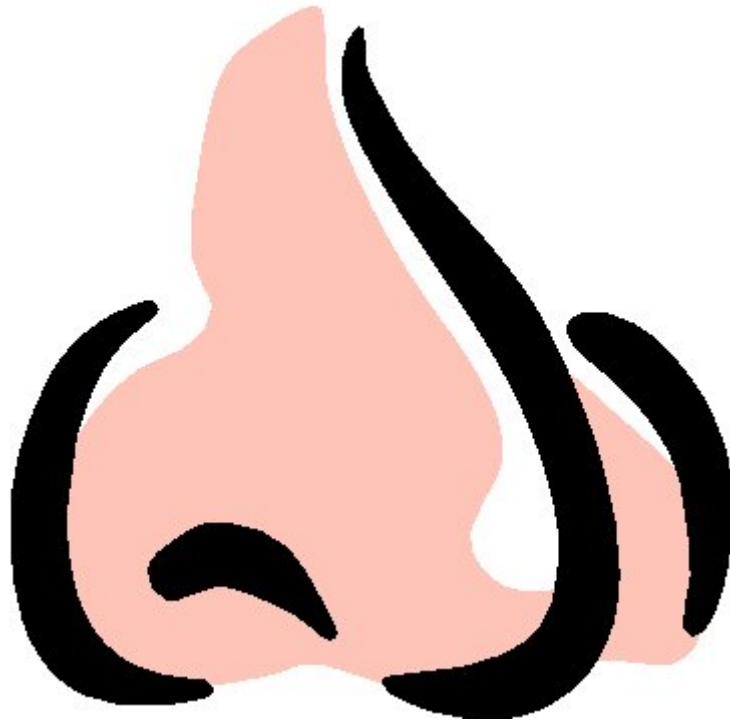


Kropslugte



- Lugte som biomarkører for cancer

Roskilde Universitetscenter
Institut for Natur, Systemer og Modeller
Molekylærbiologi
Speciale
2008

Studerende: Morten A. Larsen

Vejleder: Henning F. Bjerregaard

Abstrakt

Formålet med ”Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer”, har været at finde en sammenhæng mellem flygtige forbindelser, der udskilles fra kræftpatienter, og molekulære sygdomsprocesser, der er relateret til cancer. To forklaringer på ændret lugt hos kræftpatienter kan være: 1. kræftcellers metabolisme, herunder forøget ”oxidativt stress” og lipid peroxidation. 2. Ændringer i immunforsvaret (”tumor escape”), herunder ”major histocompatibility complex-”/(MHC)-molekyler, der præsenterer antigener på celleoverfladen. Analyser med gaskromatografi-massespektrometri (GC-MS) og mønstergenkendelsesprogrammer har resulteret i en række forslag til markører for cancer, f.eks.: alkaner, methylerede alkaner, aldehyder, isopren, toluen, benzen, m.fl. Indikation for særlige lugte af forskellige kræfttyper (”signaturlugte”) er givet med både GC/MS, ”elektroniske næser” (”gas sensor array”) og ved brug af detektorhunde (”cancer detector dogs”).

Abstract

The purpose of “Body odours – Odours as biomarkers for cancer” has been to find a connection between volatile compounds, excreted from cancer patients, and molecular disease processes related to cancer. Two explanations to the changed odour from cancer patients can be: 1. The metabolism of cancer cells, including increased “oxidative stress” and lipid peroxidation. 2. Changes in the immune defence (“tumour escape”) including “major histocompatibility complex-” (MHC)-molecules, presenting antigens on the cell surface. Analyses using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and pattern recognition programs have resulted in a number of suggestions to markers for cancer, e.g. alkanes, methylated alkanes, aldehydes, isoprene, toluene, benzene, and others. Indication of special odours from different types of cancer (“signature odours”) has been achieved both by means of GC/MS, “electronic noses” (“gas sensor array”), and by use of detector dogs (“cancer detector dogs”).

Indholdsfortegnelse

Abstrakt.....	i
Forord	ii
Indholdsfortegnelse	1
1. Menneskets kropslugte	3
Lugten af cancer	3
Lugte fra det sunde menneske.....	5
Lugte fra det syge menneske ("Lugtdiagnose")	9
Kan dyr lugte sygdom?	10
Lugtesansen	12
2. Kræftcellers metabolisme	19
"Reactive oxygen species" (ROS) og "oxidativt stress".....	20
Mitochondrier	24
NADPH oxidase (NOX-familien)	26
Peroxisomer	32
Lipid peroxidation	34
3. "Major histocompatibility Complex" (MHC)	40
Mus (Mus musculus): MHC	40
Menneske (Homo sapiens): "Human leukocyte antigen" (HLA)	43
MHC-peptider	45
Hypoteser for MHC påvirkning af "individuel lugt"	46
"Tumor escape"	50
4. Individuelle lugte ("Signatur lugte")	51
Adfærdsmålinger	52
Kemiske analyser	57
5. Detektorhunde: Kan hunde lugte kræft?	62
Enkeltstående observationer	62
Videnskabelige undersøgelser: adfærdsmålinger	64
6. "Kemisk fingeraftryk" af cancer	68
Analyse af udåndingsluft ("Breath analysis")	68
GC/MS	69
"Elektronisk næse" ("gas sensor array").....	79
7. Diskussion	81
Anvendelsen af detektorhunde	84
Anvendelsen af kemiske analysemetoder	87
Implikationer for kræftbehandlingen	89

8. Litteratur	92
Bøger	92
Artikler	92
Populær litteratur	111
Hjemmesider	122

Bilag

1. Spørgeskema	1
2. Kropslugte	4
3. Lugtdiagnose	12
4. Hundens lugtesans	15
5. NOX/DUOX og sygdom	18
6. Biomarkører for cancer	19
7. Analysemetoder	21
8. Typer af detektorhunde	22
9. Hunde der kan lugte kræft hos mennesker	23
10. Rotter finder landminer	25
11. Rotter opsnuser tuberkulose-smitte	26

Forord

”... en komplet, omfattende forståelse af lugt ... forekommer måske ikke som et dybsindigt nok problem til at dominere livsvidenskaberne, men det indeholder, stykke for stykke, alle mysterierne.”

Lewis Thomas (Shepherd, 2004)

Der findes rigtig mange gode grunde til at beskæftige sig med kropslugte. Hvis man skal tro parfumeindustrien, har vores lugt stor betydning for vores sociale liv, erhvervsmæssige succes, og lykke i kærlighedslivet – for slet ikke at tale om sex!¹

”Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer” skal imidlertid ikke handle om parfumeindustriens syntetiske dufte, men derimod om de lugte vores egen krop udsender, og det skal vise sig, at de er mindst lige så interessante. Undersøgelser har eksempelvis vist, at kvinder finder lugten af mænd mest behagelig, hvis manden har et immunsystem, der er forskelligt fra hendes eget. Denne evne til at lugte forskel på mænds genetiske konstitution, svækkes, hvis kvinden tager p-piller. Kropslugte kan derfor kædes sammen med den høje forekomst af skilsmisser. Holder kvinden op med at tage p-piller, f.eks. hvis hun gerne vil være gravid, kan hun finde ud af, at hun egentlig ikke bryder sig om lugten af hendes mand.

Fokus på dette projekt skal imidlertid være mulighederne for at benytte viden om kropslugte inden for lægevidenskaben. Vores kropslugt påvirkes eller ændres af en lang række sygdomme, f.eks. infektioner og sjældne stofskiftesygdomme: ”fiskelugt syndrom” (Trimethylaminuria), ”maple syrup disease”, m.fl., og det har været fremme, at kræft ledsages af en karakteristisk lugt. Projektet er delvist inspireret af en tv-udsendelse om brugen af detektor-hunde til at diagnosticere kræft. Endog er en psykisk sygdom som skizofreni blevet knyttet til en bestemt lugt. Stoffet har det kemiske navn ”trans-3-methyl-2-hexenoic acid”.

Hvis det er muligt med tilstrækkelig sikkerhed, at koble forskellige lugte eller blandinger af lugte (lugtprofiler) til bestemte sygdomme, giver det en række muligheder inden for lægevidenskaben. Hunde og elektroniske næser vil måske kunne bruges til hjælp for screening og tidlig diagnosticering af alvorlige sygdomme som kræft, samt løbende overvågning af sygdommen. Finder man lugtmolekyler, der er karakteristiske for en sygdom, har man samtidig måske fundet frem til noget centralt omkring sygdommens natur (terapeutiske mål), der vil kunne udnyttes i behandlingen.

Lidt om forfatterens baggrund

Hvad forfatterens eget studieforløb angår, gør ”Lugte som biomarkører for cancer” det muligt at få en masse ting til at gå op i en højere enhed. Mit bachelorprojekt handlede om ”Lægeplanter og kræft”, hvor jeg kom ind på mulighederne for at benytte ”sekundærstoffer” fra planter i sygdomsbehandlingen. Herunder den alternative form for behandling, der hedder

¹ ”I 1770 vedtog det engelske parlament en lov, der ophævede retsvirkningen af ethvert ægteskab, som gommen mente han var blevet lokket til ved hjælp af parfume: ”Any woman who shall entrice into marriage one of His Majesty’s subjects by means of any perfume shall be condemned as a Scorcere, and that marriage shall be declared null and void.” (Skovenborg, 2000)

”aromaterapi”. Mit bifag er filosofi, hvor jeg har skrevet bachelorprojekt om ”Helse- og sygdomsmodeller 1850-2000”, hvilket giver en baggrund inden for medicinsk filosofi. Ligeledes kommer mit eksperimentale kandidatprojekt om ”The DNA binding properties of RCTB and Replication in *Vibrio cholerae*” til god gavn, da det handlede om proteiner, og proteiner spiller en vigtig rolle inden for ”individuel genkendelse (”signaturdufte”) og transporten af duftstoffer, både inden for kroppen og i miljøet som duftmarkeringer.

Afslutningsvis vil jeg nævne noget andet, jeg har været rigtig glad for, nemlig at projektet åbner for muligheden for at kombinere molekylærbiologi med adfærd, som har interesseret mig meget. Mange af undersøgelserne, der er brugt i projektet, baseres på dyrs adfærdsmæssige reaktioner på de duftstoffer man udsætter dem for. Hvilket rejser en interessant problemstilling: Hvor gode er vi til at forstå dyr med en veludviklet lugtesans, f.eks. hunde. Måske misforstår vi dem konsekvent?

”Måden hvorpå hunde og endog katte forekommer at forudse måden deres ejere vil opføre sig på eller deres følelsesmæssige tilstand, opmuntrer mennesker til at tillægge høj grad af opmærksomhed til deres kæledyr. Det kunne være at en art som mennesket med relativ dårlig lugtesans, mister en masse af hundens informationskilder. Den omhu og den enorme skarphed, hvormed hunden sniffer til duftmarkeringer, antyder at meget potentiel information er tilgængeligt, men dens præcise natur er stadig ukendt.” (Sommerville og Broom, 2001)

Hvad jeg forestiller mig er, at man ved forskning i lugtstoffer vil kunne få en hel verden til at åbne sig.

God fornøjelse med læsningen.

Morten A. Larsen

Takkeliste: Anita Jensen (dogsdating.net), Dr. Carolyn Willis (Research Director, Department of Dermatology, Amersham Hospital), Professor György Horvath (Sektionen för gynekologisk onkologi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg) Dr. Med. Lisa Sengeløv (Konstitueret ledende overlæge, Okologisk afdeling Herlev), Michael McCulloch (Pine Street Foundation), Niels Holm (Ledende overlæge, Onkologisk afd. R, Odense Universitetshospital)², DVM, Dr. Vet. Sci. Vibeke Dantzer (Associeret professor, Institut for Basal Husdyr- og Veterinærvidenskab/Anatomi & Cellebiologi, Det Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet).

Dedikation: ”Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer” er tilegnet min mor, Jette Larsen, for trofast hjælp gennem studietiden.

² ”Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer” fremlægges for afdelingen september 2008.

1. Menneskets kropslugte

“... mennesket kunne lukke deres øjne for storhed, for skræk, for skønhed, og deres ører for melodier eller bedrageriske ord. Men de kunne ikke flygte fra deres kropslugt. For kropslugten var broderen til åndedrættet.”

(Patrick Süskind: *Perfume. The Story of a Murderer*, 1986)

Menneskekroppen afgiver hele tiden lugtstoffer (odoranter), dvs. flygtige lavmolekylære¹ forbindelser, der spredes gennem luften, og kan detekteres af mennesker og dyr gennem lugtesansen.

Kropslugte kommer bl.a. fra huden, sved og ånde, eller kropsudskillelser som urin, fæces og flatus. Hermed er mennesket konstant omgivet af en usynlig sky af lugte (”duftboble”)², og mennesket afgiver hele tiden lugtspor i sine omgivelser. Mennesket betragtes sædvanligvis som en ”mikrosmatisk” art, dvs. menneskets lugtesans er ikke specielt veludviklet. Til gengæld regnes f.eks. hunde til at være ”makrosmatikere”, hvorved de må antages at kunne få information ud af kropslugte og lugtspor, mennesket ikke er bevidst om.

Inspirationen til ”Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer”, kom fra en TV-udsendelse³, om hunde, der tilsyneladende kunne lugte sig frem til om mennesker har kræft. Rationalet er derfor, at detektor-hunde måske kan bruges til screening og tidlig diagnosticering, hvilket kan give forøget overlevelse for kræftsyge.

1.1. Lugten af cancer

I bogen ”Den hvide Verden”, beretter forfatterinden, Jane Aamund, om egne erfaringer med kræft, herunder en karakteristisk lugt. Aamunds svigerinde Suzanne Bjerrehuus er kommet på hospitalet med en hævet mandel: ”Først når hendes mandel er opereret ud, får vi at vide om det er kræft, men jeg ved det i samme øjeblik. Jeg kan genkende kræftens lugt, som jeg panisk opdagede hos mig selv under min egen strålebehandling. Den sødlige lugt, som der altid er der, når en af mine katte har gemt en død mus. Jeg finder den altid.” (Aamund, 2000)

Har Aamund en helt enestående evne til at lugte kræft, eller er det bare noget hun bilder sig ind? Et andet eksempel fra det anerkendte medicinske tidsskrift, *The Lancet*: Mrs. M: ”Vi besøgte Johns far da han var på hospitalet døende af tarmkræft. Jeg husker den ubehagelige lugt, der trods plejepersonalets indsats, hang ved hans seng til det sidste. Så du kan forestille dig min rædsel, en dag – det må have været omkring 3 måneder siden – jeg mærkede den selv

¹ Lugtstoffer har en øvre grænse for molekylærvægten (MW) på ca. 300 Da. Tungeste kendte lugtstof er labdan med en MW på 296 Da. (Smith og Spanel, 2007 og Zarzo 2007) Derudover afhænger lugtstoffers flygtighed bl.a. af deres polaritet.

² ”Det gådefulde sprog – hudens kommunikation” (Fyrand, 1997), se endvidere: *The secret cloud that surrounds us* (Doyle, 1970))

³ Kan hunde lugte cancer? (Can Dogs Smell Cancer?; Videnskabsprogram fra BBC fra 2005); DR2 25/01-2007: kl. 20.00.

samme lugt fra John – det var før problemerne virkelig startede. (Oversat: Lehman og Freimer, 1983)

I National Geographic artiklen, ”The intimate sense of smell”, fortælles det fra en sygeplejerske, at mavekræft lugter af gæring⁴. (Gibbons, 1986).

En meget dramatisk beretning om lugten af en kræftpatient findes i Journal of Dermatology: En 55 åring mandlig bryggeriarbejder kommer til lægen, da hans kolleger nægter at arbejde sammen med ham, fordi han stinker. En senere hospitalsundersøgelse viser, at han har et kæmpe kræftsår (nekrotisk krater) i skridtet, der helt har ødelagt hans penis. Tilstanden beskrives således, at lugten ikke kun kommer fra kræftsåret, men har karakter af en generel meget ubehagelig kropslugt. (Liddell og White, 1975)

μ-*

En lille spørgeskemaundersøgelse

Med henblik på at afklare, hvor almindeligt det er, at læger bemærker en karakteristisk lugt i forbindelse med cancer, har forfatteren foretaget en lille spørgeskemaundersøgelse med henvendelse til kræftafdelingerne på de danske sygehuse.

Kræfttype	Lugt-beskrivelse	Hørt om indikation af cancer fra kæledyr	Kilde
Store svulster i underlivet	Rådden (Nekrose)	Nej	Hanne Havesten (overlæge)
Cancer generelt	Kræftpatienter lugter ikke anderledes end den resterende del af befolkningen.	Nej, aldrig	Helle-Rung Hansen (reservelæge)
Henfald i store tumorer (fistler)	Rådden (Nekrose/Anaerobe bakterier)	Nej	Kirsten M. Nielsen
Lungecancer	Rådden lugt fra munden	Nej	Vibeke Kirk Parner (1. reservelæge)
Vulvacancer	Sur/syrlig (lugter som svampeangreb)		

Tabel 1.1. Resultat af spørgeskemaundersøgelse, hvor der blev rettet henvendelse til danske kræftafdelinger og spurgt om de havde observeret en karakteristisk lugt i forbindelse med kræftsygdomme, og hvorvidt de havde hørt om, at patienter var blevet ”alarmeret” af kæledyr. Resultatet indikerer af store svulster kan have en rådden lugt. Kirsten M. Nielsen bemærker, at der ikke er lugt fra små cancere uden tilhørende infektion. Spørgeskema: (Bilag 1).

Flere læger har bemærket en sur eller rådden lugt fra cancer (Tabel 1.1), hvorved de bekræfter ovenstående beretninger. En kræftlæge fortæller mere uddybende, at små cancere, uden tilhørende infektion, ikke lugter, mens cancere med råd og fistler i nogle tilfælde kan lugtes over en hel afdeling (Kirsten M. Nielsen, personlig kommunikation).

En forklaring på lugtene, er at de nekrotiske kroniske sår, der forekommer i forbindelse med nogle former for cancer, kan være inficerede med anaerobe bakterier, f.eks. *Bacterioides*,

⁴ Forfatteren har selv observeret en skarp lugt af ”gæring” fra en bekendt, der havde fået mavekræft. Knuden blev beskrevet som på størrelse med en tennisbold.

Enterobacter eller *Escherichia coli*. Det gælder særligt cancere i hoved og halsregionen. Den kraftige lugt fra nekrotiske kroniske sår, kan føre til reduceret selvværd og social isolation. Disse patienter placeres ofte på enkeltværelser.⁵ (Warnke et al., 2006)

Et andet resultat var, at ingen læger havde hørt om indikation af kræft fra kæledyr, hvilket kan tyde på, at det ikke er så almindeligt, at hunde får deres ejere til at gå til lægen med noget, der efterfølgende viser sig at være kræft. Emnet behandles mere udførligt i kapitlet: ”Detektorhunde: Kan hunde lugte kræft?”.

Der findes altså flere mere eller mindre samstemmende beretninger om, at der findes karakteristiske lugte i forbindelse med kræft, og i tilfældet med den 55 årige bryggeriarbejder, skulle kræften have påvirket hans generelle kropslugt. Hvad der imidlertid ikke er klart er, om det er ”kræften-i-sig-selv” (kræftcellerne), der giver anledning til den beskrevne lugt, eller om det er ledsagefænomener, f.eks. tilhørende infektioner.

Til afklaring af dette spørgsmål vil de to følgende afsnit give en nærmere beskrivelse af den ”duftboble”, der omgiver henholdsvis raske og syge mennesker. Forståelse af denne lugt-matrix er en forudsætning for vurdering af om kræften-i-sig-selv har en karakteristisk lugt.

1.2. Lugte fra det sunde menneske

*”Vask dig ikke, jeg kommer hjem.”*⁶

(Napoleon, 1769-1821)

Mennesker lugter. Den australske zoolog, D. Michael Stoddart, har endda skrevet en bog med titlen: ”Den duftende abe”⁷ (Stoddart, 1990), hvor han hævder at mennesket er den primat, der har den største koncentration af duftkirtler i huden. Hvilket kan indikere at menneskets kropslugt har større betydning end vi måske umiddelbart går og forestiller os. Her tænkes specielt på kropslugtenes sociale betydning, og betydningen i relation til partnervalg og kønsliv. I begge tilfælde vil dårlig ånde og svedlugt kunne stå i vejen for succes.

Mennesket har så lært delvist at skjule dårlige kropslugte ved moderne hygiejnisk praksis og påføring af deodoranter og parfumer.

⁵ Plantemedicin (palliativ behandling): Antibakterielle essentielle olier, f.eks. fra Eucalyptus er blevet anvendt med succes som palliativ behandling til patienter med ildelugtende nekrotiske kroniske sår. Ikke alene afhjælp de essentielle olier lugtgenerne, de fremmede endvidere sårhelingen. (Warnke et al., 2006)

⁶ ”Når Napoleon var klar til at vende hjem fra slagmarken, sendte han Josephine budskabet: ”Ne te laves pas, je reviens.” – ”Vask dig ikke, jeg kommer hjem.” Den franske kejser kunne godt lide sin elskerindes naturlige, uvaskede lugt.” (Lacoste, 1987)

⁷ Oversat fra originaltitlen: ”The Scented ape” . (Stoddart, 1990)

Huden

En af de primære kilder til menneskets kropslugt, er som tidligere nævnt duftkirtlerne i huden. Her skelnes mellem: 1. Apokrine svedkirtler, der afgiver 1-10 µl lugtende sekret per døgn. Det apokrine sekret kan være mælkeagtigt, gulligt eller endog rødtligt. Interessant nok kan disse kirtler udtømmes ved følelsesmæssigt eller psykologisk stress. 2. Ecrine svedkirtler, der hovedsagelig afgiver vand til afkøling. 3. Talgkirtler, hvis funktion er at afgive en olieagtig substans til beskyttelse af huden. (Barnett og Bender, 1969; Stoddart, 1990 og Schaal og Porter, 1991)

Nærmere oplysninger om den kemiske sammensætning af sved og talg, kan ses i nedenstående tabel.

Apokrin sved: Protein (10 %), fedtsyrer: propionsyre og isovaleriansyre ⁸ , kolesterol, ammoniak, reducerende sukkerstoffer og steroider (0.02 %) ⁹ .
--

Ecrin sved: vand (99 %), inorganiske salte (Na ⁺ , Cl ⁻ , bicarbonat); organiske stoffer: urinstof, laktat, frie aminosyrer, proteiner, albumin, globulin, prostaglandiner, histamin og esteraser.

Talg: Triglycerider, voksester, squalen, cholesterolester og kolesterol. ¹⁰

Tabel 1.2. Den kemiske sammensætning af sved og talg. Kortkædede fedtsyrer, ammoniak og til en vis udstrækning steroider, kan betragtes som flygtige, mens mange af de resterende stoffer har betydning som substrater og matrix for dannelse af hudens lugt. (Schaal og Porter, 1991).

De apokrine svedkirtler er ikke jævnt fordelt ud over kroppen, men findes særlig koncentreret i bestemte områder, gerne associeret til kropshår: armhuler (axillae organ), brystvorter (areolae), navleregion (periumbilical), over og omkring kønsorganerne, omkring anus (circumanal), ansigt og hårbund. (Stoddart, 1990 og Schaal og Porter, 1991)

Huden kan betragtes som en matrix for udskillelsen af kropslugt. Hertil hører hudens mikroflora, der har afgørende betydning for dannelsen af svedlugt: micrococci, diphtheroider, propionibakterier og gærsvampe (f.eks. *Pityrosporum*)¹¹. Den mikrobielle aktivitet afhænger af: varme, fugtighed og hudens glathed, herunder tilstedeværelsen af: anaerobe hudfolder, rynker og hulrum. Hår har betydning, fordi de kan binde duftstoffer og forøge overfladearealet, mht. bakteriel vækst og fordampning. Endvidere afstøder huden hele tiden døde hudceller, der bidrager til lugten med epiderme lipider: frie steroler (kolesterol), mono-, di- og phospholipider. (Stoddart, 1990; Schaal og Porter, 1991 og Troccaz et al., 2004)

⁸ Lugter af "sure tæer". (Curran et al., 2005)

⁹ Mandesved indeholder steroiderne: 5 α -adrost-16-en-3-one og androsta-4,16-dien-3-one, og de afledte alkoholer: 5 α -adrost-16-en-3 α -ol og androsta-4,16-dien-3 α -ol (Troccaz et al., 2004). Androsterone fra spyttet hos orner får søer til at indtage parringsposition (lordosis) (Marchese et al. 1998 og Loebel, 2000). Derudover påvirker 5 α -adrost-16-en-3-one menstruationscyklus hos kvinder og cyklus hos kvæg (Marchlewska-Koj, 2001). Steroider og de afledte alkoholer er meget kraftigt lugtende (Troccaz et al., 2004)

¹⁰ Der er raceforskelle mht. antallet af apokrine svedkirtler hos mennesker, f.eks. findes apokrine svedkirtler ikke hos de fleste japanere, hvilket kan give anledning til lugtforskelle mellem menneskeracerne. (Sommerville og Gee, 1987)

¹¹ *Pityrosporum ovale* udskiller bl.a. γ -laktoner, der giver en karakteristisk lugt af urent hår. (Schall og Porter 1991) Bakterier isoleret fra armhulen: *Corynebacterium tuberculoearicum*, *Corynebacterium minutissimum*, *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus haemolyticus* og *Bacillus licheniformis*. (Troccaz et al., 2004)

Den kemiske forbindelse, der giver det kraftigste bidrag til svedlugt: "(E)-3-methyl-2-hexenoic acid". (Curran et al., 2005) Måleresultater fra kemisk analyse af hudens lugte: (Bilag 2), herunder årstidsvariationer: (Tabel B2.2).

Ånde og kropsudskillelser (sekreter)

En anden betydelig kilde til kropslugt, er den ånde, der frembringes i luftveje, fra mave og mund. Derudover afgives lugt fra kropsudskillelser som: slim, spyt, tårer, mælk, urin, udskillelser fra kønsorganer: sæd og skedeseekret, fæces, tarmluft (flatus), og ørevoks¹² (Cerumen). (Hayden 1980 og Schaal og Porter 1991)

Oplysninger om den kemiske sammensætning af ånde, og ovennævnte kropsudskillelser, kan findes i nedenstående tabel.

Ånde og mundlugt: hydrogensulfid, methylmercaptan, dimethylsulfid, ammoniak, urinstof, alkoholer, aldehyder, nitrogen og svovlforbindelser. Sporkoncentrationer af adrostenone
Lugtfrie gasser: N₂, O₂, CO₂, H₂O, Ar. (Spanel et al., 1999)

Sæd: spermin, trimethylamin, steroider, tutrescine og 1-pyrroline

Skedeseekret¹³: copulin (alifatiske syrer): eddikesyre, propionsyre, butyl og isobutylsyre, isovaleriansyre, "isocaproic acid" og trimethylamin

Urin: ketoner, aldehyder, laktoner, alkoholer, phenoler, pyrroler, svovlforbindelser, alifatiske syrer og steroider (adrosenol og adrosenon)

Fæces: fedtsyrer, svovlforbindelser og skatol

Flatus¹⁴: methanethiol, dimethyl sulfide, dimethyl trisulfid, hydrogensulfid, flygtige aminer og fedtsyrer; Lugtfrie gasser (99 %): H₂, CH₄, CO₂¹⁵, N₂, og O₂ (Hyams, 1996 og Levitt, 1980)

Tabel 1.3. Den kemiske sammensætning af ånde og andre kropsudskillelser, der har betydning for menneskets lugt. Listen er ikke komplet og må kun betragtes som en oversigt. Eksempelvis indeholder ånde og urin, hundredvis eller tusindvis af enkelt-stoffer. (Schaal og Porter, 1991).

