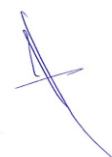


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи



ПОДОЛЬКО ДАНИЛ ВЛАДИСЛАВОВИЧ

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СЕНСОРНОГО ГАЗОАНАЛИТИЧЕСКОГО
КОМПЛЕКСА В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЛЕГКОГО НА ОСНОВЕ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОЦЕНКИ СОСТАВА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
член-корр. РАН, профессор,
доктор медицинских наук
Чернов Владимир Иванович

Томск – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Эпидемиологические данные рака легкого	12
1.2 Факторы риска развития рака легкого, влияющие на молекулярный состав воздуха.....	15
1.2.1 Роль курения как основополагающего фактора	15
1.2.2 Профессиональные канцерогены и их роль в развитии рака легкого	16
1.2.3 Загрязнение окружающей среды	17
1.3 Типы образцов метаболомики рака легких	18
1.3.1 Кровь	18
1.3.2 Моча	21
1.3.3 Слюна	22
1.3.4 Летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе и рак легкого.....	23
1.3.5 Кожа	26
1.3.6 Краткое описание образцов	27
1.4 Методы обнаружения летучих органических соединений.....	27
1.4.1 Масс-спектрометрия и ее разновидности.....	27
1.4.2 Спектрометрия ионной подвижности.....	29
1.4.3 Электронные носы	31
1.4.4 Использование животных для обнаружения летучих биомаркеров	33
1.4.5 Рамановская спектроскопия.....	35
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	41
2.1 Общая характеристика клинического материала	41
2.2 Методика забора проб выдыхаемого воздуха.....	49
2.3 Технические характеристики газоанализатора.....	50
2.4 Принцип работы сенсорного газоаналитического комплекса	51
2.5 Оценка результатов исследования	53
2.6 Статистические методы.....	54

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕНСОРНОГО ГАЗОАНАЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЛЕГКОГО.....	56
3.1 Разработка оптимального способа забора проб.....	56
3.2 Оценка воспроизводимости и влияния факторов подготовки пациентов на постановку диагноза при проведении диагностической процедуры.....	56
3.3 Выявление основных биомаркеров веществ в выдыхаемом воздухе при наличии злокачественных новообразований легких.....	59
3.4 Оценка специфичности, чувствительности, точности сенсорного газоаналитического комплекса для диагностики рака легкого и влияние анамнестических данных (пол и возраст пациентов, факт курения, наличие сопутствующих заболеваний) на эти показатели	62
3.5 Оценка влияния стадии онкологического заболевания на диагностические показатели сенсорного газоаналитического комплекса	72
3.6 Эффективность метода при исследовании группы валидации	82
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	92
ВЫВОДЫ	101
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Рак легкого занимает лидирующие позиции по заболеваемости и смертности во всем мире. Это связано как с увеличением никотиновой зависимости, ухудшением экологической ситуации, условий вредного производства, так и с трудностями своевременной диагностики и недостаточной эффективностью лечения. По ежегодным результатам, которое публикует Международное агентство по изучению рака, за последний год диагностирован диагноз рака легких у более, чем 1,8 млн человек.

Выявление онкологических заболеваний на ранней стадии до сих пор является актуальной проблемой. На поздней стадии диагностика гораздо проще, но эффективность лечения и дальнейший прогноз становятся менее благоприятными. Сегодня большое внимание уделяется разработке методов раннего выявления злокачественных новообразований [20].

По статистике, выявление рака легкого при ранних стадиях приходится на 29 % [21]. При этом пятилетняя выживаемость, несмотря на современные методы лечения, остается неудовлетворительной. Для IV стадии – 43 %; IIIA – 36 %; IIIB – 25 %; IIIA – 19 % [77]. Только 4,7 % пациентов с метастатическим и местнораспространенным раком легких выживают в течение пяти лет по сравнению с 56,3 % пациентов с I стадией [82]. Раннее выявление и лечение имеют решающее значение для повышения уровня выживаемости пациентов с раком легких.

Многие проводимые мировые исследования нацелены на поиск и определение маркеров онкологических заболеваний, но данный процесс является комплексным и длительным. Данную задачу возможно решить за счет определения совокупных сигнальных молекулярных паттернов, характерных для злокачественных новообразований, которые специально обученная нейронная сеть может распознать и отличить. Мультисенсорный

газоаналитический комплекс с высокочувствительными датчиками способен уловить характерные соединения малых концентраций, а обученная нейронная сеть позволит распознать и отличить паттерны, содержащиеся в образцах биоматериалов пациентов с патологическими процессами от здоровых пациентов с параметрами специфичности и чувствительности, приближающимся к 100 %. Дальнейшее накопление исходных данных и их систематизация в сочетании с технологиями нейронных сетей позволит разработать базовые принципы построения аппаратно-программных комплексов для диагностики значимых заболеваний и дальнейшее широкое внедрение готовых медицинских приборов [34].

Степень разработанности темы

В последнее время во всем мире активно разрабатываются новые методы диагностики злокачественных заболеваний. В большинстве случаев преимущество отдают неинвазивным методам исследования, в частности выявлению летучих органических соединений в биологических жидкостях пациента [44, 48].

На сегодняшний день имеются возможности определения летучих органических соединений (ЛОС) при раке легких с использованием таких методов, как газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией, «электронные носы», спектрометрия ионной подвижности. Несмотря на их результативность, данные методы в ряде случаев имеют свои недостатки, такие как дороговизна, длительное время исследования, случайное загрязнение образцов [23, 37]. Многие мировые научные центры изучают ЛОС при различных опухолевых патологиях, в частности концентрацию веществ в выдыхаемом воздухе у больных раком легкого, но данный метод диагностики практически не используется на практике. По результатам мировых исследований имеется основной профиль летучих биомаркеров при раке легкого, но данные органические соединения разнятся [56, 98].

В связи с этим, разработка альтернативных методов диагностики рака легкого остается актуальной проблемой, особенно на ранних стадиях, что позволит сократить время постановки диагноза и ускорить проведение специализированной терапии, тем самым повысит эффективность лечения [75, 85].

Цель исследования

Разработать инновационный метод диагностики рака легкого на основе анализа выдыхаемого воздуха и оценки совокупных сигнальных паттернов заболевания, выявляемых с помощью нейронной сети.

Задачи исследования

1. Разработать оптимальный способ отбора проб выдыхаемого воздуха и оценить влияние факторов подготовки пациентов на постановку диагноза при проведении диагностической процедуры.
2. Выявить и идентифицировать основные биомаркеры веществ в выдыхаемом воздухе при немелкоклеточном раке легкого.
3. Оценить такие показатели диагностической эффективности, как точность, чувствительность, специфичность сенсорного газоаналитического комплекса для диагностики рака легкого и определить влияние анамнестических данных (пол и возраст пациентов, факт курения, наличие сопутствующих заболеваний) на эти показатели.
4. Оценить основные показатели диагностической эффективности сенсорного газоаналитического комплекса при диагностике ранних (I-II) и поздних (III-IV) стадий рака легкого.
5. Валидировать методику неинвазивного выявления рака легкого с помощью сенсорного газоаналитического комплекса на диагностическом этапе в учреждения здравоохранения.

Научная новизна

Впервые разработана оптимальная методика отбора проб выдыхаемого воздуха для диагностики злокачественных новообразований легких.

Определен состав выдыхаемого воздуха у пациентов с первичными злокачественными новообразованиями бронхолегочной системы при ранних и поздних стадиях.

Впервые применена нейронная сеть оригинальной архитектуры для распознавания онкологического заболевания легких.

Доказана возможность внедрения методики неинвазивного выявления рака легкого с помощью сенсорного газоаналитического комплекса на диагностическом этапе в учреждениях здравоохранения.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате выполненных исследований определены оптимальные требования к отбору проб выдыхаемого воздуха для выявления патологии легких.

Изучена воспроизводимость состава выдыхаемого воздуха, определяемого с помощью сенсорного газоаналитического комплекса у больных с новообразованиями легких.

Сформирована база данных состава выдыхаемого воздуха здоровых лиц и больных с новообразованиями легких для разработки неинвазивной методики диагностики злокачественных новообразований с применением искусственного интеллекта для поддержки принятия решения при постановке диагноза.

Определены основные показатели диагностической эффективности предложенного способа неинвазивного выявления рака легкого.

Разработанный способ диагностики позволяет с хорошей точностью диагностировать онкологический процесс в бронхолегочной системе.

Методология и методы исследования

Работа является одноцентровым нерандомизированным исследованием с проспективным формированием как основной группы, так и группы контроля.

В исследование включено 255 пациентов с патологическими процессами в легких и 60 здоровых добровольцев. Все пациенты проходили лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2024 по 2026 год.

Пациенты были распределены на три группы:

- I группа ($n = 60$) – здоровые добровольцы;
- II группа ($n = 159$) – пациенты с морфологически подтвержденным диагнозом рака легкого всех стадий, не имевшие тяжелого коморбидного фона (шкал ECOG 0-1);
- III группа ($n = 96$) – пациенты, с очаговыми образованиями легких, не имевших верификацию. Эта группа в последствие дополнительно распределена на подгруппы согласно морфологической верификации (рак легких, доброкачественные образования (гамартомы), инфекционно-воспалительные процессы, метастатическое поражение легких).

Группы сопоставимы по полу, возрасту ($p > 0,05$). Для оценки воспроизводимости и влияния факторов подготовки пациентов на постановку диагноза использовалась такая метрика оценки эффективности моделей, как ROC-анализ, с построением графика ROC-кривой и определением среднего значения параметра AUC. Для распределения пациентов по группам также использовался алгоритм t-SNE, определяющий распределение вероятностей с использованием t-распределения Стьюдента.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Метод определения состава выдыхаемого воздуха с помощью сенсорного газоаналитического комплекса у больных с новообразованиями

легких обладает высокой воспроизводимостью. Данная методика не требует специальной подготовки пациентов для проведения исследования.

2. Применение сенсорного газоаналитического комплекса на основе молекулярной оценки состава выдыхаемого воздуха позволяет выявлять злокачественные новообразования легких на ранних и поздних стадиях.

Степень достоверности результатов

Высокая достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом материала клинических исследований, применением методов машинного обучения и использованием современных методов статистического анализа, соответствующих поставленным задачам.

Апробация работы

Основные положения диссертации представлены на Всероссийском конкурсе молодых ученых имени Екатерины Шкаповой на лучшую научную работу в области экспериментальной и клинической онкологии (присвоено звание лауреата, Красноярск 17 октября 2024 г.); Областном обществе онкологов (Томск, 21 октября 2024 г., 28 февраля 2025 г.); XXVIII Российском онкологическом конгрессе (Москва, 13 ноября 2024 г.); X съезде медицинских работников онкологической службы Томской области (Томск, 06 декабря 2024 г.); Форуме искусственного интеллекта в работе онкологической службы Омской области, приуроченному к 90-летию онкологической службы (Омск, 25 апреля 2025 г.); Всероссийском конкурсе молодых ученых Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 5 июня 2025 г.); VII международном симпозиуме по материалам и технологиям здравоохранения, энерго- и биобезопасности, рациональному природопользованию (Южно-Сахалинск, 25-28 августа 2025 г.); Карьерном форуме «Труд крут» (Томск, 2 октября 2025 г.); Онкологическом скрининге в

работе онкологической службы Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (Хабаровск, 17 октября 2025 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 научные работы в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты проведенного исследования внедрены в клиническую практику отделения торакальной онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. Разработанная в ходе выполнения диссертационной работы методика, а также сформулированные положения и практические рекомендации могут активно использоваться в образовательных процессах, как в теории, так и на практике при подготовке студентов, клинических ординаторов, аспирантов.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследования п. 3 «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики».

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключался в непосредственном отборе пациентов, входящих в исследование; проведении больным проб выдыхаемого воздуха для оценки его молекулярного состава; выполнении хирургических операций;

оценке и обработке результатов исследования; подготовке научных публикаций.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 119 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 8 таблицами и 27 рисунками. Библиографический указатель содержит 111 источников литературы, из них 21 отечественных и 90 иностранных.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Эпидемиологические данные рака легкого

Рак легких (РЛ) является актуальной клинической задачей, так как представляет собой реальную угрозу для здравоохранения. Данная патология – одна из ведущих причин смертности населения среди онкологических заболеваний [84]. Согласно данным ВОЗ, в структуре заболеваемости ЗНО у мужчин в 2022 году на 1-м месте по-прежнему остаются ЗНО трахеи, бронхов, легкого (15,2 %), 2-е место занял рак предстательной железы (14,2 %). Среди женщин в 2022 г. рак легкого занял 2-е место по заболеваемости, это приходится 13,5 % от всех онкологических процессов. Проведя анализ смертности мужского населения, можно сделать вывод, что рак легкого из года в год продолжает занимать лидирующие позиции и находится на первом месте (22,7 %).

В России в 2022 году было диагностировано 624 835 новых случаев злокачественных новообразований. На долю мужского населения пришлось 283 179 случаев, и 341 656 случаев у женщин, что на 7,6 % выше, чем в предыдущие года [9].

Рак лёгкого был диагностирован у 49 713 человек (3,5 % всех ЗНО). Морфологическая верификация проведена в 88,2 % случаев. Распределение по стадиям: I–16,3 %, II – 12,9 %, III – 27,9 %, IV – 42,2 %, стадия не установлена в 0,7 %. Доля распространённых форм (III-IV) остаётся стабильно высокой. Одногодичная летальность достигла 44,8 % [5].

В Томской области в 2022 году зарегистрировано 479 новых случаев ЗНО легких. Морфологически диагноз подтвержден в 95,8 % (458 человек). Стадийное распределение: I – 15,2 %, II – 14,8 %, III – 30,9 %, IV – 39,0 %; не установленных стадий не было [21].

Согласно данным SEER и отечественной статистике за 2022 год, рак лёгкого в 70,1 % случаев выявляется на поздних стадиях из-за бессимптомного

течения на ранних этапах. При локальных стадиях диагностика данного заболевания составляет 30 %. При распространенных процессах результаты лечения остаются неудовлетворительными и приводят к высокой смертности среди населения.

Внедрение иммунотерапии и таргетной терапии способствовало постепенному улучшению общей выживаемости при раке лёгкого [53]. Хотя 5-летняя выживаемость варьируется в зависимости от клинической стадии, все же в совокупности для всех стадий она остается низкой и составляет всего около 22 % [82]. Среди пациентов с диагнозом немелкоклеточный рак лёгкого 5-летняя относительная выживаемость составляла 26 % на всех стадиях и только 8 % в случаях с отдалёнными метастазами. Мелкоклеточный рак лёгкого имел значительно более низкую 5-летнюю относительную выживаемость, которая составила 7 % за тот же период [73]. Согласно последним отечественным данным, 5-летняя относительная выживаемость при раке легких составляет 63,7 % у мужчин и 84,3 % у женщин при локализованной стадии, а также 7,0 % у мужчин и 13,4 % у женщин при распространенной стадии [41]. Высокий уровень смертности связан с отсутствием широко внедрённых программ ранней диагностики, тогда как своевременное выявление заболевания на начальных стадиях наряду с проводимым лечением играет важнейшую роль в достижении общей и безрецидивной выживаемости.

Проведение ежегодной низкодозной компьютерной томографии (НДКТ) является эффективной программой скрининга рака легких для групп высокого риска [24]. Применение данной программы для всех пациентов, а не только имеющих высокий риск развития онкологического заболевания невозможно. Это связано с высокой экономической нагрузкой на систему здравоохранения.

Следует учитывать количество ложноположительных результатов при проведении НДКТ, влияющих на последующую избыточную диагностику, что связано с негативными последствиями обследования в виде получения дозы облучения [14].

В крупном исследовании по изучению НДКТ (NLST) с применением искусственного интеллекта были проанализированы более 3000 первичных результатов компьютерной томографии у пациентов с очаговыми образованиями легких. Учитывались такие факторы, как расположение, размер и форма очаговых образований. Была предложена двухэтапная система машинного обучения, где первым этапом было обнаружение подозрительных очагов в легких, а вторым – непосредственный анализ с помощью нейронной сети, которая проводила оценку риска. В исследовании использовалась архитектура свёрточных нейронных сетей. Получены следующие результаты: чувствительность 84-95 %, специфичность 80-85 %, точность 86 %, AUC 0,86-0,94. В 2018 году Международная ассоциация по изучению рака легких (IASLC) показала, что смертность от рака легких может быть снижена как минимум на 20 % с помощью ежегодной программы скрининга групп высокого риска с низкодозовой компьютерной томографией [97].

При использовании НДКТ в случае положительных результатов скрининга или клинического подозрения на рак лёгких диагностическое обследование включает в себя эндоскопию и биопсию. Морфологическое подтверждение заболевания является золотым стандартом. Однако получить репрезентативные образцы опухолевой ткани может быть сложно, что приводит к значительной задержке в процессе диагностики заболевания [52]. Эти клинические проблемы подчёркивают необходимость других диагностических стратегий, способных неинвазивно диагностировать на ранней стадии рак легких [61]. Следовательно, с учетом неудовлетворительной выживаемости, которая непосредственно связана с поздней выявляемостью, имеется необходимость поиска новых методов диагностики, позволяющих распознать заболевание даже на ранних стадиях. Улучшение выживаемости и качества жизни онкологических больных является серьезной задачей, требующей постоянного совершенствования методов лечения и диагностики заболеваний.

1.2 Факторы риска развития рака легкого, влияющие на молекулярный состав воздуха

1.2.1 Роль курения как основополагающего фактора

Проблеме изучения влияния курения на здоровье населения посвящено огромное число исследований, особенно изучению риска возникновения злокачественных новообразований. Особое влияние курение оказывает на развитие рака легкого [4].

Международное медицинское сообщество признало никотин веществом с сильной наркотической зависимостью. В состав табачного дыма помимо никотина, также входят и ряд других канцерогенов: полициклические ароматические углеводороды; нафтиламин и аминобифенил, являющиеся ароматическими аминами; летучие нитрозосоединения, бензол, альдегиды, фенолы, а также и свободные радикалы [8].

Дыхательные пути по большей части представлены мерцательным эпителием, который удерживает на себе находящиеся в воздухе вещества, поступающие в организм при акте дыхания, которые в последствии удаляются с мокротой. Однако при длительном стаже курения количество канцерогенных веществ становится больше, в связи с чем функциональная способность мерцательного эпителия значительно снижается. В конечном итоге частицы токсичных и канцерогенных веществ остаются в дыхательных путях и влияют на молекулярный состав выдыхаемого воздуха человека [18].

Курение главным фактором риска возникновения рака легкого. В научных исследованиях выявлено, что раннее начало и большой стаж курения (более 20 пачка/лет) непосредственно влияют на развитие онкологических процессов. Так, по результатам исследования зарубежных авторов, относительный риск (ОР) рака легкого равен 7,9 у курящих 1-14 сигарет, 12,7 – у выкуривающих 15-24 сигареты и 25 – у тех, кто курит более 25 сигарет в день. Наибольший риск возникновения рака легкого отмечается у мужского

населения, которые начали курить ранее 16 лет. У людей, начавших курить в возрасте 15-19, 20-24 и более 25 лет, ОР был равен 12,8, 9,7 и 3,2 соответственно [65, 83].

1.2.2 Профессиональные канцерогены и их роль в развитии рака легкого

Впервые «профессиональный» рак был описан в конце 18 века. Исторически, в 1789 году немецкий химик М. Г. Клапрота изучая вещества, содержащиеся в серебряных рудниках, обнаружил минерал, которому дал название «смолка», в последствии используемый в производстве богемских керамических изделий.

Однако истинная опасность данного минерала была выявлена в 1979 году немецкими учеными F. Harting и W. Nesse, проводившими свои исследования в шахтах Саксонии. Они установили, что радиоактивная пыль, добываемая в этих шахтах и содержащаяся в данном минерале, становится причиной повышенной заболеваемости органов дыхательной системы. Примечательно, что именно из этих шахт супруги Кюри получали сырье для выделения хлорида радия. Это позволило выявить связь между сферой деятельности и риском развития болезней [10].

Для рака легкого описано огромное количество профессиональных канцерогенов: асбест, бериллий, соединения хрома, производство кокса, плутоний, производство алюминия, газификация угля, выхлопные газы, соединения никеля, анилиновые красители, радон-222 и продукты его распада; промышленное производство резины, рентгеновское и γ -излучение [12].

Разбирая некоторые из них: продукты переработки нефти обладают онкогенным действием и приводят к развитию рака легкого. На никелевом производстве болезнь может дебютировать спустя 30 лет. Существует много описанных случаев возникновения рака легкого у лиц, работающих с асбестом и тальком.

Наиболее канцерогенным является вещество бензапирен, возникающий при термической обработке горючих веществ. Он является своеобразным индикатором наличия полициклических ароматических углеводородов. Бензапирен содержится в воздухе в виде взвешенных частиц разных видов пыли, который поступает в организм при акте дыхания и поражает легкие [15].

У работников урановых предприятий, получающих воздействие радона при концентрации его в окружающей среде до 700 Бк/л, отмечались повышенные случаи возникновения рака легких. Смертность среди них превышала ожидаемую – от 2-3 до 30-50 %, латентный период составлял 13-25 лет. Радон является продуктом распада радия, источниками которого могут быть обычный кирпич или бетон, а также земля под строение, в которую он проникает вместе с воздухом через неплотности и микротрещины в процессе вытягивания из почвы под воздействием разницы давления и температуры внутри и вне здания [13].

Считается, что половина от всех случаев «профессионального» рака легких может быть предотвращена при устранении негативных профессиональных факторов и соблюдении техники безопасности на вредных производствах труда [16].

1.2.3 Загрязнение окружающей среды

Английские эпидемиологи Р. Доллом и Р. Пито полвека назад пришли к выводу, что смертность от злокачественных новообразований, вызванная загрязнением воздуха, воды и почвы, составляет не более 2 % [3].

В последнее время, по данным оценок ВОЗ, влияние экологического фактора на онкологические заболевания находится в диапазоне 1-20 %. Также подсчитано, что на долю загрязнения жилищной среды приходится 17 %, 14 % уделяются загрязнению атмосферного воздуха, 7 % – содержание радона в помещениях, 7 % – профессиональная экспозиция, 2 % – пассивное курение. Вклад этих факторов в смертность от рака легкого ВОЗ оценивает в 47 % [69].

Важно отметить, что содержание вредных веществ в атмосфере имеет территориальное отличие. Поэтому важна эпидемиологическая оценка уровня содержания отдельных веществ в воздухе на разных участках местности, особенно близ вредных предприятий.

На территории Российской Федерации, в некоторых ее областях, уровень мониторинга воздуха не соответствует мировым стандартам, за счет анализа взвешенных частиц фракционного состава воздуха, в котором респирабельная пыль играет ведущую роль в развитии рака легкого. Эта фракция пыли характеризуется большой адсорбционной способностью и оседанию в дыхательных путях [17].

Впервые М. Phillips с соавторами изучили взаимосвязь между летучими органическими соединениями, содержащимися в окружающей среды и молекулярным составом выдыхаемого воздуха. Ими был введен термин «альвеолярный градиент», характеризующийся разницей концентрации ЛОС в выдыхаемом воздухе и в воздухе помещения. Если концентрация ЛОС на выдохе оказалась больше, чем на вдохе, этот феномен получил название положительный альвеолярный градиент. Данный градиент не только способен вырабатываться организмом человека, но и поступать извне при приеме пищи или лекарств, а также из-за жизнедеятельности бактерий в желудочно-кишечном тракте, дыхательных путях или полости рта. Такие факторы, как: концентрация, продолжительность воздействия, растворимость в крови способны влиять на скорость выведения из организма ЛОС [100].

1.3 Типы образцов метаболомики рака легких

1.3.1 Кровь

Наиболее распространенным и популярным типом образцов для исследования является кровь (сыворотка или плазма), так как она наиболее точно отражает динамику молекулярных и биохимических процессов,

протекающих в организме и меняющихся на фоне того или иного заболевания. Данные процессы зависят от эндо-/ и экзометаболитов, концентрация которых может также зависеть от приема пищи или лекарственных средств. В связи с этим изучение метаболомики крови является актуальным для изучения и открытия потенциальных биомаркеров заболеваний, а также поиска мишеней для лекарственных препаратов [28, 99].

Для изучения образцов крови не требуется подготовка материала, процедура проста. Она включает в себя естественное свертывание крови с дальнейшим центрифугированием [72].

В исследовании китайских ученых, проведенном в 2018 году, были собраны образцы сыворотки крови у 82 человек, из которых: 43 здоровых добровольца и 39 пациентов с отдаленными метастазами НМРЛ. Выполнен анализ метаболитов, показанных на спектрах водородного ЯМР. Уровни глутамата, гликопротеина, молочной кислоты, фенилаланина, аланина, тирозина, пролина и триптофана в сыворотке крови были значительно повышены, в то время как уровни глутамина, таурина, глюкозы и глицина были снижены у пациентов с НМРЛ по сравнению со здоровыми людьми. Это позволяет сделать вывод, что данные метаболиты крови являются потенциальными биомаркерами при НМРЛ [104].

В 2020 году в аналогичном исследовании, проведенном китайскими учеными, где приняли участие 142 пациента с НМРЛ и 159 здоровых добровольцев, проанализированы образцы сыворотки крови. Проведен анализ с помощью метода — жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии. При тщательном анализе выявлено 35 значимых различий в метаболических биомаркерах между исследуемыми группами. Концентрация таких метаболитов, как фитосфингозин, сфинганин, каприновая кислота и арахидат, в сыворотке крови пациентов с раком легких были повышены, в то время как уровни таких метаболитов, как лизофосфатидилхолин (18:2), ацилкарнитин C10:1 и инозин, были снижены. Проведен ROC-анализ и выявлено шесть основных дифференциальных метаболитов: лизоРС(18:2), ацилкарнитин C10:1,

L-триптофан, индолакриловую кислоту, инозин и гипоксантин. Чувствительность данного метода составила 95,7 %, специфичность – 95,0 % [86].

В исследовании плазмы, как источника биомаркеров, в 2021 году китайские ученые поставили перед собой цель выявить и идентифицировать биомаркеры в образцах плазмы, полученных от пациентов с раком легких и от здоровых добровольцев. Использовалась методика газовой хроматографии-масс-спектрометрии. Выявлены основные метаболиты, такие как: 2-гидроксимасляная кислота, холестерин, олеиновая кислота и инозитол [109].

Проанализировано одно из исследований, где была попытка сравнения метаболитов у пациентов при первичном ($n = 132$) и метастатическом ($n = 47$) раке легких. Получены данные об отсутствии существенной разницы и дифференциации метаболитов в исследуемых группах. Отмечалось не существенное повышенные уровня глюкозы, цитрата, ацетата, 3-гидроксibuтирата и креатинина, а также пониженные уровни пирувата, молочной кислоты, аланина, тирозина и триптофана [88].

До сих пор остается актуальным решение вопроса о том, какой тип образца сыворотки или плазмы больше подходит для исследования метаболомики [80].

Одним из преимуществ сыворотки является то, что она не требует использования антикоагулянтов. Это позволяет избежать потенциального отрицательного влияния на метаболическую активность и «загрязнение» образца. Так же стоит учесть и недостатки – высвобождение тромбоцитами таких биологических веществ, как ксантин, гипоксантин, пептиды, которые могут отрицательно сказаться на результате [26, 107].

В заключении, исследование плазмы является лучшим материалом для исследования, т.к. она не требует дополнительных этапов, связанных с коагуляцией крови, и может быть непосредственно центрифугирована и сохранена после смешивания, что делает экспериментальные результаты, полученные с помощью анализа плазмы, более воспроизводимыми [103].

