

УДК 616.233

МЕТОД ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА

В.И. КУЗНЕЦОВ*, С.А. ТАРАКАНОВ**, Н.И. РЫЖАКОВ*, В.Т. КОГАН**, А.В. КОЗЛЕНКО****,
А.А. РАССАДИНА**

*ООО «Конструкторское бюро современных технологий
Санкт-Петербургского Государственного Университета ИТМО»,
197101, г. Санкт-Петербург, просп. Кронверкский, 49

**Центр медицинского, экологического приборостроения и биотехнологий
Санкт-Петербургского Национального Исследовательского Университета Информационных Технологий,
Механики и Оптики, 197101, г. Санкт-Петербург, Кронверкский проспект, д.49.

***Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физико-технический институт им.
А.Ф. Иоффе Российской академии наук, 194021, Санкт-Петербург, Политехническая ул., 26

****Научно-исследовательский отдел физиологии кровообращения Федерального центра сердца,
крови и эндокринологии имени В.А. Алмазова, 194156, Санкт-Петербург, пр. Пархоменко, д. 15

Аннотация: многие молекулы крови, являющиеся биомаркерами в диагностике функционального состояния организма, содержатся в выдыхаемом человеком воздухе и его конденсате. Среди таких биомаркеров есть летучие и нелетучие соединения (кислород, углекислый газ, окись и двуокись азота, аммиак, глицерин, ацетон, молочная, ацетоуксусная, мочева, лимонная кислоты и др.). Оценку функционального состояния организма и работы многих органов человека можно выполнить методом неинвазивной диагностики через анализ состава выдыхаемого воздуха. Учитывая диагностическую важность как летучих, так и нелетучих соединений, необходимо создание устройств, выполняющих комплексную газоаналитическую оценку.

Ключевые слова: Неинвазивная диагностика, летучие и нелетучие биомаркеры выдыхаемого воздуха.

METHOD OF HIGHLY SENSITIVE NON-INVASIVE DIAGNOSTICS OF FUNCTIONAL STATES OF
ORGANISM

V.I. KUZNETSOV*, S.A. TARAKANOV**, N.I. RYZHAKOV*, V.T. KOGAN**, A.V. KOZLENOK****,
A.A. RASSADINA**

*Limited liability company «Design office of modern technologies of the St. Petersburg State University ITMO»

**Center of medical, ecological instrumentation and biotechnologies of National Research University of Information
Technologies, Mechanics and Opticians.

***Federal State Institution of Science Ioffe Physical-Technical Institute of the Russian Academy of Sciences

****Research department of physiology blood circulation of Almazov Federal Heart,
Blood and Endocrinology Centre

Abstract: many molecules of blood being biomarkers in diagnostics of a functional state of an organism, contain in expired by the person air and its condensate. Among such biomarkers there are volatile and non-volatile compounds (oxygen, carbon dioxide, an oxide and nitrogen dioxide, ammonia, glycerin, acetone, lactic acid, acetoacetic acid, uric acid, citric acid, at al.). The valuation of a functional state of an organism and work of many human organs can be executed a method of non-intrusive diagnostics over the analysis of composition of expired air. Considering diagnostic significance as volatile so non-volatile compounds, making of the all-inclusive gasanalytical devices is necessary.

Key words: non-intrusive diagnostics, volatile and non-volatile compounds of expired air.

При оценке функционального состояния организма, работы внутренних органов (печени, поджелудочной железы, почек), белкового, жирового и углеводного обмена веществ в медицине применяют биохимический анализ крови. Для биохимического анализа используется преимущественно венозная кровь. В некоторых случаях необходим забор артериальной крови. Биохимический анализ позволяет определить: общий белок и белковые фракции, сахар, холестерин и его фракции, триглицериды, билирубин и его фракции, различные ферменты (АСТ, АЛТ, КФК, ГГТП, ЛДГ, ЩФ, КФ и др.), железо (сывороточное и депонированное), кальций, калий, натрий, магний, фосфор, продукты азотного обмена (креатинин, мочевины, мочева кислота), газы крови (O₂, CO₂).

При всей значимости результатов биохимического анализа оценку функциональному состоянию организма и работе многих внутренних органов можно дать, применив и неинвазивные методы.

Не секрет, что многие животные обладают гораздо большей чувствительностью органов обоняния, чем человек. Обоняние помогает животным выжить в дикой природе и основано на улавливании определённого запаха (свойства) химических соединений в окружающей среде. Еще академик П.Л. Капица мечтал «догнать обоняние собаки» путем создания приборов, способных распознавать самые малые концентрации веществ.