¹² Ørevoks kan f.eks. antage en rådden lugt ved Pseudomonas infektion, eller lugte af brunt sukker i tilfælde af "Maple syrup disease". (Hayden, 1980)

¹³ Flygtige fedtsyrer (copuliner) har seksuelt tiltrækkende virkning på primater. Hos kvinder stiger koncentrationen af visse copuliner midt i menstruationscyklus, herunder propionsyre, methylpropionsyre, butyl- og isobutylsyre og methylpentylsyre. Stigning i midcyklus copuliner udebliver, hvis kvinden tager p-piller. (Michael og Kutner, 1975) Bemærkning: Spørgsmålet er om dette også gælder moderne p-piller? To andre undersøgelser relateret til menneskets reproduktion, viser at mænd foretrækker lugten af kvinder, der er i ægløsningsfasen af cyklus frem for kvinder, der er i den luteale fase (sekretionsfasen) (Poran, 1994 og Singh og Bronstad, 2001).

¹⁴ Gennemsnitsmennesket frembringer 19 "prutter" (flatus) per dag. (Hyams, 1996).

¹⁵ Kuldioxid (CO₂) er sammen med L-mælkesyre med til at tiltrække myg. (Bernier et al., 1999 og 2000)

Kan humøret påvirke kropslugten?

I et interview i Politiken (21.06.2000) med titlen: ”Den fineste næse: Med næsen forrest” beskriver den dansk-amerikanske parfumeur og antropolog, Joel Leonard, hvordan han bruger lugtesansen til at bestemme folks sindsstemning (se nedenstående skema).

Sindsstemning	Beskrivelse af lugten
Alvor	Træ-agtig: ”fyrretræ ved stranden”, ”cyprestræ i solskin”
Åbenhed	Sødlig
Lukkethed	Kalk

Tabel 1.4. Sammenhængen mellem sindsstemning og lugt, som det er beskrevet af den dansk-amerikanske parfumeur og antropolog, Joel Leonard. (Bay, 2000) ¹⁶

Derudover mener Leonard at kunne lugte ”psykopati”, om en kvinde er lesbisk, og han hævde at have en ven, der kan lugte vrede. (Bay, 2000) Men Leonards er ikke enestående. Den blinde Helen Keller hævdede, at hun kunne læse menneskers humør ud fra lugten af deres sved (Skovenborg, 2000). Roy Bendicheck, amerikansk naturalist og forfatter, har givet følgende beskrivelse af sammenhængen mellem: humør, lugte og adfærdsændringer hos dyr ¹⁷:

”Mennesker, som er under stærkt psykisk pres, udskiller ofte en stram og stikkende, sødlig duft af moskus fra armhuler og kønsområdet. Angstens dufte fra mennesker kan få dyr til at angribe og heste til at blive urolige.” (Bedicheck 1960)

Bendicheck fortsætter:

“Teorien er at hvert humør har en særskilt duft. Des mere diskriminerende næse, des mere information kan overføres lugtmæssigt fra den lugtede, til den lugtende. Kort forklaret, hver basal kropslugt ændrer duft med skabningens humør.”

(Roy Bedicheck, 1960)

Påstanden om, at humøret påvirker kropslugten baseres på enkeltstående beretninger fra lægfolk. Men ideen om, at humøret kan påvirke kropslugten får opbakning fra videnskabelig hånd af den norske hudlæge, Ole Fyrand:

”Kroppens dufte varierer i intensitet i seksuel ophidselse og følelsesmæssige tilstande og er specifik for art, familie og individ.” (Fyrand, 1997)

¹⁶ Joel Leonard: ”Mennesket er imidlertid også underkastet dufte. For hvem af læserne kender ikke nervøsitetens ildelugtende sved eller erotikkens ophidsende lokkevæsen.” (Jakobsen 1992)

¹⁷ Hunde kan lugte følelser hos mennesker, og det kan få den til at reagere, f.eks. med aggression. (Filiatre et al., 1991)

1.3. Lugte fra det syge menneske ("lugt-diagnose")

Medicinshistorien rummer flere beretninger om, at mennesker ændrer lugt i tilfælde af sygdom. En af dem kommer fra den persiske læge og videnskabsmand, Avicenna (980-1037), der havde noteret sig, at urinen fra syge mennesker kan lugte anderledes. Hvilket er bekræftet af moderne lægevidenskab, f.eks. i tilfælde af nedsat nyrefunktion (uræmi) og sukkersyge. Fyrand har lavet en oversigt over sygdomme som lægerne lige fra gammel tid har kunnet knytte til bestemte lugte.¹⁸ (Fyrand, 1997)

Sygdom	Lugtbeskrivelse
Tyfus	Varmt brød
Mæslinger	Nyplukkede fjer
Gulsot	Kødbutik
Diabetes coma	Æbler
Uræmi	Ammoniak (ubehagelig)
Psoriasis	Sødlig lugt (ubehagelig)

Tabel 1.5. Lugt-diagnose: sammenhængen mellem forskellige sygdomme og deres karakteristiske lugte. Opdagelsen af disse sammenhænge tilskrives "de gamle læger", dvs. med rødder tilbage til den græske antik. (Fyrand, 1997)

Anvendelsesmulighederne for lugtdiagnose er langt mere omfattende i den moderne medicin (Bilag 3). Lugt-diagnose findes særlig nyttig i forhold til bestemte kategorier af sygdomme:

- **Infektionssygdomme:** F.eks.: anaerobe infektioner: dårlig ånde og rådden lugt fra operationssteder. Hudinfektioner, f.eks. "vagabonds disease". (Hayden, 1980)
- **Stofskifte sygdomme:** Medfødt stofskifte sygdomme, f.eks.: "phenylketonuria, der lugter af "omklædningsrum" og "Maple syrup urine disease", der lugter af karamel eller sirup. Erhvervede stofskifte sygdomme, f.eks. sukkersyge, der i akutte tilfælde har en sød frugtagtig lugt. (Hayden, 1980)
- **Autoimmune sygdomme (Hudsygdomme):** Psoriasis. (Fyrand, 1997)

Reviews omhandlende moderne lugtdiagnose: (Lukas et al., 1977; Hayden, 1980; Lockman, 1981 og Smith og Levinson, 1982). Afsnit om påstået lugt af psykiske sygdomme og forgiftninger: (Bilag 3).

Lugten af død

Kroppen begynder hurtigt at ændre lugt efter døden, som resultat af at stofskiftet går i stå, og begyndende bakteriel nedbrydning. Følgende stoffer er fundet i døde kroppe, der har rådnet i varierende tid: 1,5-diaminopentane (cadaverine), 1,4-di-aminobutane (putrescine), p-cresol, benzopyrrole (idole), 3-methyl-1-indole (skatol), dimethyl sulfider og organiske fedtsyrer. (Lorenzo et al., 2003) Lorenzo et al. fra Florida International University udførte en "Headspace" "solid phase micro extraction" (SPME) GC/MS analyse, hvor forskergruppen identificerede følgende stoffer: trimethylamine, 1-pentanol, hexanal, butanoic acid, pentanoic

¹⁸ Benjamin Franklin (1706-90) skulle efter sigende, også have udført lugt-diagnose ud fra urinprøver. (Bendichek, 1960 og Brown, 1995)

acid, heptanal, benzaldehyde, 2-pentryl furan, dimethyl disulfide, hexanoic acid, heptanoic acid, nonanoic acid og octanoic acid.¹⁹ (Lorenzo et al., 2003)

1.4. Kan dyr lugte sygdom?

Hvis det er muligt for menneskelige læger at benytte lugtesansen til at diagnosticere sygdom (se foregående afsnit), hvad så med dyr, der i mange tilfælde har en lugtesans, der er meget bedre end menneskets?

Parasitangreb

En undersøgelse på mus (*Mus musculus*) har vist, at hunnerne foretrækker at parre sig med uinficerede hanner i forhold til hanner, der bærer nematode-ormen, *Heligmosomoides polygurus*. (Kavaliers et al., 2004) Dette kunne indikere, at musene kan lugte den sygdomsfremkaldende organisme. En alternativ hypotese, er at mus kan lugte fald i androgenniveauet, der ledsager sygdom. (Malone et al., 2001)²⁰

Angreb med maddiker fra fluen (*Cochliomya hominivorax*) er et stort problem for fåreavlen, derfor har man forsøgt at træne en tysk jagthund (*Canis familiaris*) til at opspore inficerede sår. Hunden med navnet "Gaz" kunne detektere maddikerne i 19 ud af 20 forsøg, hvilket er en succesrate på 94.7 %.²¹ (Welch, 1990) Tidligere forsøg har vist at hunde kan opspore sigøjnarmøl (*Lymantria dispar*, L.) med en 95 % succesrate. (Welch, 1990)

Afrikanske kæmpe-rotter (*Cricetomys gambianus*) kan trænes til at detektere tuberkulose i spytpøver²². Præliminære resultater har vist, at rotterne er både hurtig og pålidelig. Rotterne kan gennemgå 150 spytpøver på en halv time. I et forsøg med 10'000 prøver havde rotterne 77 % korrekt positiv identifikation med kun 2 % falsk positive. Traditionel diagnose baseret på mikroskopering, der til sammenligning har en succesrate på 95 %. (McKee, 2003)

¹⁹ Hunde kan trænes til at opspore døde mennesker og fragmenter af menneskekroppe. I en undersøgelse havde 10 teams af hund og træner en gennemsnitlig succesrate på 81 % (Individuel variation mellem hundene: 57 % - 100 %) (Komar 1999). Kadaverhunde kan lugte forskel på døde mennesker og døde grise. Forbindelser fundet i høje koncentrationer i headspace fra døde grise: 2-Anthracenamine, propanoic acid, butanoic acid og hexadecanoic acid. (Lorenzo et al., 2003)

²⁰ I artiklen findes ligeledes referencer til artikler, der beskriver hvordan influenza-smitte kan påvirke parringsvalget; Angiveligt gennem lugten. (Malone et al., 2001)

²¹ Hunden havde 100 % succesrate i 265 indledende "dummy" forsøg, hvor lugten af parasitten var overført til en bold eller en klud. (Welch, 1990)

²² Rotter er endvidere blevet trænet til at opsnuse "smugler-varer": sprængstoffer, narkotika og ulovlige fødevarer. Rotterne trænes til at indikere positivt match ved at stå på bagben. En undersøgelse har vist at rotterne indikerer korrekt i over 90 % af forsøgene. Rotter har i forhold til hunde flere fordele: de er billige, de har en størrelse, hvor de kan trænge ind steder, hvor hunde ikke kan komme, og de lader sig ikke så meget forstyrre af mennesker. Endvidere findes beskrevet en interessant metode til "fjernstyret" træning af rotterne via computer, hvilket menes at kunne effektivisere og billiggøre træningen. (Otto et al., 2002)

Epilepsihunde

Jeanette Dahlkvist fik sidste år Danmarks første epilepsihund, det er en dalmatiner og den hedder "Nala". Hunden varsler Dahlkvist 30-15 minutter før et anfald. Baggrunden for brugen af epilepsi-hunde beskrives af hundetræneren, Jeanette Sam-Dodd: "Måske er det en særlig duft, man udskiller eller nogle specielle bevægelser, man gør, når anfald er på vej. Det forskes der endnu i. Det blev opdaget ved en tilfældighed, at nogle hunde har den særlige evne, i et kvindefængsel i USA, hvor man uddanner servicehunde. En af fangerne var epileptiker, og hun lagde mærke til, at flere af hundene reagerede inden hun fik et anfald." (Lumby, 2007)

De særlige bevægelser hunden kan aflæse kan være: en svag skælven, muskelspændinger, rykvis forløb af en ellers jævn bevægelse. Hunde er meget skrappe til at aflæse kropssprog. (Svendsen, 1997) En tredje hypotese er at hunden detekterer et temperaturskift. (BBC, 2002)

Servicehunde som "Nale" har en alarmfunktion, hvor de skal reagere på faresignaler. Det kan de f.eks. gøre ved at "hoppe ind foran ejeren og gø højt, eller de kan være trænet til at betjene en "panikknap" på telefonen. (Svendsen, 1997)²³

Hunde kan udføre graviditets-test

En beretning fra British Medical Journal: Rachel G. Pryke: "Vores 12 år gamle golden retriever, Polly, har udført hjemme graviditets test i årevis. En meget distinkt og entusiastisk "skridt-snusen" har afsløret flere af vores gæsters hemmeligheder inden de havde en chance for at fortælle om det." Derudover havde hunden udvist samme adfærd ved Prykes 3 graviditeter. (<http://www.bmj.com/cgi/eletters/329/7468/712>)

²³Canix: <http://canix.dk/dk/hunde/hunde.htm>

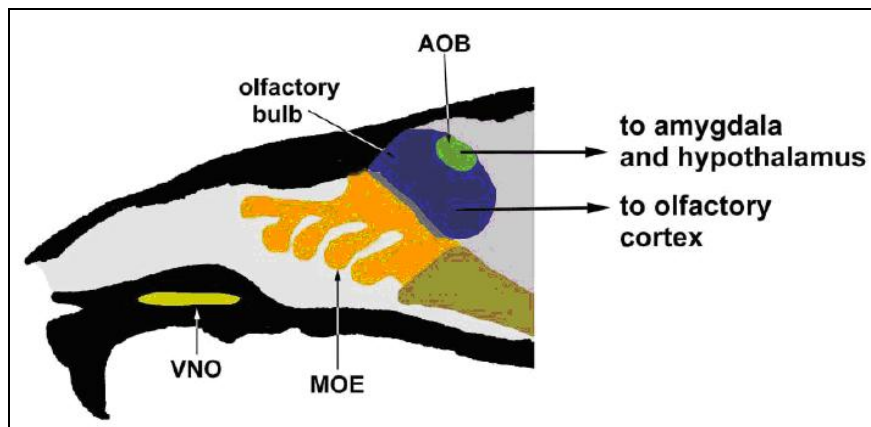
1.5. Lugtesansen

“Med placering mere eller mindre midt i dit ansigt er næsen, måske, det bedste kemiske detektionssystem på planeten.”

(Firestein, 2005)

I 2004 gik Nobelprisen i fysiologi eller medicin til de amerikanske forskere Richard Axel og Linda Buck for deres arbejde til forklaring af lugtesansen, herunder den genetiske baggrund for lugtreceptorer (Buck og Axel, 1991; Dulac og Axel, 1995 og Buck 2000 og 2004)²⁴. Dette arbejde må fremhæves her, da lugtesansen er den første af vores sanser, hvis virkemåde, primært er blevet forklaret ved brug af molekylærbiologiske metoder²⁵. (Figur 1.4)

Hos de fleste landpattedyr er lugtesansen opdelt i to dele: 1. Lugtepitlet i næsehulen og 2. ”det jakobske organ” eller det ”Vomeronasale organ” (VNO) i næseskillevæggen²⁶.



Figur 1.1. Illustration af lugtesansens anatomi i en gnaver med angivelse af placering for næsehulen lugtepitel (MOE) og det Vomeronasale organ (VNO). (Tirindelli et al., 1998)

Lugtepitel i næsehulen

I mennesket findes lugtepitlet øverst i næsehulen. Det genkendes som en ca. 2 cm² stor gullig fortykkelse af det respiratoriske epitel, bestående af 6-10 millioner sanseceller (Stoddart, 1990)

²⁴ Nobel komiteens hjemmeside med beskrivelse af Richard Axel og Linda Bucks arbejde:

http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2004/

²⁵ Nobelprisen blev bl.a. givet for identifikationen af lugtreceptorer fra neuroner fra næsehulens lugtepitel.

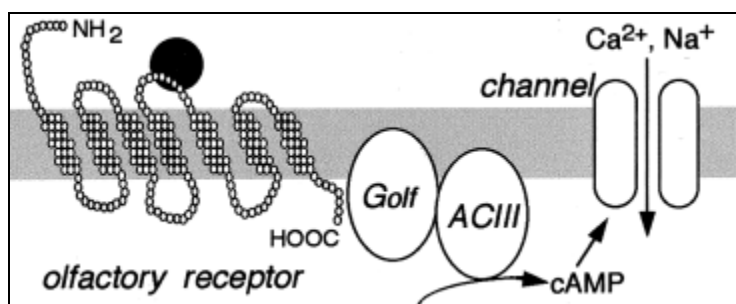
Arbejdet foregik på rotter med en dengang forholdsvis ny molekylærbiologisk metode. Brugen af degenerative primere gjorde det muligt at klonere lugtepitlets mange forskellige ”rhodopsin-lignende” receptorer (Buck og Axel, 1991). Nogle år senere blev en ny type receptorer identificeret i det vomeronasale organ (VNO). Her blev anvendt en ”tour de force” analyse VNO-neuronernes m-RNA, ud fra hypotesen om, at hvert neuron udtrykker en specifik receptor, hvorved de enkelte VNO-receptorer kunne findes ved subtraktion (Dulac og Axel, 1995). (Rodríguez, 2004)

²⁶ Det vomeronasale organ (VNO) kaldes også ”Jakobsens organ” (the Jacobsonian organ) efter opdageren, den danske læge og sammenlignende anatom, Ludwig Lewin Jakobsen (1783-1843), der opdagede organet i 1809. Senere beskrevet af George Cuvier (1769-1832): ”Description Anatomique d'un Organe Observé dans les Mammifères,” i ”Annales du Muséum d'Histoire Naturelle” (Paris, 1811).

og Bjering et al., 2001)²⁷. Det menneskelige lugtepitlet har 350-400 forskellige typer lugtneuroner (Miller, 2004; Niimura og Nei, 2006 og Rinaldi, 2007), og hvert neuron udtrykker en speciel type af lugtreceptorer²⁸. Receptorerne er placeret på mikrovilli på neuronernes dendritter (Elsaesser og Paysan, 2007).

På vej mod et lugtsignal fra lugtneuronerne, bevæger lugtstofferne sig hen over næsens slimhinde, der er 10-30 μm tyk. Her udskiller lugtepitlet store mængder "odorant binding protein" (OBP). Ca. 1 % af proteinerne i næseslimhinden udgøres af disse bærerproteiner, der er medlemmer af lipocalin-familien (Snyder et al., 1988; Mundy, 2006 og Zarzo, 2007). En mulig funktion af bærerproteinerne, er at de transporterer hydrofobe odoranter over slimhinden, en anden mulig funktion, er at OBP filtrerer odoranterne, således af det påvirker sammensætningen af de odoranter, der når frem til lugtneuronerne. Analyse af humane OBP viser dog, at de har lav specificitet. Eksempelvis binder hOBP-2A: aldehyder, fedtsyrer, m.fl. (Bjering et al., 2001 og Zarzo, 2007)

Hver især binder lugtreceptorerne en afgrænset gruppe af lugtstoffer med forskellig affinitet. Følsomheden ved *In vitro* forsøg angives til i størrelsesordenen 10^{-6}M (Kajiya et al., 2001 og Bhandawat et al., 2005) til 10^{-8}M (Rouquier og Giorgi, 2007). Bliver G_{olf} -proteinet aktiveret af odoranten, er næste led i signalvejen, aktivering af enzymet, adenyl cyclase (AC3)²⁹, hvorved der dannes cAMP. Dette får en gruppe af ikke-specifikke ionkanaler, "cyclic-nucleotide-gated" (CNG), til at åbne, hvorefter Na^+ og Ca^{2+} strømmer ind i neuronen, og der dannes et aktionspotentiale. Dette forstærkes yderligere ved åbning af " Ca^{2+} -gated" chlorid kanaler. Aktionspotentialet bevæger sig herefter til en af ca. 2000 glomeruli i forhjernens "olfactory bulb". Signalets specificitet opretholdes ved at hver type lugtneuron kun kan binde til to af disse glomeruli. I glomeruli dannes synapser til ca. 25 mistralceller, der overfører signalet videre ud i hjernen. (Rawson og Gomez, 2002; Hatt, 2004; Miller 2004; Bhandawat et al., 2005; Firestein, 2005; Wang et al., 2006 og Elsaesser og Paysan, 2007)



Figur 1.2. Illustration af signaloverførslen fra en lugtreceptor i næsens lugtepitel. En odorant (sort kugle) bindes til den G-protein koblede receptor, hvorved G_{olf} -proteinet aktiverer adenylcyclase (ACIII), resulterende i åbning af CNG ionkanalen og influks af kationer Ca^{2+} og Na^+ . (Touhara, 2002)

²⁷ Lugtepitlets gullige pigmentering mangler hos albinoer, der interessant nok har svækket lugtesans (anosmia).

²⁸ Interessant nok har lugtreceptorer, G-proteiner, AC kanaler og CNG kanaler, ligeledes en vigtig funktionel rolle i sædceller (Issel-Tarver og Rine, 1996; Quignon et al., 2003, Olender et al., 2004 og Rouquier og Giorgi 2007). I en oversimplifikation, er det blevet hævdet, at sædceller ikke er andet en lugtneuron med hale (Hatt, 2004).

²⁹ Eksperimenter med gensplejsede mus, der har defekt gen for AC3, indikerer at næsens lugtepitel er nødvendigt for normal seksual-adfærd. Dyrene uden funktionelt lugtepitel udviser ingen parringsforsøg og ingen "ano-genital sniffen". (Wang et al., 2006)

Signalet afsluttes ved at protein kinaser (PK) deaktiverer cAMP-produktion. Derudover aktiverer Ca^{2+} calmodulin, der aktiverer phosphodiesterase, der nedbryder cAMP. (Rawson og Gomez, 2002 og Bhandawat et al., 2005) Lugtepitlet indeholder endvidere enzymer af cytochrom P450 (CYP) familien, der er meget aktive, mht. nedbrydning af odoranter. (Zarzo, 2007)

Lugtreceptorerne har en størrelse på ca. 320 AA. De er membranbundne proteiner, og indeholder et 7-transmembranhelix (Rawson og Gomez, 2002; Kajiya, 2001; Touhara, 2002 og Hatt, 2004). De har en ekstracellulær aminoterminal og en intracellulær carboxylterminal. Lugtstofferne binder formentlig i transmembranregionen (10Å fra celleoverfladen). (Hatt, 2004 og Zarzo, 2007) Lugtreceptorernes form og funktion indikerer, at de kan være metalloproteiner, hvor overgangsmetaller er involveret i binding og signaloverførsel fra odoranter. (Zarzo, 2007) Golf-proteinerne opdeles i to klasser: Klasse I ("Fiske-lignende"), der formentlig binder vandopløselige ligander og Klasse II ("Pattedyrlignende"), der formentlig binder luftbårne/flygtige ligander³⁰. (Olender, 2004; Rouquier og Giorgi, 2007; Niimura og Nei, 2006 Zarzo, 2007)

I det menneskelige genom, findes der gener for lugtreceptorer på alle kromosomer, undtagen 20 og Y-kromosomet. Typisk befinder de sig i klynger på 10 eller mere, og der er fundet i alt 95 klynger med gener for lugtreceptor. (Ben-Arie et al., 1994; Hatt, 2004 og Niimura og Nei, 2006) Det menneskelige kromosom 11 har særlig mange lugtreceptor-gener, indeholdende ca. 42 % af generne. (Rawson og Gomez, 2002; Hatt, 2004 og Zarzo, 2007). Lugtreceptorgenerne er endvidere karakteriseret ved ikke at have introns (Issel-Tarver og Rine, 1996; Mombaert, 2004 og Niimura og Nei, 2006) Generne for lugtreceptorer udgør 1-3 % af pattedyrenes genom (Zarzo, 2007).

Det vomeronasale organ (VNO)

Det vomeronasale organ (VNO) er en bilateral rørformet struktur, der befinder sig i forreste del af næseskillevæggen. Røret åbner sig i en kanal mod bunden af næsehulen, mod munden eller begge dele (Bjering et al., 2001 og Rodriguez, 2004). Ligander trækkes ind i VNO ved en autonom pumpebevægelse i de blodårer, der forsyner VNO. Bestemte adfærdstyper som, snusning, slikning og flehmen³¹, kan formentlig medvirke til at bringe liganderne i kontakt med VNO (Dorries et al 1997). Følsomheden af VNO-receptorer angives *In vitro* til at være 10^{-11} – 10^{-12} M (Leinders-Zufall et al., 2004).

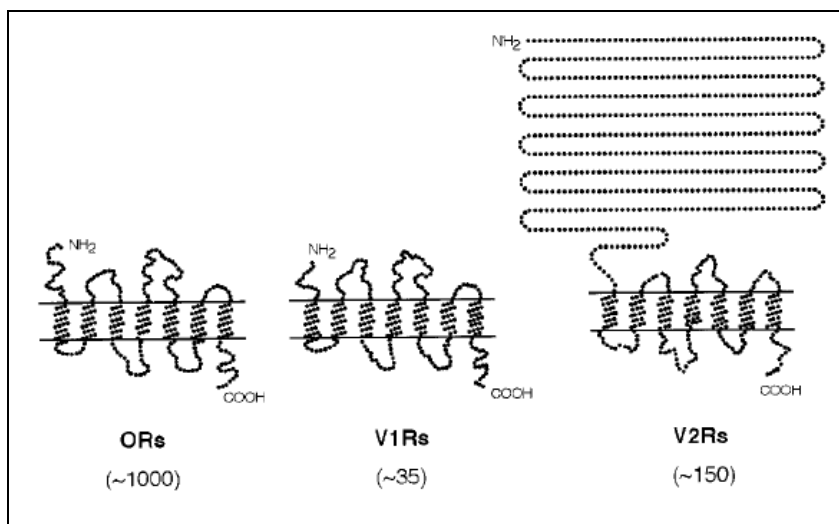
VNO indeholder 30-100 forskellige typer receptorer, der hovedsageligt menes at være involveret i detektion af færomoner og flygtige stoffer i væskefase. VNO-receptorerne er i lighed med lugtreceptorerne i næsehulen 7-transmembran G-proteinkoblede receptorer (GPCR), men menes i øvrigt at være genetisk ubeslægtede med receptorerne i næseepitlet, dvs. at der er stor sekvens ulighed (Dulac og Axel, 1995 og Mundy, 2006). Der kendes nu to superfamilier af VNO-receptorer:

³⁰ Opdelingen af lugtreceptorerne i klasse I og II er ikke helt i overensstemmelse med de nyeste bioinformatiske analyser, men terminologien har vundet hævd. (Niimura og Nei, 2006)

³¹ Flehmen-adfærd, er en karakteristisk adfærd hos: heste, får, køer, geder og kattedyr, hvor overlæben trækkes op og fortænderne blottes (Dorries et al., 1997 og Keverne, 1999)

- **V1R** omfatter 12 familier og ca. 150 gener: De udtrykkes i den overfladiske del (apikale zone) af VNO, og er forbundet til G_{ai2}-proteinet. V1R har en kort aminoterminal. Binding af ligander sker formentlig i transmembran regionen (Buck 2000). De hidtil fundne ligander har været små flygtige forbindelser, f.eks. 2-heptanone (Leinders-Zufall et al., 2000 og Bosch et al., 2002).
- **V2R** omfatter 100-140 gener³²: De udtrykkes i den dybe del (basale zone) af VNO, og er forbundet til G_{ao}-proteinet. V2R har en lang aminoterminal (Keverne, 1999). Binding af ligander sker formentlig i ekstracellulære domæne (Buck, 2000). V2R menes, at binde "ikke-flygtige" forbindelse, f.eks. "major urinary proteins" (MUP-proteiner) (Chamero et al., 2007) og MHC-peptider/ligander (Kelliher et al., 2006; Leinders-Zufall et al., 2004 og Boehm et al., 2006).

