

В. Е. Назаров, Г. Т. Карасева, Ю. П. Успенский, И. Э. Джагацпанян

ОЦЕНКА РИСКА ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ С ПОМОЩЬЮ АНАЛИЗА ГАЗОВОГО СОСТАВА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

Выделение «следовых» веществ может наблюдаться в результате тяжелых нарушений обмена веществ и функций организма. Многие выделяемые человеком «ароматические» вещества описаны как патогномоничные симптомы заболеваний: например, запах аммиака при уремии и т. д. [1].

Анализ летучих веществ выдыхаемого воздуха на сегодня представляет не только научный и теоретический интерес, но и имеет большое практическое применение. Примером является комплекс анестезиологической аппаратуры и аппаратов ИВЛ. Созданы единые рекомендации по стандартизации измерений и оценки уровня NO [2–4]. Определение окиси азота в выдыхаемом воздухе широко применяется в рутинной практике врачами-пульмонологами и аллергологами как маркер воспаления дыхательных путей и/или для оценки эффективности противовоспалительной топической терапии у больных с хроническими обструктивными заболеваниями легких [5–10].

При некоторых нозологических формах анализ выдыхаемого воздуха позволяет выявить патологию на той стадии развития, когда другие методы диагностики мало чувствительны и неспецифичны. Например, обнаружение алканов и монометилированных алканов в выдыхаемом воздухе позволяет диагностировать рак легких на ранних стадиях [11–13], в то время как стандартные скрининговые исследования при опухолях легких (рентгенография и цитология мокроты) еще не информативны.

Сложность работы связана с исследованием эндогенных газообразных молекул, образующихся в результате биохимических и физиологических процессов, протекающих в живом организме, и множества факторов, определяющих специфику их образования и выделения [1–3, 14]. В последние годы с этой целью используются хроматографические методы: газожидкостная, ионная, высокоэффективная жидкостная хроматография, газохромато-масспектрометрия [4–6, 15]. Однако первый метод исследования отличает трудоемкая пробоподготовка; другие — использование дорогостоящих приборов и длительность исследования [7].

Для изучения метаболитов [8, 9, 16], ответственных за энергообеспечение, регуляцию и дифференцировку эпителия, поставку субстратов липо- и глюконеогенеза, поддержание ионного обмена, активацию местного иммунитета, разработан неинвазивный диагностический метод, основанный на газовом анализе выдыхаемого человеком воздуха [17]. В ходе исследования изучена специфичность и чувствитель-

Карасева Галина Тимофеевна — врач-эндоскопист, отделение эндоскопии, СПб БГУЗ «Покровская больница», Санкт-Петербург; e-mail: gtkaraseva@mail.ru

Назаров Виталий Евгеньевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры эндоскопии СЗГМУ им. И. И. Мечникова

Успенский Юрий Павлович — доктор медицинских наук, профессор, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова

Джагацпанян Игорь Эдуардович — кандидат химических наук, конструктор-разработчик, ООО «Ассоциация медицины и аналитики»

© В. Е. Назаров, Г. Т. Карасева, Ю. П. Успенский, И. Э. Джагацпанян, 2013

ность метода у здоровых людей и при патологии верхних отделов ЖКТ, заболеваниях полости рта, заболеваниях легких.

Материалы и методы. Всего было обследовано 149 человек: 80 пациентов и 69 здоровых добровольцев. 80 пациентов в возрасте от 17 до 85 лет проходили обследование и лечение в экстренном и плановом порядке на базе ГБУЗ «Покровская больница» Санкт-Петербурга и районной поликлиники № 4. Контрольную группу составили 69 добровольцев, относительно здоровых курсантов 1 курса Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова.

Определение состава выдыхаемого воздуха проводилось с помощью газоанализатора «Мультисенс» производства ООО «Ассоциация медицины и аналитики» (Россия, Санкт-Петербург). Прибор представляет собой высокочувствительный анализатор газов на базе полупроводниковых сенсоров с перекрестной чувствительностью как к неорганическим газам, так и к низкомолекулярным летучим органическим компонентам (рис. 1).