С чем же связаны чаяния ученого?

Анализ концентраций молекул, содержащихся в выдыхаемом человеком воздухе, может стать альтернативой анализу крови. Установлено, что в выдыхаемом воздухе содержится более 600 летучих и нелетучих соединений [7]. Около 20-ти из них наиболее чувствительны к изменению функционального здоровья и уже сегодня могут быть естественными биомаркерами некоторых заболеваний. Вместе с тем, наличие этих соединений в выдыхаемом воздухе тяжело определить не в лабораторных условиях.

В настоящей публикации авторы познакомят читателей с методом неинвазивной оценки функционального состояния организма человека посредством анализа биомаркеров выдыхаемого воздуха газоаналитическим оборудованием.

Газообразные биомаркеры выдыхаемого воздуха. То, что состав выдыхаемого воздуха у больного и здорового человека различны, ученые заметили еще в древности. Действительно, если посмотреть механизм взаимодействия человека с окружающей средой, то мы увидим, что потребляемые человеком из окружающей среды воздух и пища, расщепляются на молекулы и транспортируются через кровь во все органы и клетки организма, насыщая его питательными веществами и энергией. Во внутренних органах происходит ассимиляция или естественная химическая трансформация поступивших в организм молекул. Поэтому выводимые из организма молекулы воздуха содержат информацию о функциональном состоянии организма, также как и кровь, и другие биологические продукты жизнедеятельности, и могут быть использованы в качестве объекта диагностики.

С 80-х гг. прошлого века ведутся серьезные исследования состава выдыхаемого воздуха, т.к. именно это время связано с развитием высокочувствительного газоаналитического оборудования [7]. Исследования выдыхаемого воздуха позволили определить его сложный молекулярный состав, включающий как летучие соединения (окиси азота, водород, аммиак и др.) [1, 3-5, 7, 8, 14], так и нелетучие (лактат, глицерин, ацетуксусная мочева, лимонная кислоты и др.) [6, 9, 10-13], содержащиеся в конденсате выдыхаемого воздуха. Концентрации некоторых из летучих и нелетучих молекул отражают наличие или отсутствие различных заболеваний, а также привычки диагностируемого.

Ниже приведена табл., отражающая взаимосвязь установленную учеными между молекулами, содержащимися в выдыхаемом воздухе и его конденсате и некоторыми заболеваниями.

Таблица

Газообразные молекулы-биомаркеры в выдохе человека и их диагностическая значимость

Молекула-биомаркер	Заболевания, стрессорная нагрузка	Среда
Кислород (O ₂)	заболевания легких (хронические обструктивные болезни легких, пневмофиброз), заболевания сердечно-сосудистой системы (сердечная слабость, сердечная недостаточность)	Воздух
Углекислый газ, его изотопические модификации, окись углерода (CO ₂ , ¹² CO ₂ , ¹³ CO ₂ , CO)	инфицирование бактерией <i>Helicobacter pylori</i> , прохождение пищи через желудочно-кишечный тракт, дисфункция печени, в т.ч. цирроз, избыточный рост бактерий, дисфункции поджелудочной железы, усвоение лактозы, мальабсорбция, метаболизм желчи, метаболизм глюкозы, анемии (гемолитическая, сидеробластическая, серповидно-клеточная), карбоксигемоглобинемия при остром и хроническом облучении, долговременное пребывание при повышенном содержании O ₂ , гипербилирубинемия новорожденных, окислительный стресс, гематомы, гемоглобинурия, приклампсия, инфекции, талассемия, инфекция дыхательных путей, астма	Воздух
Молочная кислота (лактат) (CH ₃ CH(OH)COOH)	кислородная задолженность тканей при интенсивных физических упражнениях, циркуляторном шоке (геморрагическом, кардиогенном, септическом), выраженной гипоксемии, выраженной анемии	Конденсат

