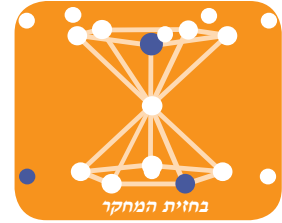


אף אלקטרוני לאבחון סרטן על ידי דגימות נשימה



| חוסאם חאיק* |



במעבדות המחקר בטכניון מפתחים אף מלאכותי אשר יוכל לאבחן את מחלת הסרטן בשלביה המוקדמים, ובכך להגדיל משמעותית את סיכויי הריפוי מהמחלה.

ידוע כי חשוב לאבחן את מחלת הסרטן ללא דיחוי. במרבית המקרים, האבחון המוקדם מעלה במידה ניכרת את אחוזי הריפוי מהמחלה. התהליך הסרטני מייצר חומרים אשר תוצריהם מופרשים למחזור הדם ועשויים להיפלט עם הנשימה.

מחקרים באמצעות כרומטוגרפיה גזית או כרומטוגרפיה גזית משולבת עם ספקטרוסקופיית מסה, מראים שתאים סרטניים מייצרים תבניות של תרכובות אורגניות נדיפות המושפעות מגיל וסוג התרבית, ויכולות לשמש ביו-סמנים של המחלה. תבניות אלו עשויות להימצא בדם, בשתן או באוויר שהנבדק נושף. עם זאת, שימוש בטכניקות אלה לאנליזה של "טביעות האצבע" של החומרים הנדיפים לוקה במספר חסרונות מהותיים: הצורך בציוד יקר, הצורך ברמת מומחיות גבוהה להפעלת מכשור מסוג זה ומשך הזמן הדרוש להשגת תוצאות, שעשוי לנוע בין ימים אחדים לשבועות. לא פחות חשוב מכך - רמת הרגישות של טכניקות אלה מוגבלת לרמת ריכוזים של ppb (חלקים למיליון) בעוד שהביו-סמנים של המחלה נמצאים בריכוזים של פחות מ-ppb (חלקים למיליארד). לכן שימוש בטכניקות אלה, הכרוך בריכוז מקדים של הדוגמאות, מחייב איסוף כמויות אדירות מהחולה כדי לבצע בדיקה בודדת אחת.

איור 1:

תיאור סכמטי של תהליך אבחון סרטן באמצעות "אף אלקטרוני"

במעבדות המחקר בטכניון (The Laboratories for Nanomaterial-Based Devices) מפתחים בימים אלה התקנים חדשניים, עדין פשוטים וזולים יחסית, לגילוי ביו-סמנים סרטניים נדיפים בריכוזים נמוכים, שעשויים לאבחן את המחלה ללא צורך בריכוז מקדים של הדוגמאות. ההתקנים הללו עשויים לאבחן מחלות סרטן באמצעות דגימות נשימה (למשל: על ידי נשיפה אל תוך ההתקן באמצעות צינור דק המחובר בקצהו) והתוצאה תוצג באופן מידי על צג המכשיר (ראה איור 1 להמחשה).

גילוי ביו-סמנים סרטניים באמצעות דגימות נשימה מציע מספר יתרונות על פני גילוי אותם חומרים בדם או בשתן: א. דגימות נשימה אינן פולשניות והן קלות להשגה; ב. האוויר שנשף הנבדק מכיל תערובות פחות מורכבות מאלו הנמצאות בדם או בשתן; ג. בדיקות נשימה מאפשרות ניטור ישיר בזמן אמת. ההתקנים המפותחים במעבדות המחקר בטכניון נקראים

*ד"ר חוסאם חאיק, הפקולטה להנדסה כימית ומכון ראסל-ברי לננו-טכנולוגיה, הטכניון, חיפה

"מערכות הרחה מלאכותית", או בשפה טכנית, "אפים אלקטרוניים", הואיל והם מדמים את פעולת מערכת ההרחה בבעלי החיים.