(Keverne 1999 og 2002, Leinders-Zufall et al., 2004, Rodriguez, 2004, Mundy, 2006 og Niimura og Nei, 2006)



Figur 1.3. Receptorer for odoranter og færomoner: lugtreceptorer/G_{Olf}-proteiner (ORs), og de to superfamilier af VNO-receptorer: V1R og V2R. (Buck, 2000)

Der er noget usikkerhed om signalvejen, men VNO-receptorerne adskiller sig formentlig fra receptorerne i lugtepitlet ved at benytte en 1,4,5-triphosphat (IP₃)-signalvej (Keverne, 1999 og Buck, 2000). De G-protein koblede VNO-receptorer aktiverer i dette tilfælde phospholipase C (PLC), hvorved der produceres IP₃ og diacylglycerol (DAG). Herved åbnes de insitol-3-phosphat (IP₃)-følsomme "Transient receptor potential cation channel c2" (TRPC2)-ionkanaler³³, og der dannes et aktionspotentiale. (Liman et al., 1999; Keverne, 1999 og 2002; Stowers et al., 2002; Mundy, 2006 og Wang et al., 2007)

³² V2r udtrykkes sammen med MHC1b: M1 og M10 familierne. (Rodriguez, 2004), hvilket kan være en af forklaringerne på, hvorfor det er muligt for dyr at identificere lugttyper.

³³ Eksperimenter med genspøjsede mus, hvor TRP2-ionkanalerne ikke er funktionelle indikerer at VNO er nødvendigt for kønsbestemmelse. Hanner udfører parringsforsøg på indtrængende dyr uanset køn, han-han

VNO har en meget direkte forbindelse til det limbiske system (amygdala og hypothalamus) og hjernens hukommelsescentre. Derudover findes en forbindelse til kranienerve 0, der er involveret i frigivelsen af ”gonadotropin releasing hormone” (GNRH1)/”luteinizing hormone-releasing hormone” (LHRH) (Bhutta, 2007), og sekundært: luteiniserende hormon (LH), folikel stimulerende hormon (FSH) og prolaktin. Hormoner der er involveret i overgang til pubertet og reproduktionsadfærd.³⁴ (Weller, 1998; Rodriguez, 2004 og Yoon et al., 2005)

Traditionelt har lugtepitlet været associeret med bevidst/kognitiv perception af lugtstoffer, mens VNO har været associeret med detektion af færomoner og ubevidst/stereotyp adfærd (Buck, 1995). Nyere forskning har imidlertid antastet denne distinktion. Eksempelvis detekteres færomonet adrostenon formentlig gennem lugtepitlet hos tamgrisen (*Sus scrofa*) (Dorries et al., 1997). Det samme gælder diefæromonet ”2-methylbut-2-enal”, (2MB2) hos kaniner (*Oryctolagus Coniculus*) (Baxi et al., 2006). VNO receptoren, V1RL1, er påvist i lugtepitlet (Rodriguez, 2004 og Bhutta, 2007), og omvendt er 44 lugtreceptorer fundet udtrykt i VNO (Lévai et al., 2006)³⁵. Derfor må det antages at lugtepitlet og VNO overlapper og supplerer hinanden i funktion (Leypold et al., 2002; Boehm og Zufall, 2005; Rodriguez, 2004, Lévai et al., 2006; Baxi et al., 2006; Shepherd, 2006; Wang et al., 2006; Review: Kelliher, 2007; Wang et al., 2007 og Bhutta, 2007)

Herved kan der gives sandsynlig forklaring på de modstridende forskningsresultater vedrørende om mennesket har et ”funktionelt” VNO. Der findes indikation for en del færomon-effekter hos mennesker, f.eks.: menstruations synkronisering, lugtpræferencer relateret til køn og reproduktionsstatus og slægtskabsgenkendelse (mor-barn) (Reviews: Weller, 1998 og Bhutta, 2007) Til gengæld kunne en større anatomisk undersøgelse af 564 voksne personer kun påvise bilateralt VNO i 8 % af tilfældene, unilateralt VNO i 22 % og intet VNO i 70 % af tilfældene (Keverne, 1999). Langt de fleste gener for VNO-receptorer er pseudogener hos mennesket (se nedenstående tabel). Ligeledes er genet for TRPC2 ionkanalen et pseudogen hos catarrhine primater³⁶, herunder mennesker. (Keverne, 1999; Liman et al. 1999; Rodriguez, 2004 og Bhutta 2007)

Hypotesen er, at mennesket kan detektere færomoner gennem næsens lugtepitel (Wang et al., 2007). Hvilket underbygges af at mennesket muligvis har funktionelle V1R-gener og mindst et udtrykkes i lugtepitlet. (Boschat et al., 2002 og Mundy, 2006)

agression er nedsat, og maternal aggression fra diende hunner over for indtrængende hanner er nedsat. Lignende effekt opnås ved fjernelse af VNO ved kirurgiske indgreb. (Stowers et al., 2002 og Leypold et al., 2002)

³⁴ En nyere undersøgelse kunne ikke bekræfte forbindelsen mellem VNO og LHRH-frigivende neuroner, men fandt i stedet en ”overraskende” forbindelse til næseepitlet. (Yoon et al 2005)

³⁵ Endvidere er der påvist TRPC2-uafhængige signaler i den basale del af VNO. (Kelliher et al 2006)

³⁶ Catarrhine primater er en fællesbetegnelse for ”den gamle verdens” (”old world primates”) primater (OWP) og homonoider.

	OR	V1R	V2R	T1R	T2R
Menneske	388 (414)	2 (115)	0	3	25 (11)
Mus	1037 (354)	165 (165)	61 (148)	3	35 (6)
Rotte	1201 (292)	106 (110)	57 (111)	3	37 (5)
Hund	872 (222)	8 (22)	ND	3	15 (5)
Ko	ND	32 (41)	ND	ND	12 (15)
Pungrotte	ND	49 (53)	ND	3	26 (5)
Kylling	82 (476)	ND	ND	2	3 (0)
Frø	410 (478)	ND	ND	0	49 (12)
Pufferfisk	44 (54)	1	ND	4	4 (0)
Zebrafisk	102 (35)	1	78 (18)	1	4 (0)

Tabel 1.6. Antal funktionelle gener og pseudogener for lugtreceptorer (OR), de to typer af VNO-receptorer (V1R og V2R) og smagsreceptorerne (T1R og T2R). ND = ikke bestemt. Antallet af pseudogener er vist i parentes. (Niimura og Nei, 2006)

Hundens lugtesans

”Hunde-tanker: *“Hmm, hunde-urin, ikke egern eller kat. Ikke mit, heller ikke en tæves. En dominant han, sikkert en Airedale, rask, tilfreds som en dødbidder, en voksen. Hvad laver Rex æder han stadig hvalpe-foder?”*

(Gibbons, 1986)

Hunde (*Canis familiaris*) har en lugtesans, der er meget bedre end menneskets. Hvor meget er svært at gætte på, da der mangler standardiserede metoder til at sammenligne forskellige arters lugtesans (Walker et al., 2006). Men kvalificerede gæt ligger på, at hundens lugtesans er 10'000-100'000 gange bedre end menneskets (Walker et al., 2006), og de har 20-40 gange flere nasale lugtreceptorer (Gordon et al., 2008; Quignon et al., 2003 og Rouquier og Giorgi 2007). Detektionsgrænsen for hundes lugtesans er blevet angivet til dele per trillion ($1/10^{12}$) (Welch, 1990 og McCulloch et al., 2006)³⁷. Hundenæsens anatomi: (Bilag 4).

Det er vanskeligt umiddelbart at sammenligne de målte *In vitro* følsomheder af lugtreceptorer og VNO-receptorer og detektionsgrænser for hundes lugtesans i praksis, hvor mange odorantmolekyler, der skal til at aktivere receptoren, odorantmolekylets passagetid, og hvorvidt en enkelt receptor kan aktivere mere end et G-protein og efterfølgende føre til åbningen af flere ionkanaler. Derudover vil lugtesansens følsomhed afhænge af: lugtepitlets størrelse, tæthed af neuroner, antal lugtreceptorer og størrelsen af lugtekolben (”olfactory bulb”) (Quignon et al., 2003) (se nedenstående skema).³⁸

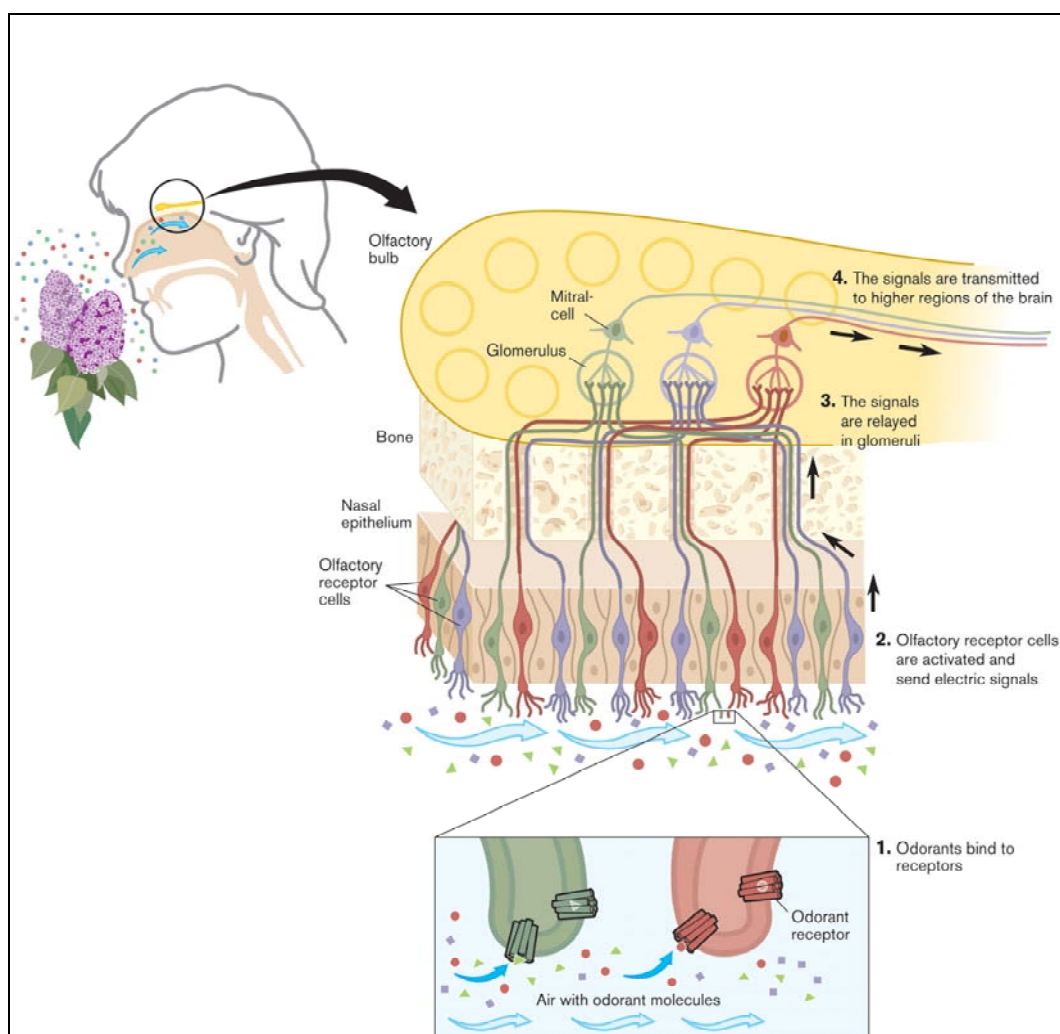
Af ovenstående tabel kan det udledes, at hunden har mere end dobbelt så mange lugtreceptorer som mennesket, og hunden er mennesket overlegent, hvad angår flere andre parametre for lugtesansens følsomhed (se nedenstående tabel). Til gengæld må tages det forbehold at hunden ikke har et specielt veludviklet VNO. Hos hunden er kun identificeret 8 V1R-receptorer, mens der er identificeret over 100 for gnavere.

³⁷ Russiske forskere har målt service hundes detektionsgrænser for 3 kemikalier. Den bedste hund, ”Boi” havde følgende værdier: ammoniak: 10^{-24} , eddikesyre: 5×10^{-21} og thymol: 10^{-20} . Disse lave detektionsgrænser er dog ikke fundet bekræftet andre steder. (Myznikov, 1958)

³⁸ Andre faktorer af betydning for hundens evne til at følge lugtspor: En sulten hund følger lugtspor 3 gange så godt som en mæt hund. De optimale fysiske forhold for sporarbejde er en temperatur på ca. 20°C og en luftfugtighed på 62-63% (Knudsen og Ingerslev, 2005)

Parameter	Menneske	Hund
Arealet på næsens slimhinde	5 cm ²	150 cm ²
Tykkelse af næsens slimhinde	0,06 mm	1,12 mm
Antal duftreceptorer	6 millioner	200 millioner ¹
Forholdet mellem størrelsen på hjernens duftcenter	1	14
Forhold mellem evnen til at detektere smørsyre	1	1 million

Tabel 1.7. Forholdet mellem menneskets og hundens lugtesans. Det ansås at hundes evne til at arbejde med dufte er ca. 260 gange så stor som menneskets. En bemærkning: Bjørne anslås at have ca. 7 gange så mange lugtreceptorer som hunde, men anvendelse af bjørne til diverse sporingsopgaver vil formentlig være upraktisk. (<http://www.sporhunde.dk/fart.htm>, <http://www.americanbear.org/senses.htm>)



Figur 1. 4. Lugtreceptorer og organiseringen af lugtesansen. Hos mennesket binder ca. 400 forskellige lugtreceptorer lugtstoffer med forskellig affinitet. Hvert neuron udtrykker kun en type receptor. Signalets specificitet opretholdes ved at neuroner af samme type, kun kan kobles til to glomeruli i lugtekolben. Herfra overføres signalet via 25 mistralceller videre ud i hjernen. (http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2004/press.html)

2. Kræftcellers metabolisme

Tumorceller har deres eget karakteristiske stofskifte. Hvilket ikke er overraskende taget i betragtning, at kræftceller adskiller sig væsentligt fra normale celler (Tekstboks 2.1).

Forøget mutation, undvigelse af apoptose, ufølsomhed over for anti-vækstsignaler, selvtilstrækkelighed mht. vækstsignaler, grænseløst replikations potentiale, angiogenese, vævs-invasion, undertrykkelse af immunsystemet, m.m.

Tekstboks 2.1. Kræftcellens fænotype. (Ohshima et al., 2003)

Det centrale spørgsmål er derfor, hvordan kræftcellers stofskifte adskiller sig fra normale celler, og om nogle af disse forskelle kan spores i de lugtstoffer, der udskilles fra kræftcellerne.

En af de mest bemærkelsesværdige forskelle er at kræftcellernes glykolyse er forøget ("aerobic glycolysis") (Carew og Huang, 2002; Czarnecka et al., 2006; Ohta, 2006 og Archer et al., 2007). Glykolysen er forøget en faktor 2-3 i forhold til normale celler ("Warburg effekten")³⁹ (Giles, 2006). En effekt heraf er forøget mælkesyredannelse⁴⁰ (Brandon et al., 2006). Høj glykolyse kan påvises i mere end 90 % af alle tumorer ved "positron emission tomography" (PET) scanning⁴¹ og bruges som indikator for kræft (Kroemer, 2006 og Moreno-Sánchez et al., 2007). Til gengæld er respirationsraten ofte lavere, cancerceller har typisk færre mitochondrier og lavere aktivitet af antioxiderende enzymer. (Masotti, 1988; Brandon et al., 2006; Giles, 2006; Moreno-Sánchez et al., 2007 og Nishikawa, 2008). Produktionen af superoxid typisk forøget en faktor 4-10.⁴² (Giles, 2006)

I kapitlet gennemgås først fænomenet "oxidant stress", derefter følger afsnit om nogle af kilderne til oxidativt stress, herunder: mitochondrierne, NADPH oxidase (NOX) og

³⁹ Warburg hypotesen: Den tyske forsker Otto Heinrich Warburg (1883-1970) fremsatte allerede i 1924 hypotesen om at cancer opstår som en mitochondrie fejlfunktion. Hvilket han fandt underbygget ved, at cancerceller primært får dækket deres energibehov ved glykolyse, frem for oxidativ phosphorylering i mitochondrierne, som det er tilfældet for normale celler. (http://en.wikipedia.org/wiki/Warburg_hypothesis) Warburg fik tildelt Nobel Prisen i Fysiologi eller Medicin i 1931.

For nyligt har forskere fra Harvard Medical School i Boston identificeret et enzym, der kan være årsag til den opregulerede glykolyse. Mange cancerceller udtrykker eksklusivt en embryonisk M2 isoform af pyruvat kinase. (Christofk et al., 2008)

En anden kilde angiver at glykolysen forøges en faktor 2-17. Dette afstedkommes bl.a. ved forøget aktivitet af glycolytiske enzymer, herunder: hexokinase II (HKII) og phosphofructokinase 1 (PFK-1) (Moreno-Sánchez et al., 2007)

Hypoteser til forklaring af Warburg effekten. (Review: Kroemer, 2006)

⁴⁰ Hunde kan lugte eddikesyre i en koncentration, der er 108 gange lavere end mennesker. (Thesen et al., 1993)

⁴¹ PET/FDG: Måles ud fra omsætningen af 18flouro-deoxyglucose (FDG). (Moreno-Sánchez et al., 2007)

⁴² Andre typiske forandringer: forøget glukoseoptag og metabolisme, reduceret pyruvat oxidation, forøget mælkesyredannelse; forøget glycerol og fedtsyre omdannelse, reduceret fedtsyre oxidation og forøget aktivitet af pentose phosphat signalvejen (Czarnecka 2006); Cox-2 er opreguleret, og der er forøget arachidonsyre metabolisme. (Frederico et al., 2007)

peroxysomer. Afslutningsvis behandles ”lipid peroxidation” som mulig kilde til lugtstoffer, der muligvis kan bruges som biomarkører for cancer.

2.1. ”Reactive oxygen species” (ROS) og ”oxidativt stress”

Definition: En uhensigtsmæssig og potentielt skadelig stigning i koncentrationen af oxidanter, der overskrider kapaciteten af organismens antioxidantforsvar.

I den normale celle findes der mange forskellige kilder til ”reactive oxygen species” (ROS): mitochondrierne⁴³, endoplasmatiske reticulum (ER)⁴⁴, cytosolen, plasmamembranen (Köhler et al., 1999) og detoxificerende enzymer som cytochrome P450 (Bartsch og Nair, 2000)

”Reactive oxygen species” (ROS): $\cdot\text{O}_2$, H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$ og $\text{ONOO}\cdot$

”Reactive nitrogen species (RNS): $\text{NO}\cdot$, $\text{NO}_2\cdot$ og NO_2^- , ONOOH , $\text{ONOO}\cdot$, $\text{ONOOCOO}\cdot$

Tekstboks 2.2. Eksempler på ”reactive oxygen species”(ROS) og ”reactive nitrogen species”(RNS). Til den store gruppe af ROS og RNS regnes endvidere reaktionsprodukter med uorganiske og organiske forbindelse (”secondary metabolic reactive species”) (se afsnittet: Lipid peroxidation (LPO)). (Rahman og Kelly, 2003)

Inflammation⁴⁵ er en anden vigtig faktor, mht. forøget ROS-produktion (Hsu et al, 2000; Ohshima et al., 2003; Moldovan og Moldovan, 2004) Fagocytiske celler, herunder makrofager og neutrofiler, kan udløse såkaldte ”respirative udbrud” for at dræbe patogene bakterier og andre ”immunfremmede celler”. Derudover frigiver immunceller cytokinerne ”tumor necrosis factor” (TNF- α) og interleukin-1 (IL-1), der bevirker yderligere forøgelse af ROS-produktionen. (Frederico et al., 2007; Lambeth, 2007 og Nischikawa, 2008)

Forøget produktion af ROS kan endvidere være resultat af miljøfaktorer, herunder: UV-stråling, ioniserende stråling, visse tungmetaller; cigaretrøg, kemiske karcinogener, f.eks. vinylchlorid og urethane (Bartsch og Nair, 2000 og Hsu et al., 2000) og varmekchok (Moldovan og Moldovan, 2004). Mange former for kemoterapi virker ved induktion af en for kræftcellerne dødelig dosis af ROS, f.eks.: antracycliner (f.eks. doxorubicin), cisplatin og bleomycin (Nishikawa, 2008) og bortezomib⁴⁶ (Ling et al., 2003).

⁴³ Mitochondrierne er ikke de eneste organeller, der er udstyret med en ”respirationskæde”: Komponenter af respirationskæder i andre organeller: ”Nuclear envelope (NE)”: NADH oxidase (NOX), NADH-cytochrome c reductase og cytochrome c oxidase; Endoplasmatiske reticulum (ER): cytochrom P450 oxidase, cytochrom b5 og NADPH cytochrom P450 reductase (Giles, 2006); Lysosomer: NADH, FAD, cytochrom b og ubiquinone (Moldovan og Moldovan, 2004).

⁴⁴ 25 % af cellens ROS-produktion tilskrives Ero1p, der oxiderer protein disulfid isomerase (PDI) i forbindelse med dannelsen af svovlbroer under proteinsyntesen. (Moldovan og Moldovan, 2004)

⁴⁵ En sammenhæng mellem cancer og inflammation blev oprindeligt foreslået af Rudolph Virchow (1821-1902), og kalder derfor ”Virchow hypotesen”. 18-19 % af alle tilfælde af cancer kan relateres til infektion. (Ohshima et al., 2003 og Bartsch og Nair, 2006) Link mellem inflammation og cancer: prostaglandiner, cytokiner, NF- κ B, chemokiner og ”angiogenic factors” (Frederico et al., 2007)

⁴⁶ Bortezomib er endvidere angivet som proteasom-hæmmer. (Ling et al., 2003)

I parallel til produktionen af ROS producerer cellerne ”reactive nitrogen species” (RNS), der kan resultere i ”nitrosativt stress”. I aktiverede immunceller dannes f.eks. NO⁻ ved omdannelse af L-arginin til L-cituline af enzymet ”inducible nitric oxide synthase (iNOS)”⁴⁷.

Oxiderende enzymer: NADPH oxidase (NOX): O₂⁻, xanthine oxidase (XO): O₂⁻, inducible nitric oxide synthase (iNOS): L-arginine → L-cituline + NO⁻⁴⁸, myeloperoxidase (MPO): HOCL, NO₂⁻, eosinophil peroxidase (EOP): HOBr.

Antioxiderende enzymer: superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), 1- og 2- cystein peroxiredoxin (Prx) og glutathione-S-transferase (GST).

Andre antioxidanter: vitamin C, beta-ketosyrer, pyruvat, ”purine urate”, Vitamin E, ”lipoic acid” (medicin), glutathione disulfid (GSSG) (Köhler et al, 1999; og Giles, 2006); tocopherol, ascorbate, beta-carotene, retinoic acid og pyridine nucleotider, Hsu et al., 2000); polyphenoler (rødvin/te) (Ushio-Fukai og Nakamura, 2008) og lycopene (tomater) (Wu, 2006) og reveratrol (rødvin)

Tekstboks 2.3. Eksempler på oxiderende og antioxiderende enzymer⁴⁹, samt andre antioxiderende molekyler. (Ohshima et al., 2003; Giles, 2006; Frederico et al., 2007 og Murakami og Ohigashi, 2007))

Mulige skadevirkninger af ROS

Traditionelt er forøget ROS-produktion blevet forbundet til en række sygdomme, herunder infektionssygdomme (Frederico et al., 2007); åreforkalkning og diabetes⁵⁰ (Ushio-Fukai og Alexander, 2004 og Ushio-Fukai og Nakamura, 2008) og cancer (Roberts II og Morrow, 2002). Derudover er forhøjet niveau af ROS sat i forbindelse med alderdom⁵¹ (Finkel og Holbrook 2000). (se endvidere afsnittet: Lipid peroxidation (LPO)) ROS er kemisk meget reaktive molekyler, hvorved de kan være skadelige for biomolekyler, herunder: DNA, proteiner og lipider. (Lambeth, 2007)

⁴⁷ Biologien omkring RNS og nitrosativt stress findes interessant, men forfatteren har valgt ikke at følge dette spor videre som led i emnebegrænsningen.