Водородный показатель (рН)	дисбактериоз кишечника, диарея, колит, астма, заболевания легких	конденсат
Окись азота, диоксид азота (NO, NO ₂)	хроническая обструктивная болезнь легких, астма, гипертензия, бронхоэктазис, инфекция верхних дыхательных путей, ринит, воспалительные процессы в желудке (гастрит), в том числе инфекция <i>Helicobacter pylori</i> , рак органов пищеварения, тяжелый сепсис, хронические инфекционные воспалительные процессы (гастрит, гепатит, колит)	воздух
Аммиак (NH ₃)	острая и хроническая лучевая болезнь, метаболизм моноаминов в легких, почечная недостаточность: при нефритах, гипертонической болезни, атеросклерозе почечных артерий, токсикозе и нефропатии беременных, токсических поражениях почек, недостаточность печени при желтухах, гепатитах, циррозе печени, токсическом гепатите, рак легкого, системная красная волчанка	воздух
Глицерин (C ₃ H ₅ (OH) ₃)	-	конденсат
Ацетон (CH ₃ COCH ₃)	функция поджелудочной железы при остром деструктивном панкреатите и диетическом разбалансе, тяжелая сердечная недостаточность, рак легкого, сахарный диабет	воздух, конденсат
Ацетоуксусная кислота (CH ₃ COCH ₂ CO ₂ H)	сахарный диабет, кетоз, острая пневмония	конденсат
Никотинамид (C ₆ H ₆ N ₂ O)	-	конденсат
Гамма-аминомасляная кислота (Аминалон) (C ₄ H ₉ O ₂ N)	-	конденсат
Мочевая кислота (C ₅ H ₄ N ₄ O ₃)	апноэ, системная красная волчанка, пневмония, уратный нефролитиаз, подагра, ишемическая болезнь сердца	конденсат
Лимонная кислота (C ₆ H ₈ O ₇)	-	конденсат
Этан (C ₂ H ₆), пентан (C ₅ H ₁₂)	этан: маркер витамина Е у детей, убихинольный статус при перекисном окислении липидов, курящие и некурящие, маркер разрушений, вызываемых свободными радикалами этан и пентан: перекисное окисление липидов при пересадке печени, маркер перекисного окисления липидов	воздух

Как видно из таблицы, каждая из молекул-биомаркеров связана с функционированием определенных органов, костей и тканей и может стать информативным показателем в диагностике. О присутствии некоторых из молекул в конденсате выдыхаемого воздуха (никотинамид, гамма-аминомасляная кислота, лимонная кислота) пока ничего неизвестно, но к этому есть теоретические предположения наличия этих молекул в крови и данные недавних исследований, подтверждающие однонаправленность между выдыхаемым воздухом, сывороткой крови, легочной ткани и бронхоальвеолярной влажной жидкости [2, 12, 13].

Отметим, что исследования таких взаимосвязей достаточно сложные. При таких исследованиях не достаточно диагностировать наличие следов определенных молекул в выдыхаемом воздухе, необходимо учитывать и все разнообразие биохимических реакций и физиологических процессов, протекающих в организме и приводящих к изменению их концентраций.

Газоаналитическое оборудование в диагностике состава и концентраций выдыхаемого воздуха. Методы анализа наличия летучих и нелетучих компонентов в выдыхаемом воздухе в настоящее время имеют принципиальные различия.

Применяемое в практике функциональной медицины газоаналитическое оборудование, на основе электрохимического, парамагнитного и спектроскопического сенсоров, предназначено для анализа в выдыхаемом воздухе концентраций кислорода и углекислого газа в лабораторных условиях.

Концентрации остальных летучих компонентов содержатся в выдыхаемом воздухе в виде следов (менее 10⁻⁶%), и требуют более высокоточного и чувствительного газоаналитического оборудования. Их анализ пока носит исследовательский характер и выполняется в лабораториях на таком высокочувствительном оборудовании как газовые хроматографы, масс-спектрометры, совмещенные с газохроматографическим разде-

лением, электрохимические сенсоры, УФ-хемоллюминесценторы, ИК-спектрометры, оптоакустические и лазерные спектрометры. Отличительной особенностью таких устройств является высокая селективность отбора пробы, необходимая для выявления микроконцентраций биомаркеров, реализуемая выполнением следующих требований: нечувствительностью к азоту и кислороду (концентрации которых составляют десятки процентов), парам воды и CO₂.

Многие важные диагностические показатели (табл.) являются нелетучими и содержатся в конденсате выдыхаемого воздуха. В частности, важная для спортивной медицины молочная кислота (лактат), определяемая в настоящее время посредством забора артериальной (или венозной) крови, обнаружена и в парах выдыхаемого воздуха [11]. Концентрации нелетучих соединений тяжело определять в лабораторных условиях. В отличие от летучих молекул, эти молекулы трудно обнаружить газоаналитическими методами, т.к. они содержатся в конденсате. Для их анализа требуется развитие индустрии, охватывающей сбор, транспортировку, хранение и утилизацию образцов.

Тем не менее уже сегодня возможна комплексная диагностика наличия в выдыхаемом воздухе приведенных в таблице летучих и нелетучих соединений на портативном масс-спектрометрическом устройстве. Работы по его реализации сейчас ведутся в центре медицинского, экологического приборостроения НИУ ИТМО.