1.3.2 Моча

Моча в качестве образца для исследования обладает определенными преимуществами: неинвазивностью сбора, и, что наиболее важно, она является конечным продуктом реакций организма. Из минусов стоит отметить то, что образцы мочи собираются строго в фиксированное время в соответствии с целями анализа (например, сбор суточной мочи, сбор средней порции). Содержащиеся в моче форменные элементы и эпителиальные клетки, а также бактерии и продукты их жизнедеятельности могут повлиять на конечный результат [31].

В исследовании, проведенном в 2014 году, проанализировано 1005 образцов образцы мочи, где 469 пациентов имели установленный диагноз немелкоклеточного рака легких, а 536 человек составляли группу здоровых добровольцев. Анализ проведен с помощью жидкостной хроматографии масс-спектрометрии. Было обнаружено, что у пациентов с диагнозом рака легких уровни креатининрибозида и N-ацетилнейраминовой кислоты были значительно повышены по сравнению со здоровыми добровольцами. Для исключения ошибок был проведен второй этап, который включил в себя повторный сбор 80 образцов мочи у пациентов с раком легких и 78 у здоровых лиц. Результаты валидации полностью соответствовали первоначальному эксперименту. Также по завершению исследования было отмечено, что чем выше уровни креатининрибозида и N-ацетилнейраминовой кислоты, тем хуже прогноз у пациентов с раком легких [70].

Проведено аналогичное исследование в 2019 году, в котором применен дизайн «случай-контроль». В исследовании приняли участие 275 некурящих лиц женского пола с морфологически подтвержденным диагнозом рака легких. Группу сравнения составили 278 здоровых женщин. Статистически значимых различий по возрасту не было. Все собранные образцы мочи изучались с помощью масс-спектрометрии. Отмечена связь между 5-метил-2-фуроевой кислотой и риском рака легких. Данный метаболит частично образуется из

пищевых продуктов, содержащих сою. Было выдвинуто предположение, что биоактивные соединения, присутствующие в сое, могут обладать антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, ингибирующие рост опухоли, инвазию и индуцирование апоптоза клеток. Также авторы выделяют, что метаболиты, фильтрующиеся почками и выводящиеся с мочой, связанные с загрязнением окружающего воздуха увеличивают риск развития рака легких [90].

В рамках проведенного в 2021 году исследования, где сравнивались 29 образцов мочи и 32 образца сыворотки крови у пациентов с установленным диагнозом рака легких на ранней стадии до и после операции. Проведен анализ с помощью масс-спектрометрии, было установлено более значительное изменения метаболитов мочи по сравнению с образцами крови. В образцах мочи концентрации лейцилпролина и изопентениладенина значительно снизились после операции: концентрация лейцилпролина уменьшилась до $1/625$ от дооперационной концентрации, а концентрация изопентениладенина – до $1/31$ от дооперационной концентрации. Однако концентрация N6-метиладенозина увеличилась в 27 раз по сравнению с дооперационной концентрацией после операции. Авторы пришли к заключению, что вышеописанные биомаркеры могут использоваться в качестве основы мониторинга диагноза [23].

1.3.3 Слюна

Слюна также является одним из потенциальных образцов для исследования, которое можно получить неинвазивным способом. В одном из проводимых исследований в 2021 году было проанализировано 150 образцов слюны: 89 пациентов с раком легких I-II стадии, 11 пациентов с раком легких III-IV стадии, а также 50 здоровых добровольцев. Между пациентами с раком легких и здоровыми лицами обнаружено десять отличающихся активных

метаболитов. При сравнении между собой пациентов I-II и III-IV стадий, существенных различий не было обнаружено. Отмечалось снижение концентрации триптофана у пациентов с онкологическим заболеванием. Выявлена небольшая разница по концентрации холина, тимина, цитозина, фенилаланина, лейцина, изолейцина, лизина и тирозина в образцах слюны группы с раком легкого. Данная разница была статистически незначимой [95]. Используя статистические методы, были объединены 23 измененных метаболита слюны для создания модели, которая может различать пациентов с раком легких и здоровых контрольных лиц. Чувствительность с использованием данного образца составила 97,2 %, специфичность – 92 % [56].

1.3.4 Летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе и рак легкого

В последнее время выдыхаемый воздух является предметом активного изучения, как источник выдыхаемых биомаркеров рака [68, 75, 91]. Плюсом изучаемого объекта является простота и удобство отбора проб, а также неинвазивность методик.

В настоящее время в медицинскую практику активно внедряется волатоломика, изучающая летучие органические соединения, выделяемые биологической системой, которые обнаруживаются из-за связывания их со специфическими датчиками, вызывающими измеряемый электрический отклик. При раке легкого происходит диффузия ЛОС, выделяемых опухолью в альвеолярный воздух, что позволяет их обнаружить. Данные летучие органические соединения являются своего рода биомаркерами, которые могут быть обнаружены не только в выдыхаемом воздухе, но и других биологических жидкостях, таких как: кровь, моча, пот. Обнаружение этих биомаркеров может способствовать сокращению времени для постановки диагноза или выявления пациентов с повышенным риском [76]. Существует множество препятствий для разработки тестов на ЛОС, в том числе отсутствие признанных биомаркеров

ЛОС для рака легких и ограниченные знания о происхождении идентифицированных ЛОС.

В конце 20 века S.M. Gordan в своих исследованиях использовал сочетание компьютерной газовой хроматографии и масс-спектрометрии при изучении и сравнении ЛОС в выдыхаемом воздухе у 12 пациентов с раком легких и 17 здоровых лиц. Он впервые смог идентифицировать несколько таких соединения. Выбранные ученым органические летучие соединения, позволили полностью провести различия между двумя контрольными группами [44].

Используя данные об обмене веществ у пациентов с онкологическим заболеванием можно выделить целый ряд биомаркеров, позволяющий предполагать наличие рака легких: пропанол, ацетон, изопрен, гексанол, пентан, этилбензол, толуол и бензол. По данным большинства проведенных исследований следует, что одним из основных биомаркеров рака легких могут быть алканы. У пациентов с раком легкого в отличие от здоровых людей изменяется концентрация вышеописанных биомаркеров. Это связывают с повышенным катаболизмом продуктов перекисного окисления липидов за счет активации мембраносвязанного гемсодержащего фермента СYP450 [110]. Хотя имеется ряд исследований, где отсутствует взаимосвязь вышеописанных алканов и наличием рака легких у больного [100].

В зависимости от изменения физико-химических свойств крови и тканей организма показатель распределения ЛОС может меняться. Это подтвердил J.K. Schubert, изучая концентрацию пентана, ацетона, изопрена и изофлурана во вдыхаемом и выдыхаемом воздухе. Он установил, что имеются прямые линейные зависимости между выдыхаемыми и вдыхаемыми концентрациями указанных веществ, что связано с их частичным удержанием организмом. В последствие введен термин «коэффициент удержания», он характеризуется отношением увеличения концентрации органических соединений на выдохе к увеличению концентрации на вдохе [30, 93].

Для оценки ЛОС наиболее информативным в плане диагностики является фаза выдоха. В зависимости от концентрации CO₂ в процессе дыхания, данный

процесс можно условно поделить на три фазы: 1 и 2 фазы – это воздух из мертвого пространства в полости рта и верхних дыхательных путях. Фаза 3 – альвеолярный воздух из нижних дыхательных путей. Для рака легких наибольший интерес представляет изучение концентрации ЛОС в третьей фазе, так как эта она является результатом газообмена крови в альвеолах и позволяет более точно отобразить метаболическое состояние организма. При выдохе, особенно в конечной его фазе, концентрация ЛОС различна в сравнении с начальной фазой. Установлено, что концентрации угольной кислоты, диметилового эфира и метилформиата значительно выше в конце выдоха, в то время как уровни метилхлорида и 3-этилпентана были ниже, чем во всем выдыхаемом воздухе [39]. С целью получения проб начальная порция выдоха была отброшена, далее оставшийся воздух заполнялся в отдельный мешок.

В своих исследованиях S. Kischkel получал воздух для проведения анализов во время альвеолярной фазы дыхания полагаясь на концентрацию углекислого газа, как на индикатор этой фазы. Основываясь на его работы T. Birken смог интегрировать для сбора проб воздуха установку капнографии. Это позволило наглядно контролировать весь акт дыхания. В последствии эти исследования позволили разработать автоматическое устройство для отбора проб, контролирующее уровень концентрации CO₂ [59].

Обнаружение заболевания с помощью распознавания выдыхаемых веществ ЛОС требует глубоких знаний состава дыхания и возможных факторов, влияющих на них. Профили ЛОС у людей сильно различаются в зависимости от населения. Наличие одного ЛОС редко указывает на конкретное заболевание. Создание эффективных датчиков для выявления конкретных заболеваний является сложной задачей и требует тщательного учёта нескольких факторов. Датчик должен уметь обнаруживать прогнозируемые концентрации ЛОС в дыхании и быть очень специфичным для соответствующих ЛОС, минимизируя помехи от нерелевантных соединений [45, 98].

1.3.5 Кожа

Одним из образцов для изучения метаболитических веществ, выделяемых организмом, является кожа. Изучению подлежат пот и придатки кожи. Биологические и физиологические процессы, протекающие в слоях кожи способны изменяться под действием окружающей среды и внутренних состояний организма [40].

Согласно статье, опубликованной в 2022 году, авторы изучили ткани кожи от 131 пациента с раком легких и провели нецелевой метаболомный анализ на основе жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ЖХ-МС). Установлено, что при раке легких отмечается повышение содержание жирных кислот и большинства лизофосфолипидов и снижение уровня 6-фосфоглюконата, 3-фосфоглицерата, фосфоенолпирувата и цитрата. Что позволяет предположить о наличии нарушения энергетического, белкового и липидного обмена при раке легких [105].

Изучая изменение концентраций метаболитов пота Calderón-Santiago разработал модель, с помощью которой хотел дифференцировать здоровых лиц и пациентов с раком легких. Им был проанализирован 41 пациент с раком легких и 55 здоровых добровольцев. Среди контрольной группы 24 человека были активными курильщиками, а 31 – некурящими. Использовался анализ жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии. В группе исследования было изучено две модели. Цель первой была достижение высокой специфичности. Сама модель состояла из трех метаболитов: субериновой кислоты, тетрагексозы и тригексозы. Специфичность в данной группе составила 80 %, чувствительность – 69 %. Цель второй группы была направлена на достижение высокой чувствительности. Она состояла из трех следующих метаболитов: нонанедиовой кислоты, тригексозы и моноглицерида. Был достигнут показатель чувствительности 80 %, специфичности – 69 %. Данный метод позволил рассматривать пот, как среду для исследования метаболитов при онкологических заболеваниях [33].

1.3.6 Краткое описание образцов

Упомянутые выше типы образцов, имеют разные преимущества и недостатки. Сбор образцов мочи и летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе имеют значительные преимущества из-за неинвазивного сбора материала. В связи с тем, что концентрация мочи существенно меняется в течение дня, и зависит от качества и количества потребляемой жидкости, для нее следует устанавливать фиксированное время сбора, преимущественно в утренние часы, перед употреблением жидкости, что связано с проблемой организации забора материала на амбулаторных условиях в лечебной сети, если рассматривать данный образец для диагностики. Анализ образцов выдыхаемого воздуха рекомендуется проводить сразу после его сбора с целью исключения получения ложных результатов исследования [104].

Анализ выдыхаемого воздуха при раке легких предпочтителен, т.к. напрямую взят из дыхательных путей, что способствует выявлению метаболических биомаркеров наиболее соответствующих для заболеваний легких. Слюна и кожный пот также имеют диагностические характеристики, способствующие диагностики рака легких. Плюсом данных образцов является не инвазивность процедуры их сбора [23].

1.4 Методы обнаружения летучих органических соединений

1.4.1 Масс-спектрометрия и ее разновидности

В течение последних лет активно ведутся поиски различных биомаркеров с целью попытки раннего выявления рака легкого. Наиболее актуальным методом считается использование газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС), которая позволяет получить полную информацию о составе исследуемого материала [100, 110]. Список молекул, выдаваемых масс-спектрометрами, анализы, базирующиеся на масс-спектрометрии, позволяют

выдавать список молекул, которых допустимо расценивать как биомаркеры. Исследования с использованием сенсорных матриц, не позволяют идентифицировать органические соединения в образцах [54].

Газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией является физическим методом измерения отношения массы заряженных частиц (ионов) к их заряду. Зависимость интенсивности сигнала детектора от отношения массы иона к его заряду есть масс-спектр. В результате потери или получения заряда нейтральными частицами образуются ионы, которые в последствии в анализаторе делятся и распознаются [7]. В данном случае используется непрямой способ, где пробу вводят в масс-спектрометр в газообразном состоянии. В испаритель хроматографа вводится исследуемый образец, который сразу же переходит в газообразное состояние. Далее происходит смешивание с инертным газом-носителем и подача в колонку под воздействием давления. Делящаяся на различные компоненты проба, прошедшая в хроматографической колонке, делится на составные компоненты, которые затем пропускаются через спектрометрическую составляющую устройства. Происходит ионизация пробы, полученный спектр считывается датчиком за счет изменения ионного тока. В конечном итоге записывается хроматограмма. В дальнейшем с помощью программного обеспечения происходит обработка полученных результатов, определяя качественное и количественное исследование. В это время, параллельно основному анализу, выполняется снимок масс-спектра, позволяющий получить данные о строении компонентов, в том числе и тех, которые ранее не были идентифицированы [71, 94].

Этот метод имеет эталонную и сравнительную библиотеку стандартных спектров, используемую различными лабораториями по всему миру [107].

К разновидностям данного метода можно также отнести жидкостная хроматография-масс-спектрометрию, которая по сравнению ГХ-МС, обладает более высокой чувствительностью и более широким спектром исследований. Она позволяет избежать сложной предварительной обработки образцов, характерной для ГХ-МС. Поскольку жидкая хроматография с предварительной

загрузкой позволяет легко разделять смеси, ЖХ-МС может использоваться для обнаружения потенциальных маркеров в сложных биологических образцах [79].

Также сюда относится метод капиллярного электрофорез-масс-спектрометра, которая по сравнению с ГХ-МС, подходит только для летучих веществ, а КЭ-МС позволяет легко анализировать нелетучие вещества без сложных этапов дериватизации. По сравнению с ЖХ-МС, данный метод подходит в большей степени для разделения полярных и заряженных соединений, поскольку, технология основана на соотношении заряда и массы соединений [81]. Поэтому КЭ-МС часто используется в метаболомических исследованиях и может дополнять вышеупомянутые методы. Этот способ имеет множество преимуществ. Он не требует сложных схем предварительной обработки, потребляет очень мало органических растворителей, и использует дешевые капилляры из плавленого кварца, вместо дорогостоящих хроматографических колонок, а анализ и разделение компонентов удобны, дешевы и быстры. Однако большим минусом является низкая стабильность и чувствительность [107].

Подводя итоги, использование масс-спектрометрии позволяет с высокой точностью и селективно обнаруживать отдельные летучие органические соединения. Но, не смотря на эффективность данного метода, для его реализации требуется высококвалифицированный обученный персонал, данный метод обладает низкой мобильностью и высокой дороговизной, а также требует большого количества затрачиваемого времени [102].

1.4.2 Спектрометрия ионной подвижности

Данный метод также может использоваться для анализа ЛОС путем дифференциации ионов по времени миграции. После нагревания и газификации образец переносится в зону ионизации, в которой происходит ряд реакций ионизации, катализируемых радиоактивным Ni (никелем), и реакций ион-

молекула, что дает различные ионы-продукты. В электрическом поле эти ионы-продукты попадают в зону миграции через периодически открываемые ионные затворы, которые далее разделяются и детектируются на основе их различной массы и заряда. Существуют различные виды спектрометрии ионной подвижности, включая классическую, аспирационную, полевую асимметричную волновую, дифференциальную спектрометрию подвижности, газовую хроматографию-СИП и мультикапиллярную колонку-СИП [1].

При исследовании выдыхаемого воздуха у 50 пациентов раком легкого и 39 здоровыми добровольцами данным методом, выдыхаемый воздух отбирали непосредственно через спирометр, используя стандартный мундштук с ультразвуковым датчиком, без регистрации мертвого объема 500 мл на выдохе. Содержимое петли для пробы объемом 10 транспортировали в ионизационный магнитный спектрометр, который после предварительного разделения был напрямую соединен с областью ионизации. Поддерживались температура 40°C. В качестве газа-носителя использовался синтетический воздух. Характеристики пиков определялись с помощью программного обеспечения Visual Now 2.2. [48, 89]. При сравнении пиков ЛОС между пациентами с раком легких и здоровыми было обнаружено 11 пиков ЛОС, имеющих статистическую значимость выше 95 % ($p < 0,01$), значения чувствительности составили 81,3 %, специфичности 89,7 %. Основными ЛОС при злокачественном поражении оказались: 2-бутанол, 2-метилфуран, н-нонаналь, н-додекан [50].

Еще в 2012 году была попытка определить изменение состава воздуха методом спектрометрии ионной подвижности у пациентов с ХОБЛ, здоровых добровольцев и с раком легких. Было установлено, что карбонильные соединения в высоких концентрациях присущи пациентам с онкологической патологией легких [49].

На практике СИП имеет некоторые преимущества перед масс-спектрометрией. Это более дешевые компоненты оборудования, что делает его более подходящим для клинического применения; меньшее потребление мощности. Но его недостаток в виде случайного загрязнения образцов может

кардинально влиять на полученные результаты молекулярного состава выдыхаемого воздуха, что несомненно приведет к ложным результатам исследования [58].

1.4.3 Электронные носы

Одним из новых методов исследования, появившийся за последнее время, является метод электронных носов. Метод представляет собой портативные дешевые диагностические тесты, выдающие конечный результат за короткие сроки. За счет связывания летучих органических соединений с датчиками, измеряющими электрический отклик этих веществ, происходит их идентификация. В данной системе сочетается использование селективных и неселективных сенсоров, с помощью которых достигается перекрестная чувствительность и происходит процесс обучения распознавания образов – смеси пара и газов. Одним из преимуществ данного метода является его селективное обнаружение отдельных газов даже при крайне низких концентрациях, что отличает этот метод от традиционных сенсорных систем [6].

Электронный нос получил свое название из-за способности имитировать работу органов обоняния. К сожалению, данный метод не способен разделять исследуемый образец на молекулярные составляющие. Он базируется на совокупности взаимодействия органических веществ в исследуемом образце в целом. Технически, данный аппарат имеет самостоятельное приспособление для отбора пробы воздуха и набор датчиков для обработки получающих сигналов. Результат на выходе дает сигнал, характерный для того или иного запаха. Это осуществляется с помощью группы датчиков, которые меняют свои электрические свойства в зависимости от концентрации вещества [37].

Были проанализированы 35 исследований, в котором приняли участие в сумме 4483 пациента, имеющих морфологическое подтверждение диагноза рака легких: 9 исследований были опубликованы в период с 2003 по 2024 год,

из которых 26 опубликованы после 2016 года. Одна четверть исследований ($n = 9,26 \%$) не уточняла стадию опухоли, в то время как 13 исследований (37%) в основном включали пациентов с поздней стадией заболевания, а шесть исследований (17%) включали заболевания только на ранних стадиях [32, 51, 62, 64]. Использовались датчики металлооксидных полупроводников (MOS) ($n = 14,40 \%$), устройства с комбинированными сенсорами ($n = 8,23 \%$), проводниковые полимерные сенсоры ($n = 5,14 \%$), кварцевые микробалансовые (QMB) датчики ($n = 4,11 \%$), колориметрические датчики ($n = 2,6 \%$), датчики на основе хемирезистора ($n = 1,3 \%$) и поверхностные акустические волновые датчики ($n = 1,3 \%$).

В этом систематическом обзоре производилась оценка устройств eNose как неинвазивного диагностического метода подтверждения рака легкого. Потенциал eNoses, как надёжного метода подтверждается медианным отрицательным предиктивным значением 0,93, объединённой чувствительностью и специфичностью 0,90 (95 % ДИ 0,87-0,93) и 0,89 (95 % ДИ 0,85-0,93) соответственно. Самыми точными датчиками были устройства с комбинацией датчиков, MOS-сенсоров и QBM-датчиков. Чувствительность и специфичность соответствуют результатам других систематических обзоров [25, 85].

Данный обзор и метаанализ показывают, что устройства eNose обладают сопоставимой чувствительностью к низкодозовому КТ грудной клетки при диагностике рака лёгких, при этом чувствительность к КТ составляет 88,9 % [96]. Необходим баланс между чувствительностью и специфичностью, т.к. чрезмерно чувствительные тесты могут давать больше ложноположительных результатов, что приводит к ненужным последующим диагностическим процедурам и потенциальной тревоге пациентов. Как упоминалось выше, в настоящее время, низкодозовое КТ грудной клетки – фундаментальный компонент диагностики рака лёгких. Однако даже оно имеет значительное количество ложноположительных результатов [29].

Стоит отметить высокую стабильность используемых в данном устройстве сенсоров, короткие этапы исследования образца на каждом уровне и затраченного минимального количества времени для проведения анализа. В совокупности это позволяет обеспечить плавный режим мониторинга [11].

Существенным минусом данного исследования является то, что на точность результатов существенно могут повлиять эндогенные и экзогенные факторы, под влиянием которых можно получить ложные результаты [25, 27].

1.4.4 Использование животных для обнаружения летучих биомаркеров

Существует индивидуальный запах, который считается, что неизменен всю жизнь и связан с геномом, и запах индивида, изменяемый, зависит от возраста, гормонального статуса, социального статуса, болезней и питания.

Еще издавна обоняние использовалось в качестве диагностического инструмента, будь то раневые инфекции или пациент с диабетическим кетоацидозом. Орган обоняния остается ценным инструментом и является одним из самых доступных диагностических инструментов [43].

Основные представители данного метода являются собаки. У них, по данным различных исследований, присутствует до 300 миллионов обонятельных рецепторов. Точность распознавания различных запахов в разы превышает возможность большинства используемых аналитических газоанализаторов. Впервые теория о возможности обнаружения собаками по запаху онкологические заболевания была выдвинута лондонскими врачами Хайвелом Уильямсом и Андресом Пемброком. К этой идее их привели опубликованные заметки одной из пациенток, которая утверждала, что ее собака породы помеси бордер-колли и добермана практически все время обнюхивала ее родинку на бедре. После тщательного обследования и хирургического удаления, данная родинка оказалась злокачественной меланомой [35, 38].

По одной из теории австралийского доктора, Клауса Хакнера, у каждого рака имеется свое биологическое окружение и способность создавать определенные летучие органические соединения, тем самым каждый рак имеет свой специфический запах, позволяющий его идентифицировать и отличить от других. В опубликованном американском журнале Wired имеется статья о том, что собаки способны улавливать с помощью запаха вещества в концентрации одной части на триллион, что соответствует одной капли жидкости в двух бассейнах олимпийского размера [42].

Определена точность диагностики онкологических заболеваний с помощью собак, которая была подтверждена морфологической верификацией, получены результаты свыше 90 %. Рак легких на ранних стадиях протекает бессимптомно. У части пациентов может присутствовать: малопродуктивный кашель; одышка при физической нагрузке, которая в свою очередь может быть связана с коморбидной сердечно-сосудистой патологией в анамнезе; боли в области грудной клетке на пораженной стороне, но описанные данные симптомы неспецифичны и могут присутствовать при различных видах заболеваний. Эффективность лечения прямо зависит от сроков ее начала и стадии заболевания, что позволяет достигать полного выздоровления свыше 80 %. В 2019 году Американское общество биохимии провело ряд исследований, где доказало, что диагноз может быть подтвержден с точностью около 97 % при развитии обоняния и целенаправленной идентификации, и распознавании онкологических заболеваний, в частности у пациентов с раком легких распространенных стадий. Основная проблема заключается в обучении, так как это является долгим и комплексным процессом. На сегодняшний день собачье обоняние играет особую роль в оказании помощи для создания сверхчувствительных сенсоров и электронных анализаторов, которые применяются не только в медицине, но и в других отраслях [2].

1.4.5 Рамановская спектроскопия

Данный оптический метод (Surface-enhanced Raman spectroscopy – SERS), основан на рассеянии света и позволяет получить индивидуальные «отпечатки пальцев» клеток биообъекта, оценивая молекулярные особенности, отмечающиеся в клетках тканей пациентов и регистрирующиеся при различных видах заболеваний.

В последнее время он становится новым вариантом для изучения и обнаружения ЛОС. Эффект SERS относится к явлению, при котором молекулы на поверхности наноструктур взаимодействуют посредством плазменного резонанса, обеспечивающего получение специфического пика одиночной молекулы, что делает этот метод широко используемой в анализе органических загрязнителей, обнаружении ионов тяжелых металлов, измерении белков и диагностике заболеваний. Основными преимуществами которого являются его неинвазивность, чувствительность, специфичность, скорость, универсальность, возможность оценки строения тканей на молекулярном уровне [36].

Исследуемый материал обладает своим уникальным химическим составом. При использовании рамановской спектроскопии молекулярная информация образца, содержащая в себе данные о белковом, углеводном и липидном обменах, присутствующих в тканях и клетках передается с помощью спектральных колебательных паттернов. Во время анализа через образец проходит интенсивный монохроматический свет, при котором основная часть фотонов рассеивается без изменения энергии, тогда как другая ничтожно малая часть фотонов сталкивается с другими молекулами и происходит обмен энергией.

Образуемые различные биохимические варианты с помощью данного метода могут дифференцироваться по своей структуре на раковые и нераковые. Наивысшими молекулярными колебательными паттернами обладают белки, липиды и углеводы. Их совокупность может быть рассмотрена в качестве

своеобразного «отпечатка пальца» для большинства биологических образцов [47].

Рамановская спектроскопия имеет различные варианты. Различают поверхностно-усиленную рамановскую спектроскопию (SERS), которая может значительно усиливать сигналы отклика за счёт использования наноструктурированных металлических поверхностей, что делает её высокой чувствительностью к обнаружению биомаркеров с низкой концентрацией, но из-за вариабельности синтеза наночастиц, остаются проблемы с воспроизводимостью [46].

Спектроскопия с высоким пространственным разрешением (TERS) обеспечивает наномасштабное пространственное разрешение и делает этот метод подходящим для субклеточной визуализации. В клинических условиях осуществление данной методики затруднительно за счёт длительности сканирования [55].

Одним из разновидностей является когерентный антистоксовский рамановский спектр (CARS). Данный метод позволяет провести с высокой молекулярной специфичностью безметочную визуализацию биологических тканей. Значимым минусом данного способа является фоновый шум, который приводит к значительным спектральным искажениям и частым ложноположительным результатам [57].

Обладая высокой специфичностью и чувствительностью методика SERS активно используется в попытках выявления рака на ранних стадиях. Как высокочувствительный, эффективный, простой в эксплуатации и не подверженный воздействию воды аналитический метод, SERS имеет большие перспективы в обнаружении ЛОС [92]. Было сделано много попыток улучшить возможности обнаружения молекулярных веществ путем увеличения адсорбции и фиксации газообразных молекул на поверхности материала, состоящего из массива 3D-микроигл, покрытого наночастицами серебра. Специально для данной методики была разработана губчатая полупроводниковую структура на основе меди. Она позволяет повысить

чувствительность датчиков. Эти оптимизированные датчики газа SERS позволяют в теории достичь раннего скрининга рака легких, однако высокая цена спектрометра комбинационного рассеяния затрудняет его широкое практическое применение. На сегодняшний день ведутся клинические исследования в обнаружении онкологических заболеваний данным методом, но представленные результатов на данном этапе очень малы [19].