⁴⁸ iNOS induceres ved inflammation. NO er kendt for sin virkning som vasodilator (”blodkarsudvider”) og i forbindelse med signaloverførsel i hjernen. (Schrader og Fahimi, 2004 og Murakami og Ohigashi, 2007) Forøgelse af NO-produktionen med 200-300 % er målt hos astmatikere. Derudover er NO impliceret i mandlig erektion. (Smith og Spanel, 2007)

⁴⁹ Enzymhæmmere: allopurinol (XO); NG-monomethyl-L-arginine (NOS) og benzo[b]thiophenesulphonamid (NOX). (Giles, 2006)

⁵⁰ Insulinresistens er karakteristisk for diabetes 2. Teoretiske overvejelser har gået på om ROS spiller en kausal rolle. En hypotese går ud på, at ROS inducerer JNK, der efterfølgende resulterer i insulinresistens. ROS-produktion induceres af TNF, sphingolipid ceramid frigives, hvilket fører til forøget ROS-produktion i mitochondrierne. (Houstis et al., 2006)

⁵¹ ”The free radical theory of ageing”: I 1900-tallets begyndelse havde forskere observeret, at dyr med høj metabolisk rate som oftest var relativt kortlevede (”the rate of living hypothesis: ”Mottoet: Lev stærkt, dø ung”). Senere blev respirationsraten knyttet til mitochondrierne, der formentlig genererer en stor del af ROS. Derved kunne Denham Harman i midten af 1950’erne fremsætte en hypotese om, at der var en sammenhæng mellem ældningsfænomenerne og organismens produktion af frie radikaler (”The free radical theory of ageing”). Hypotesen understøttes af, at mitochondrierne hos langlevende fugle og primater, producerer en relativt lille mængde ROS. (Finkel og Holbrook, 2000)

En anden forklaring på ældning (replikativ ældning), er en ”indre konflikt” i cellen mellem et antiproliferativt/tumor suppressor signal, f.eks.: Rb, p53 og p16^{INK4a} og et mitogent signal, f.eks.: ERK/MAPK. Rb og p16 inducerer ROS, som efterfølgende aktiverer protein kinase C, der på en gang inducerer ROS (”ond cirkel”) og hæmmer WARTS proteinet, der er essentielt for celledeling. (Ramsey og Sharpless, 2006)

Nyere forskning har imidlertid vist, at ROS har vigtige funktioner i den normale organisme. ROS fungerer eksempelvis som signal molekyler ("sekundære budbringere"), og er vigtige i relation til f.eks. celleproliferation og cellebevægelse (se afsnittet: NADPH oxidase (NOX-familien). (Lambeth, 2007)

I den normale organisme må man forestille sig at produktionen af ROS er nøje reguleret, og der findes en balance mellem ROS-produktion og virkningen af diverse antioxidantende enzymer og molekyler (Tekstboks 2.3). Væsentligste redoxbuffer i cellen, menes at være glutathione (GSH) og glutathione disulfide (GSSG), hvor GSSG er den oxiderede form og GSH er den reducerede form (Moldovan og Moldovan, 2004) Eksempler på andre redox-kontrollerende systemer er: thioredoxin og Ref-1 (Acker, 2005) og "ROS-scavengeren", N-acetyl cysteine (NAC) (Radinsky et al., 2005)

I relation til kræft kan niveauet af ROS-produktion i cellen være bestemmende for, om der sker celleproliferation eller apoptose⁵². ROS i en sub-letal dosis kan føre til celleproliferation (Suh et al., 1999; Giles, 2006 og Nishikawa, 2008) Mens ROS i en dødelig dosis fører til apoptose (Giles, 2006, og Nishikawa, 2008) eller ligefrem nekrose. (Spiteller, 2003) Endvidere kan ROS virke som mutagen, og på den måde inducere kræft (Suh et al, 1999 og Ramsey og Sharpless, 2006).

ROS, redoxfølsomme proteiner og "cancer signalveje"

ROS interagerer med redoxfølsomme proteiner⁵³ (Giles, 2006; Frederico et al., 2007), herunder enzymer og transkriptionsfaktorer med særlig relation til cancer (Tabel 2.1). Påvirkningen kan ske gennem aminosyren cystein, hvorved ROS påvirker dannelsen af svovlbroer. Et andet eksempel er reaktion med methionine, hvorved der dannes: sulfoxider, sulfoner og sulfonsyrer.⁵⁴ (Spiteller, 2003)

⁵² Foreslået apoptose signalvej: Apoptotisk stimulus ->phospholipase aktivering ->frigivelse af flerumættede fedtsyrer (PUFA) -> LOX "selvmord" -> frigivelse af jern ioner (Fe^{3+}) -> LPO -> LPO-produkter, f.eks.: 2,4 decadienal -> apoptose. (Spiteller, 2003)

⁵³ I gærceller ændres aktiviteten af mere end hundrede enzymer ved oxidativt stress induceret med H_2O_2 . (Finkel og Holbrook, 2000) Forekomsten af protein i kondensat af udåndingsluft bestemmes kvalitativt og kvantitativt med protein assays og "proteomics technologies". (Rahman og Kelly, 2003)

⁵⁴ Tyrosin er et tredje eksempel på en aminosyre, der påvirkes af ROS. (Ohshima et al., 2003)

Redoxfølsomme proteiner		Kilde
Transkriptions faktorer	“activator protein-1” (AP-1) og “necrotic factor-κB (NF- κB) “hypoxia inducible factor-1” (HIF-1) ⁵⁵ og c-myc	(Köhler et al., 2000; Finkel og Holbrook, 2000; Hsu et al., 2000 og Nishikawa, 2008) (Archer et al., 2007; Moreno-Sánchez et al., 2007 og Waveren et al., 2007)
Enzymer	“phospholipase-A2”(PL-A2) “cyclooxygenase” (COX) og lipoxygenase (LOX) “phospholipase-D” (PL-D), akt/”phoshokinase B (PKB) “Mitogen activated kinases” (MAPKs): (P42), p44 og p38 ”extra cellular signal-regulated kinase”(ERK) ”metalloproteinaser” (MMP),	(Bartsch og Nair, 2006) (Nishikawa, 2008) (Finkel og Holbrook, 2000; Hsu et al., 2000; Ushio-Fukai og Alexander, 2004)
Cytokiner	”tumor necrotic factor-α” (TNF-α) ^{56 57}	(Köhler et al, 2000; Houstis et el., 2006 og Nishikawa, 2008)
Andre proteiner	”adhesion molecules” (EGF) og EGF-receptor (EGFR) ”tissue inhibitor of the MMP” (TIMP), urokinase plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor og CCN proteiner	(Nishikawa, 2008) (Waveren et al., 2007)

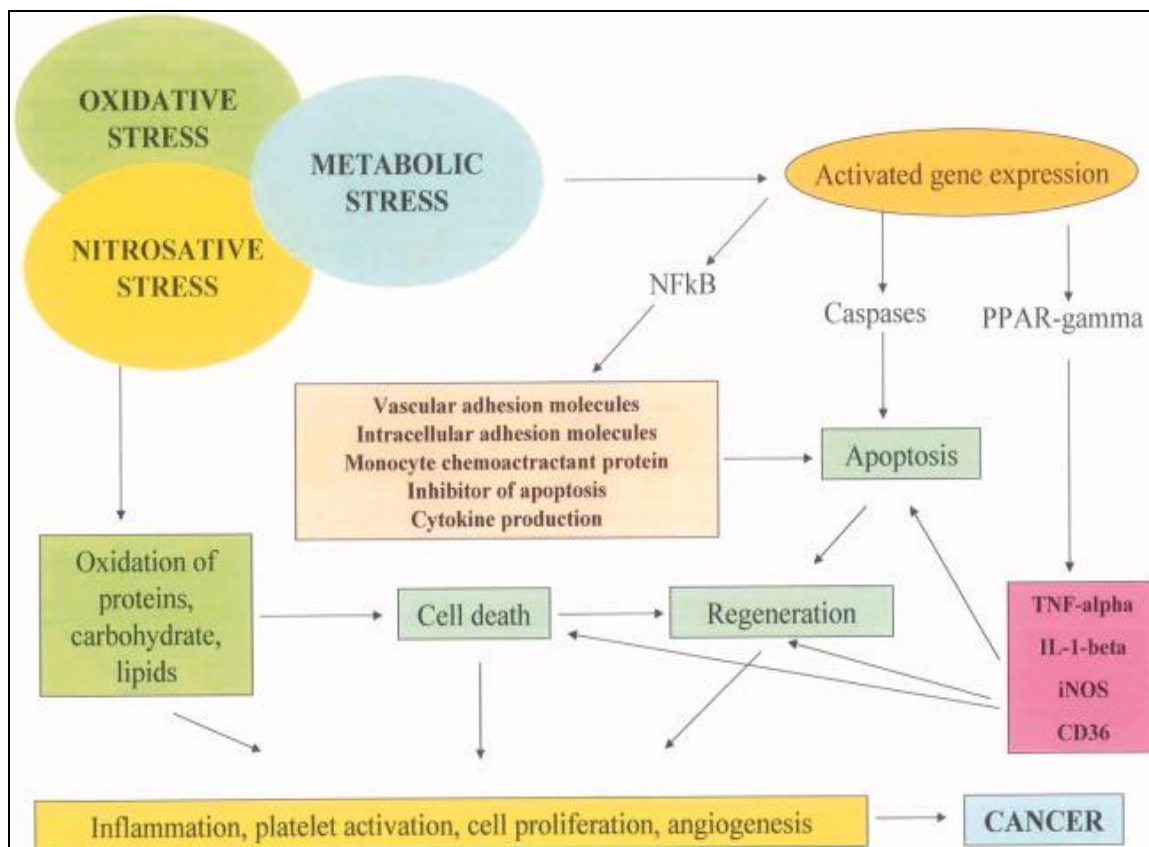
Tabel 2.1. Eksempler på redoxfølsomme proteiner med særlig relation til cancer. (se endvidere: Petros et al., 2005 og Brandon et al., 2006)

Herigennem påvirkes en række signalveje med særlig relation til cancer (Review: Nishikawa, 2008, se endvidere følgende afsnit). I relation til Warburg effekten kan det bemærkes, at oxidativt stress nedregulerer glykolytiske enzymer. (Finkel og Holbrook, 2000)

⁵⁵ HIF-1 inducerer anaerob glycolyse (”Warburg effekt”) og dannelse af nye blodårer i kræftvæv (angiogenes). (Lambeth, 2007)

⁵⁶ Målt i koncentration af udåndingsluft hos mennesker. (Rahman og Kelly, 2003)

⁵⁷ TNF-α resulterer i øvrigt i nedsat aktivitet af katalase. (Nishikawa, 2008)



Figur. 2.1. Funktionen af oxidativt, nitrosativt og metabolsk stress i carcinogenese. M.h.t. metabolsk stress (se afsnittet: Lipid peroxidation (LPO)). (Frederico et al., 2007)

2.2. Mitochondrierne

Mitochondrierne er ikke alene cellernes energiproducerende organeller, de producerer ROS i en mængde, der er proportional med den metaboliske rate (Brookes et al., 2004)⁵⁸.

Produktionen af ROS fra mitochondrierne er blevet anslået til at være 1-2 % af den ilt, der indgår i den oxidative phosphorylering (Nelson og Melendez, 2004 og Giles, 2006). Hermed bidrager mitochondrierne med hovedparten af cellens ROS, måske op mod 90 %, med undtagelse af aktiverede immunceller (se afsnittet: NADPH oxidase (NOX-familien)) (Hoye et al., 2008)

⁵⁸ Mitochondrierne er endvidere nøglespillere i "programmeret celledød" (apoptose), der kan forhindre at skadede celler udvikler sig til cancer (Czarnecka et al., 2006). Apoptose signalveje: 1. Forhøjet ROS (mitochondrierne) -> proapoptotic Bcl-2 -> ændret membranpotentiale ($\Delta\psi_{mt}$), cytochrome c, apoptosis inducing factor (AIF) og "mitochondrial permeability transition pore" -> caspase 9 -> NF- κ B, Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP); 2. p53 -> forhøjet ROS (mitochondrier) -> $\Delta\psi_{mt}$. 3. Induktion af apoptose via "døds-receptorer" på celleoverfladen: TNFR1, Fas/CD95/APO-1 -> caspase 8 -> PARP. (Ling et al., 2003 og Malik, 2007)

Mutationer i mtDNA og forøget produktion af ROS

Menneskets mitochondrie DNA (mtDNA)⁵⁹ indeholder gener for 13 polypeptider, der er involveret i den oxidative phosphorylering⁶⁰, 2 rRNA og 22 tRNA, der er essentielle for protein syntesen i mitochondrierne. Derudover indeholder mtDNA en ikke-kodende region. Det såkaldte D-loop, der er involveret i kontrol af replikation og transcription af mtDNA. (Carew og Huang, 2002 og Czarnecka et al., 2006)

I de senere år er mutationer og unormalt udtryk af mtDNA, blevet knyttet til en række forskellige former for cancer, f.eks. tarmkræft, brystkræft og melanoma (Review: Czarnecka et al., 2006 og Carew og Huang, 2002). Muteret mtDNA findes i ca. 50 % af alle undersøgte kræftformer⁶¹. (Ohta, 2006) Høj mutationsrate i mtDNA kan forklares ved, at mtDNA mangler histoner, har mangelfulde reparationsmekanismer, og befinder sig i umiddelbar nærhed af de ROS producerende enzymer fra respirationskæden (Carew og Huang, 2002).

Hypotesen for et sammenhæng mellem forøget ROS produktion i mitochondrier hos cancerceller og mutationer i mtDNA, er at mutationerne resulterer i skader på respirationskædens enzymer, hvilket påvirker den normale elektronstrøm, således at flere elektroner kan give anledning til dannelse af superoxid (O_2^-). (Carew og Huang, 2002 og Czarnecka et al., 2006)

Nedenfor ses tabel med 9 mulige ROS producerende enzymer fra mitochondrier. Complex I og complex III omdanner 1-2 % af ilten til superoxid⁶² (Nelson og Melendez, 2004).

Enzymets navn (Forkortelse)	Lokalisering i mitochondriet	ROS genereret
Complex I (CI)	IM	O_2^-
Complex III (CIII)	IM	O_2^-
Cytochrome b5 reductase ⁶³	YM	O_2^-
Monoamine oxidase (MAO-A og MAO-B) ⁶⁴	YM	H_2O_2
Dihydroorotate dehydrogenase (DHOH)	IM (ydernsiden)	H_2O_2
Dihydrogenase af α -glycerophosphate (aka mGPDG)	IM (ydernsiden)	H_2O_2
Succinate dehydrogenase (SDH, Complex II) ⁶⁵	IM (indernsiden)	Ukendt ¹
Aconitase	Matrix	OH^-
A-ketoglutarate dehydrogenase complex (KGDHC)	IM (indernsiden)	H_2O_2

Tabel 2.2. ROS-producerende enzymer i mitochondrierne. Listen må tages med det forbehold, at ROS produktionen er målt In Vitro. Forkortelser: IM=Indre Membran, YM=Ydre Membran. (Adreyev, 2005); I en senere artikel tilføjes: Complex II og pyruvate dehydrogenase (PDH) (Lin og Beal, 2006).

⁵⁹ Humant mtDNA indeholder 16.569 basepar. (Lin og Beal, 2006)

⁶⁰ Respirationskæden består af i alt 87 polypeptider, hvoraf 13 kodes af mtDNA og de resterende 74 kodes af nDNA. (Carew og Huang, 2002)

⁶¹ Årsag eller virkning: Muteret mtDNA findes hos ca. 50 % af alle kræftpatienter, men omvendt forholder det sig ikke således, at patienter med mitochondrie mutationer har højere risiko for cancer. Hvorfor mutationer i mtDNA tilsyneladende ikke er årsagen til cancer, men nærmere et ledsagefænomen. (Waveren et al., 2006)

⁶² 1-2 % er formentlig et overestimat, da det er målt In Vitro med fysiologisk urealistisk høje ilt-koncentrationer. (Finkel og Holbrooke, 2000)

⁶³ Cytochrome b5 reductase findes opreguleret hos skizofrenipatienter. (Adreyev et al., 2005)

⁶⁴ Monoamine oxidase findes opreguleret hos patienter med Parkinsons syge. (Adreyev et al., 2005)

⁶⁵ Enzymet er kendt fra Krebs cyklus, en proces, hvor det oxiderer succinate til fumarate. (Adreyev et al., 2005)

Eksperimentelt bevis for en direkte sammenhæng mellem mutationer i mtDNA, tumurvækst og forøget produktion af ROS, er blevet fundet i forsøg med nøgne mus. En cybrid af prostata cancer (PC3) med mutation i den mitochondrielle F1F0-ATPase (T8993G) blev implanteret i musene, hvor de resulterede i 7 gange større tumorer end implantat med vildtype cybriden (T8993T)⁶⁶. Forøget ROS produktion blev verificeret med dihydroethidium farvning. (Petros et al., 2005; Brandon et al., 2006 og Czarnecka et al 2006)

Antioxiderende enzymer (ROS forsvarssystemer)

Med forbehold for at målingerne er foretaget *In Vitro*, kan mitochondriernes antioxiderende enzymer, fjerne eller uskadeliggøre ROS, hurtigere end de dannes, selv ved højeste produktionsrate. Hvorved mitochondrierne, under normale omstændigheder, må anslås at eliminere ROS, frem for at være netto producenter. Mitochondriernes forsvarssystemer mod ROS bryder dog let sammen, f.eks. ved tab af glutathione, hvorved skadede mitochondrier kan blive netto producenter af ROS. Netto-produktion af ROS fra mitochondrier kan derfor betragtes som en "Defence failure"⁶⁷. (Adreyev et al., 2005)

phospholipid hydroperoxid glutathione peroxidase (PHGPX), Mangan superoxid dismutase (MnSOD), katalase (CAT), Glutathione-S-transferase (GST), Glutathione reductase (GR), ROS-aktiveret NADase, Glutathione peroxidase (GPX1), Peroxiredoxin (PRX3/5), glutaredoxin (GRX2), Thioredoxin (TRX2), og Thioredoxin reductase (TRXR2).

Tekstboks 2.4. Antioxiderende enzymer i mitochondrier. (Adreyev et al., 2005 og Lin og Beal, 2006)

α -tocopherol (α TCP), Co-enzyme Q10 (Q10)⁶⁸, cytochrom c, glutathione (GSH)⁶⁹

Tekstboks 2.5. Ikke-enzymatiske antioxidanter. (Adreyev et al., 2005 og Lin og Beal, 2006)

2.3. NADPH oxidase (NOX-familien)

NADPH oxidase (NOX) blev oprindeligt karakteriseret som et forsvarsenzym hos leukocytter og andre fagocytiske celler tilhørende immunforsvaret⁷⁰. Fagocytiske NOX (PHOX) er membranbundne og fungerer ved at producere superoxid radikaler (O_2^-) i såkaldte "respiratory bursts". Senere er en række ikke-fagocytiske NOX enzymer blevet identificeret i andre

⁶⁶ Mutationer i mtDNA bidrager til forøget modstand mod apoptose. (Ohta, 2006)

⁶⁷ Der har været lavet en del undersøgelser omkring, hvilken rolle Ca^{2+} spiller for mitochondriernes produktionen af ROS (Review: Brookes et al., 2004). Det har været hævdet at Ca^{2+} forøger produktionen af ROS, men dette findes usandsynligt, da høje koncentrationer af Ca^{2+} ødelægger membranpotentialet. Forklaringen på forøget produktion af ROS ved høje koncentrationer af Ca^{2+} , menes derfor at være hæmning eller ødelæggelse af forsvarssystemerne. (Adreyev et al., 2005)

⁶⁸ Coenzym Q (CoQ) beskytter plasmamembranen (PM) og indre membraner mod oxidativt stress (Moldovan og Moldovan, 2004)

⁶⁹ Glutathione (GSH) er et tripeptid, der syntetiseres ud fra cysteine, glutamate og glycine, indeholdende en usædvanlig peptidbinding mellem aminogruppen fra cysteine og carboxylgruppen fra glutamate sidekæden. (Adreyev et al., 2005 og Lin og Beal, 2006)

⁷⁰ NADPH oxidase (NOX) er ikke at finde hos procaryoter, de benytter sig i stedet af superoxid dismutase (SOD) og katalase (CAT) som forsvarsenzymer. Molekylær evolution af NOX-enzymene: (Review: Kawahara et al., 2007).

celletyper, herunder cancer. Ikke fagocytiske NOX producerer normalt O_2^- kontinuerligt i lave koncentrationer, men kan stimuleres til højere aktivitet (Suh et al, 1999 og Ushio-Fukai og Nakamura, 2008).

NOX-enzymene er involveret i en række celfunktioner, herunder: calcium signalering, sammentrækning af glatte muskelceller (cellebevægelse), regulering af cytoskelet, protein tyrosine phosphatase aktivitet, dannelsen af thyroïdhormon, celledifferentiation og mitogen regulering. (Moldovan og Moldovan, 2004 og Lambeth, 2007)

Reaktionsligning for produktionen af superoxid (O_2^-) hos NOX enzymerne⁷¹:

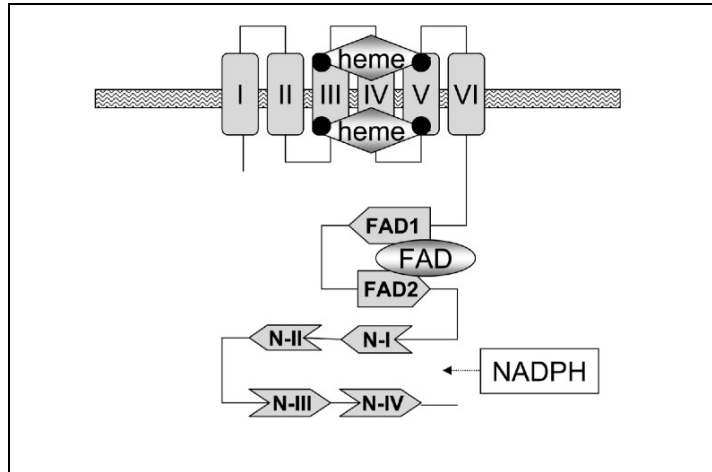


Proteiner af NOX-familien⁷² er kendetegnet ved et 6-transmembranhelix "NOX domæne". Dette 6-transmembranhelix indgår i enzymets katalytiske del (gp91phox), der findes bundet i cellernes plasmamembran⁷³. Proteinet har 2 prostetiske hæmgrupper, der er bundet til 4 konserverede histiner. Den katalytiske del og den regulerende del (p22phox), udgør tilsammen, flavocytochrome b558, der indeholder bindingsstedet for FAD og NADPH. Derudover reguleres enzymkomplekset af andre proteiner fra cytosolen: p40phox, p47phox, p67phox og de små GTPaser Rac1 og Rac 2. (Kawahara, 2007; Murakami og Oshigashi 2007 og Ushio-Fukai og Alexander 2004)

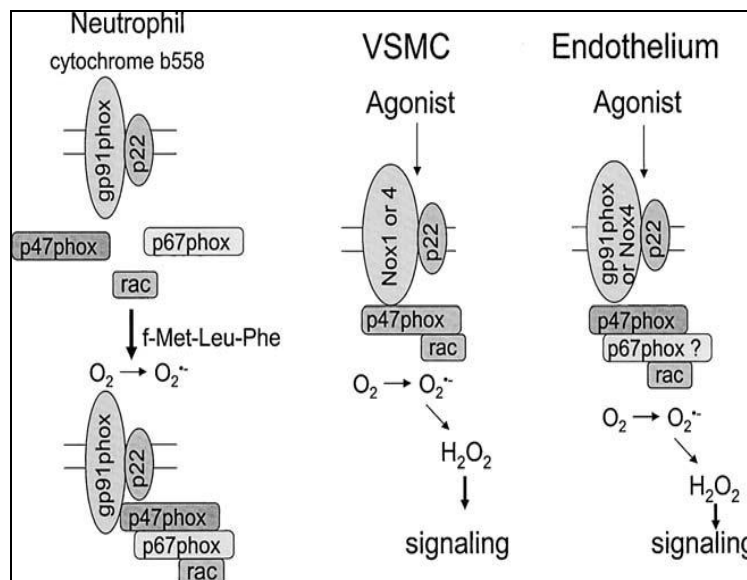
⁷¹ *In vitro* kan "diphenylene iodonium" (DPI) (Brar et al., 2003) og apocyanin anvendes som NOX-hæmmere, men de er ikke klinisk anvendelige (Lambeth, 2007); Antikoagulanter med mulig NOX-hæmmende virkning: dicumarol, herunder warfarin (Brar et al., 2002); NOX-hæmmende phyto-kemikalier: genestein (soyabønner), 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) (*Alpinia galanga*, *Zingiberaceae*), auraptene og nobiletin (*Citrus*) og zerumbone (*Zingiber zerumbet*) (Murakami og Ohigashi, 2007)

⁷² Størrelsen af NOX2 er opgivet til henholdsvis 65 kDa for "immature" NOX2 og 91 kDa for "mature" NOX2 (dvs. NOX2 i sin glykosylerede form). (Kawahara et al., 2007)

⁷³ En anden mulighed er at NOX-enzymene kan være bundet til cellernes endoplasmatiske reticulum (Brar et al., 2002); I almindelige celler er 50 % af NOX-2 bundet til cellekernen og cytoskelet. Hos netrofiler findes NOX-2 endvidere bundet til intracellulære granuler og sekretoriske vesikler (Chamulitrat et al., 2003). Superoxidproduktion kan lokaliseres med et såkaldt "lucigenin chemiluminescence assay" (Brar et al., 2003)



Figur 2.2. NOX-domænet. Skematisk fremstilling af NOX-domæne, hvor redoxaktiviteten foregår. Det konserverede domæne består af 6-transmembran α -helixer, 4 konserverede histidiner, 2 hæggrupper, og bindingssteder for FAD og NADPH. (Kawahara et al., 2007)



Figur 2.3. Strukturen af NAD(P)H oxidase. Til venstre strukturen af neutrophil NAD(P)H oxidase: gp91phox og p22 udgør den elektronoverførende komponent, mens p47phox og p67phox, er regulatoriske komponenter i cytosolen. Ved stimulering med N-Formylmethionyl-leucyl-phenylalanine, et formyleret tripeptid af bakteriel oprindelse, guides p47phox og p67phox til plasmamembranen af rac, hvorved enzymkomplekset aktiveres og der dannes superoxid (O_2^-). I midten og til højre elementer af "ikke-fagocytiske" NOX fundet i "vascular smooth muscle cells" (VSMC) og endothelium celler. Hvad angår de "ikke-fagocytiske" NOX er de funktionelle interaktioner mellem delkomponenterne endnu ikke afklaret. (Ushio-Fukai og Alexander, 2004)

Membranbundne NOX kan induceres af en række vækstfaktorer, cytokiner og agonister for G-protein koblede receptorer, f.eks.: platelet derived growth factor (PDGF), hepatocyte growth factor (HGF), insulin, angiotensin II (Ang II), vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-1B,6. (Wu, 2006; Brar et al., 2002 og 2003; Ohshima et al., 2003; Ushio-Fukai og Alexander 2004 og Lambeth, 2007); Ras, TGF- β , VEGF (Chamulitrat et al., 2003); En række kinaser: "extracellular signal regulated kinase"

(ERK), p38 (MAPK) og phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K/Akt); og cytokinen: interferon- γ (IFN- γ) (Lambeth, 2007).

Enzym	Højeste udtryk	Kendte regulerende faktorer
NOX-1	Inducerbar: tarmen og glatte muskelceller	NOXO1, NOXA1 og p22phox
NOX-2 (gp91phox)	Fagocytter	P47phox, p67phox, p40phox og RAC1/RAC2
NOX-3	Fosterets nyre; indre øre (gravitations perception)	Ikke bestemt
NOX-4	Nyrer, osteoklaster, æggestokke og øjne; vidt spredt	Ikke bestemt
NOX-5	Milten, sædceller, mælkekirtler og hjernen (cerebrum)	Calcium
DUOX-1	Brisselen, hjernen (cerebellum) og lunger	Calcium
DUOX-2	Brisselen, tarmen, pankreatiske øer og prostata	Calcium

Tabel 2.3. Menneskelige NOX/DUOX enzymer. Enzymerne kan opdeles i 3 grupper: 1.: NOX-1, NOX-2 (gp91phox) og NOX-4, der har den basale evne til at producere superoxid (O_2^-) på tværs af en membran. 2. NOX-5 har ligeledes evnen til at producere O_2^- , men har derudover et "calmodulin-lignende" domæne ("EF-hånd") for calciumregulering. 3. DUOX-1 og DUOX-2 indeholder NOX-domænet, calciumregulering og peroxidase aktivitet. Den specifikke biologiske aktivitet kendes kun for NOX-2 (gp91phox). (Lambeth, 2004 og 2007)

NOX enzymer og cancer

Hos mennesket findes der 7 forskellige NOX enzymer: NOX1-5 og DUOX 1-2⁷⁴, og overudtryk af NOX er tilsyneladende karakteristisk for mange cancertyper⁷⁵ (Moldovan og Moldovan, 2004 og Lambeth, 2007).