Рис. 1. Прибор «Мультисенс» с регистрирующей компьютерной системой

При определении состава выдыхаемого воздуха пользовались следующими методическими приемами:

- накопление и концентрирование отбираемого выдыхаемого воздуха в специальные емкости-ловушки, позволяющие значительно увеличить чувствительность определения;
- проведение долговременного и непрерывного мониторинга, позволяющее увеличить достоверность определения;
- многократный отбор проб для определения динамики процессов и расчета средних величин;
- одновременное определение нескольких компонентов.

Отбор пробы осуществлялся в прибор через аспирационное устройство со скоростью прокачки около 200–800 мл/мин.

Показания сенсоров регистрировались до выдыхания воздуха пациентом, затем во время выдоха и непосредственно после выдоха.

Данные, полученные до и после выдоха, приводились к средним значениям, и затем рассчитывалась разность между выдохом и средними показателями в помещении.

Каждый сенсор является строго селективным по отношению к какому-либо газовому компоненту.

Первый сенсор (сенсор 1) чувствителен к предельным углеводородам (метану, этану, пропану) и аммиаку, которые образуются облигатными анаэробами и при нарушении липидного и белкового обмена.

Второй сенсор (сенсор 2) чувствителен к короткоцепочечным жирным кислотам (КЖК) (уксусная, пропионовая, масляная, валериановая, изовалериановая и капроновая), молочной и янтарной кислотам, участвующим в регуляции состава микрофлоры, в поддержании энергообмена и водно-электролитного обмена, обладающими антимикробной активностью и антиканцерогенным действием.

Третий сенсор (сенсор 3) чувствителен к газам-микропримесям (спирты, альдегиды и др.), которые встречаются при нарушении углеводного и белкового обмена.

Полученные по каждому сенсору показания выдоха относительно воздуха помещения обрабатывались по специальной программе “ETounge”. Расчеты проводились по каждому из сенсоров.

Следует отметить, что обработка данных имела свои особенности. Показатели сенсоров определялись в условных единицах по отношению к окружающему воздуху, однако концентрации изучаемых веществ в выдыхаемом воздухе настолько малы, что для удобства расчетов результаты были в дальнейшем переведены в логарифмическую шкалу.

Результаты. На основании статистической обработки данных произошло разделение пациентов на достоверно различимые группы с различной патологией:

- рак желудка (в дальнейшем группа обозначается как РЖ),
- неонкологические заболевания желудка (гастрит, гастродуоденит, острые и хронические эрозии желудка, острые и хронические язвы желудка и двенадцатиперстной кишки; в дальнейшем группа обозначается как ХГ),
- другие заболевания брюшной полости (панкреатит, заболевания желчевыводящей системы; в дальнейшем группа обозначается как ОП),
- заболевания легких (рак легких, гангрена легких, эмпиема плевры, саркоидоз легких; в дальнейшем группа обозначается как ЗЛ),
- заболевания полости рта (острый и хронический тонзиллит, острые заболевания зубов и периодонта; в дальнейшем группа обозначается как ЗПР).

Диагноз у обследованных больных был верифицирован на основании результатов комплексного клинического и лабораторного обследования с применением современных диагностических методов (биохимических, рентгенологических, эндоскопических, морфологических и др.).

Результаты представлены в таблице 1, а также на рисунке 2 в виде доверительных интервалов. По оси ординат — показания сенсоров в условных единицах по отношению к окружающему воздуху, по оси абсцисс — группы пациентов.