כיצד פועל אף אלקטרוני?

גישה מקובלת להתקני חישה כימיים היא תכנון מסוג "מנעול ומפתח" (Lock-and-Key), כאשר קולט (או "מנעול") מסוים מסוננת כדי לקשור מטרה (או "מפתח") ספציפית אחת בלבד, בפאזה גזית או נוזלית, באופן חזק ובררני מאוד. בגישה זו לכל "מנעול" קיים "מפתח" אחד מתאים. הסלקטיביות מושגת ע"י התאמה כימית ו/או פיזיקו-כימית בין החומר הסופח לחומר הנספח. במקרים שבהם ה"מפתח" אכן מתאים ל"מנעול", מומרת האינטראקציה ה-(פיזיקו-) כימית לשינויים בסיגנל החשמלי, האופטי או המכני. קליטת שינויים אלה באמצעות התקני מדידה חשמליים, ספקטרוסקופיים או (אופטו-) מכניים תהווה את סיגנל החישה.

חישה באמצעות "המנעול והמפתח" מתאימה כאשר המטרה היא זיהוי תרכובות מסוימות בסביבה מבוקרת, בתנאי סביבה קבועים, המכילים הפרעות כימיות ו/או סטריות ידועות. גישה זו מחייבת סינתזה של חומר מאוד סלקטיבי עבור כל מטרה המיועדת לגילוי. בנוסף לכך, גישה מסוג זה אינה שימושית לאבחון, מיון, או מתן ערכי שיפוט להרכב של תערובת אדים רב-מרכיבית כמו מגוון רחב של מחלות, בשמים, בירות, מאכלים, תערובות של ממסים וכו'.

אסטרטגיה חדשה, המשלימה לגישה המקובלת לחישה כימית, מהווה "מערכת הרחה מלאכותית", או כפי שהיא מכונה לעיתים קרובות, מערכת "אף אלקטרוני". בדומה למערכות ההרחה אצל בעלי החיים, מערכות חוש הריח המלאכותיות מבצעות אבחון של הריח על ידי שימוש במערך של חיישנים, המגיבים בדרך סלקטיבית למחצה, באמצעות קשרים כימיים ו/או פיזיקליים חלשים יחסית, יחד עם שיטות לזיהוי תבניות. בהקשר זה, בניגוד לגישה ה"מנעול והמפתח" המסורתית, באף אלקטרוני לכל "מנעול" יש יותר מ"מפתח" אחד, ובצורה משלימה כל "מפתח" יכול להתאים ליותר מ"מנעול" אחד. בדרך זו כל מטרה (או מרכיב) בתערובת רב-מרכיבית יוצרת טביעת אצבע ברורה במערך של חיישנים. דבר זה מאפשר להעלות את דרגת זיהוי המרכיבים שאליהם המערך

הנתון רגיש, ובמקרים מסוימים ניתן גם לערוך אבחון של מרכיבים נפרדים מתוך מדיה ביו-כימית רב-מרכיבית. פלט הסיגנלים מכל החיישנים במערך נקלט בסיום תהליך החשיפה (לתערובת החומרים הרב-מרכיבית) בצורה סימולטנית ומועבר ליחידת חישוב מתקדמת המבוססת על אלגוריתמים לזיהוי תבניות, אשר מדמה את אופן פעולת מוח בעלי החיים בתהליכי ההרחה. יחידת זיהוי התבניות בתורה נותנת מידע על זהות, תכונות וריכוז החומרים אשר אליהם נחשף מערך החיישנים.