NOX-enzym overudtrykt	Kræfttype
NOX1	Prostata cancer, tarmkræft, melanoma
NOX2	Lungekræft ¹
NOX4	Melanoma, mavekræft, nyrekræft ² , kræft i hjernen ³
NOX5	Melanoma, prostata cancer, kræft i hjernen ³ , kræft i spiserøret ⁴

Tabel 2.4. Eksempler på overudtryk af NADPH oxidase (NOX), relateret til specifikke kræftformer. Noter: 1. "Small cell lung cancer", 2. "renal cell carcinoma", 3. glioblastoma og 4. Barrets esophageal adenocarcinoma. (Suh et al., 1999; Brar et al., 2002 og 2003; Lambeth, 2007; Ushio-Fukai og Nakamura, 2008)

NOX enzymer har kapaciteten til at producere superoxid (O_2^-) i høje koncentrationer, men det er endnu uafklaret, hvordan de bidrager til at opretholde kræftcellernes fænotype (Ohshima et al., 2003). Men helt overordnet kan produktionen af ROS betragtes som produktionen af en

⁷⁴ DUOX enzymerne adskiller sig fra de øvrige medlemmer af NOX familien, bl.a. ved at besidde peroxidase aktivitet. (Ushio-Fukai og Alexander, 2004)

⁷⁵ Endvidere menes der at være et sammenfald mellem overudtryk af NADPH oxidase (NOX) og mutation i proto-oncogenet K-Ras. (Lambeth, 2007)

sekundær budbringer, hvorigennem NOX enzymerne overfører signaler til redox-følsomme: kinaser, phosphataser og transcriptionsfaktorer (Ushio-Fukai og Alexander, 2004; Wu, 2006 og Lambeth, 2007). Hypotetisk kan NOX-enzymene herigennem påvirke: celleproliferation, angiogenese, hæmme apoptose og påvirke integrin signaler (Lambeth, 2007).

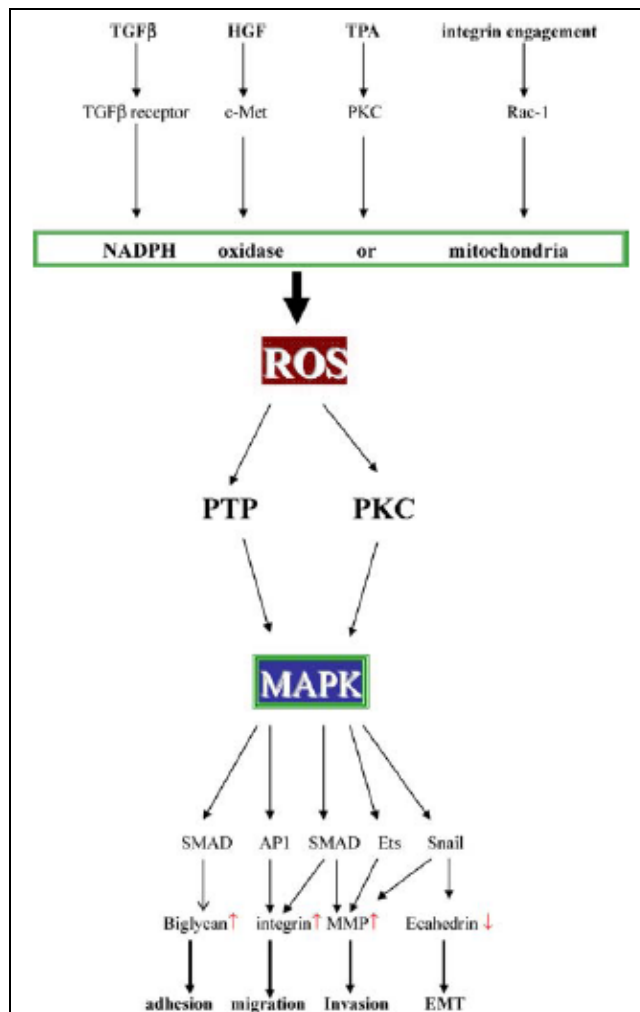
En hypotese, er at NOX enzymerne virker gennem den redox-regulerede transcriptionsfaktor nuclear factor κ B (NF κ B), der regulerer udtrykket af en række gener (Brar et al., 2003), f.eks. cyclin D1⁷⁶ (G₁-S-fase transition) og anti-apoptotiske proteiner af Bcl2-familien. Hæmning af NF κ B med antisense oligonucleotider kan blokere tumorvæksten i ”Hodgkins Disease”, lungekræft, kræft i hoved og hals- og brystkræft. I forsøg med melanomaceller førte specifik hæmning af NF κ B med den viralt kodede supersuppressor (AdIkB α SR) ikke til hæmmet vækst. Til gengæld førte hæmning af NOX i melanomacellerne til reduceret DNA-binding af en anden familie af redox-regulerede transcriptionsfaktorer: cAMP response element (CRE)-binding proteiner: activating transcription factor 1 (ATF-1), ATF-2 og CREB-1. (Brar et al., 2002 og 2003)

En anden model giver et bud på sammenhængen mellem NOX genereret ROS og metastase. (Wu, 2006). NOX induceres af vækstfaktorer, cytokiner og integriner, hvorefter der genereres ROS. Næste led i signalvejen er to redoxfølsomme enzymer: Protein Kinase C (PKC) og protein tyrosine phosphatase (PTP), der henholdsvis aktiveres og hæmmes af ROS. Påvirkningen af PKC og PTP fører til aktivering af mitogen activated protein kinase (MAPK), der aktiverer en række transcriptionsfaktorer: SMAD, AP1, Ets og Snail. Disse transcriptionsfaktorer regulerer gener, der fører til metastase, herunder epithelial-mesenchymal transition (EMT), migration, og invasion.

p21 (PAK) er en anden kinase, der muligvis reguleres af NOX genereret ROS. PAK er en effektor af RAC-GTPase medieret remodellering af cytoskelettet og angiogenese⁷⁷. (Wu, 2006)

⁷⁶ NOX1 er involveret i udtrykket af cyclin D1 og transcriptional aktivering af gener af Fos-familien. (Lambeth, 2007)

⁷⁷ Proangiogene faktorer: VEGF, ”matrix metalloproteinaser”MMP, VEGFR (Ushio-Fukai og Nakamura, 2008); PAK, Rac, VEGF (Wu, 2006); HIF-1 α , Ref-1, p53, NF- κ B og Ets (Ushio-Fukai og Nakamura, 2008) Genudtryk: VEGF, MMP, uPA, PAI-1. (Ushio-Fukai og Nakamura, 2008); NOX aktiverede vækstfaktorer i relation til angiogenese: NOX aktivering, vækstfaktorer: VEGF, angiopoietin-1, hypoxia, ischemia (f.eks. ved åreforkalkning) (Ushio-Fukai og Nakamura, 2008)



Figur 2.4. ROS afhængige signalveje i forbindelse med tumorudvikling. Vækstfaktorer (HGF), cytokiner (TGFβ), tumor promotoren (TPA) og integriner kan inducere ROS produktion gennem NADPH oxidase eller afledt fra mitochondrier. Proteinkinase C (PKC) og protein tyrosine phosphatase (PTP), henholdsvis aktiveres og deaktiveres af ROS, hvilket begge dele fører til aktivering af ”mitogen activated protein kinase” (MAPK). MAPK aktiverer en række transkriptionsfaktorer: SMAD, AP-1, Ets-1 og Snail. Hver transkriptionsfaktor regulerer gener, såsom: E-cadherin, MMP⁷⁸, integriner og biglycan, hvilket fører til ”epithelial-mesenchymal transition” (EMT), migration og invasion. (Wu, 2006)

Hvorvidt det er forhøjet aktivitet af NOX, eller fejlregulering af andre redoxaktive enzymer, der er årsagen til forøget oxidativt stress og LPO i og omkring cancercellerne, er stadig uklart. Men en ”ond cirkel” kan opstå ved at cancerceller producerer en forøget mængde af ROS, hvorved de rekrutterer inflammatoriske celler, der generer mere ROS. (Frederico et al., 2007)

⁷⁸ ”Matrix metalloproteinaser” (MMP) er involveret i sammenhængen mellem; mitochondrier, forøget ROS-produktion og forhøjet aktivitet af ”matrix-degrading metalloproteinaser” (MMP) (Review: Nelson og Melendez, 2004).

2.4. Peroxisomes

Peroxisomer findes typisk som små runde organeller med en diameter på 0,1-1 µm. Men de er dynamisk/plastiske organeller, der ligeledes kan være aflange eller organiseret i netværk. Hovedfunktionen blev oprindeligt antaget at være omdannelse af hydrogenperoxid (H_2O_2), via det antioxidantende enzym katalase. (Baumgart et al., 2001 og Schrader og Fahimi, 2004 og 2006)

I raske celler spiller peroxisomer en væsentlig rolle i lipid metabolismen, herunder: β -oxidation af lange fedtsyrer, nedbrydning af giftige galdesyrer, nedbrydning af bioaktive leukotriener og prostaglandiner, og de er involveret i biosyntesen af kolesterol og plasmogener.⁷⁹ (Baumgarten, 2001) Derudover har peroxisomerne muligvis en funktion, mht. at beskytte cellerne mod ROS og oxidativt stress. (Baumgart et al., 2001 og Schrader og Fahimi, 2004 og 2006)

Produktion af ROS fra peroxisomer

Peroxisomer har deres eget iltforbrug. Det er blevet antaget, at peroxisomerne fra rottelever forbruger 20 % af cellernes totale iltforbrug⁸⁰, hvorigennem de genererer 35 % af den totale H_2O_2 (Schrader og Fahimi, 2004 og 2006). Peroxisomerne rummer en række enzymer, der henholdsvis producerer og nedbryder ROS (se nedenstående tabeller). Normalt er aktiviteten af de antioxidantende enzymer i overskud, således at peroxisomerne har en netto antioxidantende virkning.

En hypotese for forøget produktion af ROS, er at der sker en disproportional forøgelse af oxidative enzymer i peroxisomerne. Dette underbygges af eksperimenter med induktion med transcriptionsfaktoren "peroxisome proliferator activated receptor α (PPAR α), hvor acyl-CoA oxidase (β -oxidation) blev forøget 10-30 gange, mens aktiviteten af katalase kun blev forøget 1-2 gange. Peroxisomaktiviteten forøges ved oxidativt stress, dog ikke i tilfælde af celleproliferation, hvor peroxisom aktiviteten nedreguleres af TNF- α . (Schrader og Fahimi, 2006)

⁷⁹ Andre metaboliske processer i peroxisomerne: Katabolisme af: aminosyrer, polyaminer, puriner; Glyoxylate metabolisme og "hexose monophosphat pathway" (Schrader og Fahimi, 2004)

⁸⁰ En anden forfatter angiver lever peroxisomernes iltforbrug til at være 10-30% (Moldovan og Moldovan, 2004)

Enzym	Substrat	ROS
Acyl-CoA oxidase		
a. Palmitoyl-CoA oxidase	Langkædede fedtsyrer	H ₂ O ₂
b. Pristanoyl-CoA oxidase	Methyl-forgrenede fedtsyrer	H ₂ O ₂
c. Trihydroxycoprostanoyl-CoA oxidase	Galdehyd mellemprodukter	H ₂ O ₂
Urate oxidase	Urinsyre	H ₂ O ₂
Xanthine oxidase	Xanthine	H ₂ O ₂ , O ₂ ^{•-}
D-amino acid oxidase	D-proline	H ₂ O ₂
Pipecolic acid oxidase	L-pipecolic acid	H ₂ O ₂
D-aspartate oxidase	D-aspartate, N-methyl-D-aspartate	H ₂ O ₂
Sarcosine oxidase	Sarcosine, pipecolate	
L-alpha-hydroxy acid oxidase	Glycolate, lactate	H ₂ O ₂
Poly amine oxidase	N-acetyl spermine/spermine	H ₂ O ₂
Nitric oxide synthase	L-arginine	H ₂ O ₂
Plant sulfite oxidase	Sulfit	NO [•]
		H ₂ O ₂

Tabel 2.5. Peroxisome enzymer, der genererer ROS. (Schrader og Fahimi, 2006)

Enzym	Substrat	Enzym er også tilstede i
Katalase ⁸¹	H ₂ O ₂	Cytoplasma (f.eks. erythrocytes) og nucleus, mitochondria Alle cellens underområder
Glutathione peroxidase	H ₂ O ₂	Mitochondria
MnSOD	O ₂ ^{•-}	Cytoplasma
Cu,ZnSOD	O ₂ ^{•-}	ER og cytoplasma
Epoxide hydrolase	Epoxider	Cytoplasma, nucleus, mitochondria
Peroxiredoxin 1	H ₂ O ₂	Peroxisomer, kloroplaster,
PMP 20	H ₂ O ₂	cytoplasma
Plante ascorbate-glutathione cyklus	H ₂ O ₂	Mitochondrier i rodknolde (kun planter)

Tabel 2.6. Peroxisome enzymer, der nedbryder ROS. (Schrader og Fahimi, 2006)

En interessant mulig forbindelse mellem peroxisomer, ROS, mitochondrier og cancer, er fundet i forbindelse en model for Zellwegers syndrom (Baumgart et al., 2001). En recessivt arvelig sygdom, hvor der er sket mutationer i generne for de særlige PEX-proteiner (peroxiner), der er nødvendige for dannelsen af peroxisomer⁸². I forsøg med nøgne mus, PEX-5^{-/-} "knockout-mus", førte mutationen ikke alene til defekte peroxisomer, men samtidig til defekte mitochondrier. Disse havde misdannelser, der minder om mitochondrier, der har været udsat for oxidativt stress: 1. proliferation af pleomorfe mitochondrier, 2. abnorme cristae (f.eks. parallelle stakke, eller kurvede former) og 3. "dunet" matrix og 4. opsvulmede mitochondrier. Defekte mitochondrier, forårsaget af ROS er en af forklaringsmodellerne for, hvordan kræft opstår (se ovenstående afsnit; Mitochondrier).

Det er endnu ikke afklaret, hvilket af de ROS-producerende systemer: mitochondrier, NOX-enzym, peroxisomer, eller andre, der er vigtigst for opreguleringen af ROS i cancerceller.

⁸¹ Katalase er fundet nedreguleret i leverkræft. (Schrader og Fahimi, 2004)

⁸² Hos mennesket kendes ca. 20 peroxisomsygdomme. (Schrader og Fahimi, 2004)

(Wu, 2006). Efterfølgende afsnit beskæftiger sig med de videre reaktioner mellem ROS, RNS, lipider og DNA.

2.5. Lipid peroxidation (LPO)

Lipid peroxidation (LPO) er en fællesbetegnelse for oxidation af organismens mange forskellige lipider. Der skelnes overordnet mellem: 1. enzymatisk LPO og 2. ”ikke-enzymatisk” LPO⁸³ (Spiteller, 2003).

Eksempler på enzymatisk LPO er cyclooxygenase (COX) og lipoxygenase (LOX) signalvejene, der er involveret i immunforsvar, inflammation og cancer (Masotti et al., 1988, Bartsch og Nair, 2000; Spiteller, 2003; Rahman og Kelly 2003 og Shibamoto 2006).

”Ikke enzymatisk” LPO kan induceres af de tidligere nævnte faktorer, der bidrager til oxidativt stress, herunder oxiderende kemikalier og varme (se afsnittet: Oxidativt stress, m.fl.)⁸⁴. En overgang fra enzymatisk LPO til ”ikke-enzymatisk” LPO kan ske ved, at LOX enzymet begår ”selvmord”. Dette kan ske, hvis koncentrationen af flerumættede fedtsyrer (PUFA) bliver for høj eller ved iltmangel (hypoxia). Herved frigives jern-ioner (Fe^{3+}), der katalyserer dannelsen af LPO-produkter (Spiteller, 2003).

LPO - en kædereaktion

”Ikke enzymatisk LPO kan have karakter af en kædereaktion, hvor flerumættede fedtsyrer angribes af ”reactive oxygen species” (ROS). Herved fjernes et allyl-hydrogen fra en methylgruppe mellem to dobbeltbindinger i fedtsyren. Det heraf dannede konjugerede radikal, peroxideres af ilt, og gennemgår yderligere reaktioner. Herunder dannes ”reactive carbonyl compounds”: formaldehyd, acetaldehyd, acrolin, malonaldehyd (MA), glyoxal og methyl glyoxal (Shibamoto, 2006). Slutprodukterne består af: mættede alkaner, f.eks. ethane og pentane; aldehyder og malondialdehyd⁸⁵ (se endvidere figur 2.9). (Miekisch et al., 2004 og Shibamoto, 2006)

Forhøjede mængder af LPO-produkter, er blevet sat i forbindelse med en lang række sygdomme: infektioner, f.eks.: AIDS og lungebetændelse; astma, cystic fibrose, alzheimer, ledeligt (rheumatic arthritis), åreforkalkning, afstødning ved organtransplantation, skizofreni og kræft. Derudover tilstande som alderdom, overvægt, stress og rygning. (Bartsch og Nair,

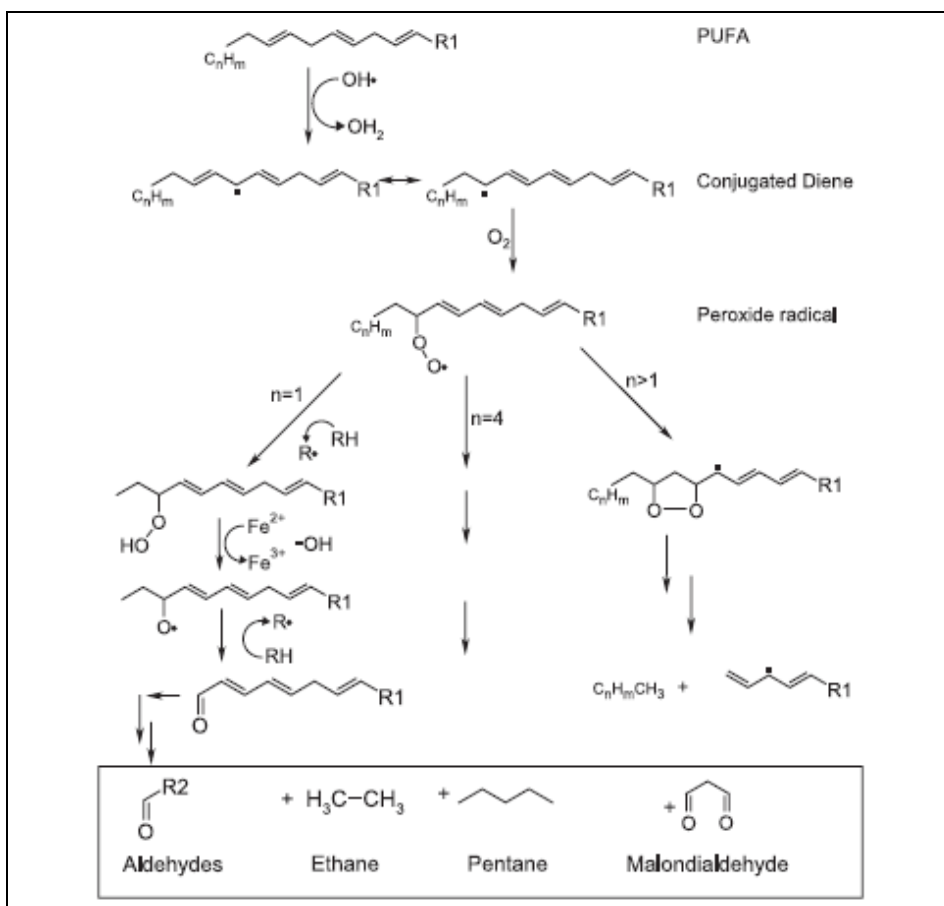
⁸³ In Vitro er forøget LPO observeret ved forhøjede koncentrationer af bivalente metalioner, herunder Fe^{2+} og Cu^{2+} . Kendes også fra ”Wilsons disease”, hvor ophobning af metalioner forårsager forøget oxidativt stress og høj risiko for leverkræft. Etheno (ϵ) DNA-vedhæng er målt i forhøjede koncentrationer i lever-DNA fra patienter med Wilsons sygdom. (Bartsch og Nair, 2000)

⁸⁴ Gerhard Spiteller foreslår i tidsskriftet Medical Hypotheses, at hovedårsagen til LPO måske kan findes i samspillet mellem phospholipase (PL) og LOX-enzymet, der kan igangsætte en kædereaktion af LPO (Spiteller, 2003). Hvilket kan underbygges af, at PL A2 er overudtrykt i mange cancertyper (Bartsch og Nair, 2006).

⁸⁵ Malondialdehyd (MDA) kendes endvidere som biprodukt af prostaglandinsyntesen. (Marnett, 2002)

2000; Roberts II og Morrow 2002⁸⁶; Rahman og Kelly 2003; Spiteller 2003 og Gago-Dominguez et al., 2007)

På det molekylære niveau kan LPO have følgende skadevirkninger på cellens membransystemer⁸⁷: 1. membranerne mister deres fleksibilitet, 2. forøget gennemtrængelighed og 3. ødelæggelse af membranproteiner. (Nishikawa, 2008)



Figur 2.5. Lipid peroxidation. Dannelsen af aldehyder, ethan, pentan og malondialdehyd ud fra reaktion mellem ”reactive oxygen species”, her et hydroxy radikal ($\text{OH}^\bullet$) og flerumættede fedtsyrer. (Miekisch et al., 2004)

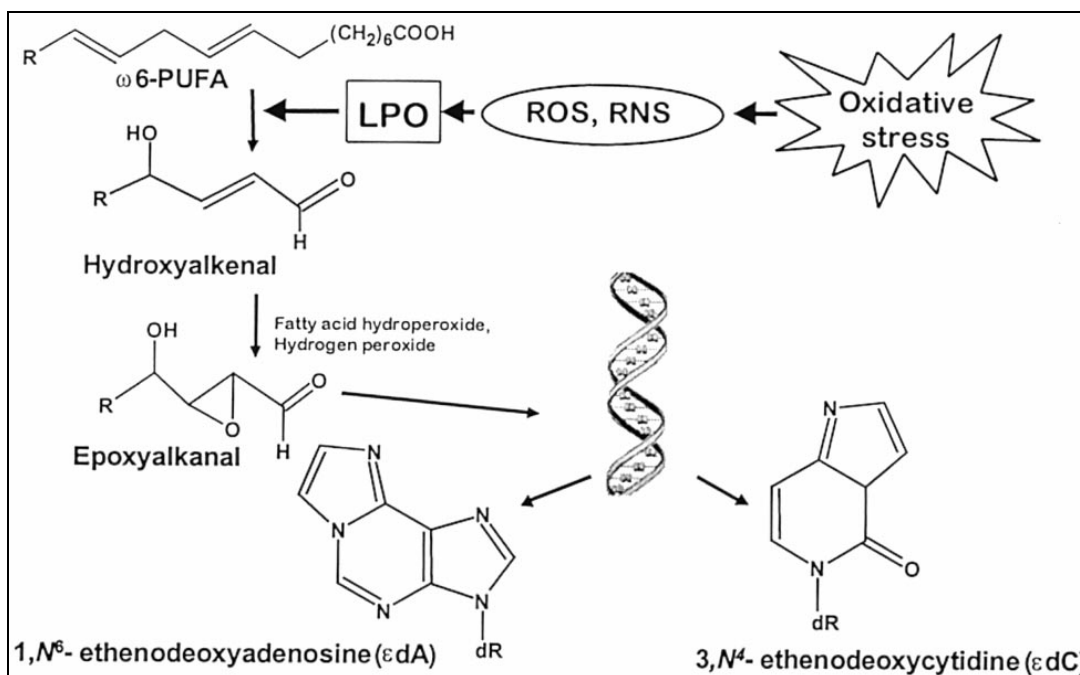
Kan LPO inducere kræft?

ROS, RNS og LPO produkter kan skade: DNA, RNA og proteiner, hæmme DNA reparationsmekanismer og ”proapoptotic pathway”. LPO menes at være en af hovedkilderne til DNA-skade i mennesker, og signifikant for udviklingen af cancer. (Marnett, 2002 og Bartsch og Nair, 2006)

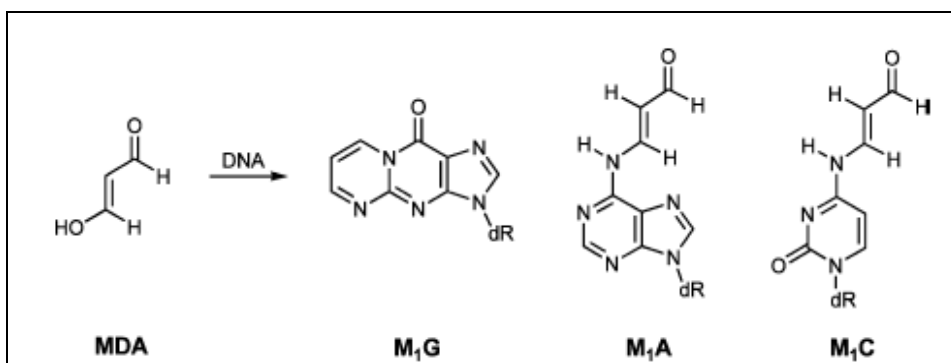
⁸⁶ Indeholder længere lister over sygdomme, hvor F2-isoprostaner har været brugt som markør. (Roberts II og Morrow 2002)

⁸⁷ Membraner i tumorceller har lavere indhold af flerumættede fedtsyrer end normale celler, hvilket giver dem forøget resistens mod LPO. (Masotti et al., 1988))

DNA-reaktive aldehyder fra LPO, f.eks. malondialdehyd (MDA) kan resultere i mutationer og carcinogenesis (Marnett, 2002 og Bartsch og Nair, 2006). Malondialdehyd (MDA) resulterer i et "DNA-vedhæng" ved at gå i forbindelse med DNA-baserne: dG, dA og dC (se nedenstående figur).