Проведен мета-анализ исследований, опубликованных в период с 2014 по 2024 год. Точность рамановской спектроскопии была подчеркнута её совокупной чувствительностью и специфичностью, составляющими соответственно 98,68 % и 91,81 %. В данных исследованиях использовались такие образцы, как: кровь, слюна, ткань. В исследовании, где использовалась сыворотка, как биологическая среда, принимало участие 190 участников. Группа исследования состояла из 108 пациентов с морфологически подтвержденным раком легких. Группа здоровых добровольцев состояла из 82 человек. Были выявлены изменения концентрации сывороточных биомаркеров при наличии диагноза рак легких. Достигнуты следующие результаты: чувствительность составила 98,1%, специфичность – 97,6 % [67]. При использовании в качестве диагностики образцов слюны данным методом, показатели чувствительности находились в диапазоне от 91,2 до 100 %, а специфичности – от 80,2 до 100 % [66]. Основные индикаторы анализа составили гликопротеины и пики ДНК, на основе их было предположение о наличии рака легких. Использование данных образцов обладает неинвазивностью и простотой сбора в достаточном количестве, но жидкая составляющая (вода) может сказываться на получении ложных результатов, путем разбавления общей концентрации веществ. Такие погрешности нуждаются в дополнительном улучшении данной методологии [78]. Рассматривая непосредственно биопсийный материал, который является на сегодняшний день золотым стандартом и обладающий высокой точностью и специфичность до 100 % в рутинной практике может быть затруднен из-за инвазивности методики, наличии противопоказаний к тем или иным

хирургическим манипуляциям. Контролируемое исследование изучало 46 образцов тканей лёгких, где 23 пациента имели злокачественную патологию легких и 23 пациента с доброкачественными образованиями. Применялся SERS-методика для спектральной дифференцировки. Чувствительность и специфичность составила 95,7 % [63].

В целом, результаты отдельных исследований показывают, что рамановская спектроскопия обеспечивает стабильно высокую чувствительность и специфичность для различных типов образцов, особенно в анализах на основе сывороток. Хотя методы на основе слюны и плазмы демонстрируют перспективы для неинвазивной диагностики, вариабельность специфичности подчеркивает необходимость улучшения стандартизации. Кроме того, интеграция алгоритмов машинного обучения сыграла ключевую роль в повышении точности диагностики [74].

В таблице 1 предоставлено краткое сравнение преимуществ и недостатков вышеописанных методов.

Таблица 1 – Преимущества и недостатки методов обнаружения ЛОС

Методы	Преимущества	Недостатки
ГХ–МС	1. Высокая эффективность разделения 2. Высокая чувствительность обнаружения 3. Высокая селективность 4. Широкое применение	1. Дорого 2. Требуется много времени 3. Случайное загрязнение образцов
СИП	1. Низкая стоимость 2. Меньший объем 3. Меньше ограничений по потребляемой мощности	1. Случайное загрязнение образцов
Электронный нос	1. Низкая стоимость 2. Удобство использования 3. Высокая эффективность обнаружения 4. Высокая гибкость 5. Мониторинг в реальном	1. Необходимость предварительной концентрации перед испытанием 2. Сложность крупномасштабного обнаружения

Методы	Преимущества	Недостатки
	времени	3. Сложность специфического анализа
Собаки	1. Низкая стоимость 2. Высокая эффективность обнаружения	1. Неясные механизмы обнаружения 2. Ограниченная надежность обнаружения
SERS	1. Высокая чувствительность 2. Защита от фотообесцвечивания 3. Не подвержен влиянию молекул воды	1. Ограничен субстрат обнаружения 2. Необходимость абсорбции и фиксации аналита

Рак лёгкого остаётся глобальной проблемой здравоохранения в связи с высокой заболеваемостью и смертностью, несмотря на прогресс в лечении. Основная причина неблагоприятного прогноза – поздняя диагностика: у большинства пациентов заболевание выявляется на III-IV стадиях, что снижает эффективность терапии и выживаемость. Поздняя диагностика обусловлена бессимптомным течением ранних стадий и отсутствием доступных массовых скрининговых программ. Низкодозная компьютерная томография эффективна лишь для групп высокого риска из-за высокой стоимости и риска ложноположительных результатов. Необходимы новые неинвазивные, экономически эффективные методы ранней диагностики, позволяющие выявлять заболевание на доклинической стадии. Важную роль играет первичная профилактика: отказ от курения, контроль профессиональных рисков и улучшение экологической ситуации.

Исследование ЛОС в образце воздуха является перспективным направлением для неинвазивной и ранней диагностики рака легкого. Однако для полноценного внедрения в клиническую практику имеющихся успехов в идентификации потенциальных биомаркеров и наличие уже разработанных методов сбора проб недостаточно, требуются дальнейшие исследования с целью стандартизации методик, изучение происхождения ЛОС на

молекулярном уровне и усовершенствование уже созданных ранее высокочувствительных и специфичных диагностических устройств.

Каждый из рассмотренных методов имеет свою нишу в анализе ЛОС для диагностики рака легкого. Масс-спектрометрия остается эталонным методом для глубокого и детального анализа, но ее высокая стоимость и сложность ограничивают широкое клиническое применение. Спектрометрия ионной подвижности предлагает более доступную альтернативу с хорошими диагностическими показателями, но требует внимания к потенциальным загрязнениям. Электронные носы, будучи портативными, дешевыми и простыми в использовании, демонстрируют большой потенциал для выявления и мало затратной по времени и средствам диагностики, несмотря на отсутствие возможности для распознавания отдельных соединений. Полагается, что совокупность указанных методов с учетом их дальнейшего развития может привести к созданию инструментов, позволяющих более эффективно и доступно диагностировать рак легкого на ранних стадиях.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были проанализированы показатели проб выдыхаемого воздуха, взятых от 255 пациентов с патологическими процессами в легких и 60 здоровых добровольцев, не имевших в анамнезе и в момент исследования онкологических заболеваний. Все пациенты проходили лечение на базе торакального отделения НИИ онкологии Томского НИМЦ с 2024 по 2026 год.

Забор проб у пациентов с патологическими процессами в бронхолегочной системе отбирался на этапе диагностики и обследований – до начала проведения специализированного онкологического лечения.

2.1 Общая характеристика клинического материала

Согласно дизайну исследования, осуществлялось разделение всех пациентов на следующие 3 группы:

- 1) Здоровые добровольцы в количестве 60 человек, составляющие контрольную группу;
- 2) Исследуемую группу составили пациенты с морфологически подтвержденным диагнозом рака легкого всех стадий, не имевшие тяжелого коморбидного фона (шкал ECOG 0-1), в количестве 159 человек;
- 3) Группа валидации в количестве 96 человек, куда вошли пациенты с очаговыми образованиями легких, не имевших верификацию. Эта группа в последствие дополнительно распределена на подгруппы согласно морфологической верификации (рак легких, доброкачественные образования (гамартомы), инфекционно-воспалительные процессы, куда вошли пневмония и туберкулез, метастатическое поражение легких).

Исследование проходило в соответствии с Хельсинкской Декларацией 1964 г. (исправленной в 1975 и 1983 гг.). Получено одобрение локального этического комитета НИИ онкологии Томского НИМЦ (выписка № 18 от 18

октября 2024 года). Всеми пациентами подписано добровольное информированное согласие на проводимое им исследование.

Окончательный морфологически подтвержденный диагноз рака легких устанавливался после тщательного клинического обследования, куда входило: рентгенография легких в двух основных проекциях (передняя прямая проекция, боковая проекция); мультиспиральная компьютерная томографии органов грудной клетки с внутривенным контрастированием (пациентам, в случае наличия аллергии на йод-контрастные вещества, исследование проводилось в нативе); видеобронхоскопия с биопсией, при наличии опухолевого субстрата в просвете исследуемых бронхов; цитологическое исследование мокроты на наличие/отсутствие атипичных клеток; трансторакальная биопсия периферических опухолей под контролем УЗИ или СКТ для возможности проведения морфологического исследования; ультразвуковое исследование над-/подключичных лимфоузлов, органов брюшной полости, забрюшинного пространства, а также плевральных полостей, при наличии плеврального выпота. Проводилась спирография для оценки функции внешнего дыхания. Сердечно-сосудистая система оценивалась с помощью электрокардиограммы и проведением ЭХО-КГ, а также проводилось УЗИ вен нижних конечностей. Всем пациентам, вне зависимости от стадии, выполнялась остеосцинтиграфия костей скелета и магнитно-резонансная томография головного мозга с внутривенным контрастированием для исключения вторичного поражения.

Компьютерная томография проводилась на томографе 43 «Somatom Emotion 6» фирмы «Siemens» (Германия) в режиме спирального сканирования с толщиной среза 1-2,5 мм, pitch - 1,5. Исследование выполнялось с внутривенным болюсным контрастированием – внутривенное введение 100 мл омнипака-350 со скоростью 3 мл/с. Видеобронхоскопия осуществлялась на двух аппаратах: эндоскопическая стойка OLYMPUS EVIS EXERA II серии 180 с применением бронхоскопов (диаметр – 4,8 мм) компании Olympus и эндоскопический видеоблок Karl Storz TELE PACK с применением жесткого телеларингоскопа (диаметр – 5,8 мм, угол зрения – 70°).

Ультразвуковое исследование проводилось с помощью аппарата Aloka SSD 5500 с использованием линейного датчика с частотой 10 МГц и конвексного – с частотой 3,5 МГц, с применением полипозиционного серошкального сканирования (В-режим) и цветового доплеровского картирования в реальном масштабе времени.

С помощью сенсорного газоаналитического комплекса, представленного на рисунке 1, выполнялся молекулярный анализ состава выдыхаемого воздуха проб пациентов с использованием искусственной нейронной сети. Она способствовала сопоставлению групп для выявления характеристических особенностей состава выдыхаемого воздуха и формированию базы данных.



Рисунок 1 – Мультисенсорный газоаналитический комплекс

Критериями включения пациентов в исследования являлись:

1. Больные исследуемой группы с гистологически верифицированным диагнозом рака легких, T1-4N0-3M0-1 стадии;

2. В контрольную группу вошли добровольцы, не имеющие опухолевого процесса на момент проведения исследования, так и не получавших ранее лечения по поводу опухолевой патологии;
3. Отсутствие декомпенсированной соматической патологии;
4. Пациенты в возрасте старше 18 лет на момент проведения исследования;
5. Последний приме алкоголя не менее чем за 72 часа (3 суток).

Критерии исключения из исследуемой группы:

1. Отказ больного от участия в исследовании;
2. Выраженная сопутствующая патология, затрудняющая проведение исследования.

Критерии исключения из контрольной группы:

1. Злокачественное образование в анамнезе;
2. Проведения любого лечения по поводу злокачественной опухолевой патологии в анамнезе;
3. Возраст до 18 лет;
4. Инфекционное заболевание в острой фазе;
5. Прием антибактериальных препаратов на момент исследования;
6. Беременность или кормление грудью.

Согласно дизайну исследования, выполнено распределение на три основные группы:

- 1) Здоровые добровольцы в количестве 60 человек составили контрольную группу исследования. Добровольцы, по данным текущей прошедшей диспансеризации не имели на момент проведения исследования и в анамнезе онкологической патологии;
- 2) Исследуемую группу в количестве 159 человек составили пациенты, у которых был морфологически подтвержден диагноз рака легкого. В исследование вошли пациенты всех стадий, не имевших тяжелый коморбидный фон. Шкала ECOG 0-1;
- 3) Группа валидации, куда были включены 96 пациентов, имевших по данным проведенных обследований очаговые не верифицированные

процессы в легких. Данная группа также не имела тяжелую соматическую патологию. Шкала ECOG 0-1.

Здоровые добровольцы ($n = 60$), составляющие контрольную группу, были набраны отдельно. Все пациенты данной группы прошли текущую диспансеризацию, в ходе которой онкологической и тяжелой соматической патологии выявлено не было. Также отсутствовали отклонения в гематологических и инструментально-диагностических показателях (рентгенография органов грудной клетки; ультразвуковое исследование брюшной полости у мужчин, а также дополнительно исследование органов малого таза и молочных желез у женщин). Получено соответствующее согласие на исследование. В контрольной группе мужчин было 33 (55 %), женщин – 27 (45 %). Средний возраст – 45,8 лет (95 % ДИ 25,9-65,7 лет). Курящих добровольцев 19 человек (31,7 %). Соответственно некурящих – 41 доброволец (68,3 %). Доля здоровых добровольцев с диагнозом ХОБЛ составила 21,7 % – 13 человек, без диагноза – 47 человек (78,3 %).

В основной группе, куда вошли 159 больных с диагнозом рака легких, доля мужчин составила 66,7 % – 106 человек, соответственно доля женщин 33,3 % – 53 пациента. Количество мужчин в группе превалировало над женщинами практически в 2 раза, что соответствует статистическим данным соотношения полов в мировой заболеваемости. При сравнении отличия по полу, данные статистически не значимы ($p = 0,697$). Средний возраст заболеваемости приходится на 63 года (95 % ДИ 48-78 лет). При сравнении возраста в исследуемых группах отличий не выявлено, данные статистически не значимы ($T = 0,704$, $p = 0,412$). Доля курящих составила 67,3 % – 107 пациентов, доля некурящих – 32,7 %, соответственно 52 пациента. Доля пациентов с диагнозом хронической обструктивной болезнью легких составила 67 человек (42,1 %), без диагноза – 92 человека (57,9 %).

Окончательный диагноз, включая стадию, устанавливался по системе TNM 8-го пересмотра (UICC, 2017 г.). Больные внутри группы были распределены соответственно установленной стадии заболевания. Доля

пациентов с I стадией составила 38,4 % – 61 человек, на долю II стадии пришлось 25,2 % – 40 пациентов, III – 20,8 %, 33 пациента, IV – 15,6 %, 25 пациентов (рисунок 2). Доля местно-распространенных (III) и метастатических (IV) процессов составила 36,4 %

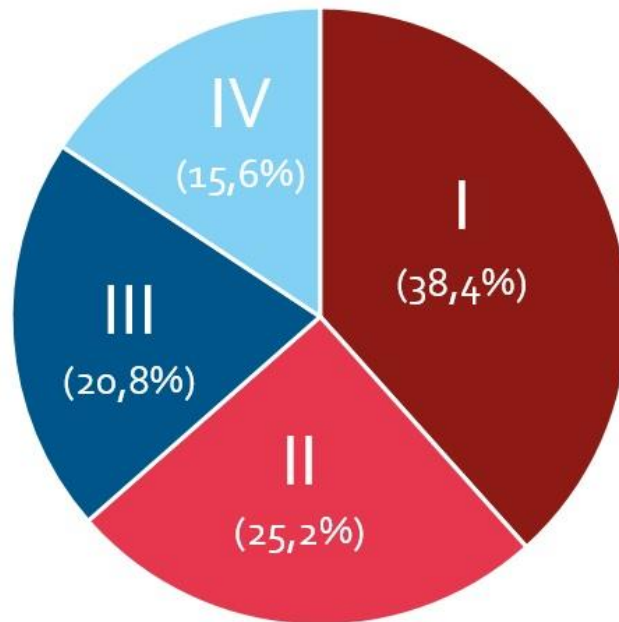


Рисунок 2 – Диаграмма распределения пациентов по стадиям заболевания, согласно классификации TNM 7-го пересмотра

В исследование включались только пациенты с немелкоклеточным раком легкого (аденокарцинома, плоскоклеточный); пациенты с мелкоклеточным раком и другими видами нейроэндокринного рака легкого исключались из исследования.

Доля пациентов с таким морфологическим вариантом, как аденокарцинома, составила 59,1 % – 94 пациента, с плоскоклеточным раком 40,9 % – 65 пациентов. В основной группе, где приняло участие 159 пациентов, 67 из которых наблюдались с центральным расположением опухолевого процесса (42,1 %), у 92 пациентов (57,9 %) – периферическое расположение опухоли.

В группу валидации для сравнения вошло 96 пациентов с первично не верифицированными очаговыми образованиями в легких. Всего в основной

исследовательской группе приняло участие 255 пациентов, которым после проведенных диагностических манипуляций (бронхоскопия с биопсией, трансторакальная пункция) или проведенного хирургического лечения, был установлен окончательный морфологический диагноз. В эту группу вошли основные доброкачественные нозологии, как: гамартома, гранулема, паразитарные кисты, инфекционно-воспалительные процессы (бактериальные пневмонии, туберкулез). Также вторичное метастатическое поражение легких таких нозологий, как: лимфома Ходжкина, колоректальный рак, рак яичников, а также рак легких в анамнезе с очаговым поражением ипси-/контрлатерального легкого.

Всем пациентам, входящих в состав второй и третьей исследуемых групп с патологией легких проводилась бронхоскопия в независимости от периферического или центрального расположения патологических очагов с целью оценки трахеобронхиального дерева и исключения предраковых либо микроинвазивных онкологических процессов.

На рисунке 3 схематично изображен дизайн исследования.



Рисунок 3 – дизайн исследования

2.2 Методика забора проб выдыхаемого воздуха

Забор выдыхаемого воздуха проводился двукратно:

- 1) В любое время суток без учета приема пищи/ воды, чистки зубов, курения. Данная проба считалась «без подготовки»;
- 2) Преимущественно в утренние часы с обязательным воздержанием от приема пищи и воды, чистки зубов, курения. Данная проба считалась «с подготовкой».

Следующим этапом с помощью разработанного сенсорного газоанализатора выполнялся молекулярный анализ собранных проб. С участием искусственной нейронной сети проанализирован молекулярный состав воздуха, что в дальнейшем позволило разделить пациентов на группы со схожими характеристиками и созданием базы данных.

После проведения процедуры, пациенты в течение 30 минут находятся под наблюдением.

Ниже на рисунках 4а и 4б изображен одноразовый индивидуальный «мешок-расходник», с помощью которого осуществлялся забор проб.



а



б

Рисунок 4 (а, б) – мешок («расходник») для отбора проб выдыхаемого воздуха у пациентов

2.3 Технические характеристики газоанализатора

Данное разработанное устройство состоит из набора 24 полупроводниковых сенсоров, работающих в режиме синхронного термоциклирования. Данные сенсоры обладают разной чувствительностью и селективностью к восстановительным и окислительным газам. Обработка сигнала происходит автоматически с помощью искусственной нейронной сети.

Устройство содержит систему протоотбора, в которую входят камера измерения с входными и выходными клапанами и непосредственно протоотборный мешок. Аппарат обладает собственными измерительными и релейными модулями, микроконтроллерами, присутствует компрессор и воздушный фильтр. Нейронная сеть, путем обучения добавления нового, настроена на конкретный вид исследуемой патологии. Программа нейросетевой обработки разработана в среде Nvidia Nsight Eclipse Edition с применением библиотеки cudaNN фреймворка TensorFlow. Обучение и тестирование производилось с использованием графического ускорителя GeForce GTX 1070.

Поскольку диагностика заболеваний в контексте работы является задачей классификации, в качестве архитектуры нейронной сети использовался персептрон.

Путем эксперимента в ходе исследования были определены параметры с целью обучения нейронной сети, получено заключение, что для достижения минимальных ошибок и погрешностей на исследуемых выборках, требуется большое количество эпох обучения и использование для этого низкой скорости самого обучения. Оптимальные настройки для получения удовлетворительных показателей при минимальных ошибках составляют: эпохи обучения в количестве 1000000 с установленной скоростью для обучения 0,01, а также 1 скрытый слой размерностью, превышающий размерность входящих данных в 2 раза. В качестве функции активации

использовался гиперболический тангенс. Оптимизация параметров осуществлялась с помощью ROC-анализа.

С целью проверки эффективности использовалась стандартная перекрестная проверка. Сформированы 5 случайных групп из всех пациентов с патологическими процессами в легких, а также здоровыми добровольцами. Случайным образом одна из разделенных групп принималась за контрольную и не принимала участие в дальнейшем обучении. Оставшиеся 4 группы принимали участие в обучение нейронной сети. Данное проведенное исследование выполнялось пятикратно, чтобы каждая из групп принимала участие в качестве контрольной группы. Таким образом обученной нейронной сети выполнялось пятикратно.

2.4 Принцип работы сенсорного газоаналитического комплекса

Разработанное устройство обладает двумя способами забора воздуха: непосредственное выдыхание воздуха пациентом в протоотборную камеру и с использованием подключения протоотборного мешка, наполненный выдыхаемым воздухом.

Принцип действия заключается в следующем: «мешок-расходник» присоединяется к входному клапану камеры протоотбора. С целью подачи воздуха из мешка, оказывается небольшое механическое давление в виде сжатия, при этом, за счет давления на мешок, открывается на 1 секунду входной клапан. Благодаря автоматизированному процессу, от всех пациентов гарантированно поступает одинаковый объем воздуха в анализатор, объем которого составляет 250 мл. Далее клапаны автоматически закрываются и измерительные датчики начинают анализ данных. Модули работают с частотой 50 Гц на протяжении 1,5 минуты во время которой измерительные датчики работают в режиме термоциклирования и производится несколько циклов измерения. В конце измерений, автоматически включается компрессор и происходит подготовка аппарата –

через воздушный фильтр благодаря компрессору под давлением происходит прогон воздуха с целью очистки для следующего использования.

Нейронная сеть типа персептрон позволяет классифицировать и разделять пациентов между собой на группы: здоровые и с наличием патологии. В устройстве присутствуют 24 датчика измерительного блока, которые фиксируют изменение динамики температуры во время отдельно взятого цикла термациклирования. Эти данные автоматически передаются на рабочий компьютер. Выходной слой нейронной сети представлен в виде одного нейрона, значение которого на выходе находится в диапазоне $[0, 1]$. Полученные результаты подвергаются оцифровке и происходит автоматическое формирование базы данных и анализ образцов пациентов. Данные двадцатичетырех металлооксидных полупроводниковых газовых сенсоров позволяют обеспечить диапазон измеряемой газовой смеси в пределах 10 ppb-100 ppm.

По результатам расчета показателя величины выходного нейрона, который сравнивается с установленным порогом, если этот порог превышен, это более вероятно может свидетельствовать о наличии патологии. Данная вероятность определяется методом Area Under ROC curve (AUC).

Для формирования конкретного типа патологии, нейронная сеть была предварительно обучена на здоровых добровольцах, в количестве не менее 20 человек и пациентов со злокачественными новообразованиями. Соотношение данных двух групп пациентов должно быть не менее 50:50. Существующий, так называемый, газовый «отпечаток», полученный во время обучения нейронной сети при диагностике пациентов со злокачественными новообразованиями, сравнивается с эталонными паттернами. Это позволяет классифицировать конкретное заболевание. Показатели выходного нейрона, находящиеся в диапазоне $[0,25; 0,65]$ свидетельствуют о наличии злокачественного заболевания, в то время как диапазон $[0,65; 1]$ говорит в пользу воспалительных процессов.

2.5 Оценка результатов исследования

При интерпретации полученных результатов учитывались анамнестические данные (пол, возраст пациента, наличие факта курения и прием алкоголя, наличие сопутствующей патологии, прием лекарственных препаратов). Статистически значимых различий по полу и возрасту в обеих групп не было. В соответствии с клиническими рекомендациями, всем пациентам было проведено комплексное диагностическое обследование для определения характера и степени распространения опухолевого процесса, а также установки клинической стадии. На этапе диагностики в обязательном варианте проводились: мультиспиральная компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, ультразвуковое исследование над-/подключичных лимфоузлов, сцинтиграфия костей скелета. С целью морфологической верификации выполнялись бронхоскопия с биопсией при центральных новообразованиях, трансторакальная пункция/ атипичная резекция легкого при периферических процессах с последующим морфологическим исследованием биопсий опухолевых субстратов.

Автоматизированная система предусматривает создание индивидуального каталога, где будет храниться информация по каждому пациенту: метаданные и результаты сигнальных откликов, полученных с сенсоров. Стандартные SQL запросы способствуют осуществлению связи программы операторов устройства с базой данных. После предварительной обработки сигналов, они становятся доступны для проведения статистического анализа.

Расчет величины выходного нейрона позволит определить динамику патофизиологических процессов с помощью обученной нейронной сети. Показатели, превышающие порог разделения положительных и отрицательных проб, будут свидетельствовать о наличии заболевания, что будет подтверждено методом Area Under ROC curve (AUC). В дальнейшем

результаты автоматически фиксируются в базу данных для последующих обработок.

2.6 Статистические методы

В работе применялись статистические методы: описательные, параметрические, непараметрические.

С учетом того, что в группах распределение по возрасту было нормальным, подтвержденным критерием Шапиро-Уилка (для основной группы $p = 0,057$; для контрольной $p = 0,670$), использовались для сравнения непараметрические критерии. Для оценки статистической значимости различий групп внутри исследования, применялся t -критерий Стьюдента.

Критерий χ^2 Пирсона и точный критерий Фишера применялся для сравнения таких критериев, как: пол, стадия онкологического процесса, морфологический тип опухоли. Расчеты проводились с помощью таблиц сопряженности.

Для оценки воспроизводимости и влияния факторов подготовки пациентов на постановку диагноза использовалась такая метрика оценки эффективности моделей, как ROC-анализ, с построением графика ROC-кривой, отображающей соотношение между чувствительностью и специфичностью, а также определение среднего значения параметра AUC, лежащее в диапазоне от 0 до 1, где 1 соответствует идеальному классификатору. Высокое значение AUC указывает на то, что модель хорошо различает классы при различных порогах.

Для распределения пациентов по группам также использовался алгоритм t -SNE, определяющий распределение вероятностей с использованием t -распределения Стьюдента, что позволяет более гибко моделировать удалённые точки в низкоразмерном пространстве и решать проблему скученности, когда точки в высокоразмерном пространстве могут нагромождаться друг на друга при проецировании.

Вся обработка результатов исследования выполнялась в лицензионной программе «IBM SPSS Statistics» версии 22.0 (IBM corp., США) с помощью персонального компьютера.

При получении результата $p < 0,05$, то различие считалось достоверным и вероятность различия составляет $> 95 \%$.

В качестве метода статистического анализа при проведении экспериментов применялась искусственная нейронная сеть с архитектурой многослойный персептрон. На вход искусственной нейронной сети подавались массивы значений из базы данных «Cancer», соответствующие двум классам бинарного классификатора. Массивы значений представляют собой оцифрованные значения сигналов с полупроводниковых неселективных газовых сенсоров мультисенсорного газоаналитического комплекса.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СЕНСОРНОГО ГАЗОАНАЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА В ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЛЕГКОГО

3.1 Разработка оптимального способа забора проб

Пациенты, включенные в состав основной и контрольной группы, перед началом исследования не менее чем за шесть часов до забора образцов выдыхаемого воздуха не принимали пищу, воздерживались от любых напитков, а также не чистили зубы и не курили. Исходя из требуемой подготовки, наиболее подходящим времени для проведения исследования являлось утреннее время суток («подготовленная» проба). Кроме того, все исследуемые пациенты также сдавали пробу выдыхаемого воздуха, в которой время суток и прием пищи не учитывались. Курение также не было принято во внимание.

Основная исследуемая группа пациентов сдавала образцы газа по завершению всего диагностического комплекса.

Забор образцов выдыхаемого воздуха у пациентов с «подготовленными» и «не подготовленными» пробами, осуществлялся с целью установления наличия или отсутствия потенциального существенного признака между ними, который может оказать влияние на конечную оценку результата данного метода диагностики по выдыхаемому воздуху.

Для проведения исследования было выбрано отдельное помещение, соответствующее нормальным условиям окружающей среды, в котором была установлена сенсорная газоаналитическая система. На каждого исследуемого заполнялось информированное добровольное согласие, также фиксировались основные исходные признаки, такие как возраст, пол, стадия распространения опухоли и ее локализация, факторы курения и употребления спиртных напитков, возможные иные сопутствующие заболевания, а также длительность приема лекарственных препаратов в связи

с имеющимися хроническими патологиями. После этого исследуемые добровольцы в сидячем положении делали максимальные выдохи в специально подготовленный стерильный пластиковый мешок, объем которого составлял пять литров.