Заключение. Анализ следов выдыхаемого воздуха и его конденсата является актуальной задачей в диагностической медицине, т. к. в будущем позволит определять различные заболевания у человека. Газоаналитические методы, выявляющие концентрации летучих и нелетучих молекул-биомаркеров в будущем могут стать альтернативой методов забора крови.

Литературы

1. *Вавилова, Н.Н.* Эргоспирометрические критерии течения хронической обструктивной болезни легких / Н.Н. Вавилова, Е.В. Колотова // Пульмонология.– 2006.– № 3.– С. 82–84.
2. *Клименко, В.А.* Анализ выдыхаемого воздуха как маркер биохимических процессов в организме. / В.А. Клименко, Д.Н. Криворотко // Здоровье ребенка.– 2011.– № 1(28).– С. 138–143.
3. *Ливенцова, Е.В.* Экспираторное выведение мочевой кислоты, мочевины и аммиака из организма больных системной красной волчанкой / Е.В. Ливенцова // Питання експериментальної та клінічної медицини. Збірник статей.– 2010.– Випуск 14.– Т. 1.– С. 53–57
4. *Лукаш, С.И.* Проблемы диагностики некоторых заболеваний по выдыхаемому воздуху. / Е.В. Лукаш // Комп'ютерні засоби, мережі та системи.– 2010.– № 9.– С. 62–71 [Электронный ресурс] URL: http://www.nbu.gov.ua/portal/natural/Kzms/2010/2010_st7.pdf (Дата обращения: 22.09.2012).
5. . PROMEDIA – база данных химических соединений, потенциальных биомаркеров заболеваний, имеющих значение для неинвазивной диагностики / Е.В. Сайк [и др.] // Математическая биология и биоинформатика.– 2011.– Т. 6.– № 2.– С. 250–263. [Электронный ресурс] URL: [http://www.matbio.org/2011/Saik2011\(6_250\).pdf](http://www.matbio.org/2011/Saik2011(6_250).pdf) (Дата обращения: 22.09.2012).
6. *Соловьева, Н. В.* Изучение состава конденсата паров выдыхаемого воздуха как метода выбора в диагностике острой пневмонии / Л.П. Соловьева, Л.П. Никитина, А.Ц. Гомбоева, Н.С. Кузнецова // Клиническая биохимия: единство фундаментальной науки и лабораторной диагностики. Материалы региональной научно-практической конференции, посвященной 70-летию доктора медицинских наук, профессора П.Н. Шараева.– Ижевск.– 2010.– С. 165–166. [Электронный ресурс] URL: <http://www.igma.ru/attachments/article/141/konferents.pdf> (Дата обращения: 22.09.2012).
7. *Степанов, Е.В.* Методы высокочувствительного газового анализа молекул-биомаркеров в исследовании выдыхаемого воздуха / Е.В. Степанов // Труды института общей физики им. А.М. Прохорова.– 2005.– Т. 61.– С. 1–47.
8. Новые подходы к изучению патогенеза, диагностике и прогнозированию заболеваний легких. / М.А. Хасина [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал.– 2008.– № 3 (33).– С. 75–78.
9. Exhaled breath condensate pH is influenced by respiratory droplet dilution. / A. Bikov [et al.] // J. Breath Res.– 2012.– № 6: 046002
10. *Chow, S.* Exhaled breath condensate (EBC) biomarkers in pulmonary fibrosis / S. Chow, P.S. Thomas, M. Malouf, D. H. Yates // J. Breath Res.– 2012.– № 6: 016004
11. Measurements of lactate in exhaled breath condensate at rest and after maximal exercise in young and healthy subjects. / E.M. Marek [et al.] // Journal of Breath Research.– 2010.– V. 4.– № 1.– P. 17–22.
12. Effects of breathing pattern and inspired air condition on breath condensate volume, pH, nitrite and protein concentration. / J.B. McCafferty [et al.] // Torax.– 2004.– № 59.– P. 694–698.
13. *Raed, A.* Exhaled breath analysis: the new frontier in medical testing / A. Raed, A.A. Dweik // J. Breath Res.– 2008.– № 2: 030301.
14. *Smith, D.* A selected ion flow tube mass spectrometry study of ammonia in mouth- and nose-exhaled breath and in the oral cavity. / D. Smith, T. Wang, A. Pysanenko, A. Španěl // Rapid Communications in Mass Spectrometry.– 2008.– V. 22.– Is. 6.– P. 783–789.