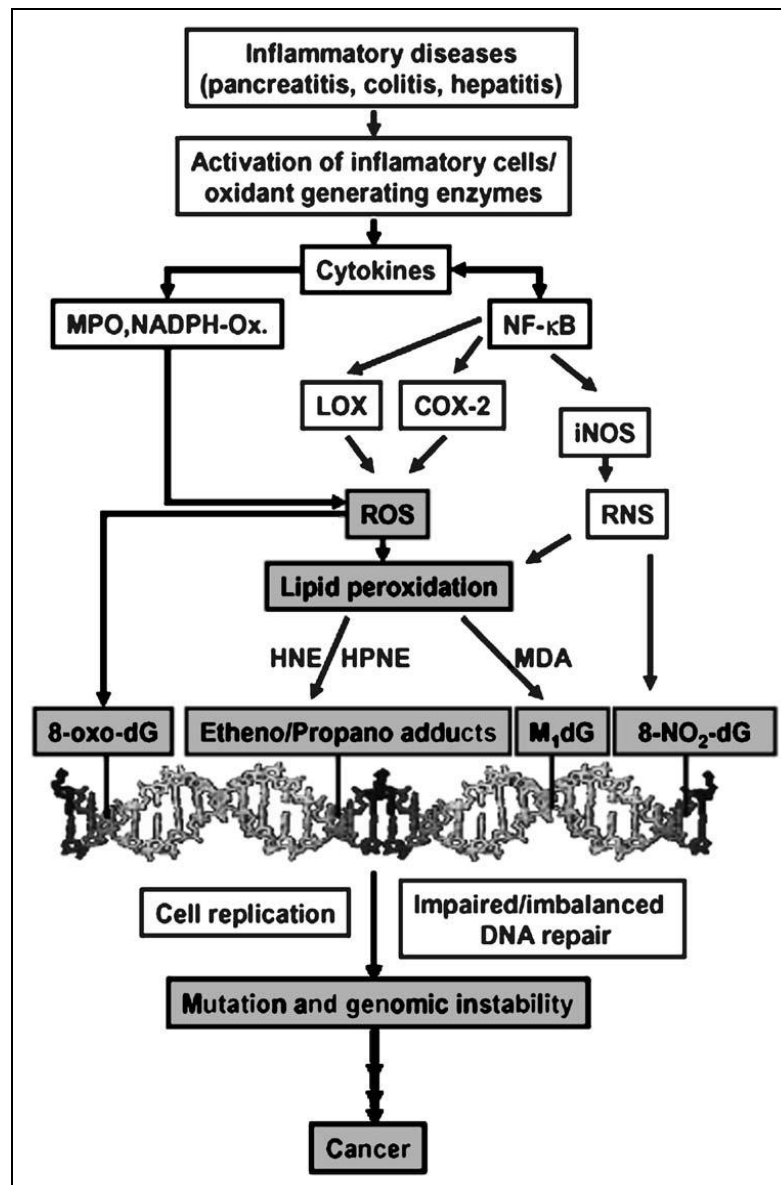


Figur 2.6. Dannelsen af etheno(ε)baser" ud fra reaktioner mellem epoxyalkanal og DNA. Flerumættede ω-6 fedtsyrer (ω6-PUFA) udsættes for oxidativt stress (ROS/RNS) og omdannes via LPO først til hydroxyalkenal og efterfølgende epoxyalkanal, der reagerer med DNA. (Bartsch og Nair, 2000)



Figur 2.7. Dannelse af "DNA-vedhæng" ud fra reaktion mellem malondialdehyd (MDA) og DNA-baserne: dG, dA og dC. (Marnett, 2002)

Mængden af "DNA-vedhængen", M₁G er blevet målt til at være 2-3 gange højere hos patienter med brystkræft, end hos raske kvinder. Paradoksalt nok er mængden af M₁G lavere i kræftvæv, end i det omliggende raske væv. (Marnett, 2002)



Figur 2.8. Illustration af sammenhængen mellem betændelsestilstande, forøget ROS-produktion, LPO, dannelsen af LPO-produkter: 4-hydroxy-2-noneal (HNE), 4-hydroxyhydroperoxy-2-noneal (HPNE) og malondialdehyd (MDA), DNA-skader og udviklingen af cancer. (Bartsch og Nair, 2006)

Derudover menes LPO-produkter at kunne fremme udviklingen af kræft på flere andre måder: hæmning af caspaser (apoptose), induktion af angiogenesis, telomerase, metalloproteinaser, DNA-methyltransferase og ved hæmning af detoksificerende enzymer. (Marnett, 2002 og Bartsch og Nair, 2006)

Kan LPO hæmme kræft? ("Lipid peroxidations teorien")

"Lipid peroxidations teorien", hævder, at LPO kan beskytte mod brystkræft, modsat f.eks. nyre- og hudkræft. Baggrunden er, at der er forskel i risikofaktorerne mellem brystkræft og andre kræfttyper. Eksempelvis resulterer fjernelse af æggestokkene i forøget risiko for nyrekræft, mens det nedsætter risikoen for brystkræft; højt blodtryk er skadeligt for nyrerne,

mens det er gavnligt for brysterne (- hvis det er under graviditet); Alkohol er godt for nyrerne, men skadeligt for brysterne. Den foreslåede virkningsmekanisme, er at LPO-produkter kan inducere apoptose⁸⁸. Teorien underbygges af, at pronosen for brystkræftpatienter er dårlig, hvis de har lavt indhold af MDA⁸⁹. (Cago-Dominguez et al., 2007)

I tidsskriftet Medical hypothesis har Gerhard Spiteller opstillet en hypotese for sammenhængen mellem LPO, inflammation og cancer. Hypotesen er, at for lavt niveau af LPO resulterer i kræft⁹⁰, mens højt niveau af LPO resulterer i inflammation, f.eks. leddegigt. (Spiteller, 2003)

Målemetoder, markører og derivater

Måling af LPO-produkter har nydt stor videnskabelig interesse, da LPO, som tidligere nævnt, er impliceret i en række sygdomme, herunder cancer. Men måling kompliceres af, at en væsentlig del af LPO-produkterne er flygtige, meget reaktive, vandopløselige, og derfor vanskelige at isolere fra biologisk materiale. Eksempler på ”reaktive carbonylforbindelser” (RCC): formaldehyd, acetaldehyd, acrolein, malondialdehyd (MDA), glyoxal og methylglyoxal. (Shibamoto, 2006)

En tilgang har derfor været at fremstille afledte stoffer (derivater), der er mere stabile. I forbindelse med sygdom har MDA været mest anvendte LPOs markør. Derivater kan fremstilles ud fra f.eks. 2,4-dinitrophenyl hydrazine (DNPH)⁹¹ og pentafluorophenyl hydrazine (PFPH)⁹², og måles efterfølgende ved brug af f.eks. GC/MS. Indholdet af MDA kan endvidere bestemmes ved brug af assays, hvor det mest anvendte har været ”thiobarbituric acid” (TBA) assay. Problemet hermed er dog, at det ikke er specifikt for MDA, men også kan reagere med andre LPO produkter. Et helt andet problem er, at MDA ikke er specifik for LPO i forbindelse med sygdom. MDA forekommer som biprodukt ved den naturlige prostaglandinbiosyntese. Endelig kan MDA opstå som et artefakt, da f.eks. homogenisering af væv giver stærkt forøget LPO. (Bartsch og Nair 2000 og Bartsch og Nair 2006; Marnett, 2002; Roberts II og Morrow, 2002 og Shibamoto, 2006)

Etheno-baser og DNA-vedhæng dannet ved reaktion med MDA kan måles ved brug af immunoassays, blandt andet fra urin. (Bartsch og Nair, 2000 og 2006 og Rahman og Kelly, 2003). Heller ikke disse assays er dog helt specifikke. (Roberts II og Morrow, 2002)

⁸⁸ Effekten er muligvis hormonelt betinget. Østrogen inducerer LPO i forsøgsmodeller. Men derudover kan LPO-produkterne muligvis relateres kostfaktorer med foreslået beskyttende virkning i relation til brystkræft: soja, marine n-3 fedtsyrer, grøn te (”epigallocatechin gallate” (EGCG)), isothiocyanater (korsblomstfamilien), vitamin D og calcium; kemopræventive midler, der muligvis virker ved apoptose induceret af oxidativt stress: retinoider, ”nonsteroidal antiinflammatory drugs” (NSAID), polyphenoler, tamoxifen, vanilloider, og rotenoider. (Gago-Dominguez et al., 2007)

⁸⁹ LPO-indikator.

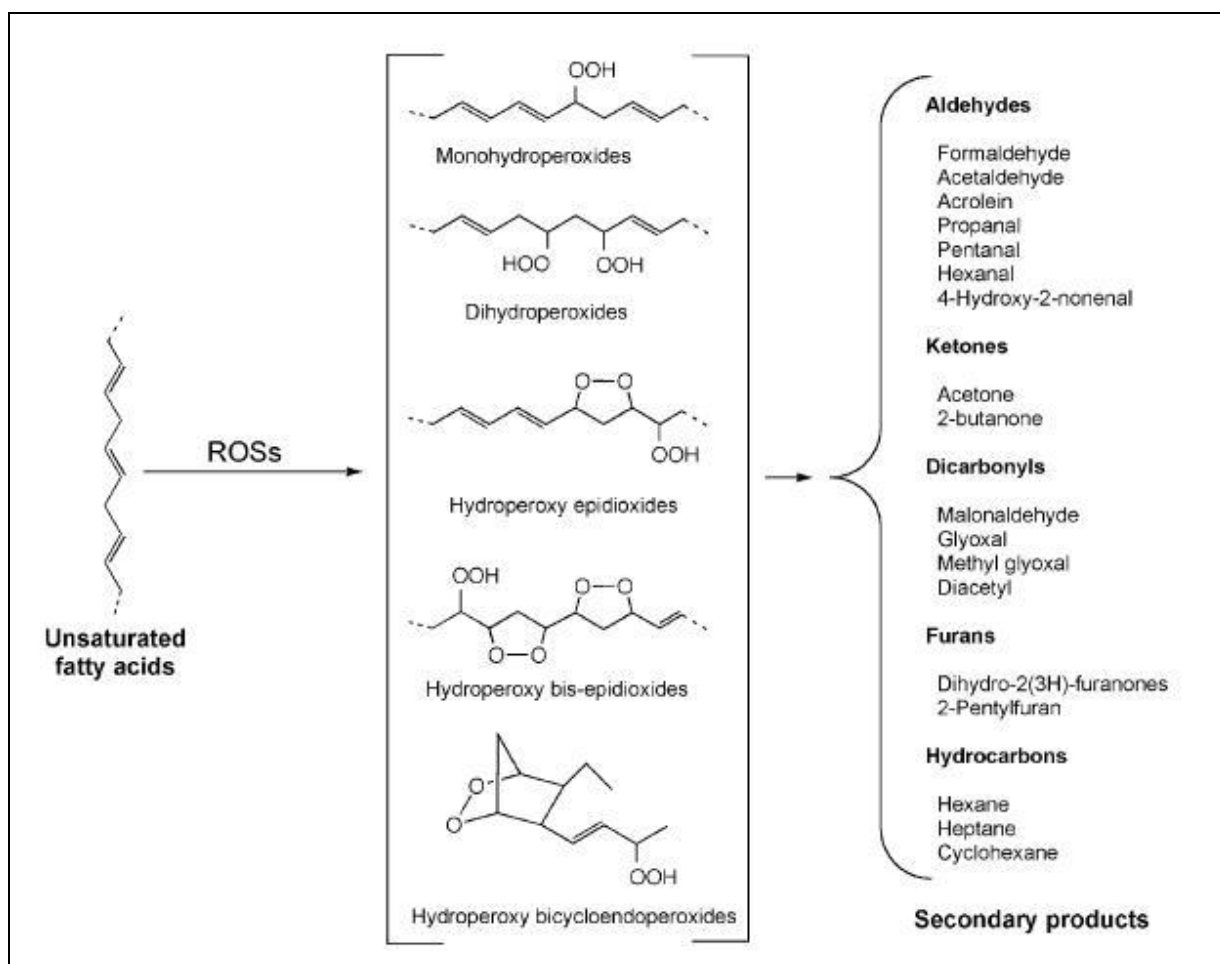
⁹⁰ Denne hypotese passer med, at ROS i dødelig dosis resulterer i tumor død (apoptose) (Giles, 2006; Nishikawa, 2008), hvorved ROS virker som ”tumor suppressor”. (Ramsey og Sharpless, 2006)

⁹¹ DNPH derivater er en hyppigt anvendt markør, og er anvendt i 90 % af de analyser, der er foretaget. (Shibamoto, 2006)

⁹² Andre stoffer til fremstilling af derivater: cysteamine, til brug for: formaldehyd og acetaldehyd; N-hydrazine, til brug for: acrolein, 4-hydroxy-2-nonenal og MDA; O-phenylene, til brug for: glyoxal og methylglyoxal. (Shibamoto, 2006)

8-oxo-deoxyguanosine kan visualiseres med fluorescein isothiocyanate (FITC) – conjugated avidin. (Radisky et al., 2005)

F2-isoProstaglandiner (IsoP) er blevet nævnt som en ny guldstandard for måling af LPO, da isoP biosyntesen skulle være specifik for ikke-enzymatisk LPO. (Gago-Dominguez et al., 2007)



Figur 2.9. Liste over foreslåede produkter og mellemprodukter dannet ved LPO.⁹³ (Shibamoto, 2006)

Biokemien i LPO er så kompliceret, at det er uoverkommeligt at præsentere alle mulige ”pathways” og LPO-produkter. Derfor er strategien at undersøge hvilke lugtstoffer, der rent faktisk kan identificeres fra kræftsygdomme (se kapitel: ”Kemisk fingeraftryk af cancer”) for herefter at gå baglæns og vurdere om de kan stamme fra LPO.

⁹³ Lav-molekylære aldehyder er ofte irritanter, f.eks. er acrolein en kendt øjerritant. Formaldehyd og acetaldehyd er toksiske. Dicarbonylen glyoxal er en tumorpromoter og methylglyoxal har vist sig at kunne hæmme DNA- og RNA-syntese. (Shibamoto, 2006)

3. “Major Histocompatibility Complex” (MHC)

”Menneskets bedste ven kan måske bruges til at snuse sig frem til histokompatible donorer.”

Lewis Thomas (1974)⁹⁴

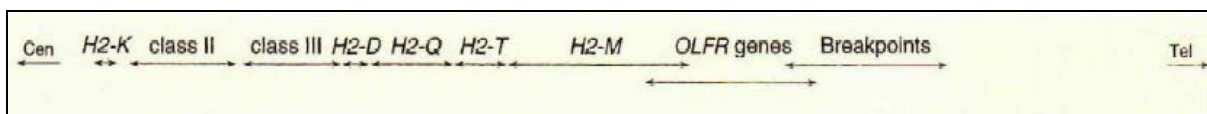
”Major Histocompatibility Complex” (MHC) er en gruppe af sammenkædede polymorfe gener. De klassiske MHC gener koder for klasse I og klasse II glykoproteiner⁹⁵, der præsenterer antigener på celle-overfladen, henholdsvis for patruljerende T-lymfocytter og T-hjælpeceller⁹⁶. MHC-molekylerne er involveret i immunforsvarets genkendelse af ”selv”/”ikke-selv”, herunder frastødning af organer ved transplantation. Det er blevet anslået at hver celle fremviser ca. 250’000 MHC molekyler⁹⁷ (Garcia-Lora et al., 2003).

Kapitlet gennemgår først MHC-kompleksets form og funktion hos henholdsvis mus og mennesker. Dernæst et lille afsnit om MHC-peptider (antistoffer). Tredje afsnit handler om hypoteser for dannelsen af MHC-relaterede lugte. Afslutningsvis gennemgås hypoteser omkring ”tumor escape”, og den mulige forbindelse mellem MHC-ændringer og cancer.

3.1. Mus (*Mus musculus*): MHC

I 1975 fremsatte Lewis Thomas spekulationer om, at generne fra “Major Histocompatibility Complex” (MHC), der er intimt involveret i immungenkendelsen, måske også er bestemmende for dyrs individuelle lugt eller lugttype⁹⁸ (Gilbert et al., 1986; Röck et al., 2007; Willse et al., 2006 og Restrepo et al., 2006).

Musens MHC-kompleks findes på kromosom 17 (se nedenstående figur og Figur 3.2.) (Cheetham et al., 2007), hvor det strækker sig over 8 Mb⁹⁹ (Amadou et al., 1999), og indeholder ca. 50 gener (Yamazaki et al., 1999).



Figur 3.1. MHC-komplekset (*M. musculus*), kromosom 17. Groft fysisk kort med angivelse af retning til centromer (cen), indbyrdes placering af klynger af de forskellige klasser af MHC-molekyler, og placeringen af en klynge ”lugtreceptor-lignende” gener (OLFR gener) i retning af teleomeren. (Amadou et al., 1999)

⁹⁴ Citatet er oversat fra: (Penn og Potts, 1998).

⁹⁵ Navngivning for MHC klasser og deres undertyper: MHC klasse I: A, B og C; MHC klasse II (immunceller): DP, DQ og DR. (Knapp et al., 2006)

⁹⁶ T-hjælper-celler fremmer antistofproduktionen hos B-cellerne. (Brown et al., 1989).

⁹⁷ Tidligere er angivet et estimat på 100’000 MHC klasse I molekyler per celle. (Penn og Potts, 1998)

⁹⁸ Lewis Thomas: ”genes governing mouse self-recognition by pheromones are associated with the Ir-1 locus, within the complex locus for H2 antigens”. (Röck et al., 2007)

⁹⁹ 2 centimorgan (cM)/”map unit” (m.u.). (Yamazaki et al., 1983 og Boyse et al., 1987)

MHC-komplekset deles op i 3 klasser: Klasse Ia, klasse Ib og Klasse II, der hver koder for sin klasse af glykoproteiner. MHC-klasse I molekylerne består af 45 kDa ”tung kæde”¹⁰⁰ og 13 kDa ”let kæde”, β 2 mikroglobin (β 2M), der findes ”ikke-kovalent” bundet i cellemembranen:

Klasse Ia: H-2K og D. Fremviser antistoffer for ”cytotoxic T-celler”.

Klasse Ib (”ikke klassiske”): D/Qa:T1a. Muligvis funktionel analog til det menneskelige HLA-G (se afsnittet: ”Tumor escape”); Klasse Ib molekyler er endvidere fundet co-udtrykt med V2R receptorer i det ”vomeronasale organ” hos mus (Leinders-Zufall et al., 2004) (se afsnittet: Lugtesansen).

klasse II: H-2I (A/E). Fremviser antistoffer for T-hjælper celler, der inducerer antistofproduktion i B-celler.

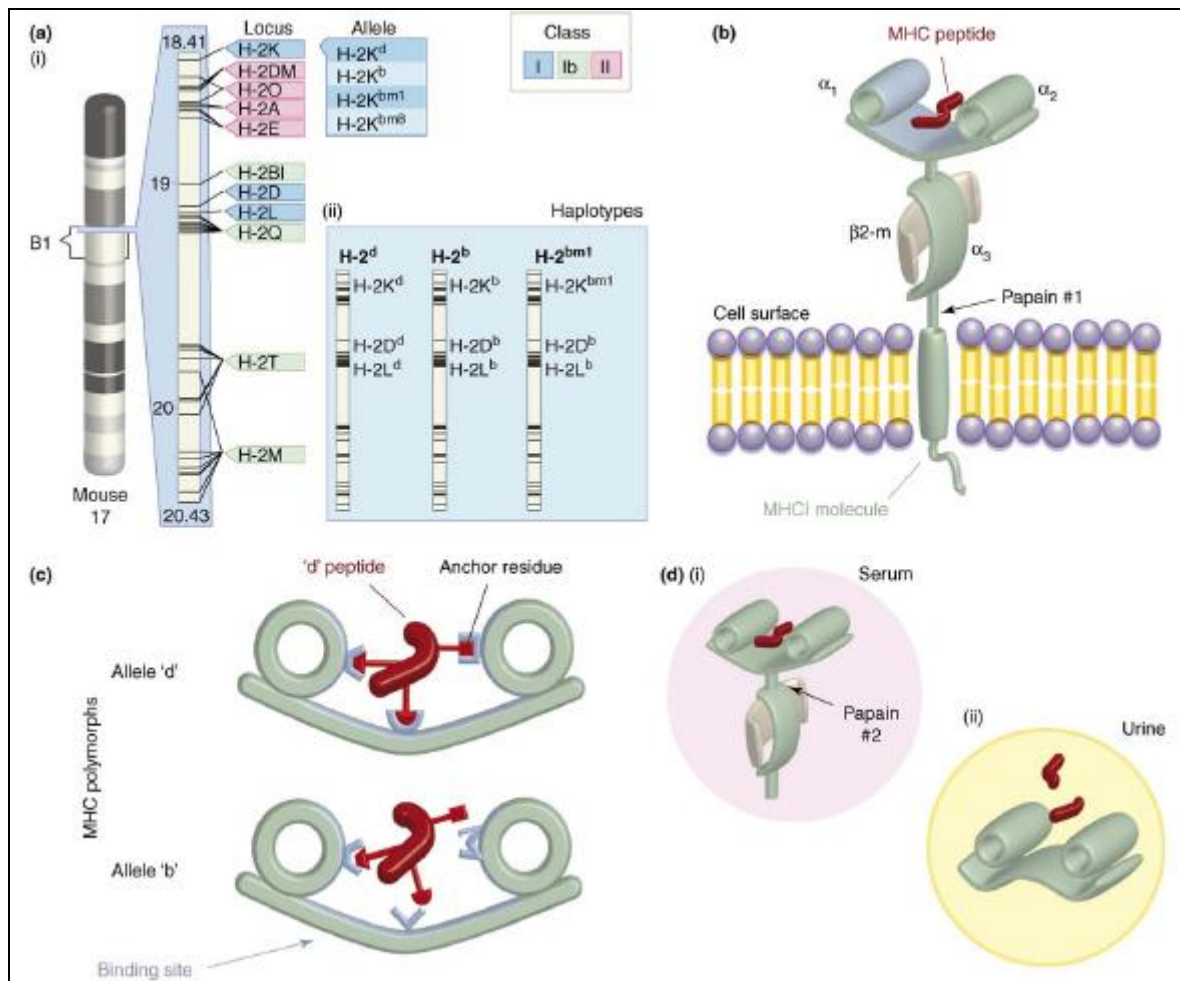
(Brown et al., 1989; Amadou et al., 1999; Singh, 2001 og Restrepo et al., 2006)¹⁰¹

MHC-komplekset er karakteriseret ved: 1. mange funktionelle loci per klasse, 2. allelopolymorfisme, f.eks. anslås H-2K og H-2 D/L at have ca. 100 forskellige alleler, 3. co-dominant udtryk og 4. høj heterozygocitet, næsten 100 % hos vilde mus (*M. musculus*). (Eggert et al., 1999 og Restrepo et al., 2006). MHC-molekylets struktur er angivet på nedenstående figur, herunder bindingen af MHC-peptider. Det er forklaret, hvordan MHC-molekyler nedbrydes i serum¹⁰² og urin (Singh, et al., 1987 og Singh, 2001). Undersøgelser på rotter har vist at MHC-molekyler findes i urinen i rimelig høj koncentration: 40-190 ng/ml (Singh et al., 1987).

¹⁰⁰ MHC klasse Ia molekylerne er polymorfe i deres N-terminal, hvorfor peptidgenkendelsen, forventes at være knyttet hertil. (Restrepo et al., 2006)

¹⁰¹ Analoge regioner hos rotter: A (klasse I), B/D (klasse II) og C/E (klasse I). (Brown et al., 1989)

¹⁰² MHC-relateret lugt kommer fra lymfesystemet, hvilket er blevet eftervist ved forsøg på gnavere, der først har fået ødelagt deres rygmarv, hvorefter den er blevet erstattet med rygmarv fra en donor med anden MHC-type. Disse kimærer udtrykte donorens MHC-type i urinen. (Singh et al., 1987 og Yamazaki et al., 1999)



Figur 3.2. MHC-komplekset hos mus (*M. musculus*): a. MHC-komplekset findes på musens kromosom 17. a.i.: Forstørret udsnit fra B1 med MHC-kompleksens gener med angivelse af udvalgte loci og eksempler på terminologien omkring navngivning af MHC-alleler. a.ii. Eksempler på haplotyper. b. MHC klasse Ia molekylets struktur. Det færdige antigenpræsenterende proteinkompleks rummer 3 komponenter: 1. MHC-molekylets "tunge kæde" (45 kDa), hvor alfahelix α_1 og α_2 , sammen med de to underliggende β -plader, udgør den antigen-bindende kløft. 2. β_2 -mikroglobulin (β_2m), og 3. MHC-peptid (antigen). Molekylet er et transmembranprotein med en cytoplasmisk hale. c. Antigenbindende kløft genkender de 9 aminosyrer lange MHC-peptider ud fra 2-3 "anker-aminosyrer", der passer ud fra "nøgle-i-lås princippet". d. Ændring af specificiteten af MHC-molekylets antigen-bindende kløft ved kløvning af proteaser. Angivelse af skæringsstedet for proteasen papain. d.i. Fragmentet af MHC-molekylet som det findes i serum (39 kDa). d.ii. Fragmentet af MHC-molekylet som det findes i urin (27 kDa). (Restrepo et al., 2006)

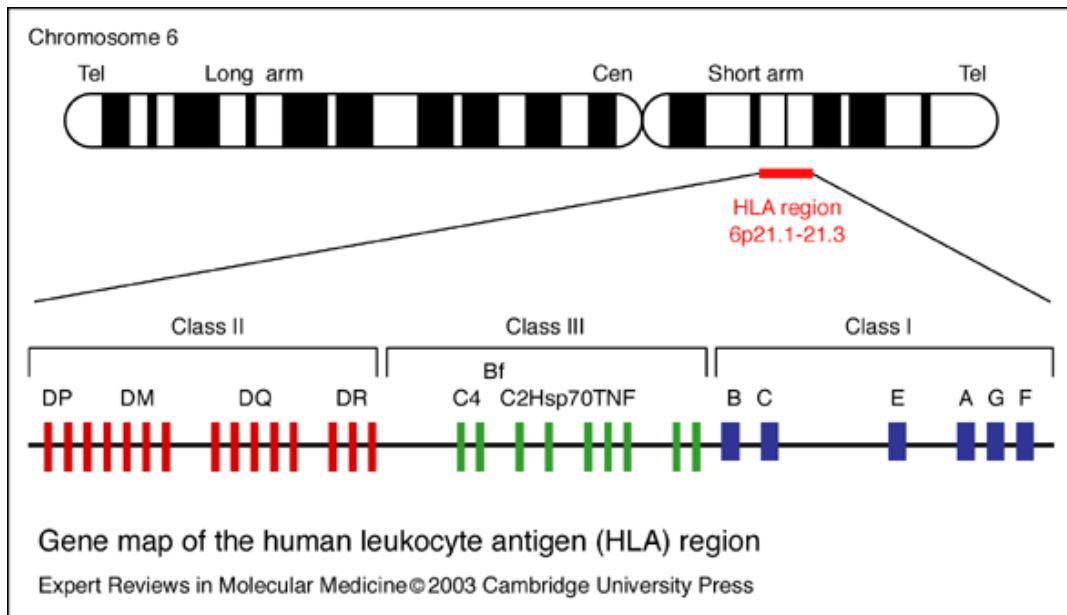
MHC-komplekset og adfærd

MHC-relaterede lugte har tilsyneladende en række adfærdsmæssige konsekvenser for gnavere¹⁰³, herunder: "slægtskabsgenkendelse", hunmus' valg af "redekammerater", parringsvalg og "Bruce effekten", hvor sidstnævnte er abortering, når en hunmus i de tidlige faser af graviditeten konfronteres med lugten af en ny indtrængende han. (se kapitlet: Hypotesen om "signaturlugte").