3.2 Оценка воспроизводимости и влияния факторов подготовки пациентов на постановку диагноза при проведении диагностической процедуры

С целью оценки воспроизводимости и влияния факторов подготовки пациентов на постановку диагноза, исследование состава выдыхаемого воздуха проводилось у всех пациентов ($n = 255$), принявших участие в исследовании, в том числе и у 60 добровольцев, не имеющих онкологических заболеваний.

Все пробы собиралась до начала проведения специализированной противоопухолевой терапии.

В течение трех суток, ежедневно в утреннее время в одинаковых условиях, у исследуемых осуществлялся забор выдыхаемого воздуха в специальные пластиковые мешки для отбора проб газа, далее при помощи сенсорного газоаналитического комплекса проводился анализ отобранных проб (выдыхаемого воздуха). С целью исключения возможного получения ошибок проводилась молекулярная оценка проб состава выдыхаемого воздуха.

В результате серии исследований по наличию или отсутствию отличительных признаков между «неподготовленных»-«RL_NP» и «подготовленных»-«RL_P» пробами выдыхаемого воздуха от пациентов с немелкоклеточным раком легких видим отсутствие отличия между пробами, так как оба варианта проб находятся по обе стороны предсказанного значения (рисунок 5).

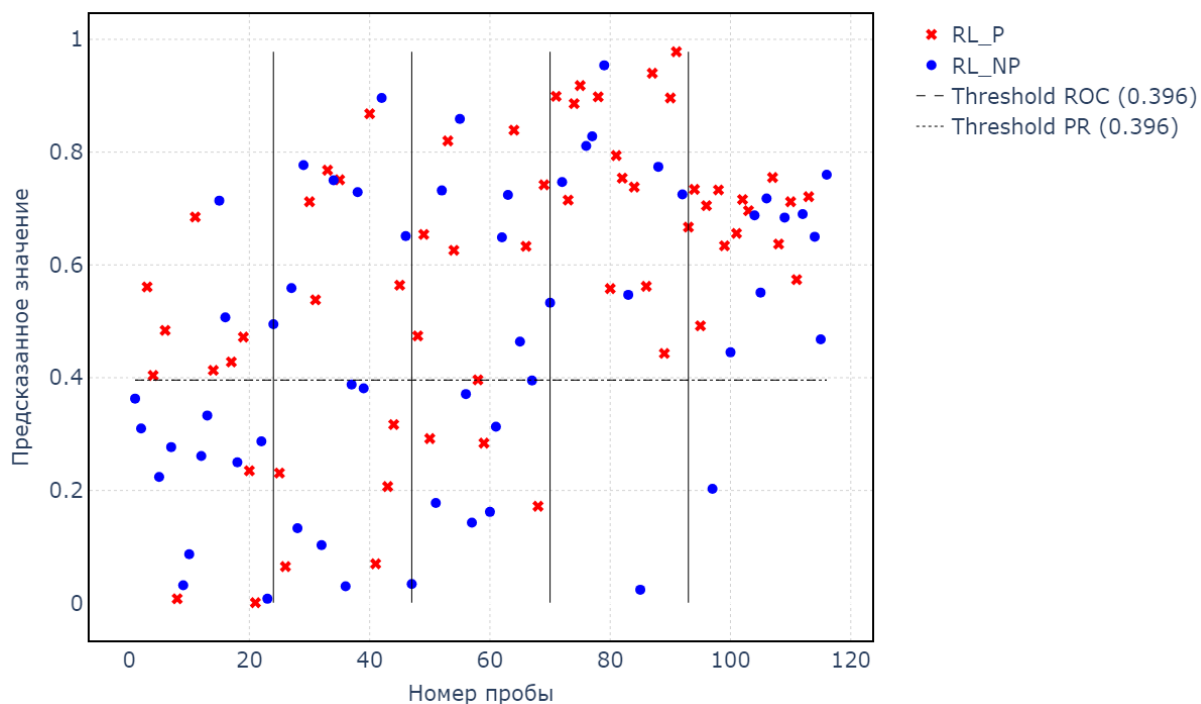


Рисунок 5 – диаграмма распределения для «подготовленных» (RL-P) и «неподготовленных» (RL-NP) проб выдыхаемого воздуха от пациентов со злокачественными образованиями легких

Также среднее значение параметра AUC составило 0,621. График ROC-кривой стремится к контрольной линии (рисунок 6), что также указывает на отсутствие обобщенного отличительного признака между классами.

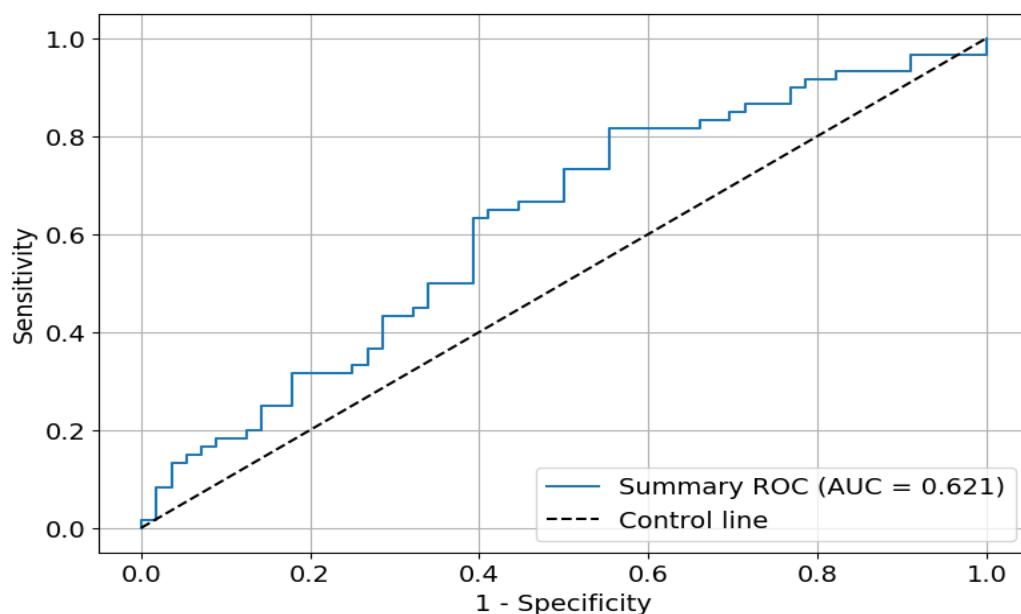


Рисунок 6 – ROC-анализ дифференциации между «неподготовленными»-«RL_NP» и «подготовленными»-«RL_P» пробами выдыхаемого воздуха от пациентов с ЗНО легких

Таким образом, было показано, что специальной подготовки пациентов для исследования не требуется, поскольку курение, прием пищи и время забора проб выдыхаемого воздуха (утренние или дневные часы) не влияет на эффективность метода диагностики рака легкого. В связи изложенным в дальнейших расчетах использовался исключительно анализ «неподготовленных проб».

3.3 Выявление основных биомаркеров веществ в выдыхаемом воздухе при наличии злокачественных новообразований легких

В рамках диссертационной работы решалась задача выявления возможных биомаркеров веществ в выдыхаемом воздухе при наличии злокачественных новообразований в легких пациентов.

В применяемом газоаналитическом комплексе, с помощью которого проводится отбор проб выдыхаемого воздуха, установлено 24 неселективных сенсора, чувствительных к разным соединениям. Инструменты нейросетевого анализа позволяют определить, показания каких сенсоров вносили больший вклад. Таким образом возможно определить, исходя из чувствительности сенсора, какой газовый компонент или тип соединения в большей степени присутствовал при дифференциации патологических процессов.

Результаты анализа для здоровых добровольцев (ZD_2P) и пациентов с ЗНО легких (RL_2P) можно изобразить диаграммой оценки влияния показаний сенсоров на обобщенный признак дифференциации проб выдыхаемого воздуха.

В исследовании проводилась оценка влияния каждого сенсора на отличительные признаки классификации проб выдыхаемого воздуха от пациентов с злокачественным образованием легких на разных стадиях и здоровых добровольцев. Исследование показало, что наибольший вклад в

дифференциацию внесли следующие сенсоры: 8, 14, 19, 21 и 24 – MQ8, TGS2603, MQ-137, MP-5 и TGS2610 соответственно (рисунок 7).

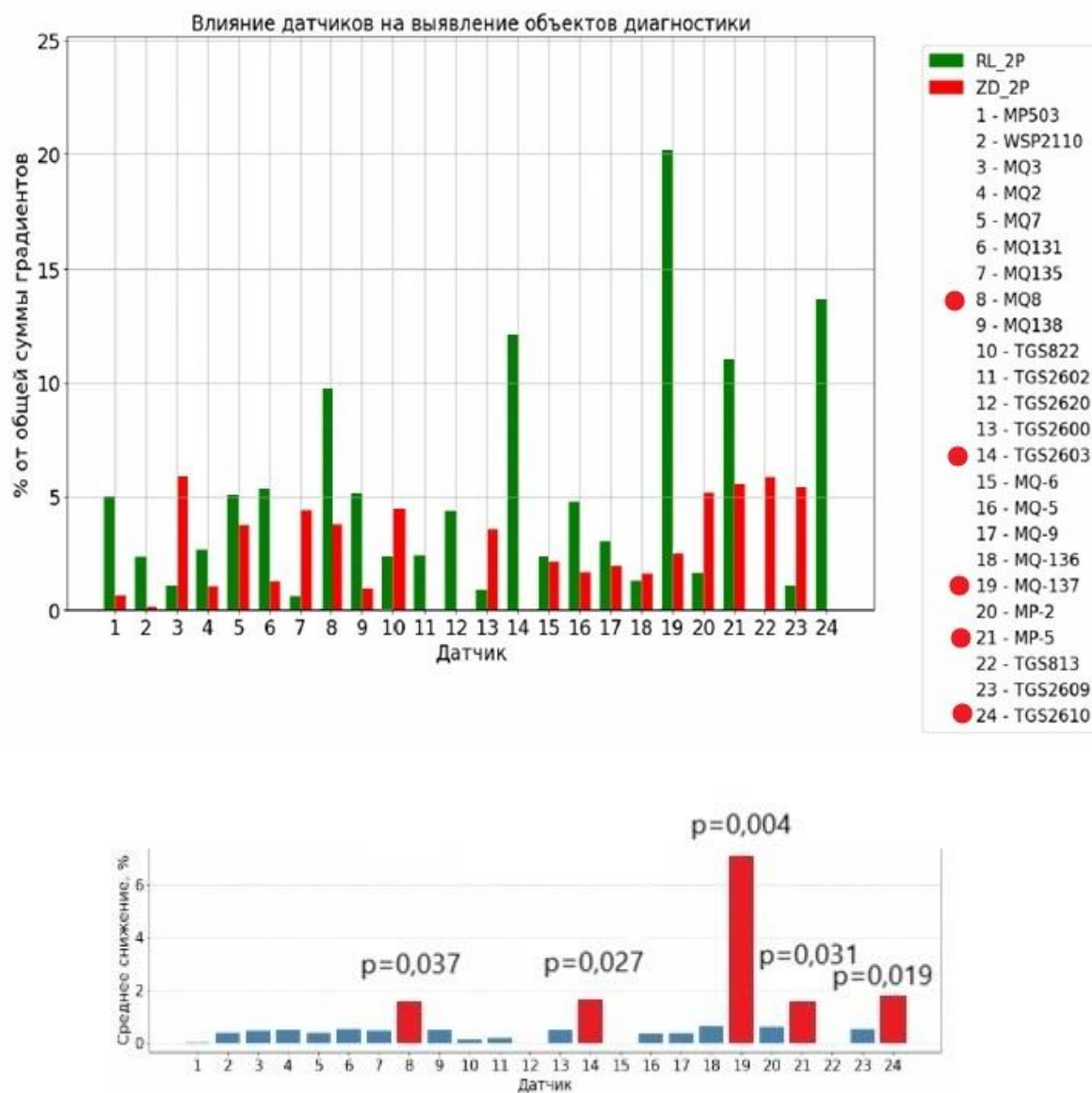


Рисунок 7 – диаграмма распределения вклада сенсоров по дифференциальному признаку между здоровыми добровольцами (ZD_2P) и пациентами с раком легких (RL_2P) всех стадий

Данные сенсоры чувствительны к разным газам: 8 – водород, 14 – триметиламин, метилмеркаптан, сероводород, 19 – аммиак, 21 – пропан и 24 – метан, бутан, пропан. Данные наглядно изображены в таблице 2. Эти результаты согласуются с данными, приведёнными в литературных

источниках, в которых кетоны, спирты, альдегиды представлены одними из биомаркеров рака легкого [61,75,76].

Таблица 2 – Сенсоры, внесшие наибольший вклад в дифференциацию при раке легких

№ сенсора	Название сенсора	ЛОС
8	MQ8	водород
14	TGS2603	триметиламин, метилмеркаптан, сероводород
19	MQ-137	аммиак
21	MP-5	пропан
24	TGS2610	метан, бутан

Также в исследовании у пациентов с онкологической патологией легких отмечалась высокая концентрация аммиака, что может также являться биомаркером немелкоклеточного рака легких.

Таким образом, в исследовании выявлены и подтверждены ранее описываемые в литературных источниках наиболее присутствующие в большем количестве биомаркеры веществ в выдыхаемом воздухе при наличии злокачественных новообразований легких. Основные летучие органические соединения составили: *аммиак, водород, триметиламин, метилмеркаптан, сероводород, пропан, метан, бутан*.

В данном исследовании мы ориентировались на показатель процента от общей суммы градиентов, который показывает долю отдельного частного градиента (в частности конкретного датчика) по отношению к сумме всех градиентов в модели. Этот показатель позволяет понять, какой именно компонент вносит наибольший вклад, в данном случае по уровню концентрации летучего вещества.

3.4 Оценка специфичности, чувствительности, точности сенсорного газоаналитического комплекса для диагностики рака легкого и влияния анамнестических данных (пол и возраст пациентов, факт курения, наличие сопутствующих заболеваний) на эти показатели

Получены пробы от 255 больных с патологией легких. С учетом морфологической верификации, пациенты были распределены на следующие группы: с подтвержденным диагнозом рака легких – 159; и пациенты с не верифицированными образованиями в легких: доброкачественные образования – 38; инфекционно-воспалительные процессы – 31; метастатический процесс в легкие – 27.

Разделение пациентов осуществлялось согласно разработанному дизайну исследования.

Проведены исследования влияния курения и ряда других анамнестических показателей (пол и возраст пациентов, наличие сопутствующих болезней) на диагностические показатели сенсорного газоаналитического комплекса.

В результате проведенных исследований выявлено, что классификации поддаются пробы выдыхаемого воздуха от курящих и некурящих пациентов с ЗНО легких. Точность классификации составляет в среднем 67 % при значениях параметра AUC 0,660. В дальнейшем при исследовании и синтезе нейросетевого классификатора для дифференциации пациентов с ЗНО и здоровых добровольцев и применения метода диагностики по выдыхаемому воздуху в медицинских приборах необходимо при обучении нейронной сети уравнивать количество проб от курящих и некурящих людей внутри и между дифференцируемыми классами (таблица 3). Это позволит повысить точность диагностики на основе анализа выдыхаемого воздуха и достоверность результатов исследований, направленных на определение его показателей эффективности.

Возраст и пол являются независимыми факторами риска развития рака легкого. С возрастом увеличивается накопление генетических поломок в клетках организма в связи со снижением эффективности системы репарации ДНК. В основном заболевание диагностируется преимущественно у людей старше 50 лет, а большинство случаев выявляется у пациентов старше 65 лет [4,5]. Для мужского пола повышенную роль в риске развития рака легкого играют профессиональные вредности и доля курильщиков среди всего населения. Однако данные параметры были изучены и учтены в ходе проводимых исследований.

Таблица 3 – Результаты исследования влияния дополнительных параметров на показатели диагностической эффективности

Классифицируемые группы	Точность	Специфичность	Чувствительность	Значение AUC
Рак легких, пол пациента	0,491 (95 % ДИ:[0,405; 0,586])	0,975 (95 % ДИ:[0,917; 1,000])	0,237 (95 % ДИ:[0,151; 0,325])	0,537
Рак легких, факт курения	0,672 (95 % ДИ:[0,586; 0,759])	0,687 (95 % ДИ:[0,562; 0,803])	0,653 (95 % ДИ:[0,509; 0,780])	0,660
Рак легких, средний возраст 65 лет	0,612 (95 % ДИ:[0,526; 0,698])	0,647 (95 % ДИ:[0,517; 0,774])	0,585 (95 % ДИ:[0,468; 0,708])	0,606
Рак легких, наличие ХОБЛ	0,655 (95 % ДИ:[0,569; 0,733])	0,906 (95 % ДИ:[0,825; 0,970])	0,346 (95 % ДИ:[0,217; 0,468])	0,609

Из представленной таблицы видно, что единственное значение AUC при сравнении факта курения, имеет некоторую дискриминационную способность ($AUC = 0,660$). Это говорит о том, что есть, хоть и не выдающийся показатель AUC, но он соответствует среднему качеству классификатора, и позволяет сделать вывод, что выдыхаемый воздух от курящих и некурящих пациентов отличается. Пусть незначительно, но он отличается, т.е. есть признак дифференциации. Показатель чувствительности при классификации пола и наличия ХОБЛ – низкий, поэтому данный

классификатор мы не признаем удовлетворительным. Также значение AUC для этих параметров низкое, что также говорит о плохом качестве классификатора по этим параметрам. При сравнении параметра пола, получаем результат, близкий к 50:50, это говорит о том, что пол практически не влияет на результат выдыхаемого воздуха, об этом также свидетельствует низкий показатель AUC.

В проводимом исследовании все исследуемые были распределены между двумя группами: контрольной и исследуемой. В контрольную группу из 60 человек были включены здоровые добровольцы, не имеющие на момент исследования злокачественных новообразований по результатам проведенной текущей диспансеризации и сбора анамнестических данных. Исследуемая группа состояла из 159 пациентов, у которых был подтвержден и установлен диагноз рак легких вне зависимости от стадии. У всех участников были отобраны пробы выдыхаемого воздуха.

Результатом проведенного исследования стал подбор архитектуры и гиперпараметров нейронной сети, позволяющих осуществлять дифференциацию проб выдыхаемого воздуха для исследуемой и контрольной групп.

Главная цель данного исследования заключалась в определении и установлении закономерностей, способных обеспечивать эффективную диагностику злокачественных новообразований, особенно на ранней стадии. Для достижения указанной цели анализировалась возможность интеграции диагностической информации с полупроводниковых газовых сенсоров учитывая анамнестические данные (пол и возраст, наличие фоновых сопутствующих заболеваний), которые прямо или опосредованно могут определять факторы риска развития заболевания.

В таблицах 4, 5 представлены распределения участников исследования по разным параметрам в двух группах (пациенты с раком легкого и здоровые добровольцы).

Таблица 4 – Распределение пациентов с диагнозом рака легких по различным параметрам (пол, возраст, стадия)

Вид ЗНО	Рак легких
<i>Всего, из них</i>	159
мужчины	106
женщины	53
Стадии по системе TNM	1-61 2-40 3-33 4-25
средний возраст группы, лет	63

Таблица 5 – Распределение здоровых добровольцев по различным параметрам (пол, возраст)

Всего:	60
Из них:	
мужчины	33
женщины	27
Средний возраст группы, лет	45

В ходе этого исследования было проведено 3 анализа с целью изучения показателей диагностической эффективности, где использовались разные нейросетевые подходы к интеграции клинических данных, где в каждом из которых применялся один и тот же набор данных. Этот набор включал в себя пробы выдыхаемого воздуха от здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака легких. Клинические данные включали, не только сведения о полученном образце воздуха, но и данные анамнеза по всем участникам эксперимента. Для первого исследования использовался мономодальный подход к настройке параметров нейросетевого классификатора. Особенность модального подхода заключается в том, что классификация образцов от пациентов с немелкоклеточным раком легких и здоровых людей проводится исключительно на основании данных о пробах выдыхаемого воздуха. Для второго исследования в одном входном слое

наряду со сведениями о выдыхаемом воздухе использовались данные анамнеза. В третьем исследовании была использована двухпоточная гибридная модель нейросетевого классификатора, которая предполагала использование данных анамнеза во втором потоке.

В рамках исследования клинические данные по здоровым добровольцам были разделены на две категории: демографические и анамнестические. В состав признаков включались такие характеристики, как пол, возраст, курение и наличие в анамнезе хронической обструктивной болезни лёгких. Кроме того, состав признаков определял форматы применяемых кодировок признаков для предварительной обработки эмпирических данных (таблица 6).

Таблица 6 – Характеристика набора исследуемых лиц

Здоровые добровольцы			
Категория признака	Номер признака	Признак	Описание
Демографический	1	Возраст	25-70 лет, средний: 45,8 лет
	2	Пол	33 мужчины, 27 женщины
Анамнестический	3	Курение	19 курящих, 41 некурящих
	4	ХОБЛ	13 с диагнозом, 47 без диагноза
Пациенты с раком легких			
Категория признака	Номер признака	Признак	Описание
Демографический	1	Возраст	42-78 лет, средний: 63,0 лет
	2	Пол	106 мужчины, 53 женщин
Анамнестический	3	Курение	107 курящих, 52 некурящих
	4	ХОБЛ	67 с диагнозом, 92 без диагноза

По результатам проведенного первого исследования точность, чувствительность и специфичность данного метода диагностики определена

на уровне 83,00 %, 86,79 % и 78,72 % соответственно. Величина AUC-ROC составила 0,888 (рисунки 8, 9).

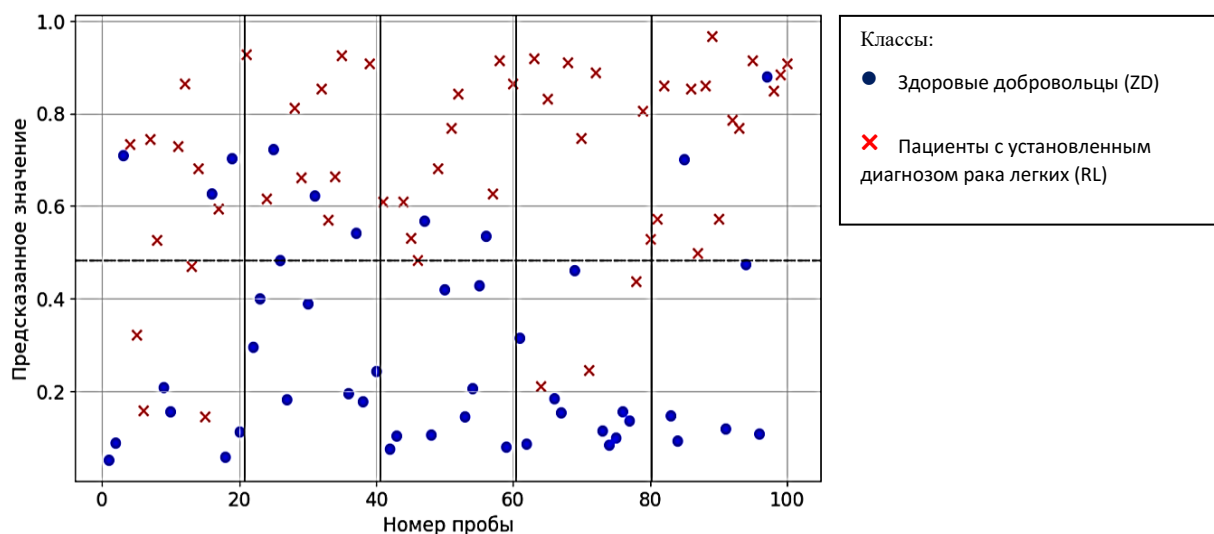


Рисунок 8 – Диаграмма перекрестной проверки 1 этапа исследуемых проб выдыхаемого воздуха между здоровыми добровольцами (ZD) и пациентами с установленным диагнозом рака лёгких (RL)

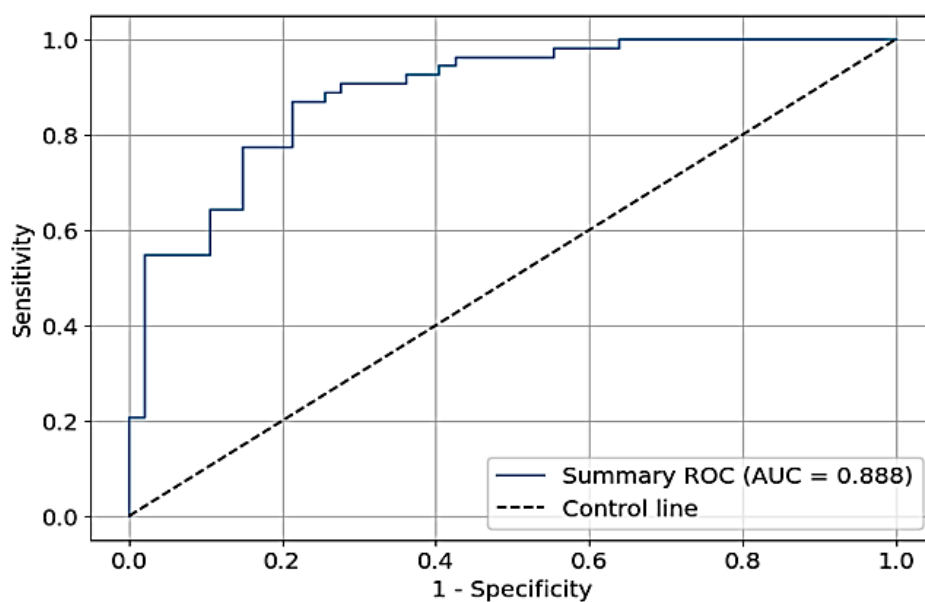


Рисунок 9 – ROC-анализ проб выдыхаемого воздуха 1 этапа при сравнении здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака легких

Обучение нейронной сети прерывалось после выполнения 20 эпох. Такая настройка не позволяла настраивать нейронную сеть до конечной характеристики по точности классификации. Однако в процессе обучения можно было проследить наличие удовлетворительной обобщающей

способности выбранной модели нейронной сети, в ходе которой не возникало маркеров, указывающих на необходимость ее переобучения.

По результатам второго исследования, получены основные характеристики точности, чувствительности и специфичности равные 84,31 %, 87,05 % и 80,57 %, соответственно. Уровень ROC-кривой составил 0,896 (рисунки 10, 11).

