

IŠKVEPIAMŪJŲ METABOLITŲ DIAGNOSTINIS POTENCIALAS

Eglė Gelšvartaitė¹, Andrius Daugėla¹, Lina Jankauskaitė²

¹Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos akademija, Medicinos fakultetas

²Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Medicinos fakultetas, Vaikų ligų klinika

Raktažodžiai: metabolomika, lakieji organiniai junginiai (LOJ), plaučių vėžys, eNose, kvėpavimo takų infekcija.

Santrauka

Tyrimo tikslas – atlikti literatūros paiešką ir išsiaiškinti lakiųjų organinių junginių (LOJ) sąvoką bei ligų diagnostikos potencialą. Į literatūros apžvalgą buvo įtraukti 9 straipsniai, nagrinėjantys LOJ ir jų taikymo galimybes. Tyrimo rezultatai. Lakieji organiniai junginiai išsiskiria organizme metabolinių reakcijų metu ir gali būti naudojami kaip biožymenys. Iškvėpiamo oro mėginių tyrimas yra neinvazivus ir gali būti naudojamas kvėpavimo takų ir kitų sistemų sutrikimams diagnozuoti. LOJ tyrimams šiuo metu daugiausia naudojami dujų chromatografijos masių spektrometrijos ir elektroninės nosies metodai. Iškvėpiamame ore esančių LOJ tyrimus galima pritaikyti plaučių vėžio, kvėpavimo takų infekcijų bei lėtinių obstrukcinių plaučių ligų diagnostikai.

Įvadas

Lakieji organiniai junginiai organizme išsiskiria įvairių metabolinių reakcijų metu. Pritaikius tinkamus metodus jų nustatymui, jie gali būti puikūs biožymenys nustatyti įvairius sveikatos sutrikimus. Ypač didelį potencialą turi iškvėpiamo oro mėginiai, kadangi surinkti tiriamąją medžiagą galima neinvaziniais metodais. Pulmonologijoje šis metodas gali būti pritaikytas plaučių vėžio patikros programoje, neinvaziniu būdu diagnozuojant infekcines kvėpavimo takų ligas ir stebint lėtinių plaučių ligų eigą.

Tyrimo tikslas – atlikti literatūros paiešką ir išsiaiškinti lakiųjų organinių junginių sąvoką bei jų diagnostinį potencialą.

Tyrimo medžiaga ir metodai

Mokslinėse duomenų bazėse rastos publikacijos. Literatūros paieška atlikta PubMed (Medline) ir Google Scholar duomenų bazėse. Pritaikius raktinius žodžius „volatile“, „breath“, „exhaled“ ir „marker“, „compound“, „metabolite“,

„diagnostics“ ir „pneumonia“, „respiratory tract infection“, gautas 591 straipsnis. Straipsniai atrinkti pagal kriterijus: ne senesni nei 10 metų, straipsniai anglų kalba, aprašytos studijos su žmonėmis. Po šios atrankos liko 290 straipsnių. Rankiniu būdu, vertinant straipsnio pavadinimą bei santrauką, atrinkti 29 straipsniai, kurie toliau vertinti ir išnagrinėti 13 viso teksto straipsnių, iš kurių į analizę įtraukti 9 straipsniai.

Tyrimo rezultatai ir aptarimas

Lakieji organiniai junginiai. Lakieji organiniai junginiai (LOJ) - tai organinės medžiagos, kurios dujų pavidalu dėl žemos virimo temperatūros išsiskiria iš skysto junginio. Žmogaus organizme LOJ susidaro įvairių metabolinių reakcijų metu ir šalinami per odą, kartu su šlapimu, išmatomis ir iškvėpiamu oru [1]. Ligos atveju paveikiamas ląstelės metabolizmas, kartu kinta ir išskiriami LOJ, todėl juos galima panaudoti kaip biožymenis, nustatant patologinius fiziologinius procesus. Pulmonologijos srityje ypač svarbus iškvėpiamas oras, nes jis tiesiogiai susijęs su kvėpavimo takuose vykstančiais procesais [1]. Šiuo metu nustatyta keletas tūkstančių skirtingų LOJ. Organizme jie išskiriami mažais kiekiais ir gali būti matuojami milijoninėmis ar milijardinėmis dalimis (*parts per million* - ppm, *parts per billion* - ppb) [2]. Susidomėjimas LOJ potencialu ligų diagnostikoje vis didėja, tad tikėtina, kad greitai metu šių biožymenų naudojimas nustatant plaučių ligas bus vis prieinamesnis.

