperidine	
12	22.7	1-(3-Hydroxypropyl)-2-piperidinone	
13	23.3	1-acetyl-Pyrrolidine	
14	23.8	3-Methylpyridazine	

Выводы

Изотиоцианаты как класс соединений с недавних пор стали привлекать внимание исследователей, занимающихся изучением рака. Определяемое нами органическое соединение нельзя однозначно отнести к продукту метаболизма опухолевой клетки. Вполне возможно, оно может являться как результатом реакций метаболизма организма и вырабатываться в ответ на увеличение количества онкологических клеток в организме, так и быть привнесенным извне и накапливаться в организме больного с онкологическим заболеванием. Именно эта концепция может объяснить его наличие в выдыхаемом воздухе у больных с различными формами формами и локализациями ракового процесса.

Полученные результаты исследования легли в основу поданной нами заявки на патент (от 20.01.2014 рег. № 2014101433)

Выявленные соединения, относящиеся к ненасыщенным жирным кислотам и азот-содержащим

основаниям, можно отнести к продуктам метаболизма опухолевых клеток. Появление их в выдыхаемом воздухе, может быть объяснено тем, что они транспортируются через кровь от опухоли к альвеолам легкого. Однако мы не можем утверждать, что пройдя через альвеолы и смешиваясь с другими соединениями в легких, они не претерпевают изменений. Иными словами те соединения, которые определяются в выдыхаемом воздухе, могут не соответствовать тем, которые определяются в крови, что, впрочем, не мешает им иметь диагностическую значимость.

Таким образом, результаты наших исследований вызывают высокую заинтересованность в дальнейшем изучении выдыхаемого онкологическим пациентом воздуха. Простота и доступность исследования позволяет его рассматривать, как перспективный метод скрининговой диагностики онкологических заболеваний.

Литература

1. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2003 г. М.: РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 286 стр., 2005 г.
2. Пальцев М. А., Аничков Н. М. Атлас патологии опухолей человека 424 стр., 2005 г.
3. Пьетро Вольпе. Биохимия клеточного цикла. Проблемы канцерогенеза и химиотерапии 98 стр., 1979 г.
4. Рукавишников А. И. Азбука рака 360 стр., 2007 г.
5. Сейц И. Ф., Князев П. Г. Молекулярная онкология. Руководство для врачей 352 стр., 1986 г.
6. Чисов В. И., Старинский В. В., Петрова Г. В. Злокачественные новообразования в России в 2005 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГУ МНИОИ им. П. А. Герцена Росздрава 252 стр., 2007 г.
7. Amal H1, Leja M, Broza YY, Tisch U, Funka K, Liepniece-Karele I, Skapars R, Xu ZQ, Liu H, Haick H. Geographical variation in the exhaled volatile organic compounds. *J Breath Res.* 2013 Dec;7 (4):047102. doi: 10.1088/1752-7155/7/4/047102. Epub 2013 Nov 1.
8. Amann A., Mochalski P., Ruzsanyi V., Broza Y. Y., Haick H. Assessment of the exhalation kinetics of volatile cancer biomarkers based on their physicochemical properties. *J Breath Res.* 2014 Mar;8 (1):016003. doi: 10.1088/1752-7155/8/1/016003. Epub 2014 Feb 24.
9. Arasaradnam R. P., Covington J. A., Harmston C., Nwokolo C. U. Review article: next generation diagnostic modalities in gastroenterology — gas phase volatile compound biomarker detection. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014 Apr;39 (8):780–9. doi: 10.1111/apt.12657. Epub 2014 Feb 20.
10. Buszewski B., Grzywinski D., Ligor T., Stacewicz T., Bielecki Z., Wojtas J. Detection of volatile organic compounds as biomarkers in breath analysis by different analytical techniques. *Bioanalysis.* 2013 Sep;5 (18):2287–306. doi: 10.4155/bio.13.183.
11. Dent A. G., Sutedja T. G., Zimmerman P. V. Exhaled breath analysis for lung cancer. *J Thorac Dis.* 2013 Oct;5 (Suppl 5): S540-S550.
12. Doll R. The epidemiology of cancer / Ed. J. G. Forter. Philadelphia- Toronto, 2004. P. 103–121.
13. Fu X. A., Li M., Knipp R. J., Nantz M. H., Bousamra M. Noninvasive detection of lung cancer using exhaled breath. *Cancer Med.* 2014 Feb;3 (1):174–81. doi: 10.1002/cam4.162. Epub 2013 Nov 20.
14. Global geocancerology / Ed. by G. M. Howe. Edinburg: Churchill Livingstone, 2006. 350 p.
15. Jareño J., Munoz M. A., Wagner C., Civera C., Calzol L. Volatile Organic Compounds (VOC) in Exhaled Breath in Patients With Lung Cancer. *Chest.* 2014 Mar 1;145 (3 Suppl):334A. doi: 10.1378/chest.1821540.
16. Taivans I., Bukovskis M., Strazda G., Jurka N. Breath testing as a method for detecting lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2013 Dec 13.
17. Wang C., Li P., Lian A., Sun B., Wang X., Guo L., Chi C., Liu S., Zhao W., Luo S., Guo Z., Zhang Y., Ke C., Ye G., Xu G., Zhang F., Li E. Blood volatile compounds as biomarkers for colorectal cancer. *Cancer Biol Ther.* 2014 Feb 1;15 (2):200–6. doi: 10.4161/cbt.26723. Epub 2013 Nov 1.