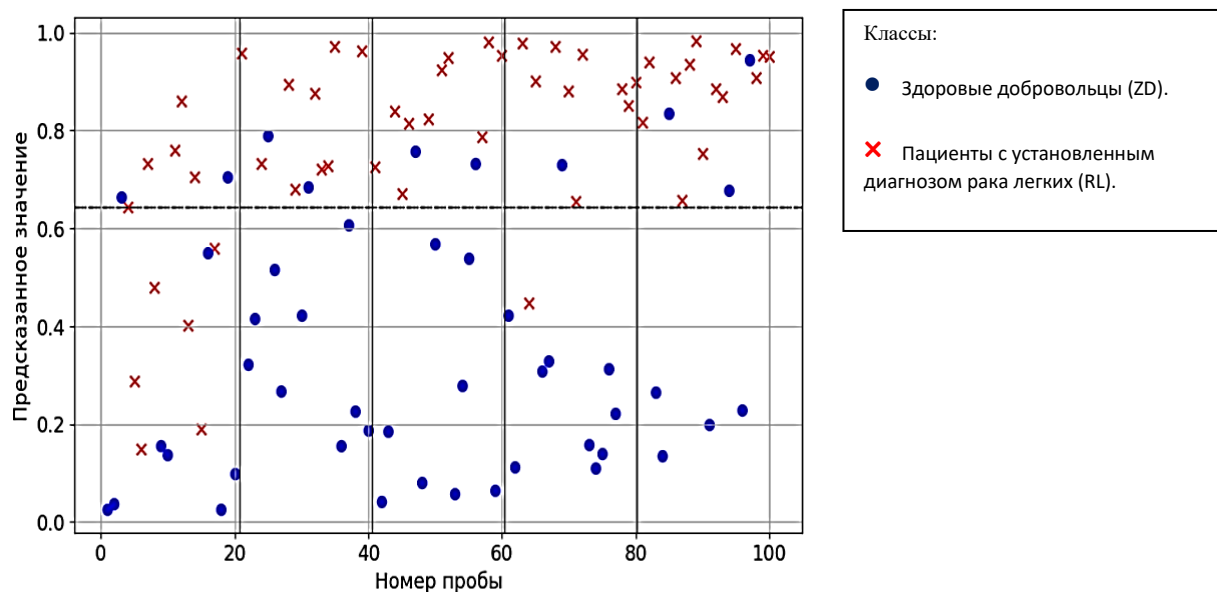


Рисунок 10 – Диаграмма перекрестной проверки 2 этапа между здоровыми добровольцами (ZD) и пациентами с установленным диагнозом рака лёгких (RL)

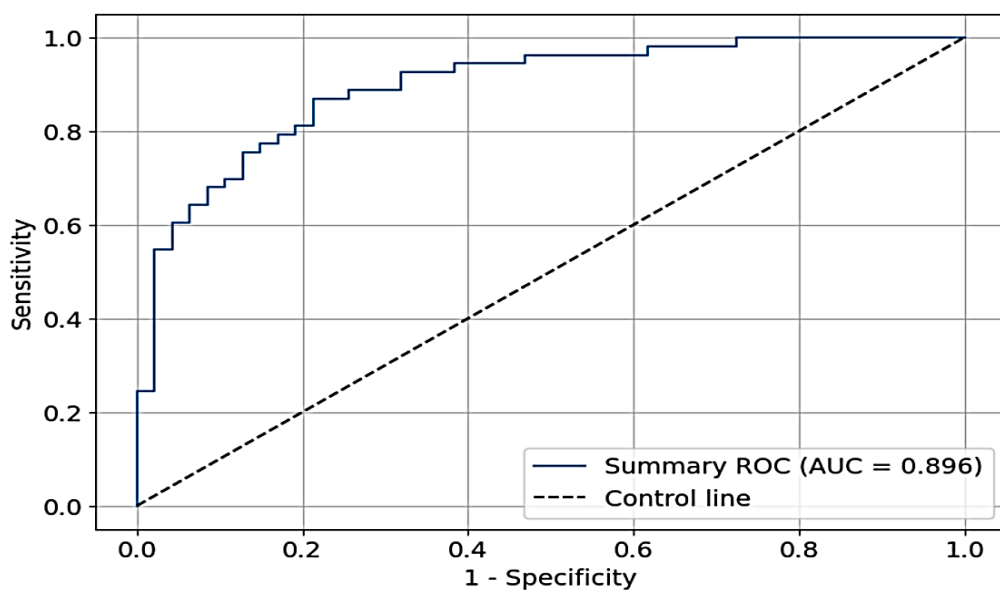


Рисунок 11 – ROC-анализ проб выдыхаемого воздуха 2 этапа при сравнении здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака легких

При проведении второго исследования, где принимались во внимание не только молекулярные данные выдыхаемого образца, отмечается незначительное улучшение показателей нейросетевой классификации в сравнении с первым исследованием, который опирался исключительно на молекулярный состав без учета других параметров.

Третье исследование проведено на модифицированной нейронной сети, где была использована двухпоточная архитектура (рисунок 12). На представленной схеме изображена обработка одной нейронной сетью выдыхаемого воздуха, «прогоняющегося» через имеющиеся в базе паттерны. Параллельно этому, анамнестические данные подаются на другую нейронную сеть, и происходит перекрестная проверка, где на выходном слое у нас имеется два значения: 0- здоров, 1-болен и на основании результатов происходит деление на две соответствующие группы (ЗНО и здоровый доброволец).

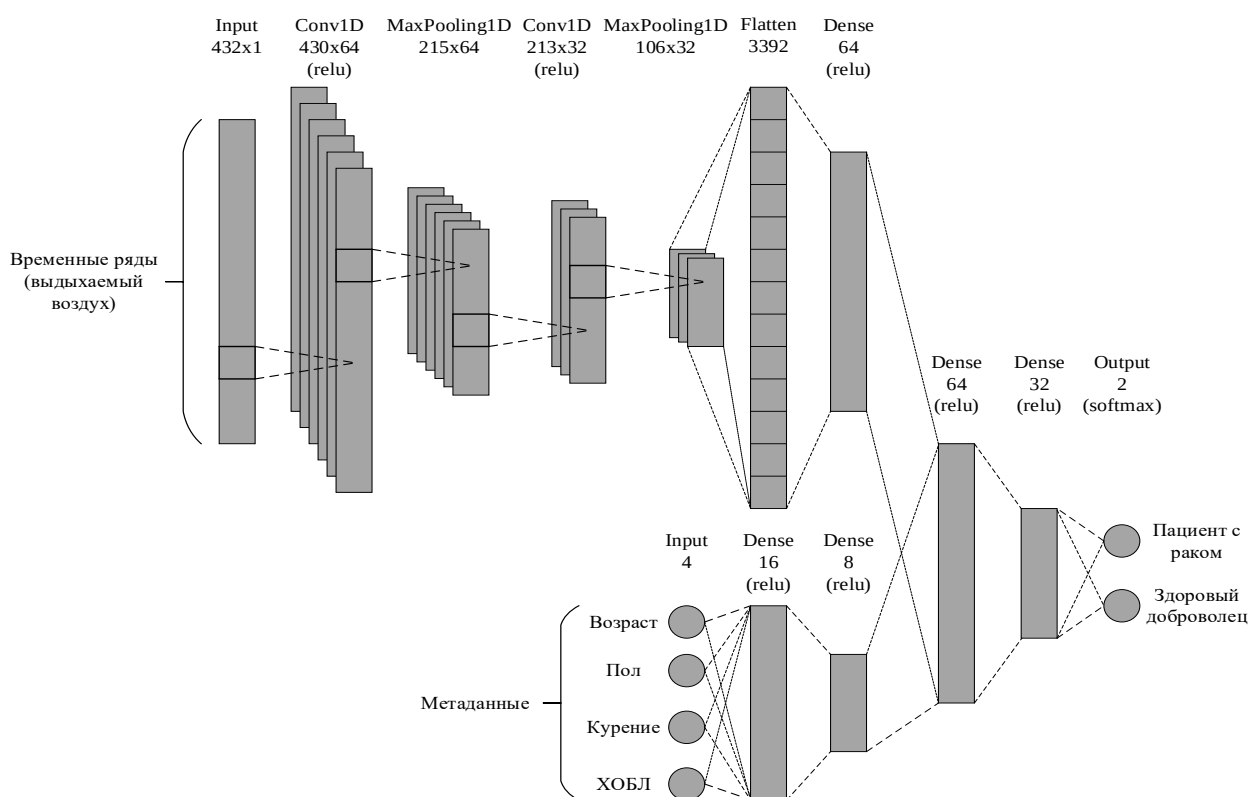


Рисунок 12 – Схема двухпоточной архитектуры нейронной сети при проведении 3 этапа для классификации проб от здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака лёгких

В ходе перекрестной проверки достигнуты следующие показатели устройства: точность составила 87,00 %, чувствительность на уровне 88,68 %, специфичность – 83,11 %. Параметр AUC-ROC в пределах 0,952 (рисунок 13). Полученные данные позволяют сделать вывод о хорошем качестве классификатора.

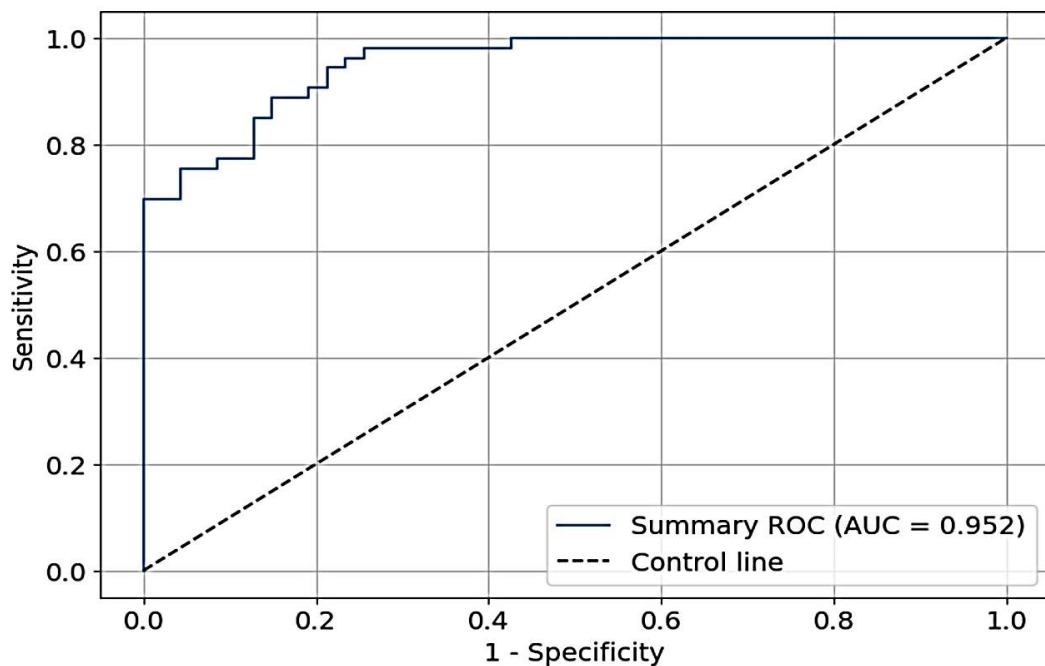


Рисунок 13 – ROC-характеристика классификатора проб 3 этапа выдыхаемого воздуха при дифференциации здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака легких

С учетом положительных результатов, достигнутых при проведении 3 этапа установлено, что учет анамнестических данных и использование двухпоточной архитектуры позволит увеличить основные параметров разработанного метода, а именно: увеличение точности в среднем на 4 %, чувствительности на 1,89 %, специфичности на 4,39 %, AUC-ROC на 0,064 (рисунок 14).

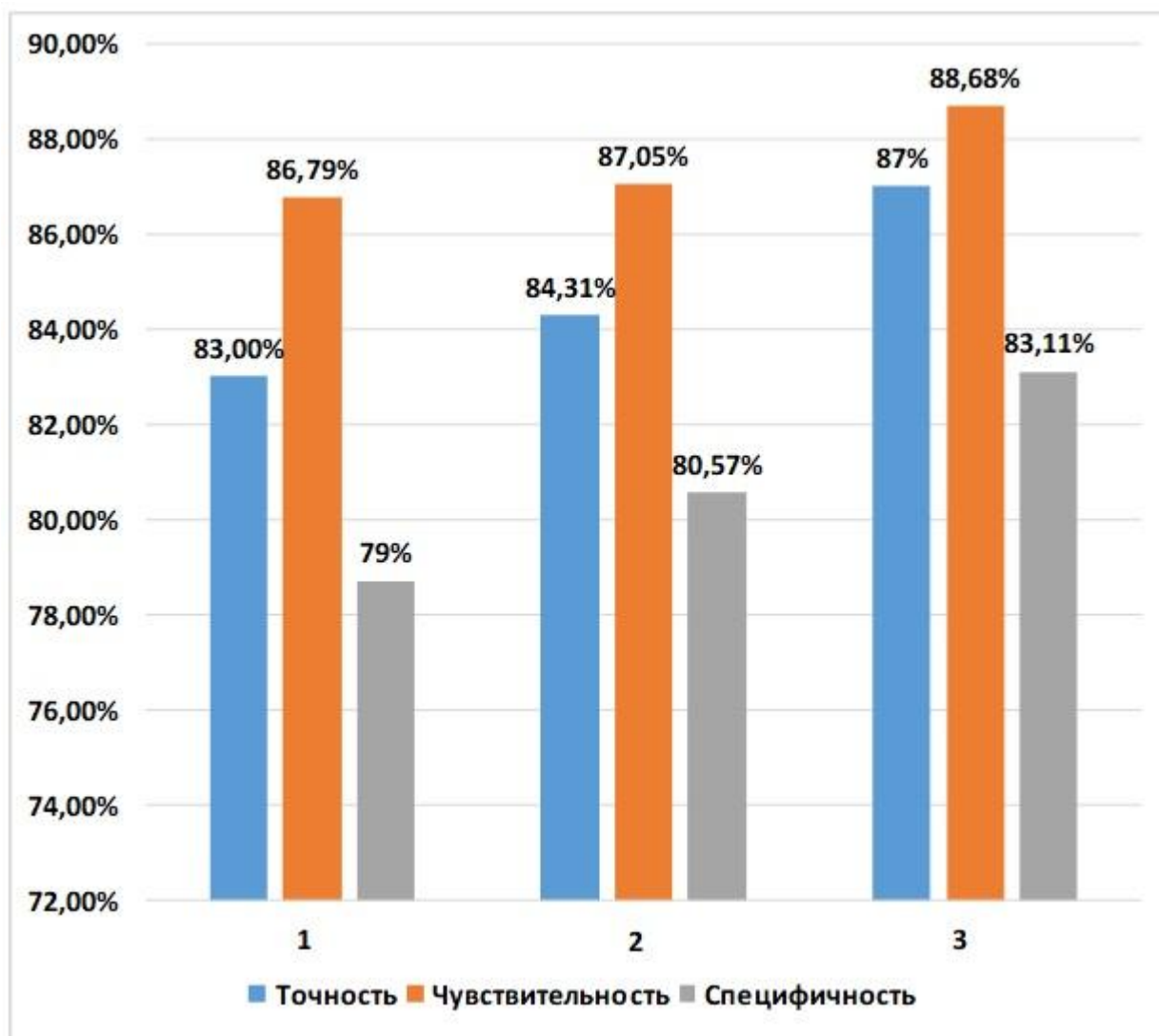


Рисунок 14 – Динамика основных параметров газоанализатора с 1 по 3 исследование

Таким образом, использование в диагностическом алгоритме анамнестических факторов (пол и возраст пациентов, курение, наличие сопутствующих заболеваний) позволило повысить точность метода (рисунок 15).

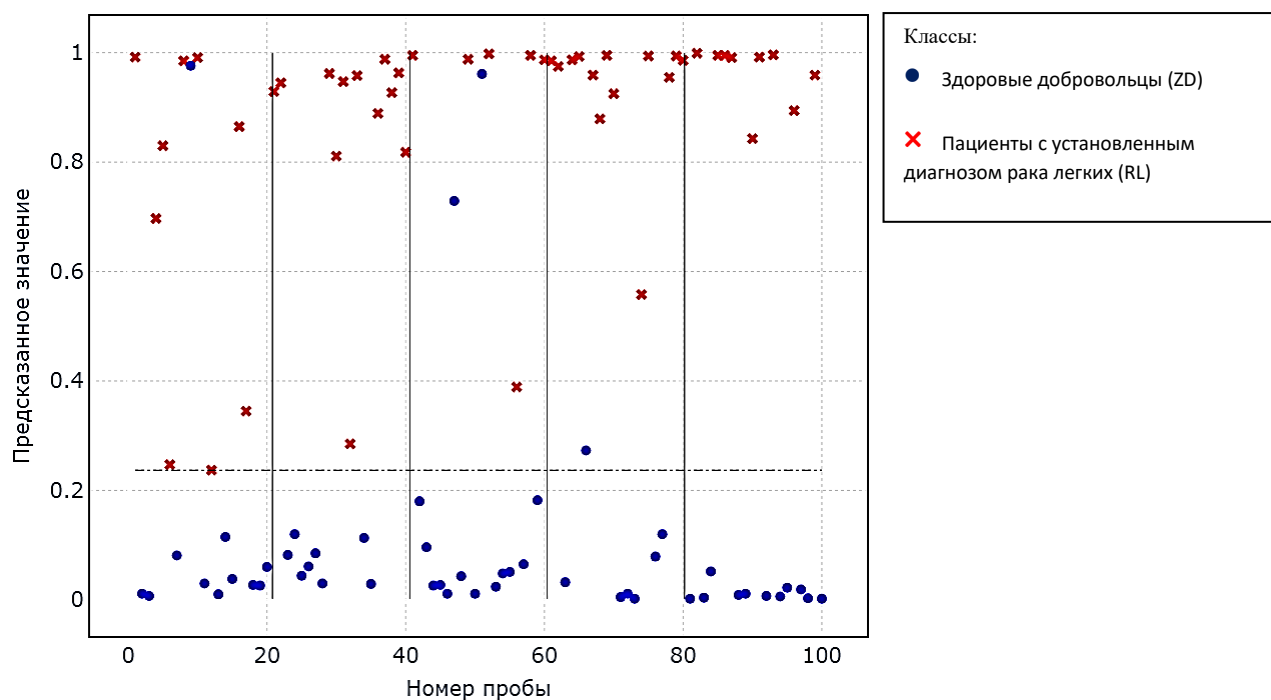


Рисунок 15 – Диаграмма распределения проб выдыхаемого воздуха от здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака легких

3.5 Оценка влияния стадии онкологического заболевания на диагностические показатели сенсорного газоаналитического комплекса

Проведены исследования влияния стадии заболевания (T1-4N0-3M0-1) на диагностические показатели сенсорного газоаналитического комплекса. При разделении группы с подтвержденным диагнозом рака легких по стадиям, согласно классификации TNM, были взяты пробы следующим образом: с I стадией – 61, II – 40, III – 33, IV – 25 (всего 159 пациентов). Из которых основную часть составляют мужчины – 106, женщины – 53.

Количество проанализированных проб у здоровых добровольцев составило – 60.

Анализ полученных данных показал, что точность, чувствительность и специфичность диагностики рака легких разработанным способом у группы пациентов с подтвержденным ЗНО легких составила 87,00 %, 88,68 % и 83,11 %, соответственно.

Пробы выдыхаемого воздуха, полученные от пациентов, были разделены на 2 подгруппы в зависимости от стадии заболевания: 101 проба отобрана у пациентов с I-II стадией, 58 проб – у пациентов с III-IV (рисунок 16).

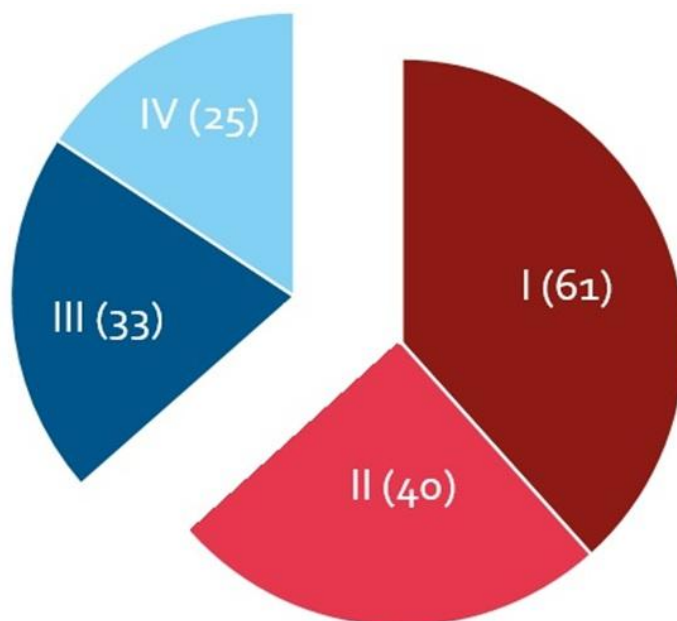


Рисунок 16 – Распределение полученных проб на 2 подгруппы согласно стадиям заболевания (I-II и III-IV)

Усредненные показатели точности, специфичности и чувствительности классификатора в серии экспериментов по дифференциации проб выдыхаемого воздуха от добровольцев без ЗНО и пациентов с диагнозом рака легких ранних (I–II) стадий составили 82,06 %, 84,24 % и 79,31 %. Значение параметра AUC соответствовало 0,925 (рисунок 17).

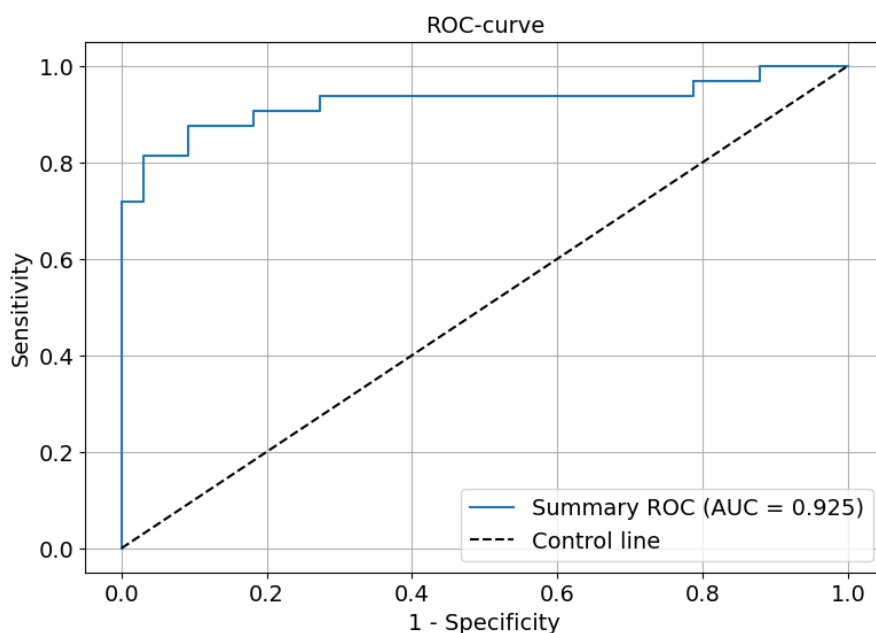


Рисунок 17 – ROC-анализ проб выдыхаемого воздуха от здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака легких ранних I–II стадий

Ниже приводится клиническое наблюдение возможности неинвазивного способа диагностики рака легкого с помощью сенсорного газоаналитического комплекса на основе молекулярной оценки состава выдыхаемого воздуха у пациента из группы I-II стадии, где была взята 101 проба, в последствии подтвержденного результатами морфологического исследования.

Клинический пример1.

Пациентка И., 61 год, была направлена в НИИ онкологии Томского НИМЦ по результатам прошедшего ежегодного профилактического осмотра, где ранее по данным ФЛГ выявлена очаговая тень до 8 мм в области верхней доли правого легкого, было рекомендовано наблюдение в динамике. Через 6 месяцев выполнена рентгенография органов грудной клетки, где отметилось увеличение образования, пациентка направлена на СКТ органов грудной клетки. Пациентка самостоятельно обратилась в НИИ онкологии, при дообследовании по данным СКТ ОГК (рисунок 18) картина периферической опухоли верхней доли правого легкого: справа в S3 субплеврально

определяется субсолидное образование 16х29мм с полоской уплотнения по типу "матового стекла", со спикурообразными тяжами в окружающую легочную ткань, уплотнена и утолщена прилежащая плевра. В средостении и корнях легких увеличенных лимфатических узлов не выявлено. Выполнена также бронхоскопия, трахеобронхиальное дерево без особенностей.

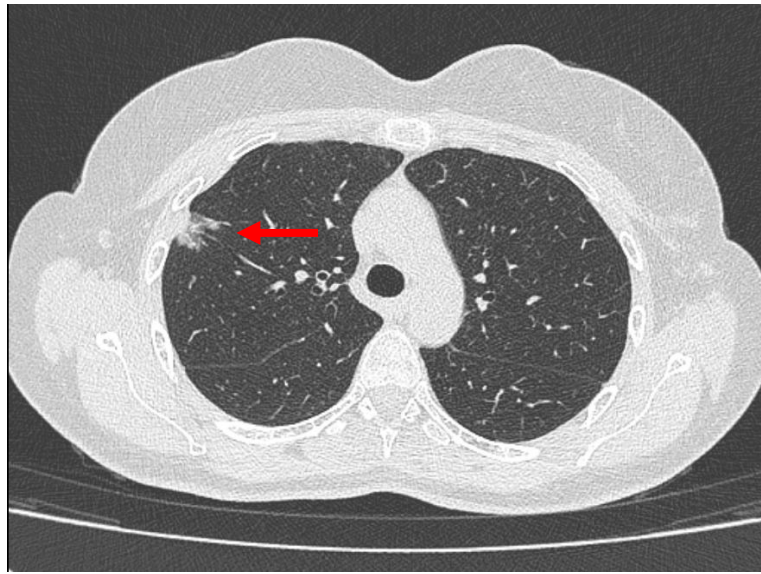
*а**б*

Рисунок 18 (а, б) – СКТ ОГК. Опухоль (показана стрелкой) располагается в проекции S3-сегмента верхней доли правого легкого, отмечаются спикурообразные тяжи в окружающую легочную ткань

На этапе дообследования пациентке выполнен забор проб выдыхаемого воздуха двукратно (подготовленная и неподготовленная пробы). Проанализировав летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе отмечено, что присутствует повышенная концентрация ЛОС, таких как: аммиак, водород, метилмеркаптан, метан, бутан в сравнении с группой здоровых добровольцев. Сравнивая полученные данные с результатами исследований, представленных в мировой литературе, и сопоставляя с клинико-рентгенологическими данными, можем предположить, что СКТ-картина в большей степени может соответствовать первичному злокачественному процессу в легких.

Пациентке в условиях стационара выполнено хирургическое лечение в объеме: торакотомия справа, атипичная резекция легкого, срочное морфологическое исследование, по результатам которого получены данные за злокачественные клетки, верхняя лобэктомия с медиастиальной ипсилатеральной лимфодиссекцией. Послеоперационный период протекал спокойно. По результатам планового морфологического исследования картина инвазивной немучинозной аденокарциномы легкого, G1 (90 % lepidic-паттерн, 10 % ацинарные структуры) с инвазией в висцеральную плевру. В препаратах границ резекции по долевого бронху и кровеносным сосудам опухолевые элементы не обнаружены. Все представленные лимфоузлы средостения без признаков метастатического поражения. Размер опухолевого узла 15x22x18 мм. pT1cN0. С учетом гистологии установлена IA3 стадия (pT1cN0M0). Далее, учитывая стадию и радикальное проведенное лечение, пациентке рекомендованы динамические контрольные обследования.

Далее в исследовании при дифференциации проб, полученных от пациентов с распространённой (III-IV) стадией рака легких и здоровых добровольцев, точность составила 89,81 %, чувствительность 91,24 %, специфичности 86,53 %. Значение параметра AUC составило 0,965 (рисунок 19).