¹⁰³ Preliminære data indikerer sammenhæng mellem MHC og lugt hos ringhalede lemurer (*Lemur catta*). (Knapp et al., 2006)

3.2. Menneske (*Homo sapiens*): ”Human leukocyte antigen” (HLA)

Hos mennesker kaldes analogien til musenes MHC-kompleks for ”Human leukocyte antigen” (HLA), og genkomplekset befinder sig på den korte arm af kromosom 6 (se nedenstående figur). (Restrepo et al., 2006)



Figur 3.3. Genetisk kort over ”human leukocyte antigen (HLA) regionen. HLA regionen spænder 4×10^6 nukleotider på kromosom 6p21-p21.3 med klasse II, klasse III og klasse I generne lokaliseret fra centromeren (Cen) til teleomer (Tel) enden. (Mehra og Kaur, 2003)

Klassiske HLA klasse I gener består af 8 exons, 7 introns og en u-translateret 3' region (Abbas et al., 2004). Der er en høj grad af heterozygositet med op til 80 % for enkelte loci (Yeager og Hughes, 1999). Eksempelvis er det blevet anslået, at HLA-B har 180 alleler (Montag et al., 2001). HLA-klasse I glykoproteinet består af en ”tung kæde” på 45 kDa og en ”let kæde”, β -mikroglobulin ($\beta 2M$) på 13 kDa. $\beta 2M$ kodes i øvrigt uden for HLA-komplekset på kromosom 15 (Garcia-Lora et al., 2003).

Den generelle form og funktion af de menneskelige HLA-molekyler forventes at være den samme som hos mus (se figur 3.2). Rækkefølgen og terminologien for generne er dog ændret.

Klasse Ia: HLA-A, -B og -C: Polymorfe glykoproteiner, der udtrykkes på overfladen af næsten alle celler. De er generelt membranbundne og fremviser antigener til ”cytotoxic ($CD8^+$) T-celler”.

Klasse Ib (”ikke-klassiske”): HLA-E, -G¹⁰⁴ og -F: HLA-molekyler med begrænset vævsdistribution. De ”ikke klassiske” HLA molekyler findes både i membranbunden og

opløst form, hvilke fremkommer ved "alternativ splejsning" og sletning. "Ikke klassiske" HLA molekyler er endvidere kendetegnet ved interferon ufølsomhed, og HLA-E og HLA-G menes at være involveret i "tumor escape" (se afsnittet: "Tumor escape").

Klasse II: HLA-DR, -DQ og -DP; Udtrykkes på B-celler, dendritceller og makrofager. Præsenterer antistoffer for T-hjælper celler ("hjælper (CD4⁺ T-celler"), hvorved der induceres antistofproduktion i B-celler.

(Brown et al., 1989; Yeager og Hughes, 1999; Montag et al., 2001; Garcia-Lora et al., 2003 og Hunt et al., 2005;)

HLA og lugtpræferencer hos mennesker

Schweiziske forskere har udført forsøg, hvor kvinder har lugtet til brugte T-shirts fra mænd, hvor både kvindens og mandens HLA-type var blevet bestemt på forhånd. Resultaterne må betragtes som præliminære, men der blev fundet statistisk signifikans for, at kvinder finder lugten af mænd med forskellig HLA-type mest behagelig. Havde kvinderne derimod taget p-piller, blev deres præferencer modsatte, dvs. de fandt lugten af mænd med en HLA-type lig deres egen mest behagelig. (Wedekind et al., 1995 og Wedekind og Furi, 1997) Supplerende forsøg viste, at hverken mænd eller kvinder kunne identificere køn ud fra de brugte T-shirts, og at mænd ligesom kvinder foretrækker lugten fra mennesker med en HLA-type, der er forskellig fra deres egen. (Wedekind og Furi, 1997)

I 2002 spurgte amerikanske forskere 49 Hutterit-kvinder, hvilken duft de ville foretrække, hvis de skulle lugte til den hele tiden. Lugtprøverne bestod af brugte T-shirts, der var båret af mænd, men denne gang indikerede resultaterne, at kvinder foretrækker lugten af mænd med HLA alleler, der matcher de alleler, kvinderne har arvet fra deres far, men ikke deres mor. (Jacob et al., 2002)

De seneste resultater er fra en brasiliansk undersøgelse med 58 studerende, der i et delforsøg ud af fire, viste at kvinder blev mere i tvivl om lugtpræferencen, hvis lugten kom fra mænd, der havde forskellig HLA klasse I fra dem selv (Præliminære data). (Santos et al., 2005)

(se endvidere kapitlet: Individuelle lugte ("Signaturlugte"))

Udtrykkes på den del af fostrets overflade, der er i direkte kontakt med moderens blodbane. HLA-G modulerer immunceller til immunundertrykkende fænotyper. Dette kan blandt andet ske ved følgende mekanismer: Hæmning af leukocyter (via de hæmmende receptorer ILT2 og ILT4); Nedsat CD produktion hos cytotoxic T-lymfocytter, eller ligefrem apoptose; NK-celler gøres ubevægelige og mononucleare phagocytter nedsætter produktionen af anti-inflammatoriske cytokiner (Algarre et al., 2004 og Hunt et al., 2005). HLA-G har 7 isoformer: 3 membranbundne og 4 opløste. (Abbas et al., 2004)

”MHC-linkede” lugtreceptorer (G_{olf} -proteiner)

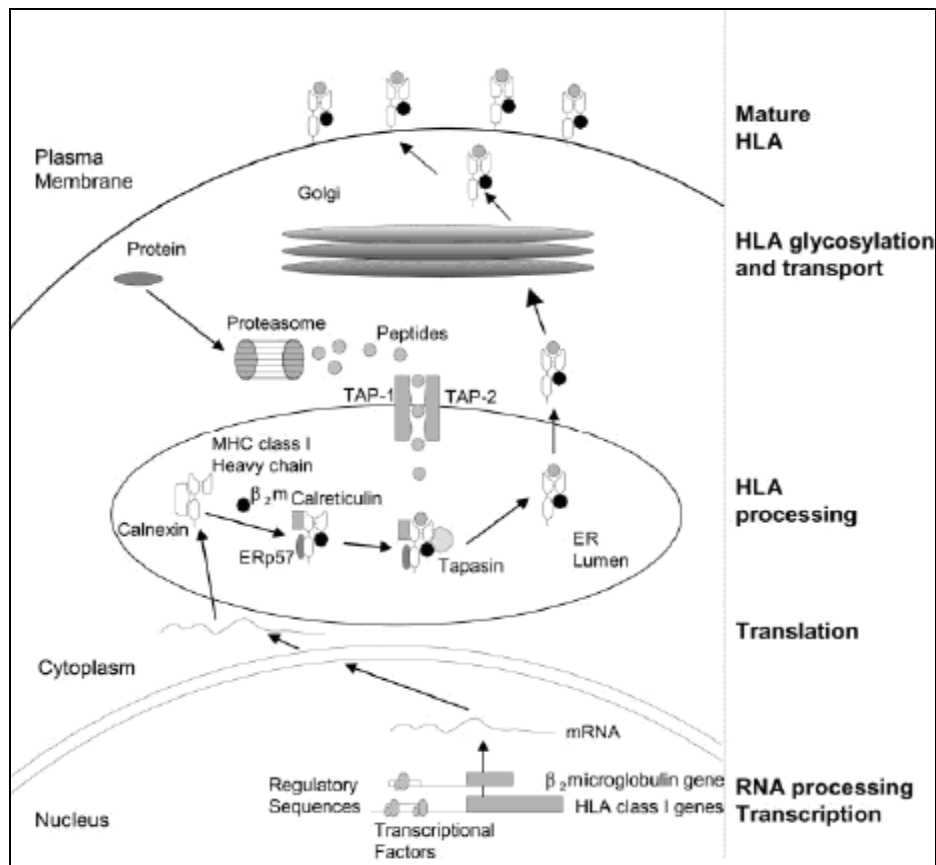
Lugtreptorgenerne findes som tidligere nævnt spredt ud i klynger ud over alle de menneskelige kromosomer, undtaget kromosom 20 og Y-kromosomet (Eklund et al., 2000). Således er over 30 lugtreceptor gener (ca. 50 % pseudogener) lokaliseret til ”den udvidede klasse I region” på teleomersiden af HLA-F (Eklund et al., 2000; Amadou et al., 2003 og Santos et al., 2005). Det samme forhold gør sig gældende hos mus, hvor lugtreceptor gener er fundet i den analoge MHC-region. Lugtreceptor gener tæt på MHC-komplekset har givet anledning til spekulationer om ”linkede” MHC- og lugtreceptor gener kan være en del af forklaringen på dyr og muligvis menneskers evne til at genkende individuelle lugttyper?¹⁰⁵ (Fan et al., 1995 og 1998; Eklund et al., 2000 og Hedge, 2003)

3.3. MHC-peptider

MHC-peptider eller ”antigener” dannes ved nedbrydning af cellens proteiner i proteasomerne. MHC-peptiderne har en længde på 9 aminosyrer (AA)¹⁰⁶. Peptiderne overføres til det endoplasmatiske reticulum (ER) via transporter proteinerne, ”transporter associated with antigen processing 1 and 2” (TAP-1 og Tap-2). I ER samles peptiderne med MHC-molekylets tunge og lette kæde ($\beta 2M$), vha. chaperoner. De færdige MHC-molekyler med bundne antistoffer overføres herefter til cellemembranen via golgi-apparatet: se nedenstående figur. (Garcia-Lora et al., 2003)

¹⁰⁵ Et andet interessant link er en mulig forbindelse mellem mitochondrierne og udtryk af MHC-gener (Yamazaki et al., 1986). En hypotese for udviklingen af kræft, er at det er en mitochondriesygdom (se kapitlet: Kræftcellers metabolisme). Forfatteren har desværre ikke haft tid til at forfølge dette spor yderligere.

¹⁰⁶ Andet sted angives peptid-liganderne (MHC-peptiderne) til at være 8-11 AA for MHC klasse I og 12-25 for MHC klasse II molekylerne. (Montag et al., 2001)



Figur 3.4. "Antigen behandelnde maskineri": Endogene peptider nedbrydes i proteasomerne til peptider på 9 aminosyrers længde. Peptiderne transporteres til det "endoplasmatiske reticulum" (ER) af to transporter proteiner, "transporter associated with antigen processing 1 and 2", TAP-1 og TAP-2, hvor de associeres med MHC-molekylet. Herefter transporteres det samlede kompleks (antistof og MHC-molekyle) til cellemembranen. (Garcia-Lora et al., 2003)

Med opdagelsen af receptorer i det "vomeronasale organ" og muligvis næsens lugtepitel, der kan detektere MHC-peptider, er der knyttet en direkte forbindelse mellem MHC-forskelle, en kvalitet, der kan detekteres af lugtesansen (MHC-peptiderne) og MHC-relateret adfærd. (se afsnittet: Lugtesansen og Leinders-Zufall et al., 2004 og Kelliher, 2007)

3.4. Hypoteser for MHC påvirkning af "individueel lugt"

MHC-molekyler er højmolekylære stoffer (glykoproteiner), der ikke umiddelbart kan betragtes som flygtige. I afsnittet om lugtesansen fremgår det imidlertid, at stoffer ikke behøver at være flygtige for at påvirke lugtesansen, og det gælder både næsens lugtepitel og det vomeronasale organ (VNO).

Adfærdsstudier med Y-labyrint og forsøg med bioguided fraktionering (se kapitlet: Hypoteser for "Signaturlugte") peger dog på, at semiokemikalierne befinder sig i den flygtige fraktion. Hvordan kan MHC-molekyler påvirke den individuelle lugt?

”Den klassiske hypotese”

Hvert individ har sit eget specifikke stofskifte, der direkte giver anledning til lugttypen, uafhængig af bærermolekyler. De polymorfe MHC-proteiner er oplagte kandidater til at bestemme et individs lugttype, da allel-kombinationen er unik. (Boehm og Zufall, 2006)

I relation til flygtighed, kan man forestille sig, at det er MHC-fragmenter eller nedbrydningsprodukter, der giver anledning til den individuelle lugttype (Penn og Potts, 1998a).

”Bakteriehypotesen”

Individuelle lugte har den indirekte relation til MHC, at MHC regulerer antallet og typerne af bakterier i mave-tarmsystem, hud og urinveje, og at det er metabolismen hos disse bakterier, der giver den individuelle lugt. (Singh, 1999)

Bakteriehypotesen underbygges ved, at rotter i et ”habituation/dishabitation” forsøg, ikke har kunnet kende forskel på lugten fra kim-fri donorer (Singh et al., 1990 og Singh, 1999). Omvendt kunne mus i trænings-belønnings forsøg godt kende forskel på lugten fra kim-fri donorer med forskellig MHC-type (Brown, 1995). De forskellige resultater kan tillægges, at musene i trænings-belønnings-forsøgene har været mere motiverede. Hvad der ydermere taler imod denne hypotese, er at mennesker og dyrs bakterieflora varierer betragteligt over tid, hvorfor de ikke kan være kilden til en varig individuel lugt.

”Carrier hypotesen”

Opløselige MHC klasse I molekyler transporterer specifikke duftstoffer fra blodet og til urinen. (Singh, Brown og Roser 1987 og Singh, 1999). MHC lugttypen er således bestemt ved, hvordan MHC molekylerne eller deres bundne peptider binder endogene flygtige forbindelser (præferentiel binding) (Willse, 2006). Ifølge hypotesen undergår de opløste MHC molekyler proteolyse efter udskillelse af urinen, hvorefter de bundne peptider frigives (Restrepo et al., 2006).

”Carrier hypotesen” er blevet underbygget ved: 1. At mus har kunnet kende forskel på MHC bestemte lugte i Y-labyrint forsøg. 2. Mus har kunnet lugte forskel på lugte fra to varianter af MHC (H-2K genet), der kun adskiller sig ved 3 aminosyrer. 3. Variation i H-2 Q/T/M regionen¹⁰⁷ har ligeledes betydning for den individuelle lugt. (Singh, 1999) Og endelig har man vist at phenyl acetic acid, der findes i relativ stor mængde og med individuelle variationer, findes bundet til peptidfraktionen i urin fra mus. (Singh, 1999 og 2001)

Argumenter mod ”carrier hypotesen” er at MHC-fragmenter findes i urinen i meget mindre koncentration end MUPs (10-8M versus 10-3M), og at der ikke er påvist binding af lav molekylære stoffer til MHC klasse I fragmenter. (Restrepo et al., 2006) Carrier hypotesen giver den forudseelse af MHC-type variationer i lugtprofilen er additiv, hvilket ikke er tilfældet – man har en ”heterozygot effekt” (Willse et al., 2006); Hvis carrier hypotesen var

¹⁰⁷ Tidligere benævnt: H-2Qa:Tla regionen (Sing, 2001 og 1999)

sand ville man endvidere forvente, at variationen kun gjaldt nogle få stoffer, og ikke 108. (Willse et al., 2006)

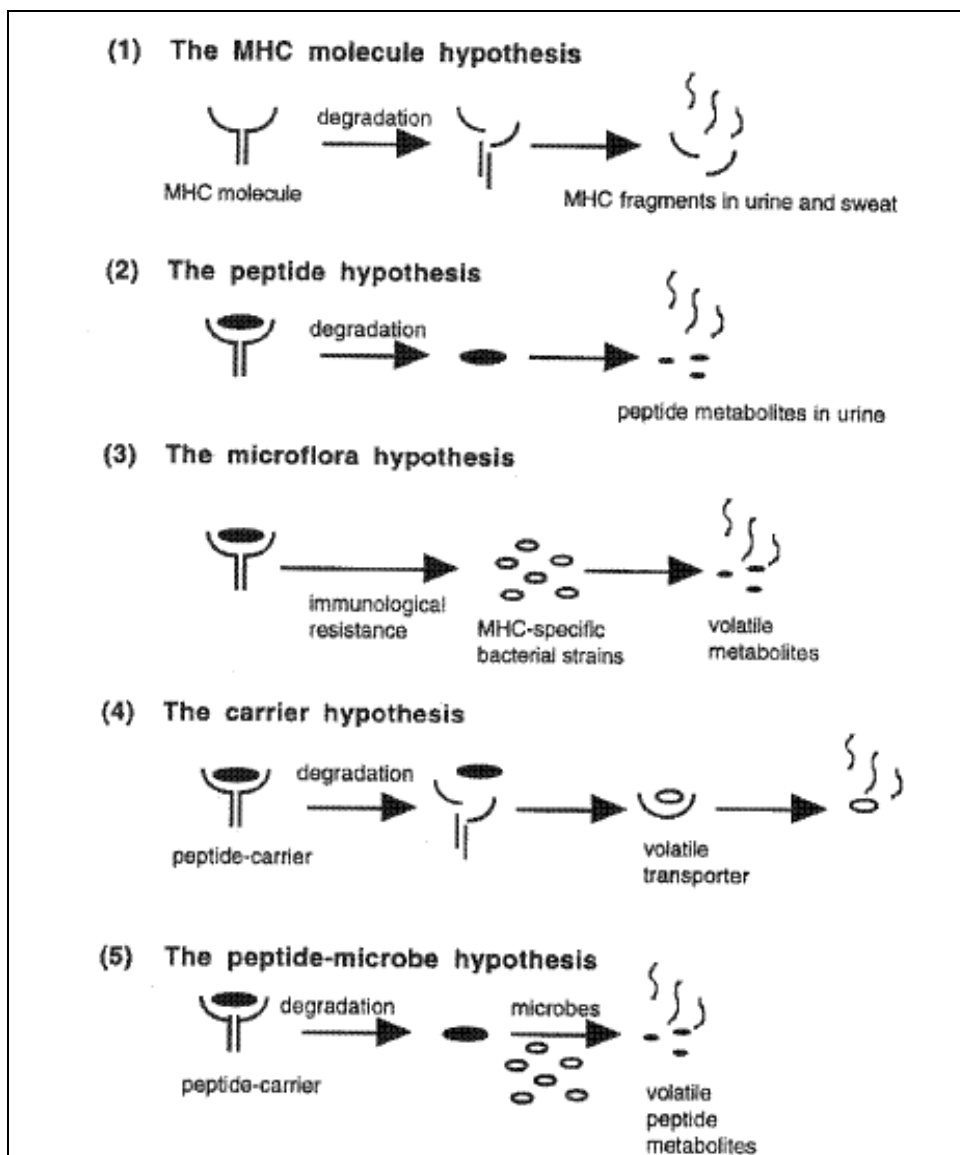
En variation af ”Carrier hypotesen” er fremsat af Boehm og Zufall, hvor det ikke er MHC molekylerne, men derimod ”Major Urinary Proteins”, der er bærere af de flygtige forbindelser. (Boehm og Zufall, 2006)

”Peptid hypotesen”

MHC-peptiderne eller de antistoffer, der er bundet til MHC-molekylerne, er en anden oplagt kandidat til at give anledning til MHC-relaterede lugte. MHC-peptiderne bestemmes af MHC-molekylerne, jævnfør specificiteten af den antigen-bindende kløft (figur 3.2).

Det er allerede nævnt tidligere, at MHC-peptider findes i nedbrudt form i urinen¹⁰⁸ (Singh et al., 1987 og Singh, 2001) og kan detekteres af lugtesansen. Tilsætning af MHC-peptider til urin og vand, kan påvirke adfærden for mus og hundestjler. (Boehm og Zufall, 2006) Der er imidlertid rejst den skepsis over for disse resultater, at der i forsøgene var tilsat langt højere koncentrationer af MHC-peptider til urinen, end der findes *in vivo*. Formentlig er koncentrationen af MHC-peptider *in vivo* endnu lavere end koncentrationen af MHC-fragmenterne, dvs. under 10^{-8} M. (Restrepo et al., 2006) Denne koncentration ligger dog stadig inden for detektionsgrænsen af musenes lugtesans. (se afsnittet: Lugtesansen)

¹⁰⁸ MHC-lidander er forløbere for flygtige duftstoffer, herunder phenyleddikesyre. (Boehm og Zufall, 2006 og Singer et al., 1997). Urinen fra mus indeholder ≈ 1 mg/ml af carboxylsyrer, og de er stærkt lugtende. (Yamazaki et al., 1999 og Singh, 2001)



Figur 3.5. 5 hypoteser for virkningsmekanisme for, hvordan MHC generne kan påvirke den "individuelle lugt": 1. "The MHC molecule hypothesis": Det er fragmenter af MHC-molekylerne, der giver anledning til den MHC-specifikke lugt. 2. "The peptide hypothesis": MHC-molekylerne bærer bestemte MHC-peptider, og den specifikke lugt opstår ved den efterfølgende peptid metabolisme, f.eks. "Stickland reaktionen" i urinen. 3. "The microflora hypothesis": MHC-molekylerne er bestemmende for sammensætningen af den kommensale bakterieflora, og det er i virkeligheden bakterierne, der giver anledning til lugten. 4. MHC-molekylerne fungerer som bærere af lugtstoffer, men der findes ikke en tilfredsstillende forklaring på, hvordan de skulle ændre deres specificitet til at binde lugtstoffer frem for MHC-peptider. 5. "The peptide-microbe hypothesis": Kombination af peptid og mikroflora hypoteserne, hvorved lugten fremkommer med mikrobiel nedbrydning af MHC-peptider. (Penn og Potts, 1998a).

Den overordnede konklusion, mht. de forskellige hypoteser omkring MHC-relaterede lugte, er at der endnu ikke er fastslået en mekanisme for, hvordan de dannes. (Restrepo et al., 2006) Dette rykker dog ikke ved estimatet omkring, at MHC-komplekset giver anledning til ca. 50 % af den individuelle lugttype (Beauchamp og Yamazaki, 2003).

3.5. ”Tumor escape”

En af hypoteserne omkring årsagen til kræft, er at cancer er en immunforsvarssygdom. Argumenter herfor, er at et velfungerende immunsystem kan afstøde og destruere tumor masser på flere millioner celler¹⁰⁹. Til gengæld er personer, der har fået udført organtransplantation mere udsatte for cancer. Endvidere er ondartede tumorer ofte associeret med virus-infektioner, f.eks. Epstein-Barr virus (EBV), hepatitis B (HBV) og human papillomavirus (HPV). (Garcia-Lora et al., 2003; Algarra et al., 2004 og Schuster et al., 2006)

Mulig sammenhæng mellem HLA-udtryk og kræft

Der findes klar indikation for at resistente kræftsvulster kan undvige immunforsvaret ved strukturelle og funktionelle ændringer i HLA klasse I molekylerne (Wischhusen et al., 2007)¹¹⁰.

Kræfttype	Tab af MHC-klasse I
Cervical carcinoma	96 %
Bryst carcinoma	96 %
Colorectal carcinoma	87 %
Laryngeal carcinoma	70 %

Tabel 3.1. Tab af MHC klasse I i forskellige kræfttyper. (Garcia-Lora et al., 2003)

Hermed kan der ske ændret fremvisning af antigener på celleoverfladen, således at kræftcellerne undgår angreb fra de cytotoksiske T-lymfocytter (CTL). Derudover kan udtryk af ikke-klassiske HLA molekyler, såsom HLA-E og HLA-G¹¹¹ betyde at kræftcellerne undgår angreb fra ”Natural Killer”/(NK-) celler. (Algarra et al., 2004)

Dette har fået to portugisiske forskere: S.C. Balserio og H. R. Correia, til at spekulere på om det er ændringer i HLA som hunde kan lugte, når de detekterer kræft:

”Givet de rapporter, der er lavet om hunde, der detekterer kræft på grundlag af lugt, er vor hypotese, at de flygtige organiske forbindelser, der produceres af svulsterne og detekteres af hundene, er produkter af MHC gener. To linier af evidens underbygger denne hypotese: (1) menneskelige kropslugte er genetisk bestemt af MHC. Disse antigen molekyler (HLA i mennesker) har opløste og målbare isoformer, der er til stede i kropsvæsker såsom blod, urin og sved; (2) Der er en stærk sammenhæng mellem ændringer i HLA udtrykket og cancer.”
(Balseiro og Correia, 2006)

Fordi mekanismen bag kræftcellernes undvigelse af immunforsvaret er lig, hvad der vides om mekanismen bag immuntolerancen mellem mor og foster, foreslår Balseiro og Correia, at immunomodulatoriske abortmidler kan være en god strategi inden for kræftbehandlingen. (Balseiro og Correia, 2006)

¹⁰⁹ Immunceller der angriber cancer: monocytter, neutrophiler, makrofager og Kupffer celler i leveren. (Nishikawa, 2008)

¹¹⁰ Leukotriner udtrykker fortsat klasse I MHC molekyler modsat mange epithelial cancer. (Henderson et al., 2005)

¹¹¹ HLA-G menes at være impliceret i fosterets undvigelse af moderens potentielt fjendtlige immunsystem, og visse HLA-G alleler er fundet i lidt højere frekvens hos kvinder, der har oplevet gentagne spontane aborter. (Abbas et al 2004)

4. Individuelle lugttyper ("Signaturlugte")

"Alle mennesker omgiver sig med et specielt personligt dufttegn, afhængig af alder, køn, stammetilhørsforhold, ernæring, helbredstilstand og aktivitet. Vi omgiver os med en "duftboble" og inden for en vis afstand blander vi vores dufte med andre menneskers duftområder." (Fyrand, 1997)

Hvis det skal give mening, at diagnosticere kræftsygdomme ud fra lugten må to forudsætninger logisk være opfyldt:

1. Kræftsygdomme må have deres egen lugttype "signaturlugt"
2. Der findes et system, der kan detektere lugten.

(Porter, 1985 og Schoon, 1998)

Der findes en række begrebsmæssige problemer omkring påstanden af eksistensen af en individuel lugttype ("signaturlugt")¹¹². Hvad er det for lugtstoffer, der bestemmer den unikke lugt? Forårsages lugtforskellene arv eller miljø? Er forskellene kvalitative eller kvantitative, eller "både-og"? Historisk er disse spørgsmål blevet rejst i forbindelse med hundes (*Canis familiaris*) evne til at følge lugtspor (*fært*) (Romanes, 1887) og "parrings-valg" hos indavlede stammer af mus (*Mus musculus*) (Yamazaki et al., 1976).

Nærværende kapitel indeholder først en gennemgang af adfærdsmålinger ("bio assays"), der indikerer forekomsten af individuelle lugttyper. Dernæst gennemgås resultater fra kemiske analyser, herunder gaskromatografi/massespektrometri (GC/MS) og brugen af "elektroniske næser" ("gas sensor array").

¹¹² En forskergruppe ledet af Dustin J. Penn fra Konrad Lorenz Institute for Ethology har foreslået en distinktion mellem begreberne "lugttype" og "kemisk signatur"/"kemisk lugtaftryk" (Penn et al 2007):

- Lugttype: Bruges om lugtforskelle, der har deres genetiske oprindelse i et enkelt loci (f.eks. HLA komplekset), hvilket må forventes at give en diskontinuerlig overgang mellem forskellige lugttyper (kvalitative forskelle).
- Kemisk signatur/kemisk fingeraftryk: Bruges om lugtforskelle, der har deres genetiske oprindelse i forskelle mellem mange loci, f.eks. de mange gener, der er involveret i det almindelige stofskifte. Hvilket resulterer i en kontinuerlig overgang mellem fænotyperne. (kvantitative forskelle).