מערכות אף אלקטרוני מבוססות ננו-חומרים

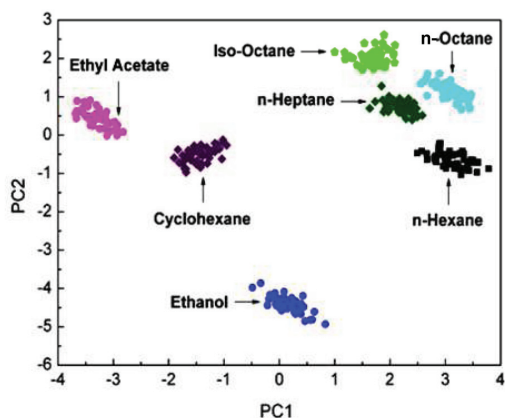
בעידן המודרני ניתן לבנות מערכות אף אלקטרוני ממערך של חיישנים הזמינים בטכנולוגיה הנוכחית, כגון חיישנים אופטיים, חיישנים מבוססי אינפרה-אדום, חיישני תופעת שדה (Field Effect Transistor), חיישני תומכה מכניים וכו'. בדרך כלל רוב החיישנים הנ"ל מוגבלים לגילוי חומרים ברמת ריכוזים עד ppm ו/או פועלים בתנאי מעבדה בלבד (לדוגמה: ואקום גבוה ו/או טמפרטורה קריאוגנית (טמפרטורה הנעה בין 4K - 77K). אף על פי שמתמרים (Transducers) אלו מספיקים לגילוי רגיש של חומרים במגוון רחב של יישומים, חומרים בתנאי סביבה (או חדר) ברמת ריכוז של ppb כמו אלה הנמצאים בנשימת חולי הסרטן עדיין מהווים אתגר מדעי וטכנולוגי. בהקשר זה אנו מפתחים "דור חדש" של חיישנים כימיים: אפים אלקטרוניים אשר עשויים להיות רגישים יותר, נשלטים יותר בהרכבם ומסוגלים להבחין בשינויים מזעריים בריכוזים של תערובות חומרים רב-מרכיביים. לכן החיישנים המפותחים במעבדות המחקר שלנו הינם חיישנים בגדלים ננומטריים (ננומטר הוא יחידת אורך השווה למיליארדית המטר ובערך 100 אלף פחות מקוטר שיערה). בזכות גודלם הזעיר ותכונותיהם החשמליות, הפיזיקליות והכימיות המיוחדות, החיישנים רגישים ביותר ומסוגלים להריח את השינויים בהרכב החומרים בתערובת רב-מרכיבית בתבניות ריכוזים שונות, ללא כל צורך בריכוז מקדים של החומרים.

דוגמה טיפוסית לאף אלקטרוני רגיש המפותח במעבדות המחקר שלנו מבוססת על ננו-חלקיקי זהב המכוסים בשכבות חד-מולקולריות אורגניות (ראה איור 2). בחיישנים מסוג זה, השכבה האורגנית מהווה תווך לספיחת החומרים מפאזה גזית או נוזלית, ואילו חלקיקי



וחומרים קוטביים (כגון Ethanol ו-Ethyl Acetate). עבור משפחת החומרים הלא קוטביים (המוצגת באיור מס' 3), הראה האף האלקטרוני יכולת אבחון מצוינת בין החומרים השונים במשפחה זו, אשר למעט הבדלים מזעריים במשקל המולקולרי ואורך השרשראות הכימיות של החומרים השונים, שאר התכונות הכימיות והפיזיקליות שלהם דומות (בקירוב גס). עבור משפחת החומרים הקוטביים (המוצגת באיור 3), הראה האף האלקטרוני יכולת אבחון מצוינת בין החומרים השונים במשפחה זו, בהתאם למומנט הדיפול שלהם.

בצורה מאוד מעניינת, רמת האבחון בין החומרים השונים באמצעות אותו אף אלקטרוני, הינה מעבר לשגיאה הניסיונית או הסטטיסטית, כלומר: הזיהוי מהימן ביותר. כהוכחה לכך ניתן לעיין באיור 3 המראה כי עבור מקבץ נתון בצבע ובצורה מסוימים (האופייניים לחומר מסוים), פיזור הנקודות באותו מקבץ (כל נקודה היא חזרה על אותה מדידה), אינו גורם לחפיפה עם נקודות אחרות במקבץ סמוך.