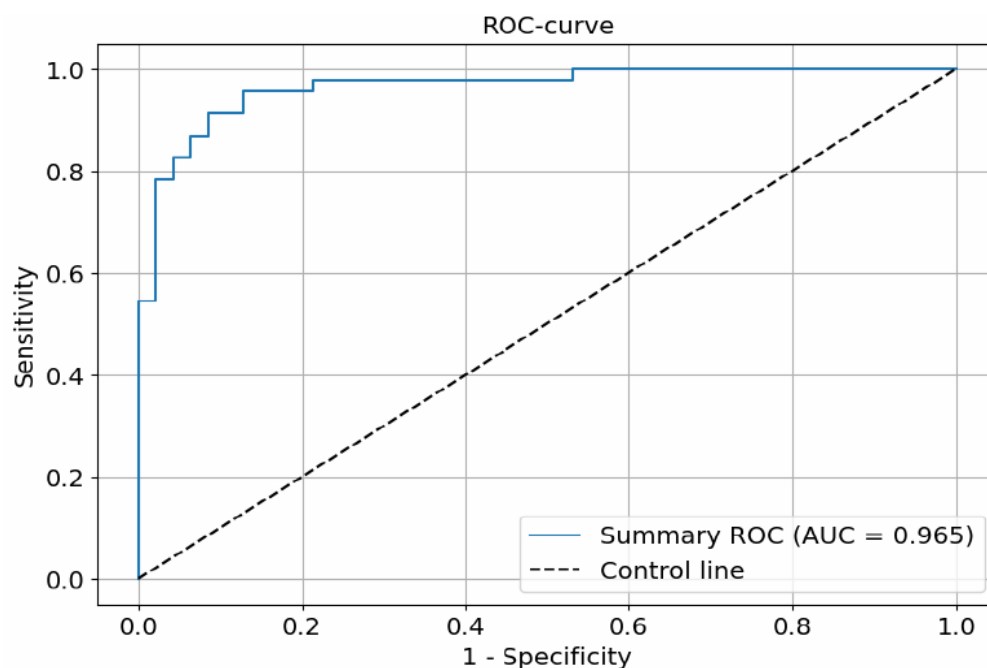


Рисунок 19 – ROC-анализ проб выдыхаемого воздуха от здоровых добровольцев и пациентов с РЛ распространённых (III-IV) стадий

При этом достоверного различия между группами пациентов I-II и III-IV стадий рака легких при определении основных параметров газоанализатора не наблюдалось ($p = 0,067$).

Ниже также представлено клиническое наблюдение неинвазивного способа диагностики рака легкого у пациента из группы III-IV стадии, который в последствии был подтвержден результатами морфологического исследования.

Клинический пример 2.

Пациент Г., 70 лет, самостоятельно обратился в НИИО ТНИМЦ с жалобами на надсадный раздражающий кашель, кровохарканье, боли в правой половине грудной клетки. Был направлен на СКТ органов грудной клетки (рисунок 20), где было выявлена периферическая опухоль верхней доли правого легкого с централизацией, поражение ВГЛУ: справа в корневой зоне S2 образование 33x42 мм, прорастающее междолевую плевру, субсегментарные бронхи S2. В средостении и корнях легких паратрахеально справа л/у 12x16мм., бронхопульмональный л/у справа до 20x16 мм.

Выполнена бронхоскопия, просвет бронха S2 сегмента справа обтурирован, представлен бугристой серой опухолевой массой, контактно кровоточащей, выполнена биопсия, по результатам которой данные за плоскоклеточный рак.

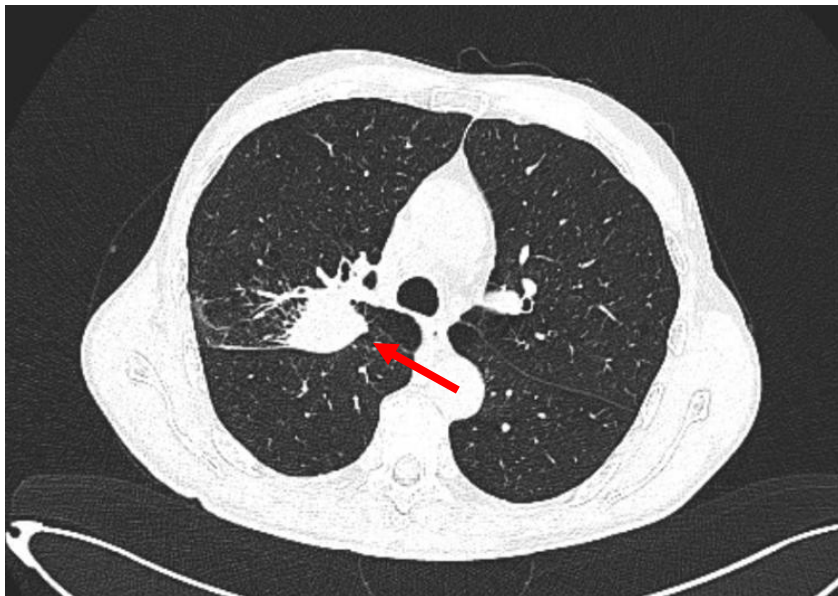
*а**б*

Рисунок 20 – СКТ ОГК. Периферическая лпухоль (показана стрелкой) с централизацией, располагается в прикорневой зоне проекции S2-сегмента верхней доли правого легкого

На этапе дообследования, до проведения бронхоскопии, пациентку выполнен забор проб выдыхаемого воздуха также двукратно Были

проанализированы летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе. Выявлена повышенная концентрация ЛОС, таких как: аммиак, водород, метилмеркаптан, метан, бутан в сравнении с группой здоровых добровольцев.

Далее пациенту в условиях отделения торакальной онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ выполнено хирургическое лечение в объеме торакотомии справа, верхней лобэктомии с краевой резекцией верхней полой вены (с учетом прилегания опухоли), медиастинальной билатеральной лимфодиссекции. Послеоперационный период протекал без особенностей. Получено гистологическое заключение: Морфологическая картина инвазивной немучинозной аденокарциномы легкого, G3. Размер опухолевого узла 45x30x30 мм. В препаратах границ резекции по бронху и сосудам опухолевые элементы не обнаружены. Флакон "2,4L" 1 л/у, "№7" - 11 л/у, "№9" - 1 л/у, "№10" - 8 л/у, "№11" - 1 л/у без метастазов; "2,4R" - 9 л/у, в 2 из 9 л/у метастазы. Перибронхиально - 3 лимфоузла без метастазов. pT2bN2. С учетом гистологии установлена IIIA стадия (pT2bN2M0). Далее пациенту с учетом N2-статуса проводилась адъювантная лекарственная противоопухолевая терапия в условиях НИИО ТНИМЦ.

Данные результаты исследований свидетельствуют о наличии возможности дифференцировать пробы выдыхаемого воздуха от пациентов с раком легких ранних (I–II) и распространённых (III–IV) стадий, основываясь только на использовании данных о составе выдыхаемого воздуха.

При анализе показателей с целью определения эффективности метода исследования по выдыхаемому образцу воздуха установлено, что имеется возможность дифференцировать пациентов с разными стадиями злокачественных новообразований легких при использовании данных только о составе выдыхаемого воздуха.

Для осуществления дифференциации пациентов с раком легких и определения групп стадий заболевания могут быть применены последовательно основной нейросетевой классификатор и дополнительный.

При этом точность дифференциации стадий заболевания может быть увеличена также за счет применения мультимодального подхода к обучению нейросетевого классификатора и увеличения количества проб в обучаемой выборке для каждого отдельного класса.

Анализ паттернов выдыхаемого воздуха, проведенный с помощью визуализации t-SNE-распределения продемонстрировал существенное различие между пробами выдыхаемого воздуха в двух классах (рисунок 21).

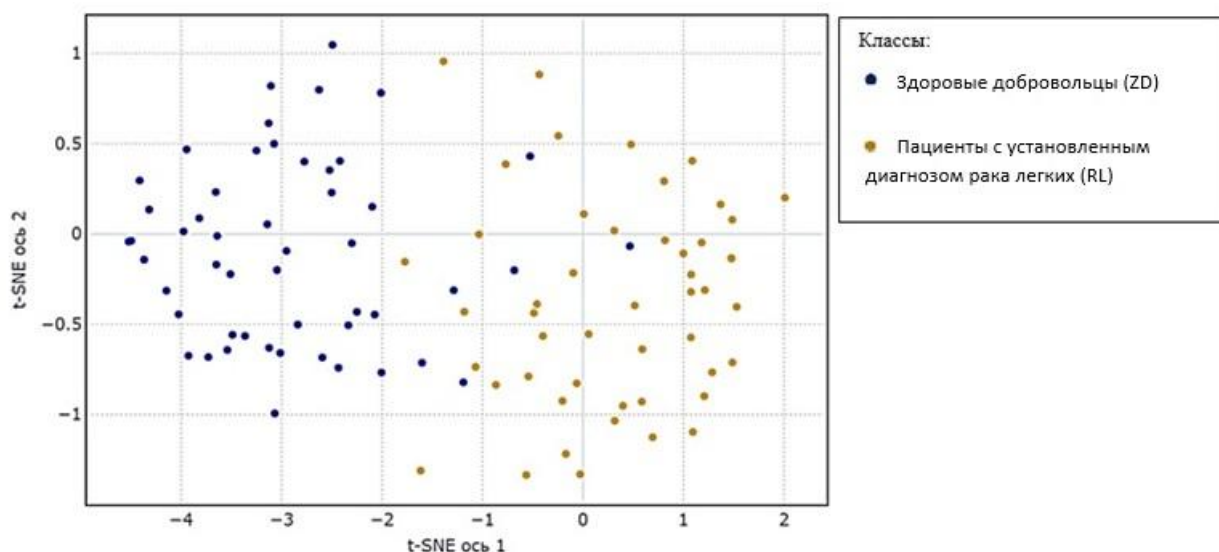


Рисунок 21 – t-SNE-визуализация проб выдыхаемого воздуха в двух классах (здоровые добровольцы (ZD) и пациенты с установленным диагнозом РЛ (RL))

Следует отметить, что усредненное значение параметра AUC по результатам исследований, проводимых с целью дифференциации подгрупп здоровых добровольцев и пациентов с онкологическими заболеваниями легких, превышало значение 0,95 (рисунок 22). Данный результат свидетельствует о существовании глобального признака дифференциации и эффективной работе нейронной сети.

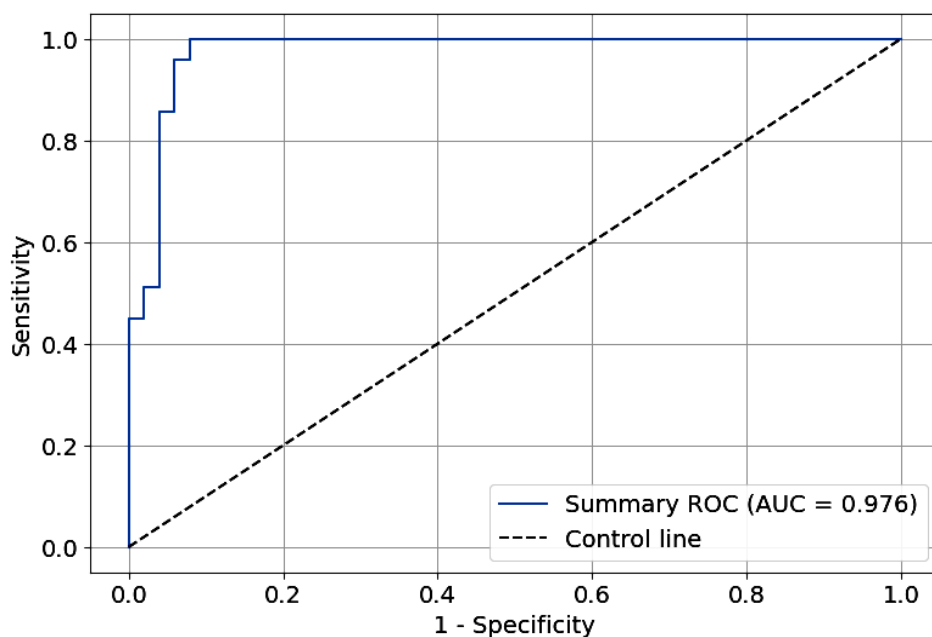


Рисунок 22 – ROC-анализ проб выдыхаемого воздуха от здоровых добровольцев и пациентов с установленным диагнозом рака легких всех стадий

Учитывая результаты исследований, можно сделать вывод, что метод диагностики рака легкого по составу выдыхаемого воздуха с учетом его точности, чувствительности и специфичности имеет высокую значимость для выявления онкологических заболеваний легких как на ранних (I–II) стадиях, где значение указанных показателей составляет 82,06 %, 84,24 % 79,31 % соответственно, так и на распространённых стадиях (III-IV), где показатели равны 89,81 %, 91,24 % и 86,53, % соответственно.

В целом, данные, полученные по результатам исследований, подтверждают перспективность и необходимость дальнейшего внедрения изучаемого нами способа в медицину. А также улучшение и дальнейшее усовершенствование не только разработанного способа, но и технических характеристик самого аппарата. Это позволит повысить как основные характеристики (точность, чувствительность, специфичность), так и эффективность выявления заболевания на ранних стадиях.

В исследовании оценивалась эффективность газоаналитического метода и искусственной нейронной сети при анализе образцов выдыхаемого

воздуха, полученных от пациентов с раком легкого всех (I-IV) стадий. Дальнейшие разработки и внедрение более чувствительных и специфичных алгоритмов искусственного интеллекта для многофакторного анализа данных, а также проведение масштабных клинических испытаний могут привести к созданию доступного и эффективного инструмента для ранней диагностики злокачественных опухолей легких, что позволит значительно улучшить прогноз и качество жизни пациентов.

3.6 Эффективность метода при исследовании группы валидации

После морфологического подтверждения диагноза, в группе пациентов с не верифицированными очаговыми образованиям легких, получены следующие результаты: количество пациентов с доброкачественными образованиями (гамартомы) составило 38; с инфекционно-воспалительными процессами в легких (пневмония, туберкулез) – 31; с метастатическим поражением легких составило 27, из которых с первичным раком легкого выявлено 8 пациентов, это те пациенты, имеющие в анамнезе онкологический диагноз (в частности колоректальный рак, рак молочной железы) и получавшие ранее лечение с последующим переводом в III клиническую группу (пациенты, завершившие радикальное лечение, переведенные на динамическое наблюдение). У данных пациентов изначально предполагалось метастатическое поражение, однако после планового морфологического исследования было получено заключение о первичном раке легкого.

В таблице 7 представлены результаты морфологической верификации пациентов из группы валидации.

Таблица 7 – Результаты морфологической верификации пациентов из группы валидации

доброкачественные новообразования (гамартомы)		38
инфекционно-воспалительные процессы (пневмония, туберкулез)		31
злокачественные новообразования	метастазы	27
	первичный рак легкого	8

Проведены исследования о попытке дифференциации проб от 96 пациентов с не верифицированными очаговыми образованиями в легких как в сравнении со здоровыми добровольцами, так и между собой. Дополнительно проведен расчет диагностических показателей сенсорного газоаналитического комплекса в указанных выше подгруппах.

Были проведены ряд исследований с целью дифференциации пациентов с «патологическим процессом в легких»-«NP», включающий в себя весь онкологический процесс (рак легкого, метастазы) и «здоровыми добровольцами»-«Р». По данным ROC-анализа получено значительное отклонение от контрольной линии (среднее значение AUC = 0,991) (рисунок 23). На основании полученных данных можно сделать вывод, что имеется существенное отличие между сравниваемыми группами. Основные показатели диагностической эффективности: точность 91,03 %, чувствительность 93,14 %, специфичность 89,21%.

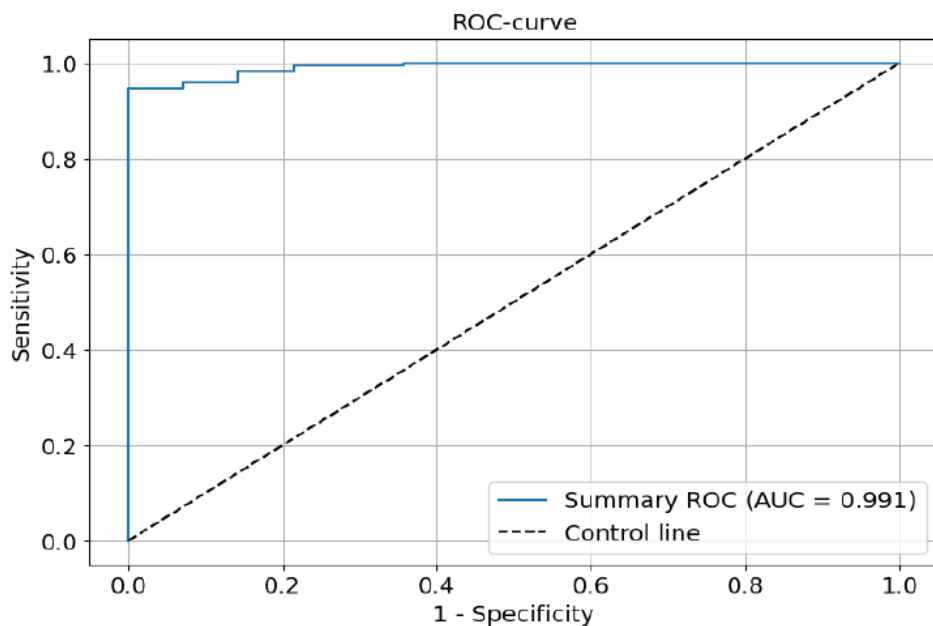


Рисунок 23 – ROC-анализ дифференциации пациентов «с онкологическим процессом»-«NP» и «здоровыми добровольцами»-«Р»

Проведен ряд исследований попытки дифференциации пациентов с доброкачественными образованиями и пациентами со злокачественным процессом в легких. По данным ROC-анализа, значение AUC составило 0,520 (рисунок 24). Данные характеристики прибора по точности, чувствительности, специфичности: 53,07 %, 51,24 %, 57,74% соответственно.

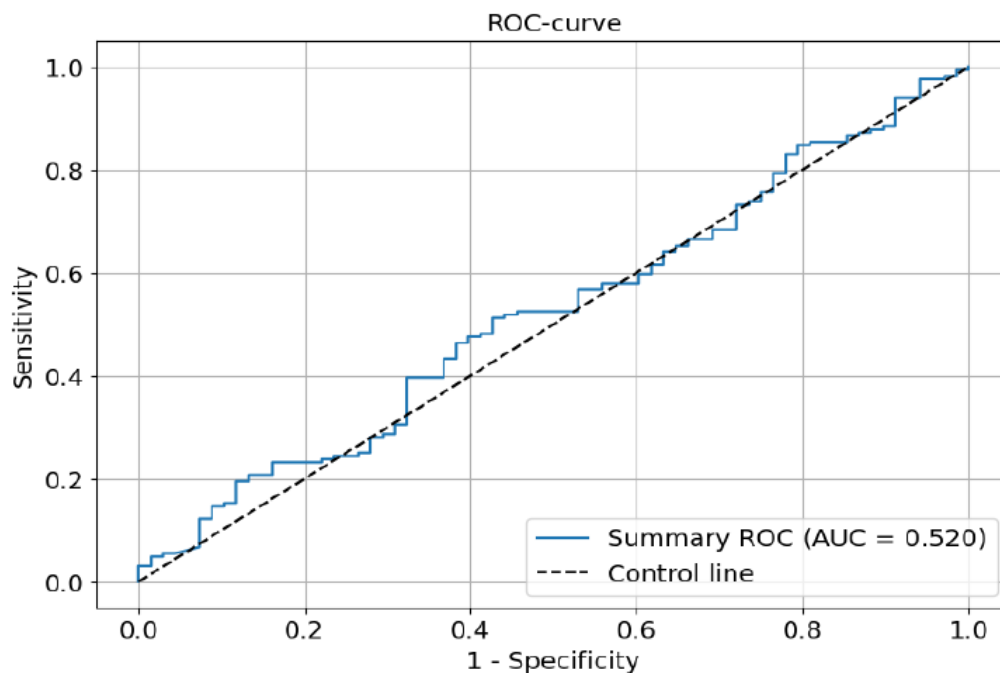


Рисунок 24 – ROC-анализ дифференциации пациентов доброкачественными образованиями легких и злокачественными

Также в рамках работы проводилась серия исследований, направленная на установления возможности различия между собой данных пациентов с раком легких, пациентов с метастазами и пациентов с доброкачественными опухолями в легких, однако по t-SNE визуализации видно, что данные указанных испытуемых между собой отличаются несущественно, при этом данные как всех больных с онкологическими заболеваниями, так и по отдельности существенно отличаются от данных здоровых добровольцев (рисунки 25, 26, 27). Это говорит о наличии общего маркера патологического процесса в легких. Индивидуализация маркера, определяющая характер патологического процесса в легочной ткани в данных экспериментах не проводилась, однако данная методика с высокой эффективностью позволяет четко дифференцировать пациентов с раком легких и здоровых добровольцев между собой, что является значимым критерием для использования данной методики в качестве диагностики, особенно для групп высокого риска.

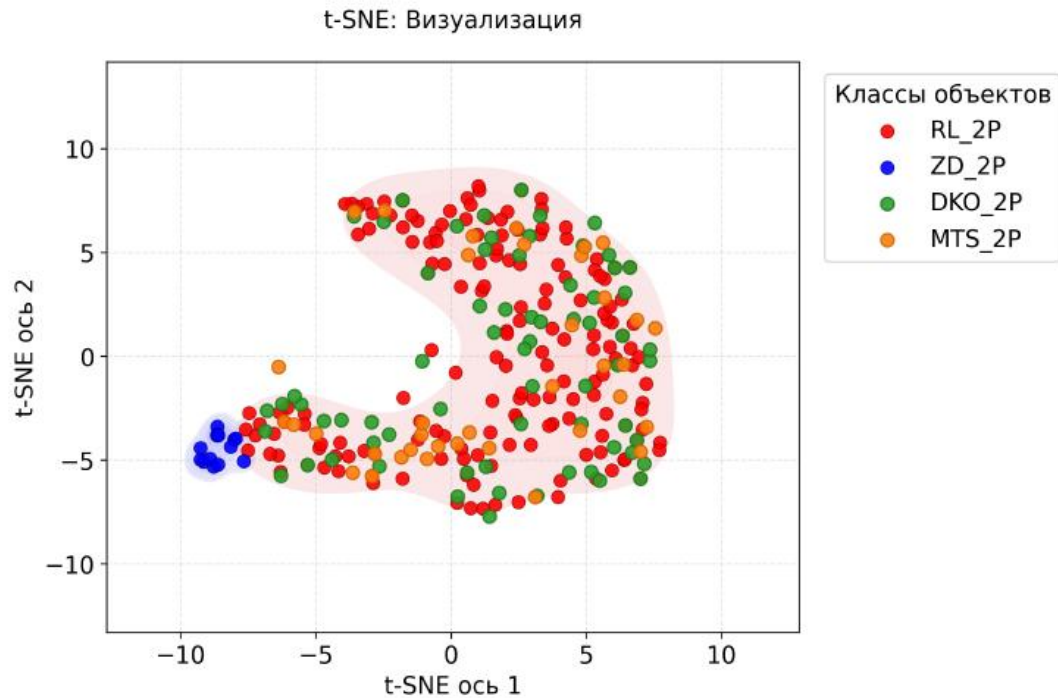


Рисунок 25 – Диаграмма распределения с помощью t-SNE визуализации между пациентами с доброкачественными образованиями в легких (DKO_2P), раком легкого (RL_2), метастатическим процессом в легких (MTS_2P) и здоровых добровольцах (ZD_2P)

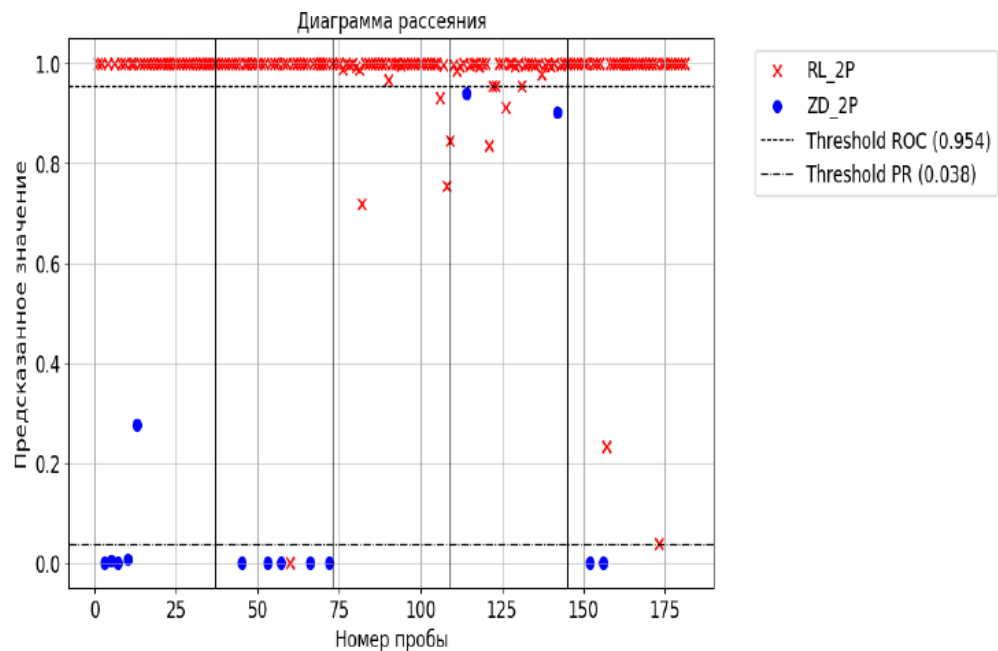


Рисунок 26 – Диаграмма распределения перекрестной проверки здоровых добровольцев (ZD_2) и пациентов со злокачественным поражением легких (RL_2)

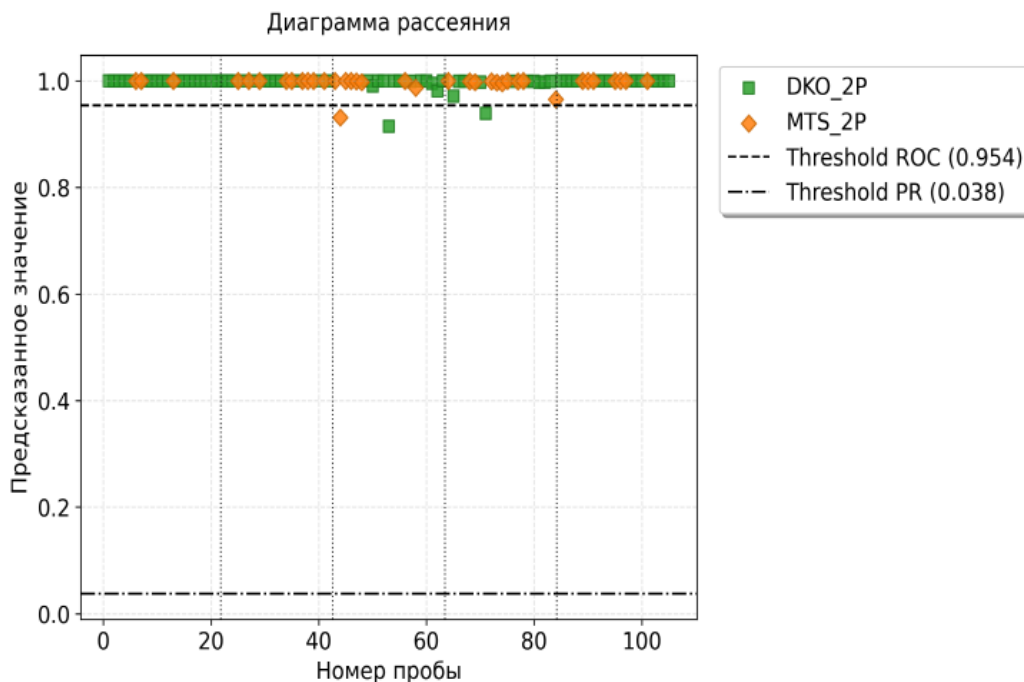


Рисунок 27 – Диаграмма распределения перекрестной пациентов с доброкачественными образованиями в легких (DKO_2P) и злокачественными процессами (MTS_2P)

Подводя итоги, в диагностическом потоке мы сможем отличить здорового пациента от больного с патологией легких. Если пациент попадает в группу с патологией, то следующим этапом ему предстоит проведение классических рентгенологических методов. Для здоровых – рисков не обнаружено.