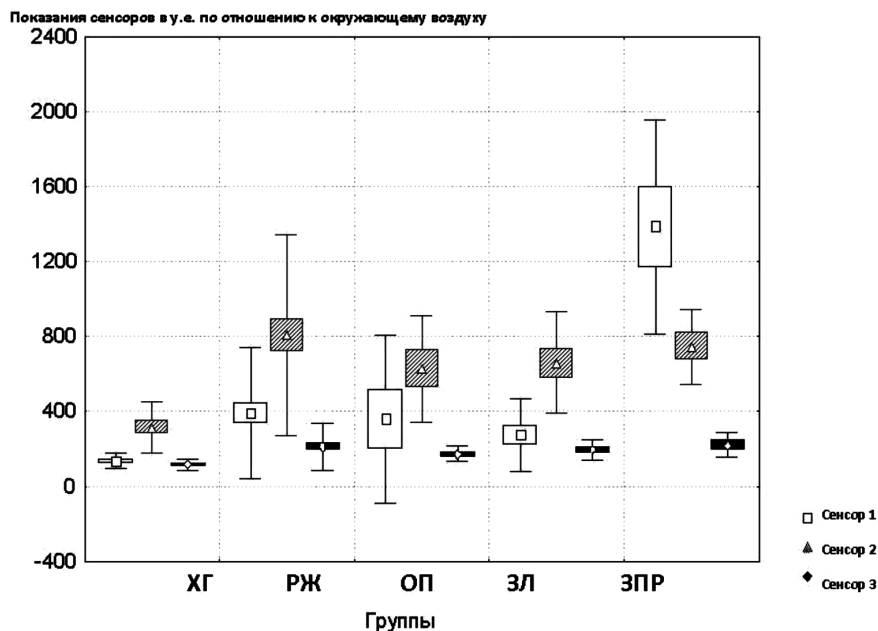


Рис. 2. Показания отдельных сенсоров при различной патологии

Таблица 1. Результаты показателей газов отдельных сенсоров

Исследуемая патология	Сенсор 1	Сенсор 2	Сенсор 3
РЖ	550	950–1050	300
ХГ	190–250	390–500	170–200
ЗЛ	450–550	800–950	250–300
ОП	450–700	700–900	250–300
ЗПР	1300–1700	850–1000	300

Примечание: результаты представлены в условных единицах.

Соотношения средних показаний выдыхаемого воздуха по отдельным сенсорам выглядели следующим образом:

при ЗПР: $C1 : C2 : C3 = 6,6 : 3,6 : 1,0$;
при РЖ: $C1 : C2 : C3 = 2,25 : 4,0 : 1,25$;
при ХГ: $C1 : C2 : C3 = 0,725 : 1,6 : 0,625$;
при ЗЛ: $C1 : C2 : C3 = 1,25 : 3,125 : 0,625$;
при ОП: $C1 : C2 : C3 = 1,875 : 2,85 : 0,875$.

Наблюдались различия концентраций изучаемых газов в группах с патологией как по отдельным сенсорам, так и по суммарной газовой смеси. Имели значение не только абсолютные концентрации исследуемых газов, но и их соотношение относительно друг друга.

Высокие показатели сенсоров 1 и 2 в группе больных с ЗПР свидетельствуют о выделении газов, участвующих в регуляции состава микрофлоры. Наивысшие показатели по сенсору 1 связаны с наличием в ротовой полости анаэробных и аэробных микроорганизмов, высокие показатели сенсора 2 — с выделением иммуноактивных продуктов метаболизма, играющих важную роль в патогенезе заболеваний ротоглотки и периодонта.

Зарегистрированы высокие показатели сенсоров 1 и 2 при РЖ, что свидетельствует о выделении продуктов метаболизма, характерных, в том числе, и для незавершенного цикла Кребса, а также о затратах при энергообмене.

Нами был рассчитан интегральный показатель для сравнения выдыхаемого пациентами воздуха в группах с различной патологией, для чего использованы расчеты по «расстоянию Махаланобиса».