Iškvėpiami LOJ gali būti skirstomi į kelias grupes. Vieni susidaro vietškai kvėpavimo takuose, kiti metabolinių procesų metu susidaro įvairiose organizmo vietose ir su krauju pasiekia plaučius. Todėl tiriant iškvėpiamą orą galima nustatyti ne vien kvėpavimo takų, bet ir kitų sistemų sutrikimus. Egzogeniniai LOJ gali būti įkvėpiami, patekti į organizmą per odą ar susintetinti vietinės mikrobiotos. Šios rūšies biožymenys padėtų nustatyti infekcijų sukėlėjų rūšį ar sukėlusią medžiagą greičiau, nei kitais diagnostikos metodais [2].

Mėginių surinkimas. Svarbiausia LOJ mėginių savybė yra galimybė juos surinkti neinvaziniu būdu. Šiuo metu dar

nėra universaliai priimto mėginių rinkimo metodo, o keletas dabar prieinamų metodų vis dar naujinami [3].

Iškvėpiamo oro mėginiai gali būti surenkami ir transportuojami specialiuose maišeliuose. Jie yra pigūs, patogūs naudoti, gaminami tiek vienkartiniam, tiek daugkartiniam naudojimui [4]. Panašiai naudojami ir sorbento mėgintuvėliai [2].

Šiuo metu atsiranda vis daugiau specialių prietaisų, skirtų surinkti ir ištirti iškvėpiamo oro mėginius. Jų pranašumas pasižymi tuo, kad tyrimas gali būti atliekamas paciento palatoje – nereikalingos papildomos sąlygos [5].

LOJ tyrimo metodai. Dujų chromatografija-masių spektrometrija (DC/MS) yra laikoma auksiniu standartu cheminių medžiagų nustatymui. DC/MS tyrimas yra labai jautrus ir padeda tiksliai nustatyti mėginyje esančius junginius, tačiau tam būtinas gerai apmokytas personalas, speciali įranga, tad tai yra gana brangus metodas. Rezultatų gavimas gali užtrukti [2].

Kitas metodas – daugybinių sensorių prietaisai, veikiantys žinduolių uoslės principu ir todėl vadinami elektronine nosimi (*eNoses*). *eNoses* sensoriai iškvėpiamo oro mėginių paverčia elektriniais signalais. Šie prietaisai nenaudojami atskirų medžiagų nustatymui, o atpažįsta tam tikrus rezultatų modelius, kuriuos vėliau lygina su algoritmais, esančiais duomenų bazėje [2]. Atliekant tyrimą, svarbi dedamoji yra kuo didesnė tyrimo imtis, kad prietaisais galėtų surinkti kuo daugiau duomenų ir atrinkti skiriamuosius veiksnius. Lyginant su DC/MS, *eNoses* nereikalauja apmokyto personalo, greitai gaunami tyrimo rezultatai ir tyrimo išlaidos mažesnės. Remiantis šiais veiksniais, *eNoses* atrodo pranašesnis klinikiniam pritaikymui, tačiau naudojant elektroninę nosį nėra galimybės nustatyti konkrečių LOJ ir susieti tyrimo rezultatus su metaboliniais procesais organizme [5].

Pritaikymo potencialas. Remiantis *Human Breathomics* duomenų baze, šiuo metu priskaičiuojama apie 60 potencialių ligų, kurias galima nustatyti minėtu metodu. Beveik du trečdalius jų sudaro kvėpavimo takų bei plaučių pakitimai, tačiau vis dažniau nustatoma ir kitų organų sistemų patologija (širdies, stemplės, žarnyno). Didžiausias dėmesys skiriamas plaučių vėžio, kvėpavimo takų infekcijų bei lėtinių obstrukcinių plaučių ligų diagnostikai.