Пациенты с различной патологией легких в будущем могут быть отличимы. По данным представленным на рисунке 28, имеется тенденция к более четкому выделению ядер. На данном этапе сравнения, количество пациентов для исследования очень мало, но даже на такой маленькой выборке мы видим тенденцию к различию классов, которая при увеличении выборки даст нам большую сосредоточенность ядер классификации.

В таблице 8 представлены окончательные результаты параметров прибора при сравнении здоровых добровольцев и пациентов со злокачественными новообразованиями легких, а также параметры сравнения

здоровых добровольцев и пациентов с доброкачественными образованиями легких.

Таблица 8 – Основные параметры газоанализатора при дифференциации со здоровыми добровольцами

	Точность	Чувствительность	Специфичность	AUC
ЗНО (РЛ, метастазы)	91,03 %	93,14 %	89,21 %	0,991
Доброкачественные процессы	70,72 %	51,20 %	57,74 %	0,735

Идея проводить анализ выдыхаемого воздуха для диагностики заболеваний основана на том, что метаболические процессы в опухолевых клетках приводят к изменениям состава газовой смеси, которые могут обнаружены и распознаны. Изменения в выдыхаемом воздухе могут являться биомаркерами наличия рака легких, который может определяться путем измерения концентрации специфических летучих органических соединений у пациента. Эти изменения могут проявляться в виде специфических летучих органических соединений, изменение концентрации которых в ту или иную сторону в выдыхаемом воздухе может служить биомаркером наличия рака легких.

Необходимость разработки новых неинвазивных и при этом высокоэффективных методов диагностики рака легкого является одной из ключевых задач современной онкологии. Традиционные методы, такие как рентгенография и компьютерная томография, зачастую выявляют опухоли на поздних стадиях, что снижает шансы на успешное лечение. В этом контексте, исследование потенциала сенсорных газоаналитических комплексов для раннего выявления рака легкого приобретает особую актуальность.

Ключевым этапом в разработке методики является валидация. Это подразумевает проведение масштабных клинических исследований с

участием значительного числа пациентов с подтвержденным раком легкого и здоровых лиц. Необходимо разработать стандартизированные протоколы сбора и анализа проб воздуха, выстроить алгоритмы для обработки получаемых данных, которые обладали бы высокой точностью, чувствительностью и специфичностью и смогли безошибочно распознавать больных пациентов от здоровых. Полагается, что данная методика использования сенсорного газоаналитического комплекса, разработанная по результатам исследования, должна быть включена в клиническую практику, обеспечивая доступность для широкого круга медицинских учреждений. Такая инновационная технология диагностики рака легкого, обладающая потенциалом раннего выявления, может стать мощным инструментом в борьбе с этим заболеванием, повышая выживаемость и качество жизни пациентов.

Разработка методики использования сенсорного газоаналитического комплекса для диагностики рака легкого представляет собой комплексную задачу, требующую междисциплинарного подхода. Клиническая значимость ранней и точной диагностики рака легкого неоспорима, поскольку она напрямую влияет на выбор стратегии лечения и прогноз заболевания. Существующие методы, включающие в себя различные варианты лучевой диагностики, обладают своими преимуществами, но также имеют ограничения, включая лучевую нагрузку и возможность ложноотрицательных результатов на ранних стадиях.

Сенсорные газоаналитические комплексы, анализирующие состав выдыхаемого воздуха, открывают новые перспективы в неинвазивной диагностике. Они основаны на принципе обнаружения летучих органических соединений, которые могут служить биомаркерами различных патологических состояний, включая рак легкого. Изменения метаболизма в опухолевых клетках приводят к высвобождению специфических ЛОС, которые затем обнаруживаются в выдыхаемом воздухе. Разработка чувствительных и селективных сенсоров, способных детектировать эти

соединения на низких концентрациях, является ключевым этапом в создании эффективной диагностической системы.

Сравнение результатов газоаналитического исследования с данными золотых стандартов диагностики позволяет оценить чувствительность, специфичность, прогностическую ценность положительного и отрицательного результатов, а также общую точность разработанной методики.

Проведенные исследования свидетельствуют о перспективности использования сенсорных газоаналитических комплексов в диагностике рака легкого, однако требуется дальнейшее расширение исследований для полной валидации и внедрения в клиническую практику.

Сегодня ключевым и важным моментом в онкологии остается точная диагностика неverified образований, в том числе образований бронхолегочной системы. Своевременное и надежное определение природы этих образований критически важно для выбора оптимальной тактики лечения и прогноза заболевания. Традиционные методы, несмотря на их значимость, зачастую имеют определенные ограничения, связанные с инвазивностью, лучевой нагрузкой или недостаточной специфичностью на ранних стадиях. Приобретает особую актуальность совершенствование и внедрение новых, более эффективных и менее травматичных диагностических подходов.

Анализ данных, полученных с помощью газоанализатора, в сочетании с результатами других диагностических процедур, позволяет повысить достоверность диагноза, уменьшить количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов. Это позволит раньше начать специфическую терапию и за счет этого улучшить исход лечения пациентов.

Стоит отметить, что данный метод диагностики, особенно неverified новообразований в легких позволит избежать инвазивных манипуляций, что сделает диагностику более комфортной и

безопасной для пациента. Тем самым, метод имеет значительный потенциал для диагностики и раннего выявления патологических процессов. Диагностируемое наличие определенных комбинаций ЛОС, в частности присутствие: аммиака, триметиламина, метилмеркаптана, сероводорода, пропана, метана, бутана – с высокой степенью вероятности указывало на злокачественный характер новообразования, отличая его от доброкачественных.

Результаты исследования продемонстрировали, что применение данного метода диагностики демонстрирует высокую чувствительность и специфичность. Это позволяет не только дифференцировать злокачественные опухоли от других патологий, но также имеет потенциал использования для оценки активности опухолевого роста и эффективности проводимой терапии.

Таким образом, сенсорный газоаналитический комплекс является перспективным инструментом в арсенале врачей, а его внедрение в клиническую практику позволит существенно улучшить качество диагностики заболеваний бронхолегочной системы, особенно на ранних стадиях, когда не верифицированные образования требуют тщательного и точного определения. Дальнейшие исследования и стандартизация методики позволят раскрыть весь потенциал данного метода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак легкого из года в год занимает лидирующее место среди самых распространенных злокачественных опухолей в мире, обладающих высокой заболеваемостью и смертностью.

Использование традиционных методов диагностики не всегда может быть доступно населению в связи с отсутствием должного медицинского оборудования в лечебных учреждениях, дороговизны исследований, длительных очередей, приводящих к нежеланию населения тратить большое количество времени и средств на диагностику маловероятного заболевания.

С целью проведения скрининга, низкодозная компьютерная томография (НДКТ) показывает хорошие результаты и является эффективным методом в большей степени для групп высокого риска. Следует учитывать, что ее применение в рутинной практике для всех пациентов связано с высокой стоимостью и нередко избыточной диагностикой с высокой частотой ложноположительных результатов, а также получением дозы облучения.

В последнее время в медицину активно пытается внедриться волатоломика. Наука, занимающаяся изучением выделяемых органических соединений биологической системой, которые обнаруживаются из-за связывания их со специфическими датчиками, вызывающими измеряемый электрический отклик. При раке легкого происходит диффузия ЛОС, выделяемых опухолью в альвеолярный воздух, что позволяет их обнаружить. Данные летучие органические соединения являются своего рода биомаркерами, которые могут быть обнаружены не только в выдыхаемом воздухе, но и других биологических жидкостях, таких как: кровь, моча, пот. Обнаружение этих биомаркеров может способствовать сокращению времени для постановки диагноза или выявления пациентов с повышенным риском.

Не инвазивный метод, базирующийся на основе полупроводниковых сенсоров, сочетающий в себе набор газовых датчиков и автоматических

методов анализа информации может быть принят во внимание за счет ряда плюсов, таких как: дешевизна оборудования, высокая мобильность, исключение человеческого фактора за счет использования нейронной сети, как следствие, отсутствие необходимости привлечения высококвалифицированного медицинского персонала, и высокая скорость обработки информации нейросетью, что позволяет в кратчайшие сроки получить представление о заболевании.

В этой связи актуальным является разработка новых неинвазивных диагностических методов диагностики, позволяющих заподозрить и распознать злокачественные новообразования бронхолегочной системы на ранних стадиях, т.к. прогноз без рецидивной и общей выживаемости данных пациентов имеет прямую зависимость от стадии.

В исследовании были проанализированы 255 проб выдыхаемого воздуха больных, имеющих патологические образования в легких. Все больные проходили лечение в отделении торакальной онкологии Томского НИМЦ. Усредненный возраст пациентов составил 63,1 лет (95 % ДИ 59,8-66,4 лет).

У всех больных до начала проведения специализированного лечения проводился двукратный забор выдыхаемого воздуха с «подготовкой» и без. Далее с помощью сенсорного газоаналитического комплекса проводился молекулярный анализ состава выдыхаемого воздуха пациентов.

В проводимом исследовании возможности классификации проб выдыхаемого воздуха от «неподготовленных» и «подготовленных» пациентов с патологией легких были получены результаты, показывающие отсутствие значительного обобщенного отличительного признака в пробах выдыхаемого воздуха от подготовленных и неподготовленных пациентов для каждой из рассматриваемых нозологий и соответствие характеристик классификатора равновероятному предопределению. Среднее значение параметра AUC составило 0,621. График ROC-кривой стремится к

контрольной линии, что указывает на отсутствие обобщенного отличительного признака между классами.

В ходе исследований по оценке возможности классификации проб выдыхаемого воздуха от пациентов со злокачественным поражением легких всех стадий и здоровых добровольцев значение достигнутой точности нейросетевого классификатора составила 83,00 %, чувствительность – 86,79 %, специфичность – 78,72 %. Полученные результаты определяют перспективу дальнейшего развития и широкого применения метода предварительной диагностики в медицинской практике.

Поиск отдельных биомаркеров злокачественных новообразований с их количественной оценкой является комплексным процессом, результаты которого сложно поддаются верификации. В ходе проекта решалась задача выявления возможных биомаркеров рассматриваемых онкологических заболеваний путем решения обратной задачи. Наибольший вклад сенсора в дифференциацию определялся для случая, когда он показывает максимальный уровень среднего положительного снижения уверенности при обнулении сенсора на входе нейронной сети.

В рамках исследования, большой вклад для различия здоровых добровольцев и пациентов с установленным раком легких внесли следующие сенсоры: 19, 8, 14, 21 и 24. Состав сенсоров следующий: MQ137, MQ8, TGS2603, MP-5 и TGS2610 соответственно. Указанные сенсоры обладают чувствительностью к газам, которые согласуются с данными приведёнными в литературных источниках, где кетоны, спирты, альдегиды представлены основными биомаркерами рака легкого. Результаты исследования также показывают, что концентрация аммиака может являться одиночным биомаркером немелкоклеточного рака легких. Для обеспечения высокого уровня достоверности экспериментов по определению маркеров заболеваний в среднем требуется количество верифицированных и уравновешенных для классов проб для здоровых добровольцев и пациентов 100 штук для каждого класса. Однозначно утверждать, что данные биомаркеры могут

свидетельствовать о 100 % онкологической патологии легких нельзя, однако полученные результаты высокой концентрации вышеуказанных летучих органических веществ, согласно данным мировой литературы, хорошо согласуются с полученными нами результатами исследований.

В исследовании оценки влияния стадии заболевания (T1-4N0-3M0-1), локализации исследуемых опухолевых нозологий и ряда других показателей (пол и возраст пациентов, факт курения, наличие сопутствующих заболеваний) на диагностические показатели сенсорного газоаналитического комплекса, проводилась оценка возможности метода диагностики на основе анализа выдыхаемого воздуха классифицировать пациентов с ЗНО легких на раннюю (I–II) и позднюю (III–IV) стадии, здоровых. Значение достигнутой точности нейросетевого классификатора по результатам серии выполненных исследований по дифференциации указывает на наличие признака дифференциации проб. Установлено, что полученные пробы здоровых добровольцев довольно четко отличаются от проб пациентов, с установленным диагнозом рака легких вне зависимости от стадии. При этом было показано, что метод диагностики немелкоклеточного рака легкого по составу выдыхаемого воздуха обладает высокой диагностической значимостью как для выявления ранних (I–II) стадий (точность - 82,06%, чувствительность - 84,24 %, специфичность - 79,31 %), так и распространенных (III-IV) стадий (точность – 89,81 %, чувствительность – 91,24 %, специфичность – 86,53 %).

Эти результаты указывают на наличие признака дифференциации пациентов с ЗНО легких с разными стадиями заболевания и на возможность повышения точности их дальнейшей классификации с учетом дополнительных клинических данных. Предварительные исследования с применением мультимодального подхода к обучению нейронной сети показали, использование дополнительных данных анамнеза и двухпоточной архитектуры нейронной сети позволяет в среднем на 4 % увеличить такую характеристику аппарата, как точность.

Разработанное устройство демонстрирует высокую точность классификации, не только в случаях применения данных о выдыхаемом воздухе, но и их мультимодальной интеграции с клиническими данными, определяющими факторы риска.

В результате исследования влияния пола, возраста, факта курения и наличия дополнительных заболеваний у пациентов с ЗНО легких на их дифференциацию по выдыхаемому воздуху выявлено, что классификации поддаются пробы выдыхаемого воздуха от курящих и некурящих пациентов. Точность классификации составляет в среднем 67 % при значении параметра AUC-ROC 0,660. В дальнейшем при исследовании и синтезе нейросетевого классификатора для дифференциации пациентов с ЗНО и здоровых добровольцев и применения метода диагностики по выдыхаемому воздуху в медицинских приборах необходимо при обучении нейронной сети уравнивать количество проб от курящих и некурящих людей внутри и между дифференцируемыми классами. Это позволит повысить достоверность результатов исследований, направленных на определение показателей эффективности метода диагностики.

Результаты исследований подтверждают наличие обобщенного признака дифференциации выдыхаемого воздуха от здоровых добровольцев и пациентов с немелкоклеточным раком легких. Сравнительный анализ архитектур показал, что сверточная нейронная сеть (CNN) демонстрирует большую эффективность за счет способности выявлять общие сигнатуры в сигналах с сенсоров с помощью ядер свёртки, что особенно эффективно при анализе временных рядов термоциклирования.

Показатели эффективности диагностического метода по выдыхаемому воздуху продемонстрировали уровни 87,00 % по точности, 88,68 % по показателю чувствительности и 83,11 % по специфичности. Исходя из полученных результатов, данный метод по эффективности сопоставим с применением лучевых методов исследования изучаемых заболеваний.

Предложенная нами двухпоточная архитектура, прошедшая обучение на данных, определяющих факторы риска заболевания, позволяет достичь высокой обобщающей способности модели. Благодаря этому газовый комплекс демонстрирует высокий потенциал использования в качестве экспресс-диагностики или диагностики заболеваний дыхательной системы.

Для валидации методики были проведены исследования по дифференциации следующим пациентам: с «патологическим процессом в легких»-«NP», в который входят рак легкого, так и метастатические процессы в легких и «здоровыми добровольцами»-«P». График ROC-кривой демонстрирует значительное отклонение от контрольной линии (среднее значение параметра AUC составило 0,991). Это свидетельствует о существенной дифференциации отличительного признака различия классов. Получены результаты точности 91,03 %, чувствительности 93,14 %, специфичности 89,21 %. На основании анализа экспериментальных данных можно заключить, что предлагаемый метод на базе газоаналитического комплекса расширяет диагностические возможности при выявлении опухолевых заболеваний дыхательной системы.

Анализ газового состава выдыхаемого воздуха является перспективной областью исследования в онкодиагностике, особенно в части улучшения и развития для выявления ранних стадий опухолевого процесса. Дальнейшие разработки и внедрение более чувствительных и специфичных алгоритмов обработки данных, применение искусственного интеллекта для многофакторного анализа данных, а также проведение масштабных клинических испытаний могут привести к созданию доступного и эффективного инструмента для ранней диагностики злокачественных опухолей дыхательных путей. Это позволит значительно улучшить прогноз и качество жизни пациентов.

Интересным и перспективным направлением дальнейшего клинического применения предлагаемого метода является мониторинг проводимого противоопухолевого лечения и последующего наблюдения

онкологических больных. Так, изменение показателей газового состава выдыхаемой воздушной смеси пациентом во время лечения может указывать на эффективность терапии за счет уменьшения опухолевой массы (размера опухоли). Это может внести вклад в разработку более персонализированных и адаптивных стратегий противоопухолевого лечения.

Применение метода диагностики с применением газоаналитического комплекса представляется целесообразным как на догоспитальном этапе, так и в условиях специализированных медицинских учреждений. Ключевыми достоинствами предлагаемого подхода являются простота эксплуатации, неинвазивность процедуры, высокая скорость получения результатов и отсутствие необходимости в сложной подготовке пациента.

Важной особенностью разработанного метода является исключение влияния человеческого фактора на конечный результат. Благодаря автоматизированной обработке данных и объективным критериям оценки концентрации газовых маркеров, вероятность субъективной ошибки минимальна.

При проведении исследований применение газоаналитического комплекса у пациентов с подозрением на онкологическую патологию дыхательных путей позволило в ряде случаев подтвердить диагноз уже на догоспитальном этапе. Это обстоятельство имеет важное значение с практической точки зрения, поскольку способствует сокращению сроков обследования, рациональному использованию диагностических ресурсов и минимизации необходимости проведения дорогостоящих или инвазивных процедур. У ряда пациентов использование данного метода способствовало исключению онкологического процесса (выявлялись воспалительные или инфекционные заболевания легких, или доброкачественные новообразования разных локализаций), что позволило избежать избыточного диагностического вмешательства.

Достигнутые результаты проекта способствуют решению проблемы социальной важности – создания научно-технических основ построения

диагностических комплексов, обеспечивающих возможность реализации методики диагностики злокачественных новообразований дыхательных путей с применением методов искусственного интеллекта для поддержки принятия решения при постановке диагноза.

Особое значение имеет возможность реализации концепции point-of-care testing (POCT) – проведения экспресс-диагностики непосредственно в месте оказания медицинской помощи. Размещение портативных газоанализаторов в клиниках различного уровня, в амбулаторных и стационарных подразделениях позволит получить диагностические результаты в кратчайшие сроки, что существенно повысит оперативность медицинского реагирования.

Потенциальными потребителями разработанной технологии и газоаналитического комплекса являются как медицинские учебные заведения, так и медицинские лечебно-диагностические учреждения разного уровня. Комплекс также может применяться для решения задач персонализированной медицины, в том числе для контроля эффективности процесса терапии. Сенсорный газоаналитический комплекс однозначно расширяет возможности диагностики онкологических и воспалительных заболеваний органов дыхательной системы как на догоспитальном этапе, так и в условиях стационара.

Измерение уровня летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе считается одним из простых, надежных и неинвазивных способов контроля молекулярных изменений состава выдыхаемого воздуха, позволяющее не только верифицировать диагноз, но и высоко коррелировать со степенью воспалительных изменений, что дает возможность дифференцировать характер поражения.

Проанализировав полученные результаты можно сделать вывод, что газоанализатор, наряду со сложными дорогостоящими приборами, применяемым в настоящее время для проведения диагностики данных

заболеваний, может также использоваться в диагностике заболеваний бронхолегочной системы.

Достоверность показаний и простота эксплуатации такого газоанализатора медицинским персоналом дают основание для рекомендации его внедрения в широкую медицинскую практику после проведения мультицентровых испытаний промышленных вариантов прибора.

ВЫВОДЫ

1. Определен оптимальный способ отбора проб выдыхаемого воздуха. Установлено, что курение, прием пищи и время забора проб (утро/ вечер) не влияют на диагностические показатели разработанного газоаналитического комплекса и эффективность метода ($AUC = 0,621$).
2. Основными биомаркерами в выдыхаемом воздухе, характерными для немелкоклеточного рака легкого, выявляемыми с помощью сенсорного газоаналитического комплекса, являются такие летучие органические соединения, как: аммиак, водород, триметиламин, метилмеркаптан, сероводород, пропан, метан, бутан.
3. Разработанный сенсорный газоаналитический комплекс обладает высокими диагностическими показателями при выявлении немелкоклеточного рака легкого (точность - 83,00 %, чувствительность - 86,79 % и специфичность - 78,72 %). При этом, использование в диагностическом алгоритме анамнестических факторов (пол и возраст пациентов, курение, наличие сопутствующих заболеваний) позволяет повысить диагностические показатели: точность – 87,00 %, чувствительность – 88,68 %, специфичность – 83,11 %.
4. Метод диагностики немелкоклеточного рака легкого по составу выдыхаемого воздуха обладает высокой диагностической значимостью как для выявления ранних (I–II) стадий (точность - 82,06%, чувствительность - 84,24 %, специфичность - 79,31 %), так и для местно-распространённых и метастатических (III-IV соответственно) процессов (точность – 89,81 %, чувствительность – 91,24 %, специфичность – 86,53 %).
5. Валидация метода на группе пациентов с первично злокачественными и метастатическими процессами в легких в дифференциации со здоровыми добровольцами подтвердилась высокими показателями диагностической эффективности (точность 91,03 %, чувствительность 93,14 %, специфичность 89,21 %).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью получения проб воздуха для выявления рака легкого целесообразно использовать пробоотборные мешки для забора газа, оборудованные клапаном. При этом специальной подготовки пациентов не требуется, поскольку курение, прием пищи и время забора проб выдыхаемого воздуха (утренние или дневные часы) не влияет на эффективность метода диагностики рака легкого.
2. Выявление характерных сигнальных молекулярных паттернов в выдыхаемом воздухе с помощью сенсорного газоаналитического комплекса обладает высокой эффективностью диагностики как ранних, так и поздних стадий рака легкого. Метод может быть рекомендован для использования в учреждениях здравоохранения для диагностики злокачественных новообразований легкого и для отбора пациентов на дополнительные методы обследования с целью верификации диагноза.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВГЛУ	-	Внутригрудные лимфатические узлы
ВОЗ	-	Всемирная организация здравоохранения
ГХ-МС	-	Газовая хроматография и масс-спектрометрия
ДИ	-	Доверительный интервал
ДНК	-	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖХ-МС	-	Жидкостная хроматография и масс-спектрометрия
ЗНО	-	Злокачественные новообразования
КЭ-МС	-	Капиллярный электрофорез-масс-спектрометрия
МАИР	-	Международное агентство по изучению рака
МЛР	-	Мелкоклеточный рак легкого
НДКТ	-	Низкодозная компьютерная томография
НМРЛ	-	Немелкоклеточный рак легкого
ОР	-	Относительный риск
ОС	-	Окружающая среда
РЛ	-	Рак легкого
СИП	-	Спектрометрия ионной подвижности
СКТ	-	Спиральная компьютерная томография
УЗИ	-	Ультразвуковое исследование
ФЛГ	-	Флюорография
ЭКГ	-	Электрокардиография
ЯМР	-	Ядерный магнитный резонанс
AUC	-	Area Under the ROC Curve
CARS	-	Coherent Anti-Stokes Raman
eNose	-	Электронный нос
ECOG	-	Eastern Cooperative Oncology Group
IASLC	-	The International Association for the Study of Lung Cancer
NLST	-	National Lung Screening Trial
ROC	-	Receiver Operating Characteristic analysis

SEER	-	Surveillance, Epidemiology, and End Result Program
SERS	-	Surface-enhanced Raman spectroscopy
SQL	-	Structured Query Language
TERS	-	Tip-enhanced Raman spectroscopy
TCGA	-	The Cancer Genome Atlas Program
TNM	-	Tumor, nodus, Metastasis
t-SNE	-	t-distributed stochastic neighbor embedding
UICC	-	Union for International Cancer Control

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова, Д. А. Спектрометрия ионной подвижности имидазола и возможности его определения / Д. А. Александрова, Т. Б. Меламед [и др.] // Журнал аналитической химии. – 2021. – Т. 76, № 11. – С. 989–996. – DOI: 10.31857/S0044450221110025.
2. Баюров, Л. И. Обнаружение онкологических заболеваний с помощью собак / Л. И. Баюров, К. Д. Михеева // Научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – Т. 1, № 175. – С. 1–19.
3. Долл, Р. Причины рака / Р. Долл, Р. Пито // Перевод с английского Ю. Д. Ивашенко ; под редакцией А. И. Быкореза; [послесловие А. И. Быкореза, Л. Н. Гуслицера]. – Киев: Наукова думка, 1984. – 354 с.: ил; 22 см.
4. Заридзе, Д. Г. Профилактика ассоциированных с курением форм рака: концепция снижения вреда / Д. Г. Заридзе, А. Ф. Мукерия // Практическая онкология. – 2020. – Т. 21, № 3. – С. 197–229. – DOI: 10.31917/2103197.
5. Каприн, А. Д. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – илл. – 252 с.
6. Крылов, В. В. Навигация в пространстве запахов с помощью мультисенсорного электронного носа / В. В. Крылов // Датчики и системы. – 2016. – № 6. – С. 3–13.
7. Лебедев, А. Т. Масс-спектрометрия в органической химии / А. Т. Лебедев. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – илл. – 493 с.
8. Матвейко, Н. П. Определение содержания тяжелых металлов в табаке сигарет и продуктах его сгорания / Н. П. Матвейко, А. М. Брайкова, В. В. Садовский // Вестник Белорусского государственного экономического университета. – 2014. - № 3. – С. 65–70.

9. Мерабишвили, В. М. Злокачественные новообразования в Северо–Западном федеральном округе России (заболеваемость, смертность, достоверность учета, выживаемость больных) / В. М. Мерабишвили Экспресс–информация. Выпуск шестой. Пособие для врачей / Под ред. чл.–корр. РАН, проф. А. М. Беляева.– СПб, 2023. – 498 с.
10. Мухин, Н. А. Профессиональные болезни 2-е издание / Н. А. Мухин, В. В. Косарев, С. А. Бабанов, В. В. Фомин – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 512 с.: ил.
11. Новикова, Л. Б. Аналитические возможности систем искусственного обоняния и вкуса. Часть 1 / Л. Б. Новикова, Т. А. Кучменко // «Электронные носы». Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2019. – Т. 3, № 81. – С. 236–241. – DOI: 10.20914/2310-1202-2019-3-236-241.
12. Олссон, В. Легочные канцерогены / В. Олсон // Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – Т. 1, № 9. – С. 834–834. – DOI: 10.31089/1026-9428-2019-59-9-834-835.
13. Паринов, О. В. Современные представления о радиобиологических эффектах плутония и урана (по материалам 150-й публикации МКРЗ) / О. В. Паринов, М. П. Семенова, Н. К. Шандала, А. М. [и др.] // Гигиена и санитария. – 2023. – Т. 102, № 2. – С. 175–180. – DOI: 10.47470/0016-9900-2023-102-2-175-180.
14. Родионов, Е. О. Методы ранней диагностики рака легкого (обзор литературы) / Е. О. Родионов, С. А. Тузиков, С. В. Миллер [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2020. – Т. 19, № 4. – С. 112–122. – DOI: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-112-122.
15. Серебряков, П. В. Канцерогенные факторы физической природы (краткий обзор данных международного агентства по изучению рака) / П. В. Серебряков // Гигиена труда и медицинская экология. – 2017. – Т. 56, № 3. – С. 53–54.