В математической статистике расстояние Махаланобиса — мера расстояния между векторами случайных величин, обобщающая понятие евклидова расстояния. С помощью расстояния Махаланобиса можно определять сходство неизвестной и известной выборки. Оно отличается от расстояния Евклида тем, что учитывает корреляции между переменными и инвариантно к масштабу (если независимые переменные некоррелированы, расстояние Махаланобиса совпадает с обычным евклидовым расстоянием). Эта мера позволяет, в частности, определить, является ли данное наблюдение выбросом по отношению к остальным значениям независимых переменных.

Расчет производился нами по следующей формуле:

$$RM = \sqrt{(C1 + C2 + \dots + Cn)},$$

где $C1, C2 \dots Cn$ — разность показаний между дыханием и воздухом помещения для каждого сенсора, RM — «расстояние Махаланобиса».

Результаты представлены на рисунке 3 и в таблице 1.

Полученные суммарные показатели исследуемых газовых компонентов у пациентов с наличием патологии в 2–2,5 раза превышали эти же показатели в контрольной группе.

Показания сенсора 1 при ЗПР в 2,5–5 раз выше, чем показания этого же сенсора в других группах. При этом показания сенсора 2 и 3 при РЖ на 10–20% выше, чем показания этих же сенсоров при ЗПР.

Показатели сенсоров 1, 2 и 3 при РЖ на 15–25% выше, чем в других рассматриваемых группах.

На основании результатов исследования, для определения специфичности и чувствительности метода, нами было выявлено пороговое значение, необходимое для диагностической оценки риска патологии. Данное пороговое значение служит ключевой величиной для прогнозирования в каждом конкретном случае.

Переменной, использованной для прогноза, был показатель СКЛП % (сумма квадратов натуральных логарифмов % превышения дыхания над окружающим воздухом).

В нашем исследовании пороговое значение было получено методом построения классификационного дерева и составило 65 условных логарифмических единиц (у.л.е.). При анализе данных всех исследуемых групп получены следующие результаты.

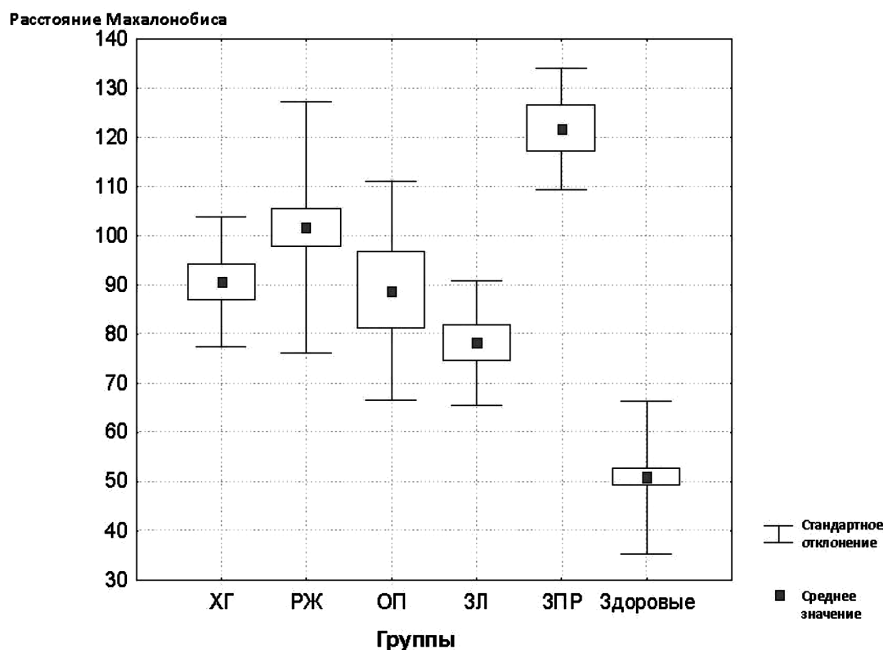


Рис. 3. Суммарные показатели газовых компонентов, рассчитанные по расстоянию Махаланобиса, при различной патологии и у здоровых лиц

Из 69 относительно здоровых лиц пороговый показатель ≤ 65 у.л.е. наблюдался в 61 случае (40,94%), что являлось истинно отрицательными результатами — отсутствие патологии было в дальнейшем подтверждено дополнительными методами обследования. У 8 человек (5,37%) при пороговом показателе >65 у.л.е. были выявлены ложноположительные результаты, при этом при других методах исследования заболеваний обнаружено не было.