Lietuvoje vykdomos penkios ligų prevencijos programos, kurių išlaidas ligonių kasos kompensuoja iš Privalomojo sveikatos draudimo fondo. Šį sąrašą jau daugelį metų stengiamasi papildyti viena iš ligų, kuri kasmet pasiglemžia daugybę gyvybių, o jos ankstyvoji diagnostika yra itin sudėtinga – plaučių vėžys. Atliktuose tyrimuose naudojant GC/MS ir *eNose* buvo nustatyti jautrumas ir specifiskumas nuo 50 iki 100 proc. ir nuo 80 iki 100 proc. atitinkamai. Pagrindiniai biožymenys šiuose tyrimuose buvo angliavandeniai, alkoholiai, aldehydai, ketonai, esteriai, nitrilai ir oro

matiniai junginiai [6]. Dalis jų ženkliai sumažėjo išoperavus ne smulkių ląstelių karcinomą, kas leidžia manyti, jog jų atsiradimą sukėlė šios patologijos. Dėl padidėjusio oksidacinio streso vykstant kancerogenezei plaučiuose, padidėjęs prostaglandino E2 (PGE2) ir 8-izoprostano išskyrimas lemia jų padidėjusią koncentraciją iškvėpiamame ore, todėl šie biožymenys gali būti naudojami kaip diagnostiniai plaučių vėžio žymenys [7].

Lakiųjų organinių medžiagų nustatymas turi didelę reikšmę ankstyvajai kvėpavimo takų infekcijų diagnostikai. Greitas diagnostikos metodas gali lemti ligos eigą, leisdamas anksčiau nustatyti ligos sukėlėją bei atitinkamai keisti gydymą. 2021 metais Guangzhou medicinos universiteto atliktoje studijoje buvo atrinkti, tiriami ir lyginami 133 pacientai, iš kurių 53 sergo lėtine plaučių aspergilioze, 32 – visuomenėje įgyta pneumonija, 48 buvo sveiki tyrimo dalyviai. Masių spektrometrijos metodu buvo nustatyta, jog pacientų, sergančių aspergilioze, iškvėptame ore išskirtinai padaugėjo fenolio, neopentil-alkoholio, tolueno, limoneno bei etilbenzeno. Po taikyto gydymo buvo pastebėta, jog iškvėpiamo limoneno kiekis koreliuoja su anti-*Aspergillus fumigatus* IgG kiekiu kraujyje – sergančiųjų grupėje šie rodikliai mažėjo. Remiantis šiais duomenimis galima teigti, jog lakiųjų organinių medžiagų nustatymo metodu galima ne tik pagreitinti aspergiliozės diagnostiką, bet ir stebėti gydymą [8]. Tuo pačiu principu galima nustatyti ir kitus infekcijų sukėlėjus, tokius kaip *Mycobacterium tuberculosis* [4]. Šio mikroorganizmo nustatymas iš skreplių pasėlio trunka nuo 2 iki 6 savaičių, todėl greitesnė ir paprastesnė diagnostika leistų anksčiau pradėti efektyvų gydymą.

Iškvėpiamųjų medžiagų identifikavimas gali keisti astmos bei kitų lėtinių obstrukcinių plaučių ligų kontrolės eigą. Kiekvieno fenotipo gydymui naudojamos skirtingos vaistų kombinacijos bei dozės. Šiuo diagnostikos metodu galima nustatyti gydymo efektyvumą greičiau, nei tiriant skreplių eozinofilus ar iškvėptą NO [9]. Pastebėta, jog astmos paūmėjimo metu pacientai iškvėpdavo daugiau pentano dujų, o palengvėjus simptomams, dujų kiekis pasiekdavo sveikų žmonių lygį. Stebint lakiųjų organinių medžiagų iškvėptame ore kiekį, pacientai būtų įgalinti efektyviau valdyti savo ligos eigą bei gydymą [5].

Atrandant specifinius biožymenis, galima diagnozuoti dar daugiau ligų. Tiriant iškvėpiamas organines medžiagas *eNose* technologija buvo nustatyta, jog galima taikyti šį būdą kaip neinvazinę diagnostinę priemonę kolorektalinio vėžio (AUC (plotas po ROC kreive) 0,84, jautrumas 94%, specifiskumas 64%) bei pažengusių adenomų nustatymui (AUC 0,73, jautrumas 79%, specifiskumas 59%) [10]. Taip būtų galima atsisakyti dalies diskomfortą bei stresą sukeliančių intervencijų ir pagreitinti diagnostiką.