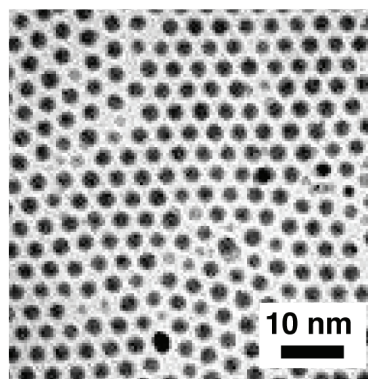
איור 3: מערך זיהוי תבניות של אף אלקטרוני, הבנוי ממערך של חיישנים מבוססי ננו-חלקיקי זהב מכוסי מולקולות אורגניות, שנחשף למגוון חומרים קוטביים ולא קוטביים. כל חומר מאופיין ע"י מקבץ של נקודות בעלות צבע וצורה שונים בגרף. עבור מקבץ נתון (בצבע וצורה מסוימים), כל נקודה היא חזרה על אותה מדידה כדי לבדוק את האמינות והמהימנות של החיישנים.

PC₁ ו-PC₂ הינם צירי ההטלה (Projection) של התגובות המתקבלות מכל החיישנים. תצוגה זו משמשת לנוחיות המשתמש בלבד.

מערכות אף אלקטרוני מבוססות ננו-חומרים לאבחון סרטן על ידי דיגימות נשימה

חשיפת האף האלקטרוני לתבניות נשימה מדומות של חולי סרטן ריאות ושל אנשים בריאים, הראתה יכולת הבחנה מצוינת בין שני המצבים. כפי שניתן לראות באיור

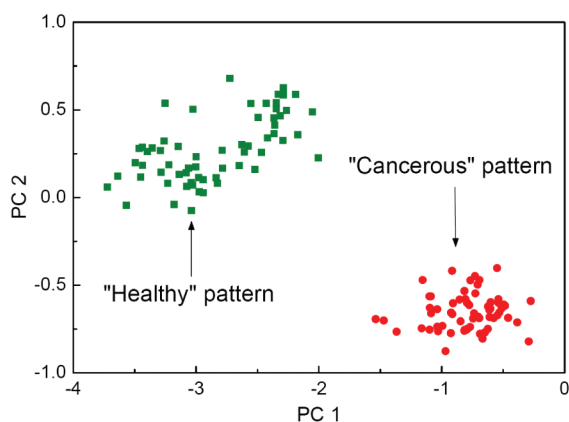
הזהב משמשים להעברת אינטראקציות הספיחה לסיגנלים חשמליים הניתנים למדידה. בשל גודלם הזעיר, ננו-חלקיקים אלה מסוגלים לספוח כמויות גדולות יותר (פי 10,000 עד 100,000) של חומרים ליחידת שטח (או משקל) בהשוואה לחומרים בעלי מימדים מיקרו- או מאקרו-מטריים. בנוסף, גודלם הזעיר של הננו-חלקיקים מקנה להם תכונות חשמליות ואופטיות משופרות, לפחות פי 20 מהטכנולוגיה המתקדמת ביותר המיושמת בעידן הנוכחי. יתרונות נוספים של ננו-חלקיקים אלו כוללים, בין היתר, את האפשרות לשלוט על גודל חלקיקי הזהב ותכונות השכבה המולקולרית האורגנית (כגון כושר ספיחה, עובי שכבה, מוליכות חשמלית וכו') בצורה פשוטה יחסית. יתרון נוסף הוא האפשרות לשלוט על המרחק בין חלקיקי מתכת סמוכים בצורה סיסטמטית ומדויקת, עד רזולוציה של כ-1Å, דבר אשר כשלעצמו משפיע על רגישות החיישנים.