У 80 пациентов с различной патологией пороговый показатель >65 у.л.е. наблюдался в 70 случаях (49,98%), что являлось истинно положительными результатами, подтвержденными дальнейшими обследованиями. У 10 пациентов (6,71%) при пороговом показателе >65 у.л.е. определены ложноотрицательные результаты, при применении других методов исследования диагностированы заболевания. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2. Специфичность и чувствительность метода на основании порогового значения

	Пороговый показатель ≤ 65 у.л.е.	Пороговый показатель >65 у.л.е.	Всего
Здоровые обследованные	61 (40,94%) — истинно отрицательные	8 (5,37%) — ложноположительные	69 (100%)
Пациенты с различной патологией	10 (6,71%) — ложноотрицательные	70 (49,98%) — истинно положительные	80 (100%)

Обсуждение. Регистрируемые в выдыхаемом человеком воздухе вещества свидетельствуют о происходящих на клеточном уровне химических процессах, которые могут быть характерны как для здоровых людей, так и при различных заболеваниях и функциональных расстройствах.

В данной работе изучена взаимосвязь ряда газообразных соединений с определенными патологическими процессами в организме человека, а также возможность использования газообразных соединений в качестве биомаркеров в диагностике заболеваний. При этом использованы сенсоры с перекрестной чувствительностью к органическим низкомолекулярным соединениям — к предельным углеводородам, к летучим жирным кислотам (уксусная, пропионовая, масляная, валериановая, изовалериановая и капроновая), молочной и янтарной кислотам; спиртам и альдегидам.

В ходе исследования выявлены определенные закономерности. Так, показатели органических низкомолекулярных соединений в группах с патологией значительно превышают таковые у практически здоровых лиц. Видна корреляция по отдельным сенсорам при различной патологии. Например, при заболеваниях полости рта получены наивысшие показатели предельных углеводородов и высокие показатели КЖК; при раке желудка получены высокие показатели КЖК и альдегидов, при этом преобладают первые; при атрофическом гастрите показания всех сенсоров выше, чем у здоровых, но ниже, чем в группах с другой патологией.

Проведенная работа является новаторской, данный вид исследования ранее не применялся в отечественной медицине, и подобные методики только начинают развиваться за рубежом. В настоящий момент полученные результаты являются ориентировочными и не позволяют сделать однозначные диагностические выводы. Однако они свидетельствуют о перспективности метода и требуют проведения дальнейших исследований. Для усовершенствования метода, помимо аппаратурной модернизации, требуется увеличение выборки с последующим разделением обследованных по более однородным группам заболеваний.

Изучение газового состава выдыхаемого воздуха при патологии и сравнение его с нормой может использоваться как дополнительный скрининговый диагностический метод, обладающий высокой специфичностью и чувствительностью. Наличие, определенная концентрация и соотношение регистрируемых метаболитов относительно друг друга поможет заподозрить патологию на более ранних этапах ее развития. Также на этом основании в перспективе возможно проведение контроля качества эффективности и отдаленных результатов хирургического и медикаментозного лечения пациентов.

Простота и неинвазивность метода, а также безопасность для здоровья пациента позволят широко использовать его для скринингового обследования в амбулаторной сети и в условиях стационара взрослому населению и детям. При получении более обширных результатов возможна организация банка данных для дифференциальной диагностики заболеваний и целенаправленного направления пациентов на дополнительные методы обследования для существенного ускорения постановки диагноза и ограничения проведения ненужных дорогостоящих обследований.