16. Серебряков, П. В. Алгоритм экспертизы связи злокачественных новообразований с условиями труда / П. В. Серебряков, О. П. Рушкевич // Гигиена, профпатология и риски здоровью населения. – 2016. – С. 510–521.
17. Соленова, Л. Г. Современные подходы к оценке влияния загрязнения окружающей среды на онкологический риск / Л. Г. Соленова // Успехи молекулярной онкологии. – 2020. – Т. 7, № 1. – С. 17–22. – DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-1-17-22.
18. Тимошенко, В. И. Исследование осаждения нано- и субмикронных частиц табачного дыма на дыхательные пути / В. И. Тимошенко, Н. Н. Чернов, М. А. Лупандина, О. Л. Пятакова // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – Т. 13, № 4. – С. 108–112. – DOI: 10.20538/1682-0363-2014-4-108-112.
19. Тимурзиева А. Б. Использование раман-флуоресцентных технологий в ранней диагностике воспалительных и опухолевых заболеваний как часть стратегического направления формирования общественного здоровья и инструмент для повышения качества оказания медицинской помощи: обзор литературы / А. Б. Тимурзиева // Лазерная медицина. – 2021. – Т. 25, № 4. – С. 42–50. – DOI: 10.37895/2071-8004-2021-25-4-42-50.
20. Чойнзонов, Е. Л. Эпидемиология злокачественных новообразований в административных центрах Сибирского федерального округа / Е. Л. Чойнзонов, Л. Д. Жуйкова, О. А. Ананина [и др.] // Экология человека. – 2020. – № 11. – С. 53–59. – DOI: 10.33396/1728-0869-2020-11-53-59.
21. Шахзадова, А. О. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году / А. О. Шахзадова, В. В. Старинский, И. В. Лисичникова // Сибирский онкологический журнал. – 2023. – Т. 22, № 5. – С. 5–13. – DOI: 10.21294/1814-4861-2023-22-5-5-13.
22. Ahmed, N. Metabolic Changes in Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer Patients after Surgical Resection / N. Ahmed, B. Kidane, L. Wang [et al.]

// *Cancers* (Basel). – 2021. – Vol. 13, № 12. – 17 p. – DOI: 10.3390/cancers13123012.

23. Ahmed, N. Non-invasive exploration of metabolic profile of lung cancer with Magnetic Resonance Spectroscopy and Mass Spectrometry / N. Ahmed, B. Kidane, L. Wang [et al.] // *Contemporary clinical trials communications*. – 2019. – Vol. 108, № 3. – P. e94. – DOI: 10.1016/j.conctc.2019.100445.

24. Arnold, M. J. Lung cancer screening: guidelines from the american college of chest physicians / M. J. Arnold, G. Zhang // *American Family Physician*. – 2023. – Vol. 107, № 1. – P. 100–102.

25. Baldini, C. Electronic nose as a novel method for diagnosing cancer: a systematic review / C. Baldini, L. Billeci, F. Sansone [et al.] // *Biosensors* (Basel). – 2020. – Vol. 10, № 8. – e84. – DOI: 10.3390/bios10080084.

26. Barri, T. UPLC-ESI-QTOF/MS and multivariate data analysis for blood plasma and serum metabolomics: effect of experimental artefacts and anticoagulant / T. Barri, L. Dragsted // *Analytica chimica acta*. – 2013. – Vol. 768, № 1. – P. 118–128. – DOI:10.1016/j.aca.2013.01.015.

27. Behera, B. Electronic nose: A non-invasive technology for breath analysis of diabetes and lung cancer patients / B. Behera, R. Joshi, V. Anil, [et al.] // *Journal of Breath Research*. – 2019. – Vol. 13, № 2. – DOI: 10.1088/1752-7163/aafc77.

28. Bi, H. The key points in the pre-analytical procedures of blood and urine samples in metabolomics studies / H. Bi, Z. Guo, X. Jia [et al.] // *Metabolomics*. – 2020. – Vol. 16, № 68. – DOI: 10.1007/s11306-020-01666-2.

29. Bonney, A. Impact of low-dose computed tomography (LDCT) screening on lung cancer-related mortality / A. Bonney, R. Malouf, C. Marchal [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2022. – Vol. 8, № 8. – P. CD013829. – DOI: 10.1002/14651858.CD013829.pub2.

30. Buist, H. E., Predicting blood: air partition coefficients using basic physicochemical properties / H. E. Buist, L. D. Wit-Bos, T. Bouwman, W. H. Vaes

// Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2012. – Vol. 62, № 1. – P. 23–8. – DOI: 10.1016/j.yrtph.2011.11.019.

31. Burton, C. Current Trends in Cancer Biomarker Discovery Using Urinary Metabolomics: Achievements and New Challenges / C. Burton, Y. Ma // Current medicinal chemistry. – 2019. – Vol. 24, № 1. – P. 5–28. – DOI: 10.2174/0929867324666170914102236.

32. Cai, X. A prediction model with a combination of variables for diagnosis of lung cancer / X. Cai, L. Chen, T. Kang [et al] // Medical Science Monitor. – 2017. – Vol. 25, № 23. – P. 5620–5629. DOI: 10.12659/MSM.904738.

33. Calderón-Santiago, M. Human sweat metabolomics for lung cancer screening / M. Calderón-Santiago, F. Priego-Capote, N. Turck [et al] // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2015. – Vol. 407, № 18. – P. 5381–5392. DOI: 10.1007/s00216-015-8700-8.

34. Chernov, V. I. Cancer Diagnosis by Neural Network Analysis of Data from Semiconductor Sensors / V. I. Chernov, E. L. Choyazonov, D. E. Kulbakin [et al.] // Diagnostics. – 2020. – Vol. 10, № 9. – P. 677. – DOI: 10.3390/diagnostics10090677.

35. Church, J. Another sniffer dog for the clinic? / J. Church, H. Williams // The Lancet. – 2001. – Vol. 358, Issue 9285. – P. 930.

36. Cui, S. Raman spectroscopy and imaging for cancer diagnosis / S. Cui, S. Zhang, S. Yue // Journal of Healthcare Engineering. – 2018. – Article 8619342. DOI: 10.1155/2018/8619342.

37. Dhanush Gowda, A. M. Electronic-Nose Technology for Lung Cancer Detection: A Non-Invasive Diagnostic Revolution / A. M. Dhanush Gowda, D. D. Akanksha, U. Y. Nayak // Lung. – 2025. – Vol. 203, Article number 76.

38. Dobson, R. Dogs can sniff out first signs of men's cancer. / R. Dobson // Sunday Times. – 2003. – April 27: 5.

39. Doran, S. L. F. Optimisation of sampling parameters for standardised exhaled breath sampling / S. L. F. Doran, A. Romano, G. B. Hanna // Journal of

Breath Research. – 2017. – Vol. 12, Issue 1. – P. 016007. – DOI: 10.1088/1752-7163/AA8A46.

40. Elpa, D. P. Skin Metabolomics / D. P. Elpa, H. Y. Chiu, S. P. Wu, P. L. Urban // Trends in endocrinology and metabolism. – 2021. – Vol. 32, Issue 2. – P. 66–75. – DOI: 10.1016/j.tem.2020.11.009.

41. Eun, H. P. Community of Population-Based Regional Cancer Registries. Cancer Statistics in Korea: Incidence, Mortality, Survival, and Prevalence in 2022 / H. P. Eun, J. Kyu-Won, J. P. Nam [et al.] // Cancer Research and Treatment. – 2025. – Vol. 57, № 2. – P. 312–330. – DOI: 10.4143/crt.2025.264.

42. Fraser, L. Scientists put sniffer dogs on the scent of men with cancer / L. Fraser // Sunday Telegraph, 2002. June 2.

43. Gordon, A. R. Detection of inflammation via volatile cues in human urine / A. R. Gordon, B. A. Kimball, K. Sorjonen [et al.] // Chemical Senses. – 2018. – Vol 43, № 9. – P. 711–9.

44. Gordon, S. M. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer / S. M. Gordon, J. P. Szidon, B. K. Krotoszynski [et al.] // Clinical Chemistry. – 1985. – Vol. 31, № 8. – P.1278–1282. – DOI: 10.1093/clinchem/31.8.1278.

45. Haick, H. Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers / H. Haick, Y. Y. Broza, P. Mochalski [et al.] // Chemical Society Reviews. – 2014. – Vol. 43, № 5. – P. 1423–1449. – DOI: 10.1039/c3cs60329f.

46. Han, X. X. Surface-enhanced Raman spectroscopy / X. X. Han, R. S. Rodriguez, C. L. Haynes [et al.] // Nature Reviews Methods Primers. – 2022. – Vol. 1, № 87. – P. 1–17.

47. Hanna, K. Raman spectroscopy: current applications in breast cancer diagnosis, challenges and future prospects / K. Hanna, E. Krzoska, A. M. Shaaban [et al.] // British Journal Cancer. – 2022. – Vol. 126, № 8. – P. 1125–1139.

48. Hauschild, A. C. Integrated statistical learning of metabolic ion mobility spectrometry profiles for pulmonary disease identification / A. C.

Hauschild, J. I. Baumbach, J. Baumbach // *Genetics and Molecular Research*. – 2012. – Vol. 11, № 3. – P. 2733–2744. – DOI: 10.4238/2012.July.10.17.

49. Hauschild, A. C. Peak Detection Method Evaluation for Ion Mobility Spectrometry by Using Machine Learning Approaches / A. C. Hauschild, D. Kopczynski, M. D'Addario [et al.] // *Metabolites*. – 2013. – Vol. 3, № 2. – P. 277–293. – DOI: 10.3390/metabo3020277.

50. Hiroshi, H. Exhaled breath analysis for lung cancer detection using ion mobility spectrometry / H. Hiroshi, U. Ayano, M. Sasidhar [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, №12. – P. e114555. – DOI: 10.1371/journal.pone.0114555.

51. Huang, C. H. A study of diagnostic accuracy using a chemical sensor array and a machine learning technique to detect lung cancer / C. H. Huang, C. Zeng, Y. C. Wang [et al.] // *Sensors (Basel)*. – 2018. – Vol. 18, № 9. – P. 2845. – DOI: 10.3390/s18092845.

52. Jacobsen, M. M. Timeliness of access to lung cancer diagnosis and treatment: a scoping literature review / M. M. Jacobsen, S. C. Silverstein, M. Quinn [et al.] // *Lung Cancer*. – 2017. – Vol. 112, № 14. – P. 156–164. DOI: 10.1016/j.lungcan.2017.08.011.

53. Jair, B. Long-Term Survival of Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer over Five Decades Damien Urban / B. Jair, A. Uri, A. Sarit [et al.] // *Journal of oncology*. – 2021. – Vol. 2021, Article ID 7836264. – P. 1–10. – DOI: 10.1155/2021/7836264.

54. Jia, Z. Critical Review of Volatile Organic Compound Analysis in Breath and In Vitro Cell Culture for Detection of Lung Cancer / Z. Jia, A. Patra, V. K. Kutty, T. Venkatesan // *Metabolites*. – 2019. – Vol. 9, № 3. – P. 52. – DOI: 10.3390/metabo9030052.

55. Jiang, N. Tip-enhanced Raman spectroscopy: from concepts to practical applications / N. Jiang, D. Kurouski, E. A. Pozzi [et al.] // *Chemical Physics Letter*. – 2016. – Vol. 659. – P. 16–24. – DOI: 10.1117/12.2239026.

56. Jiang, X. High-Throughput Salivary Metabolite Profiling on an Ultralow Noise Tip-Enhanced Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry

Platform for Noninvasive Diagnosis of Early Lung Cancer / X. Jiang, X. Chen, Z. Chen [et al.] // *Journal of proteome research*. – 2021. – Vol. 20, № 9. – P. 4346-4356. – DOI: 10.1021/acs.jproteome.1c00310.

57. Jones, R. R. Raman techniques: fundamentals and frontiers / R. R. Jones, D. C. Hooper, L. Zhang [et al.] // *Nanoscale Research Letters*. – 2019. – Vol. 14, № 1. – P. 231. – DOI: 10.1186/s11671-019-3039-2.

58. Katuska, I. R. Ion mobility spectrometry: The diagnostic tool of third millennium medicine / I. R. Katuska, F. Roberto // *Revista da Associacao Medica Brasileria*. – 2018. – Vol. 64, № 9. – P. 861–868. – DOI: 10.1590/1806-9282.64.09.861.

59. Kischkel, S. Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking related effects--confounding variables, influence of normalization and statistical algorithms / S. Kischkel, W. Miekisch, A. Sawacki [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2010. – Vol. 411, № 21. – P. 1637-1644. – DOI: 10.1016/j.cca.2010.06.005.

60. Kiseleva, O. Defining Blood Plasma and Serum Metabolome by GC-MS / O. Kiseleva, I. Kurbatov, E. Ilgisonis, E. Poverennaya // *Metabolites*. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 15. – DOI: 10.3390/metabo12010015.

61. Kort, S. Diagnosing non-small cell lung cancer by exhaled breath profiling using an electronic nose: a multicenter validation study / S. Kort, M. Brusse-Keizer, H. Schouwink [et al.] // *Chest*. – 2023. – Vol. 163, № 3. – P. 697–706. – DOI: 10.1016/j.chest.2022.09.042.

62. Kort, S. Multi-centre prospective study on diagnosing subtypes of lung cancer by exhaled-breath analysis / S. Kort, M. M. Tiggeloven, M. Brusse-Keizer [et al.] // *Lung Cancer*. – 2018. – Vol. 125. – P. 223–229. – DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.09.022.

63. Leblond, F. Subsecond lung cancer detection within a heterogeneous background of normal and benign tissue using single-point Raman spectroscopy / F. Leblond, F. Dallaire, T. Tran [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2023. – Vol. 28, № 9. – P. 090501. – DOI: 10.1117/1.JBO.28.9.090501.

64. Lee, M. R. Cross-site validation of lung cancer diagnosis by electronic nose with deep learning: a multicenter prospective study / M. R. Lee, M. H. Kao, Y. C. Hsieh [et al.] // *Respiratory Research*. – 2024. – Vol. 25, № 203. – 11 p. – DOI: 10.1186/s12931-024-02840-z.
65. Linda, M. O. Smoking as a risk factor for lung cancer in women and men: a systematic review and meta-analysis / M. O. Linda, T. Gemma, R. H. Rachel [et al.] // *BMJ Open*. – 2018. – Vol. 8, № 10. – P. e021611. – DOI: 10.1136/bmjopen-2018-021611.
66. Linh, V. T. N. 3D plasmonic hexaplex paper sensor for label-free human saliva sensing and machine learning-assisted early-stage lung cancer screening / V. T. N. Linh, H. Kim, M. Y. Lee [et al.] // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2024. – Vol. 244, №115779. – P. 9. – DOI: 10.1016/j.bios.2023.115779.
67. Liu, K. Label-free surface-enhanced Raman spectroscopy of serum based on multivariate statistical analysis for the diagnosis and staging of lung adenocarcinoma / K. Liu, S. Jin, Z. Song [et al.] // *Vibrational Spectroscopy*. – 2019. – Vol. 100. – P. 177–184. – DOI: 10.1016/j.vibspec.2018.12.007.
68. Ma, P. Non-invasive exhaled breath diagnostic and monitoring technologies / P. Ma, J. Li, Y. Chen [et al.] // *Microwave and Optical Technology Letters*. – 2021. – Vol. 65, № 6. – P. 1475–1488. – DOI: 10.1002/mop.33133.
69. Madaia, F. Carcinogenicity assessment: addressing the challenges of cancer and chemicals in the environment / F. Madaia, A. Worth, M. Whelan, R. Corvi // *Environment International*. – 2019. – Vol. 128. – P. 417–429. – DOI: 10.1016/j.envint.2019.04.067.
70. Mathé, E. A. Noninvasive urinary metabolomic profiling identifies diagnostic and prognostic markers in lung cancer / E. A. Mathé, A. D. Patterson, M. Haznadar [et al.] // *Cancer research*. – 2014. – Vol. 74, № 12. – P. 3259–3270. – DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0109.
71. Maysam, K. H. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Principle, Instrument, Detectors, and Combining Mass Spectrometers with other

Techniques / K. H. Maysam, F. K. J. Weam, N. T. Zahraa, M. H. Lamia // Journal of Current Medical Research and Opinion. – 2019. – Vol. 07, Issue 06. – P. 2896–2908. – DOI: 10.52845/CMRO/2024/7-6-27.

72. Moitra, S. Metabolomics of Respiratory Diseases / S. Moitra, A. Bandyopadhyay, P. Lacy // Handbook of experimental pharmacology. – 2023. – Vol. 277. – P. 339–365. – DOI: 10.1007/164_2022_614.

73. National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results program / SEER*Stat Database // Bethesda, MD: National Cancer Institute. – 2021. – <https://seer.cancer.gov>

74. Nikita, S. Raman spectroscopy in the detection and diagnosis of lung cancer: a meta-analysis / S. Nikita, R. Sowndarya, N. Hemanth [et al.] // Lasers in Medical Science. – 2025. – Vol. 40, № 1. – P. 164. – DOI: 10.1007/s10103-025-04421-y.

75. Peled, N. An update on the use of exhaled breath analysis for the early detection of lung cancer / N. Peled, V. Fuchs, E. H. Kestenbaum [et al.] // Lung Cancer Targets Therapy. – 2021. – Vol. 12. – P. 81–92. – DOI: 10.2147/LCTT.S320493.

76. Peter, J. M. Evaluating Molecular Biomarkers for the Early Detection of Lung Cancer: When Is a Biomarker Ready for Clinical Use? An Official American Thoracic Society Policy Statement / J. M. Peter, R. S. Catherine, A. A. Doug [et al.] // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2017. – Vol. 196, № 7. – P. e15–e29. – DOI: 10.1164/rccm.201708-1678ST.

77. Postmus, P. E. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up / P. E. Postmus, K. M. Kerr, M. Oudkerk [et al.] // Annals of oncology. – 2017. – Vol. 36, № 11. – P. 1245–1262. – DOI: 0.1016/j.annonc.2025.08.003.

78. Qian, K. New method of lung cancer detection by saliva test using surface-enhanced Raman spectroscopy / K. Qian, Y. Wang, L. Hua [et al.] // Thoracic Cancer. – 2018. – Vol. 9, № 11. – P. 1556–1561. – DOI: 10.1111/1759-7714.12837.

79. Rama, R. T. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: A Review / R. T. Rama, T. Yashwanth // *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. – 2024. – Vol. 14, № 6. – P. 298–304. – DOI: 10.22270/jddt.v14i6.6669.
80. Raúl, G. D. Recommendations and Best Practices for Standardizing the Pre-Analytical Processing of Blood and Urine Samples in Metabolomics / G. D. Raúl, G. D. Ivaro, A. Sayago, F. R. Angeles // *Metabolites*. – 2020. – Vol. 10, № 6. – P. 229. – DOI: 10.3390/metabo10060229.
81. Rawi, R. CE-MS in metabolomics: Status quo and the way forward / R. Rawi // *Bioanalysis*. – 2016. – Vol. 8, № 5. – P. 371–354. – DOI: 10.4155/bio-2016-0001.
82. Rebecca, L. S. Cancer statistics, 2022 / L. S. Rebecca, D. M. Kimberly, E. F. Hannah, J. Ahmedin // *CA: a cancer journal for clinicians*. – 2022. – Vol. 72, № 1. – P. 7–33. – DOI: 10.3322/caac.21708.
83. Reitsma, M. B. Smoking prevalence and attributable disease burden in 195 countries and territories, 1990- 2015: a systematic analysis from the global burden of disease study 2015 / M. B. Reitsma, N. Fullman, M. Ng [et al.] // *Lancet*. – 2017. – Vol 389, № 10082. – P. 1885–1906. – DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30819-x.
84. Rina, A. The Genetic Analysis and Clinical Therapy in Lung Cancer: Current Advances and Future Directions / A. Rina, D. Maffeo, F. Minnai [et al.] // *Cancers*. – 2024. – Vol. 16, № 16. – P. 2882. – DOI: 10.3390/cancers16162882.
85. Rocco, G. Breathprinting and early diagnosis of lung cancer / G. Rocco, G. Pennazza, M. Santonico [et al.] // *Journal of Thoracic Oncology*. – 2018. – Vol. 13, № 7. – P. 883–894. – DOI: 10.1016/j.jtho/2018.02.026.
86. Ruiying, C. A comprehensive analysis of metabolomics and transcriptomics in non-small cell lung cancer / C. A. Ruiying, L. Zeyun, Y. Yongliang [et al.] // *PloS one*. – 2020. – Vol. 15, № 5. – P.:e0232272. – DOI: 10.1371/journal.pone.0232272.

87. Ramírez-Elías, M. G. Raman spectroscopy for in vivo medical diagnosis / M. G. Ramírez-Elías, F. J. González // *Raman Spectroscopy*. – 2018. – P. 293 – 312. – DOI: 10.5772/intechopen.72933.

88. Sarlinova, M. Metabolomic profiling of blood plasma of patients with lung cancer and malignant tumors with metastasis in the lungs showed similar features and promising statistical discrimination against controls / M. Sarlinova, E. Baranovicova, M. Skalicanova [et al.] // *Neoplasma*. – 2021. – Vol. 68, № 4. – P. 852–860. – DOI: 10.4149/neo_2021_210103N3.

89. Schneider, T. An integrative clinical database and diagnostics platform for biomarker identification and analysis in ion mobility spectra of human exhaled air / T. Schneider, A. C. Hauschild, J. I. Baumbach, J. Baumbach // *Journal of Integrative Bioinform* – 2013. – Vol. 10, № 2. – P. 218. – DOI: 10.1515/jib-2013-218.

90. Seow, W. J. Association of Untargeted Urinary Metabolomics and Lung Cancer Risk Among Never-Smoking Women in China / W. J. Seow, X. O. Shu, J. K. Nicholson [et al.] // *JAMA Network Open*. – 2019. – Vol 2, №9. – P. e1911970. – DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.11970.

91. Sharma, A. Smelling the disease: Diagnostic potential of breath analysis / A. Sharma, R. Kumar, P. Varadwaj // *Molecular Diagnosis and Therapy*. – 2023. – Vol. 27, № 3. – P. 321–347. – DOI: 10.1007/s40291-023-00640-7.

92. Shi, L. Early cancer detection by SERS spectroscopy and machine learning / L. Shi, Y. Li, Z. Li // *Light: Science and Applications*. – 2023. – Vol. 12, № 1. – P. 234. – DOI: 10.1038/s41377-023-01271-7.

93. Spaněl, P. A quantitative study of the influence of inhaled compounds on their concentrations in exhaled breath / P. Spaněl, K. Dryahina, D. Smith // *Journal of Breath Research*. – 2013. – Vol. 7, № 1. – P. 017106. – DOI: 10.1088/1752-7155/7/1/017106.

94. Tadikonda, R. R. Gas chromatography-mass spectroscopy: an overview / R. R. Tadikonda, H. Sappidi, L. L. Kurapati // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2023. – Vol. 10, №5. – P. 83–89.

95. Takamori, S. Differential diagnosis of lung cancer and benign lung lesion using salivary metabolites: A preliminary study / S. Takamori, S. Ishikawa, J. Suzuki [et al.] // *Thoracic Cancer*. – 2022. – Vol. 13, № 3. – P. 460–465. – DOI: 10.1111/1759-7714.14282.
96. Toyoda, Y. Sensitivity and specificity of lung cancer screening using chest low-dose computed tomography / Y. Toyoda, T. Nakayama, Y. Kusunoki [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2008. – Vol. 98, № 10. – P. 1602–1607. – DOI: 10.1038/sj.bjc.6604351.
97. Trajanovski, S. Towards radiologist-level cancer risk assessment in CT lung screening using deep learning / S. Trajanovski, D. Mavroedis, C. L. Swisher [et al.] // *Computerized Medical Imaging and Graphics*. – 2021. – Vol. 90, № 101883. – DOI: 10.1016/j.compmedimag.2021.101883.
98. Van Geffen, W. H. The electronic nose: emerging biomarkers in lung cancer diagnostics / W. H. Van Geffen, K. Lamote, A. Costantini [et al.] // *Breathe (Sheff)*. – 2019. – Vol. 15, № 4. – P. e135–e141. – DOI: 10.1183/20734735.0309-2019.
99. Vignoli, A. Serum or Plasma (and Which Plasma), That Is the Question / A. Vignoli, L. Tenori, C. Morsiani, [et al.] // *Journal of proteome research*. – 2022. – Vol. 21, № 4. – P. 1061–1072. – DOI: 10.1021/acs.jproteome.1c00935.
100. Wang, C. Exhaled volatile organic compounds as lung cancer biomarkers during one-lung ventilation / C. Wang, R. Dong, X. Wang [et al.] // *Scientific Reports*. – 2014. – Vol. 4, № 7312. DOI: 10.1038/srep07312.
101. Xiang, C. Volatolomics analysis of exhaled breath and gastric-endoluminal gas for distinguishing early upper gastrointestinal cancer from benign / C. Xiang, H. Yang, Z. Zhao [et al.] // *Journal of Breath Research*. – 2023. – Vol. 17, № 3. – P. 036004. – DOI: 10.1088/1752-7163/accfb8.
102. Xiaohua, S. Detection of volatile organic compounds (VOCs) from exhaled breath as noninvasive methods for cancer diagnosis / S. Xiaohua, K. Shao,

W. Tie // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2016. – Vol. 408, №11. – P. 2759–2780. – DOI: 10.1007/s00216-015-9200-6.

103. Xinyu, L. Serum or plasma, what is the difference? Investigations to facilitate the sample material selection decision making process for metabolomics studies and beyond / L. Xinyu, H. Miriam, W. Xiaolin [et al.] // *Analytica chimica acta*. – 2018. – Vol. 1037. – P. 293–300. – DOI: 10.1016/j.aca.2018.03.009.

104. Xu, H. Polyamine Metabolites Profiling for Characterization of Lung and Liver Cancer Using an LC-Tandem MS Method with Multiple Statistical Data Mining Strategies: Discovering Potential Cancer Biomarkers in Human Plasma and Urine / H. Xu, R. Liu, B. He [et al.] // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2016. – Vol. 21, № 8. – P. 1040. – DOI: 10.3390/molecules21081040.

105. You, L. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Tissue Metabolic Profiling Reveals Major Metabolic Pathway Alterations and Potential Biomarkers of Lung Cancer / L. You, Y. Fan, X. Liu [et al.] // *Journal of proteome research*. – 2020. – Vol. 19, №9. – P. 3750–3760. – DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00285.

106. Yu, M. Detection and verification of coexisting diagnostic markers in plasma and serum of patients with non-small-cell lung cancer / M. Yu, R. Sun, Y. Zhao [et al.] // *Future oncology (London, England)*. – 2021. – Vol. 17, № 32. – P. 4355–4369. – DOI: 10.2217/fon-2021-0025.

107. Zhang, W. CE-MS for metabolomics: Developments and applications in the period 2018-2020 / W. Zhang, R. Ramautar // *Electrophoresis*. – 2020. – Vol. 42, № 4. – P. 381–401. – DOI: 10.1002/elps.202000203.

108. Zheng, L. GC/MS-based urine metabolomics analysis of renal allograft recipients with acute rejection / L. Zheng, J. Wang, W. Gao [et al.] // *Journal of translational medicine*. – 2018. – Vol. 16, № 1. – P.202. – DOI: 10.1186/s12967-018-1584-6.

109. Zheng, Y. Combined Metabolomics with Transcriptomics Reveals Important Serum Biomarkers Correlated with Lung Cancer Proliferation through a Calcium Signaling Pathway / Y. Zheng, Z. He, Y. Kong [et al.] // *Journal of*

proteome research. – 2021. – Vol. 20, № 7. – P. 3444–3454. – DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c01019.

110. Zhunan, J. Critical Review of Volatile Organic Compound Analysis in Breath and In Vitro Cell Culture for Detection of Lung Cancer / J. Zhunan, A. Patra, V. K. Krishnan, T. Venkatesan // *Metabolites*. – 2019. – Vol. 9, № 3. – P. 52. – DOI: 10.3390/metabo9030052.

111. Zou, Y. Exhaled metabolic markers and relevant dysregulated pathways of lung cancer: A pilot study / Y. Zoy, Y. Hu, Z. Jiang [et al.] // *Annals of Medicine*. – 2022. – Vol. 54, № 1. – P. 790–802. – DOI: 10.1080/07853890.2022.2048064.