איור 2: תמונת מיקרוסקופיית אלקטרון חודרת

(Transmission Electron Spectroscopy) לננו-חלקיקי מתכת מכוסי שכבות חד-מולקולריות של מולקולות אורגניות. הנקודות השחורות בבבואה הן ננו-חלקיקי זהב מתכתיים. התווך הלבן בין חלקיקי זהב סמוכים מייצג את השכבות של המולקולות האורגניות העוטפות את חלקיקי הזהב ומונעות מהם להידבק בצורה בלתי-הפיכה זה לזה.

אף אלקטרוני הבנוי ממערך חיישנים מבוסס ננו-חלקיקים מכוסי מולקולות אורגניות, המחובר למערכת זיהוי תבניות מסוג "אנליזת המרכיב העיקרי" (Principle Component Analysis) הראה יכולת לזהות מגוון רחב של חומרים הנמצאים ברמת ריכוזים של ppb. למשל, האף האלקטרוני הראה יכולת אבחון מצוינת בין חומרים לא קוטביים (כגון n-Hexane, n-Heptane, n-Octane ו-iso-Octane)



4 האותות המתקבלים מהתקן האף האלקטרוני בזמן חשיפה לתבנית נשימה של חולה סרטן נבדלות מאלו של אדם בריא. שינויים אלו באותות יכולים לנבוע משילוב של מספר גורמים, בין היתר כתוצאה מהבדלים בריכוז הביו-סמנים והרכב תבניות הנשימה.

איור 4: מערך זיהוי תבניות של אף אלקטרוני, הבנוי ממערך של חיישנים מבוססי ננו-חלקיקי זהב מכוסים מולקולות אורגניות, שנחשף לתבניות נשימה מדומות של חולה סרטן ושל אדם בריא.

לסיכום:

התקן המדמה את האף האנושי עשוי לשנות את הטיפול במחלת הסרטן. מדובר למעשה בהתקן הנקרא "אף אלקטרוני", הכולל מערך חיישנים זעירים בגדלים ננומטריים המחוברים ליחידת חישוב אלקטרונית. ההתקן יוכל לאבחן חולי סרטן באמצעות דגימות נשימה (למשל על ידי נשיפה לתוך ההתקן) והתוצאה תוצג באופן מידי על צג המכשיר. בזכות גודלם הזעיר ותכונותיהם החשמליות, הפיזיקליות והכימיות המיוחדות, החיישנים רגישים ביותר ומסוגלים להריח את השינויים בהרכב החומרים שמאפיינים מחלות סרטן, ואפילו את השינויים בהרכב החומרים בשלבים השונים של הסרטן. היתרון החשוב ביותר של השיטה הוא בכך שהיא תאפשר את אבחון המחלה בשלב מוקדם, עוד לפני שהגידול יתחיל להתפשט, כך שיהיה אפשר לטפל בה מיד ולחסל אותה בעודה באיבה.

כיום, על אף כל השיטות המשוכללות הקיימות, גילוי הסרטן אפשרי רק כשהמחלה נמצאת בשלבים מתקדמים, שבהם כבר קיים גידול שאפשר לזהותו בבדיקות דימות. למרבה הצער הסטטיסטיקות מראות שכשהמחלה מאובחנת בשלב זה (דהיינו, כשהגידול קיים), שיעור ההחלמה בתוך חמש שנים מיום הגילוי עומד בממוצע על כ- 10% - 20% בלבד (בהתאם לסוג המחלה). באמצעות האף האלקטרוני אפשר יהיה לזהות את הסרטן בשלבים הראשוניים, כשהוא מתבטא בשינויים ברמת תאים ספורים, עוד בטרם נוצר גידול, ועל כן נוכל להגדיל את אחוז ההישרדות ליותר מ- 85%. הואיל והמערכת עשויה להיות קומפקטית (בערך בגודל של טלפון סלולארי מודרני), ניידת ובמחיר זול יחסית, היא עשויה להיות זמינה לכל רופא ומרפאה המעוניינים באמצעי זה.