Таким образом, на основании проведенной работы можно сделать следующие выводы:

Исследования газового состава выдыхаемого воздуха можно применять в амбулаторных лечебно-профилактических учреждениях, в условиях стационара, для диагностики заболеваний, для контроля проводимой терапии.

Количественные показатели следовых газов в выдыхаемом воздухе могут служить маркерами заболеваний.

На основании полученного в ходе статистической обработки интегрального показателя — расстояния Махаланобиса (RM) — можно распределить обследуемых на группы здоровых и пациентов с патологией и дифференцировать различные заболевания.

Представленный метод является перспективным и требует увеличения объема выборки и проведения дальнейших исследований.

Литература

1. Скрунский В. А. Эндогенные летучие соединения — биологические маркеры в физиологии и патологии человека и методы их определения // Научно-технический отчет. Институт океанологии РАН. 1994. 75 с.
2. Дворецкий Д. П. Вентиляция, кровообращение и газообмен в легких // Физиология дыхания / под ред. И. С. Бреслава, Г. Г. Исаева. СПб.: Наука, 1994. С. 197–257.
3. Hamid Q., Springall D. R., Riverosmoreno V. et al. Induction of nitric oxide synthase in asthma // *Lancet*. 1993. Vol. 342. P. 1510–1513.
4. Scholpp J., Schubert J. K., Mleksch W., Geiger K. Breath markers and soluble lipid peroxidation markers in critically ill patients // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2002. Vol. 40. P. 587–594.
5. Phillips M., Cataneo R. N., Cummin A. R. C. et al. Detection of lung cancer with volatile markers in the breath // *Chest*. 2003. Vol. 123. P. 2115–2123.
6. Pleil J. D., Lindstrom A. B. Exhaled human breath measurement method for assessing exposure to halogenated volatile organic compounds // *Clin. Chem.* 1997. Vol. 43. P. 723–730.
7. Wells J., Koves E. Detection of carbon disulphide (a disulfiram metabolite) in expired air by gas chromatography // *J. Chromatogr.* 1974. Vol. 92. P. 442–444.
8. Wiedemann H. P., McCarthy K. Noninvasive monitoring of oxygen and carbon dioxide // *Clin. Chest. Med.* 1989. Vol. 10. P. 239–254.
9. Ekroos H., Tuominen J., Sovijarvi A. R. Exhaled nitric oxide and its long-term variation in healthy non-smoking subjects // *Clin. Physiol.* 2000. Vol. 20. P. 434–439.
10. Sulway M. J., Malins J. M. Acetone in diabetic ketoacidosis // *Lancet*. 1970. Vol. 1. P. 736–740.
11. Марков Х. М. Окись азота и окись углерода — новый класс сигнальных молекул // *Успехи физиологических наук*. 1996. Т. 27, № 4. С. 30–41.
12. Гринштейн Дж. Биохимия рака. М.: Иностранная литература, 1951. 394 с.
13. Кавецкий Р. Е. Взаимодействие организма и опухоли. Киев: Наукова думка, 1977. 235 с.
14. Микробная флора полости рта: пути заселения, распространения, распределения по биотопам полости рта в норме и патологии // *Стоматологическое обозрение*. 2004. № 1. С. 7–10.
15. Вакс В. Л., Домрачева Е. Г., Никифоров С. Д. и др. Метод микроволновой нестационарной газовой спектроскопии для неинвазивной медицинской диагностики // *Биомедицинские технологии и радиоэлектроника*. 2008. Т. 5. С. 9–14.
16. Степанов Е. В. Методы высокочувствительного газового анализа молекул-биомаркеров в исследованиях выдыхаемого воздуха // *Труды института общей физики им. А. М. Прохорова*. 2005. Т. 61. С. 5–42.
17. Карасева Г. Т., Джагацпаян И. Э. Способ неинвазивной диагностики рака желудка: патент на изобретение РФ № 2472445. 2013.

Статья поступила в редакцию 15 августа 2013 г.