Išvados

1. Lakiųjų organinių junginių atradimas bei nustatymas yra naujas, nedaug išnagrinėtas bei didelį potencialą turintis diagnostinis bei monitorinis tyrimas.

2. Ne visi nustatyti biožymenys ar jų kombinacijos lemia specifines ligas, tačiau tobulinant diagnostinius metodus, galima jų atrasti bei išgryninti vis daugiau.

3. Šiuo tyrimo metodu daugiausia nustatomos plaučių patologijos, tačiau atliekama vis daugiau tyrimų ir su kitomis organų sistemomis.

Literatūra

- Amann A, Mochalski P, Ruzsanyi V, Broza YY, Haick H. Assessment of the exhalation kinetics of volatile cancer biomarkers based on their physicochemical properties. *J Breath Res* 2014;8(1).
<https://doi.org/10.1088/1752-7155/8/1/016003>
- Ibrahim W, Carr L, Cordell R, Wilde MJ, Salman D, Monks PS, et al. Breathomics for the clinician: the use of volatile organic compounds in respiratory diseases. *Thorax* 2021;76(5):514-21.
<https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-215667>
- Bikov A, Paschalaki K, Logan-Sinclair R, Horváth I, Kharitonov SA, Barnes PJ, et al. Standardised exhaled breath collection for the measurement of exhaled volatile organic compounds by proton transfer reaction mass spectrometry. *BMC Pulm Med* 2013;13(1).
<https://doi.org/10.1186/1471-2466-13-43>
- Saktiawati AMI, Putera DD, Setyawan A, Mahendradhata Y, van der Werf TS. Diagnosis of tuberculosis through breath test: A systematic review. *EBioMedicine* 2019;46:202-14.
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.07.056>
- Wilson AD. Advances in electronic-nose technologies for the detection of volatile biomarker metabolites in the human breath. *Metabolites* 2015;5(1):140-63.
<https://doi.org/10.3390/metabo5010140>
- Haick H, Broza YY, Mochalski P, Ruzsanyi V, Amann A. Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers. *Chem Soc Rev* 2014;43(5):1423-49.
<https://doi.org/10.1039/C3CS60329F>
- Ciebiada M, Górski P, Antczak A. Eicosanoids in exhaled breath condensate and bronchoalveolar lavage fluid of patients with primary lung cancer. *Dis Markers* 2012;32(5):329-35.
<https://doi.org/10.1155/2012/562862>
- Li ZT, Zeng PY, Chen ZM, Guan WJ, Wang T, Lin Y, et al. Exhaled Volatile Organic Compounds for Identifying Patients With Chronic Pulmonary Aspergillosis. *Front Med* 2021;8.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2021.720119>
- Azim A, Barber C, Dennison P, Riley J, Howarth P. Exhaled volatile organic compounds in adult asthma: a systematic review. *Eur Respir J* 2019;54(3).
<https://doi.org/10.1183/13993003.00056-2019>
- van Keulen KE, Jansen ME, Schrauwen RWM, Kolkman JJ, Siersema PD. Volatile organic compounds in breath can serve as a non-invasive diagnostic biomarker for the detection of advanced adenomas and colorectal cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2020;51(3):334-46.
<https://doi.org/10.1111/apt.15622>

DIAGNOSTIC POTENTIAL OF METABOLOMICS

E. Gelšvartaitė, A. Daugėla, L. Jankauskaitė

Keywords: metabolomics, volatile organic compounds (VOC), lung cancer, eNose, respiratory tract infection.

Summary

Based on the latest available scientific literature, the article reviews volatile organic compounds (VOC) and their potential in clinical diagnostics. A literature review was performed that included 9 publications on VOCs and their possible application in diagnostics.

Results: Volatile organic compounds are a part of many metabolic reactions in the body; therefore, they can be used as biomarkers. Breath sample analysis is non-invasive and can be used for diagnostics of pulmonary and non-pulmonary diseases. Gas chromatography (GC) coupled with mass spectrometry (MS) and eNoses are the most popular techniques for VOC testing. Breath sample analysis can be used for lung cancer, respiratory tract infections and obstructive lung diseases.

Correspondence to: egle.gelsvartaitė@gmail.com

Gauta 2022-01-13