En alternativ tilgang er at skelne mellem:

- Primær lugt: Lugtkomponenter, der er stabile over tid, uanset kost og miljøfaktorer
- Sekundær lugt: Lugtkomponenter, der kommer fra kost og miljøfaktorer.
- Tertiær lugt: Lugtkomponenter fra ydre kilder (artefakter): lotion, sæber, parfume, m.m.

(Curran et al., 2005). Udtrykket "olfactory fingerprints". (Brown, 1979). Brugen af signaturdufte begrænser sig ikke kun til mennesker og dyr: "Singapore Airlines var ved udgangen af 1990'erne blandt de første firmaer, der fik designet deres egen signaturduft, som går igen i alt lige fra stewardessernes parfume, klimaanlægget på flyene og i de lune, fugtige håndklæder, passagererne tørrer ansigtet i efter maden. Siden har mærker som Royle-Royce, undertøjsfirmaet Victoria's Secret og flere store hotel- og supermarkedskæder lugtet lunt, og det amerikanske fagblad Advertising Age har udråbt brugen af dufte i relamer som trenden i 2007." (Krogh, 2007)

4.1. Adfærdsmålinger

”... det ville være et interessant eksperiment for tvillinger, der ligner hinanden meget, at prøve hvor langt hunde kunne kende forskel på dem ved færten.”

(F. Galton, 1875)¹¹³

I en artikel fra Nature: ”Experiments on the sense of smell in dogs” (Romanes, 1887), beretter George Romanes, hvordan hans terrier (*C. familiaris*), en fridag i Regent Park, taber ham af syne, efter at være blevet distraheret af en anden hund. Romanes afprøver hunden ved at bevæge sig i ”zig-zag”. Men hunden finder ham alligevel, først ved at bevæge sig derhen, hvor den tabte sin ejer af syne, herefter i følger hunden lugtspor i ”zig zag”, indtil den finder sin ejer. Romanes bemærker, at for at det kan lade sig gøre, må hunden skelne hans fært mellem hundredvis af andre friske lugtspor og tusindvis af knap så friske lugtspor, der er blevet afsat i Regent Park.

Hundes ekstraordinære lugtesans er blevet udnyttet af mennesker til mange formål: (Bilag 8), men her skal fremhæves politiets anvendelse af sporhunde og ID-hunde, der giver særlig indikation for, at mennesker har en individuel lugt.

Sporhunde

Hunde kan følge individuelle lugtspor gennem tætbefolkede og trafikerede områder (Romanes, 1887; Hargreaves, 1996 og Stockham et al., 2004). I et eksempel følger en sporhund et lugtspor, der er ½ år gammelt, efter at have fået præsenteret færten på et brev, der havde været håndteret gennem det mexicanske og amerikanske postvæsen (Stockham et al., 2004).¹¹⁴

ID-hunde

Politiet i USA, Tyskland, Holland, Belgien, Holland, Polen, Ungarn og Rusland benytter ID-hunde¹¹⁵ (Curran et al., 2005), til at matche en genstand (*Corpora Delicti*) med en lugtprøve fra en mistænkt. Identifikationen foregår ved at hunden først snuser til *Corpora Delicti* og efterfølgende skal matche denne lugt med 6 lugtprøver i en opstilling¹¹⁶. Hunden indikerer match, f.eks. ved at skrabe mod prøven med poterne.

¹¹³ Citatet er oversat fra: (Hepper, 1988).

¹¹⁴ Der er skrevet en bog om sporhunde: ”Scent and the scenting dog”: (Syrotuck, 2000). Referencer til forskningsprojekter med sporhunde: (Myznikov, 1958; Thesen et al., 1993; og Harvey et al., 2006).

¹¹⁵ I begyndelsen af 1990'erne indledte dansk politi ligeledes forsøg med ID-hunde. Forfatteren har besøgt hundene og deres trænere på Rigspolitiets Hundeskole i Farum, og har set hundene arbejde. Projektet med at træne ID-hunde blev nedlagt i Danmark i 2003. (http://www.nethundeguiden.dk/artikel_print.php?id=210 og <http://home3.inet.tele.dk/nphu/seminar.htm>)

¹¹⁶ Lugtprøven laves ved at mistænke og kontroller holder et specielt rengjort stålrør i hånden nogle sekunder. Herved afgives fært til stålrøret. Hvorvidt denne fremgangsmåde er optimal kan diskuteres, da hunde foretrækker at bestemme identitet ved at snuse i den ano-genitale region (Filiat et al., 1991).

Der er lavet en række undersøgelser af ID-hundenes pålidelighed. I en omfattende engelsk undersøgelse med 7 hunde og i alt 617 delforsøg, havde hundene en succesrate på 80 % ($1/6 = 16.7\%$ forventet ved ren tilfældighed). Hundene kunne endvidere matche lugtprøver fra forskellige kropsregioner med en succesrate på 85 %. (Settle et al., 1994) Hollandske undersøgelser har efterfølgende forsøgt, at gøre lugtidentifikationen mere sikker ved, at der tages højde for hundenes motivation. Hundene må ikke have særlig præference for mistænkes lugt. Derudover skal hundene kunne lave korrekt ”ikke-identifikation”, hvis der ikke er noget korrekt lugtmatch. I den første af de hollandske undersøgelser var bedste resultat en succesrate på 75 % for positivt match (Schoon, 1996). I den anden undersøgelse, hvor kravene til hundene var skærpet, havde de en succesrate på 36.4 %. Dette må ses i forhold til, at sandsynligheden for positivt match ved ren tilfældighed er $1/7 \times 1/7 \times 1/6 \times 1/6 = 0.56\%$.¹¹⁷ (Schoon, 1998).

Individuelle lugte er noget hunden skal trænes til at detektere. Hunde har ikke en ”naturlig interesse i individuel lugte, og for ikke at blive distraheret af ”regionale kropslugte”¹¹⁸, trænes hollandske ID-hunde til at kunne genkende den individuelle lugt i lugtprøver fra 3 kropsregioner: hænder, indersiden af albuen og bukselommen.¹¹⁹ (Schoon, 1998 og Schoon og De Bruin, 1994)

Tvillingeforsøg: I forsøg med hundens evne til, at lugte forskel på enæggede tvillinger, kunne hundene ikke matche lugten fra et lommestørklæde med den korrekte tvilling. Tvillinger skal afvige enten i arv, dvs. være tveæggede, eller miljø for at hundene kan lugte forskel (Hepper, 1988) Hundene klarede bedre at følge færtten af den korrekte tvilling i terræn, hvor to tvillinger først havde fulgt ad for derefter at splitte op. (Kalmus, 1955) I en nyere undersøgelse kunne 3/13 (23 %) af sporhundene følge den korrekte tvilling med en sandsynlighed højere end ved ren tilfældighed (Harvey et al., 2006). Forsøg med slægtskabsgenkendelse inden for arten, viste at tæver har lugtpreference¹²⁰ for deres hvalpe og omvendt, og effekten kunne holde i minimum 2 år (Hepper, 1994).

Den foreløbige konklusion er, at hunde primært følger primært genetiske spor (Kalmus, 1955 og Harvey et al., 2006) og de mest oplagte kandidater er MHC-afhængige lugte (Harvey et al., 2006).

Gnavere og mennesker

En anden retning inden for forskning i individuelle lugte, tog sin begyndelse med observationer af laboratoriepersonale på Monell Chemical Senses Center¹²¹, Philadelphia, USA, hvor indavlede mus foretrak at parre sig med mus af samme stamme, men med forskellige ”major histocompatibility complex” (MHC) (Yamazaki et al., 1976 og Boyse et al.,

¹¹⁷ Gertrud A. A. Schoon anslår, at resultatet på 36.4 % korrekt positiv identifikation er et underestimat, bl.a. fordi de skærpede krav til hundene gjorde dem mere nervøse. Mere realistisk resultat for positiv identifikation anslås til at være en succesrate på 60 %. (Schoon, 1998)

¹¹⁸ George Romanes Setter (jagthund), viste i forsøg, at have særlig præference for hans jagtstøvler, frem for spor, der var trådt med bare fødder eller i strømpesokker. (Romanes, 1887)

¹¹⁹ Heste skulle efter sigende være i stand til at genkende signaturdufte, og kunne huske dem i flere år. (Christensen, 2002)

¹²⁰ Hundene opholdt sig ved lugten af deres familiemedlem i 76-77 % af tilfældene. (Hepper, 1994)

¹²¹ Monell Chemical Senses Centre hjemmeside: <http://www.monell.org/>.

1987). Rationalet i denne forskning er om dyr og mennesker bruger MHC-forskelle i deres parrings-valg. Hypotesen er, at parringsvalg baseret på MHC-forskelle vil reducere indavl og give forøget modstand over for infektioner¹²² (Potts et al., 1991).

I denne forbindelse foreligger en del forskning omkring: *slægtskabsgenkendelse, parringsvalg og lugt-præferencer* (Knapp et al., 2006), der alt sammen kan bruges som mulige indikatorer for en sammenhæng mellem lugttype og arvelighed (MHC). (se nedenstående tabel)

	Dyre-art (detektor)	Lugt standard	Reference
Slægtskabs-genkendelse ("Kin recognition")	Menneske (<i>Homo sapiens</i>)	Mor-barn	(Porter et al., 1983 og 1985 og Porter, 1999)
	Hund (<i>Canis familiaris</i>)	Tæve-hvalp; Hvalp-tæve Ejer (<i>H. sapiens</i>) Tvillinger (<i>H. sapiens</i>)	(Hepper, 1994 og Gillis et al., 1999) (Gillis et al., 1999) (Kalmus, 1955)
	Mus (<i>Mus musculus</i>)	MHC (<i>M. musculus</i>)	(Manning et al., 1992)
Parrings-valg	Menneske (<i>H. sapiens</i>)	HLA (Hutterites) MHC	(Ober et al., 1997 og 1999 og Eklund et al., 2000) (Gilbert et al., 1986)
	Mus (<i>Mus musculus</i>)	MHC	(Yamazaki et al., 1976, 1978 og 1999; Potts et al., 1991 og 1992 og Eklund, 1997)
Lugt-præferencer	Menneske (<i>H. sapiens</i>)	HLA (<i>H. sapiens</i>) Barn-mor ¹²³	(Wedekind, 1995; Wedekind og Furi, 1997; Eggert et al., 1999; Jacob et al., 2002 og Santos et al., 2005) (Porter, 1985)

Tabel 4.1. En oversigt over forskning vedrørende: *slægtskabsgenkendelse*¹²⁴, *parringsvalg* og *lugtpræference*. Tre mulige indikatorer for et sammenhæng mellem lugt og genetiske faktorer. Reviews om sammenhængen mellem individuelle lugte og arvelighed: (Penn og Potts, 1998; Singh, 2001 og Penn, 2002); Reviews kemiske signaliser hos mus: (Beauchamp og Yamazaki, 2003 og Brennan, 2004); Review Menneskers "parringsvalg": (Roberts og Litte, 2008)

I ovenstående tabel findes referencer til en del af den forskning, der er udført omkring sammenhængen mellem lugt og genetiske faktorer. Det tog sin begyndelse med, at H. Kalmus i 1955 påviste, at hunde havde svært ved at kende forskel på lugtspor fra menneske-tvillinger (beskrevet ovenfor) (Kalmus, 1955). Disse resultater blev fulgt op andre undersøgelser inden for "slægtskabsgenkendelse", hvor det blev påvist, at hunde brugte signifikant mere tid på at

¹²² Hypotesen om "parasite driven selection" er en forklaring på MHC polymorfisme. Det empiriske grundlag for påstanden er dog spinkelt, dog er "Mareks disease" (fugle-virus) og Malaria, blevet sat i forbindelse med forøget overlevelse hos heterozygoter. En anden mulig forklaring på MHC-polymorfisme er "selektiv abort". (Potts et al., 1991)

¹²³ Spædbørn udvikler ikke lugt-præference for deres mor, hvis de er "flaske-børn". (Porter, 1999). Hud-kontakt og kropslugte har betydning for etableringen af et sundt forhold mellem mor og barn. Spædbørns "sutte-adfærd" fremmer udskillelsen af "moderhormonet" oxytocin og adskillelse fra moderen fører til mere gråd fra spædbørn. (Porter, 2004)

¹²⁴ Slægtskabsgenkendelse kendes fra flere andre dyrearter, f.eks.: ungulater, dødningshovedaber, jordegerne, "sweat bees" og Cascade frogs" haletudser. (Porter et al., 1983 og 1985)

snuse til lugtprøver fra hunde, dyr, de var beslægtede med, f.eks. tæve-hvalp. (Hepper, 1994 og Gillis et al., 1999).

Mennesker har vist sig at have en lignende evne til at genkende deres afkom på lugten (Porter et al., 1983 og 1985 og Porter, 1999), ligeledes har spædbørn en præference for lugtprøver af deres mor taget fra bryst eller armhule. C. Jo Manning et al viser i 1992, at hun-mus foretrækker at dele rede med andre hunner som de har MHC-gener til fælles med. Hvorved der er etableret en forbindelse mellem slægtskabsgenkendelse og MHC.

Der fandtes i forvejen indikation for, at MHC påvirkede parrings-valget hos indavlede stammer af mus¹²⁵ (Yamazaki et al., 1976 og 1979 og Eklund, 1997). Men ud over, at forsøg med parringsvalg er teknisk vanskelige at gennemføre, kan parringsvalget afhænge af andre faktorer end lugt, f.eks. visuelle stimuli, skønt mus orienterer sig meget efter lugtesansen (Yamazaki et al., 1979 og Eklund, 1997). Rent statistisk foretrækker musene, at parre sig med en partner af anden MHC-type i 62-78 % af tilfældene, hvilket er statistisk signifikant (Yamazaki et al., 1978 og 1979) En anden metode til måling af parringsvalg, er antallet af MHC-homozygot afkom, hvor det hos mus er blevet målt til at være 27 % lavere end forventet ($P < 0.0001$) (Potts et al., 1991)¹²⁶.

Efterfølgende er der blevet udført en lang række forsøg til at fastslå om mus og rotter kan lugte forskel på urin af forskellig MHC-type. Hvilket er blevet eftervist ved brug af forskellige adfærdsmålinger¹²⁷.

Y-labyrint: I eksperimenter med Y-labyrint¹²⁸ trænes dyrene, typisk mus eller rotter, til at kende forskel på to lugte, og modtager belønning for at vælge den gren i labyrinten, der har den ”korrekte” lugt. Musene den ”korrekte” MHC-lugt med en succesrate på ca. 80 %. (Yamazaki et al., 1979, 1983 og 1986; Schwende et al., 1984¹²⁹; Beauchamp et al., 1985; Yamaguchi 1981; Yamazaki, 1999 og Willse et al., 2006)

”Go, no-go”: En anden adfærdsmåling er ”go, no-go”, hvor dyrene på samme måde som i Y-labyrinten er trænet til at kende forskel på to lugte, hvoraf den ene associeres med belønning. Dyrene får præsenteret forskellige lugte i en testboks, hvorefter dyret indikerer positivt match, ved at trykke på en stang. Typisk bruges dyr, der er nægtet vand i 23 timer, og belønningen består i en vanddråbe. I forsøg med rotter er succesraten, mht. at kende forskel på mus af

¹²⁵ At parring har fundet sted, verificeres ved visuel inspektion af ”vaginal-prop” hos hun-musen.

¹²⁶ Antallet af homozygoter reduceres til 19 % færre en forventet, hvis der korrigeres for intra-territorial parring (Potts et al., 1991). Det er ligeledes antallet af homozygoter, der er blevet målt i de befolkningsundersøgelser, der er udført på mennesker (Hutteriter). (Ober et al., 1997 og 1999 og Eklund et al., 2000)

¹²⁷ Et alternativ til nævnte adfærdsmålinger er fysiologiske målinger. F.eks. er ”Chemosensory event-related potentials” (CSERP) med 7 elektroder på kraniet og måling af øjenbevægelser, blevet brugt til at måle sammenhængen mellem menneskets følsomhed over for MHC-relaterede lugte og kvinders mensescyklus. Her blev fundet signifikante forskelle, både mht. MHC og fasen i cyklus (Pause et al., 1999). Endvidere kan forskelle mellem MHC-lugte på partneren og en ny indtrængende han få hunmus til at abortere i op mod 90 % af tilfældene (”Bruce effekten”), hvorved denne effekt kan bruges som indikator for MHC-forskelle (Penn og Potts, 1998).

¹²⁸ Antagelsen i eksperimenter med Y-labyrint, er at de visuelle stimuli forsvinder, således at dyrene kun har lugtesansen at forlade sig. (Yamazaki et al., 1979)

¹²⁹ Undersøgelsen viste endvidere, at påvirkning af mus med østrogen, kan maskere deres individuelle lugt i et kemisk detektionssystem. (Schwende et al., 1984)

forskellig MHC-type over 80 %. (Beauchamp et al., 1985; Eggert et al., 1996 og Penn og Potts, 1998)

Habituation-dishabituation: Den tredje type adfærdsmåling, er ”habituation-dishabituation”, hvor man registrerer forskellen på, hvor lang tid, at dyrene bruger på at snuse til en ukendt lugtprøve i forhold til kendte lugtprøver. Her er der ligeledes fundet signifikante forskelle på, hvor lang tid musene snuser til urinprøver fra donorer med kendte og fremmede MHC-profiler. (Brown et al., 1987 og 1989; Singh et al., 1987 og Penn og Potts, 1998)

Den individuelle lugt er MHC-relateret

De forskellige adfærdsmålinger, virker måske ikke overbevisende, hver især, men tilsammen giver de kraftig indikation af, at MHC-generne er impliceret i dannelsen af individuelle lugttyper, der kan lugtes af hunde, gnavere og mennesker.

Argumentationen for betydningen af MHC, underbygges af, at det er blevet påvist, at MHC-proteiner udskilles i rotte-urin¹³⁰ i betydelig mængde: 40-190 ng/ml. (Singh et al., 1987). De ovennævnte resultater fra adfærdsundersøgelserne kan sammenfattes på den måde, at mus og rotter kan lugte MHC forskelle i urin (Yamazaki, 1979 og Yamaguchi, 1981). Forsøg med F₂ udskilt afkom, homozygot for MHC, har vist at lugtforskellene med al overvejende sandsynlighed stammer fra MHC og ikke baggrundsgenerne (Yamazaki et al., 1978 og 1979). Det er blevet anslået, at MHC bidrager med ca. 50 % af den individuelle lugttype. (Boyse et al., 1987 og Knapp et al., 2006)

Derudover underbygges hypotesen om MHC-relaterede individuelle lugttyper af resultater fra mutationsanalyser:

1. Mutationer i MHC komplekset giver ændring i den individuelle lugt.
2. HLA-fragment indsat i MHC-komplekset hos mus, giver ny lugttype.
3. Mus med defekt gen for β_2 -mikroglobin, har anden lugttype end mus, der er heterozygote (+/-) eller homozygote for β_2m genet.

(Yamazaki et al., 1999)

Imidlertid forekommer andre resultater, der umiddelbart er i modstrid med hypotesen om, at den individuelle lugttype har relation til MHC-generne. ”Counter marking”¹³¹, afhænger eksempelvis ikke af MHC-type, men typen ”major rinary proteins” (MUP) (Hurst et al., 2005). ”Habituation-dishabituation” forsøg med rotter, har vist signifikante forskelle, selvom MHC-proteinerne var blevet fjernet fra urinen (Brown et al., 1987). I forsøg med Y-labyrint, kunne musene ikke lugte forskel på prøver fra serum af forskellig MHC-type medmindre serum blev protease behandlet. Dette indikerer at lugten ikke er MHC-proteinerne i sig selv, men stoffer, der er bundet til disse eller andre proteiner (Yamazaki et al., 1999). Yamazaki et al foreslår selv, at lugten kan komme fra flygtige carboxylsyrer. Disse blev fundet i

¹³⁰ MHC-proteiner er endvidere fundet i lymfe, sved og serum. (Brown et al., 1987 og Penn og Potts, 1998)

¹³¹ ”Counter marking”: Hanmus afsætter urinmarkering oven i tidligere afsatte urinmarkeringer fra andre hanmus.

diethyletherfraktionen ved bio-guided fraktionering i koncentrationer på ca. 1 mg/ml.¹³² (Yamazaki et al., 1999).

Derudover, er det påvist, at forskellige ”ikke-MHC gener”, kan påvirke lugten hos gnavere, herunder gener på X og Y-kromosomerne (Brown, 1995) og de autosomale kromosomer 4 og 6 (Brown et al., 1989). I forsøg, hvor rotter med kendte MHC-typer har fået forskellig kost, er det blevet vist, at kosten er vigtigere for den individuelle lugt end et enkelt MHC-lokus. (Brown et al., 1995). Endvidere spiller kommensale mikrober en vigtig rolle for dannelsen af individuel lugt. (Brown et al., 1987 og Schellinck og Brown, 1999)

”Skin raft” teorien

W.G. Syrotuck har foreslået, at sporhunde lugter sig frem via et spor af døde hudceller. Menneskets hudoverflade består af ca. 2 milliarder hudceller, hvis gennemsnitlige levetid er 36 timer. Herved afstødes 667 døde hudceller hvert sekund, og på hver ”skin raft” sidder i gennemsnit 4 bakterier. (Syrotuck, 2000; Stockham et al., 2004 og Curran et al., 2005)

4.2. Kemiske analyser

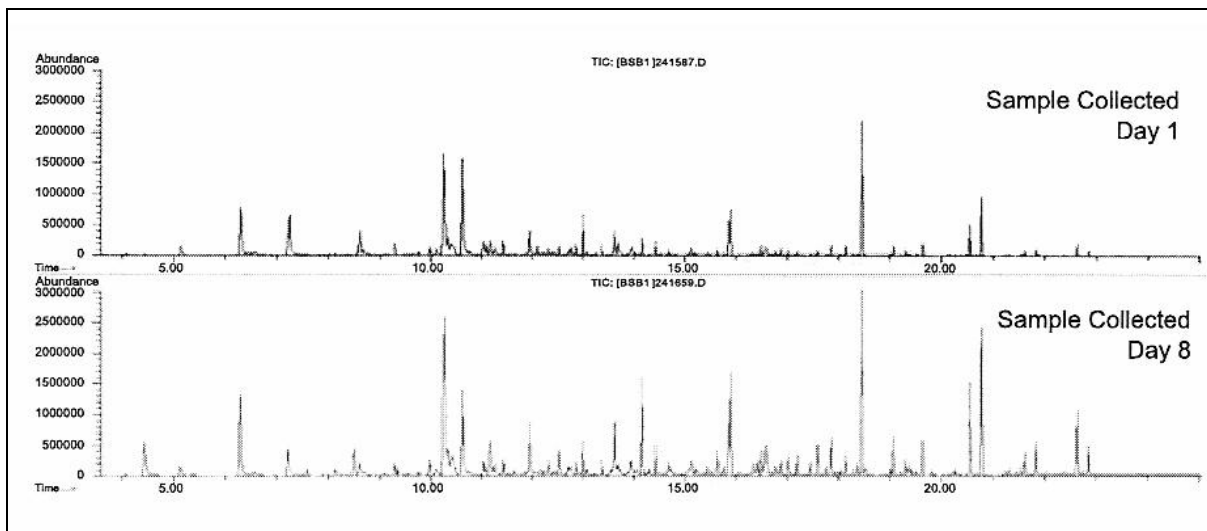
En anden tilgang til undersøgelse af individuelle lugttyper er kemisk analyse. Til det formål har to metoder været taget i anvendelse: 1. Forskellige former for gaskromatografi/massespektrometri (GC/MS) og 2. ”Elektroniske næser” (gas sensor array)¹³³.

Kemisk analyse af lugte fra dyr og mennesker har imidlertid det problem, at der endnu ikke er udviklet standardiserede metoder til: 1. opsamling af lugte og 2. den efterfølgende analyse. Derudover er det typisk for undersøgelserne, at kun et fåtal af de mange flygtige stoffer bliver kemisk identificeret.

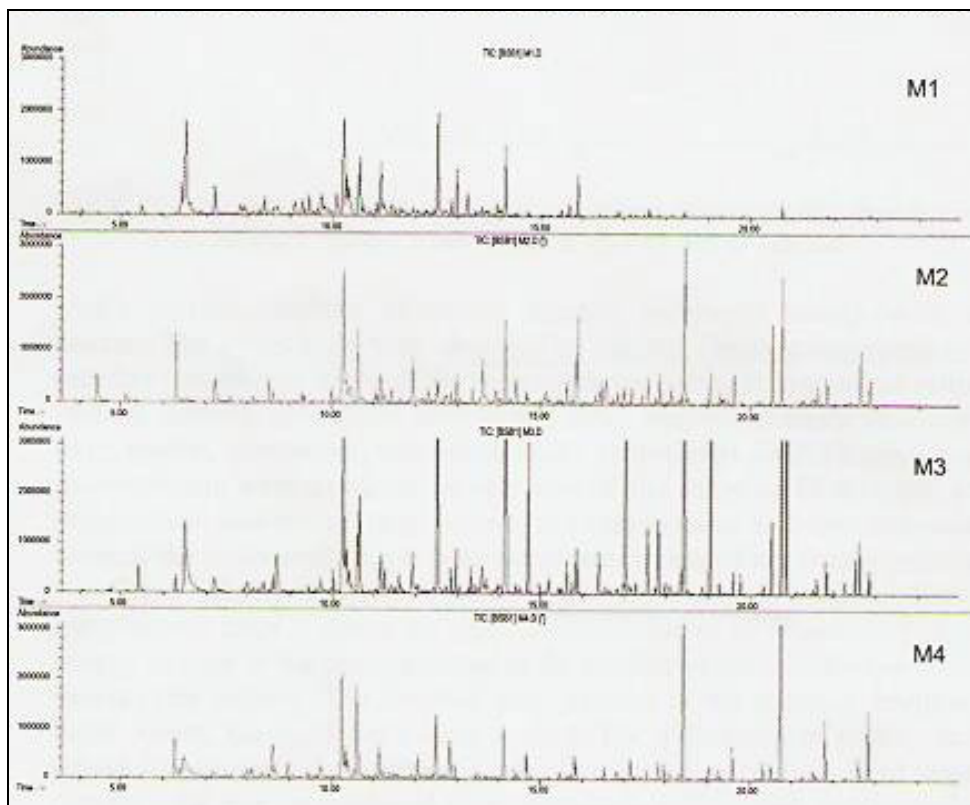
¹³² Richard H. Porter foreslår ligeledes at den individuelle lugt stammer fra hud-lipider/flygtige carboxylsyrer. (Porter 1982-85)

¹³³ Princippet i elektroniske næser, er at de indeholder en række sensorer, der binder duftstoffer med forskellig affinitet. Når duftstofferne binder sig til sensoren øges den en smule i vægt, hvilket registres elektronisk og overføres til en computer. Herefter resultaterne tolkes af mønstergenkendelsesprogrammer.

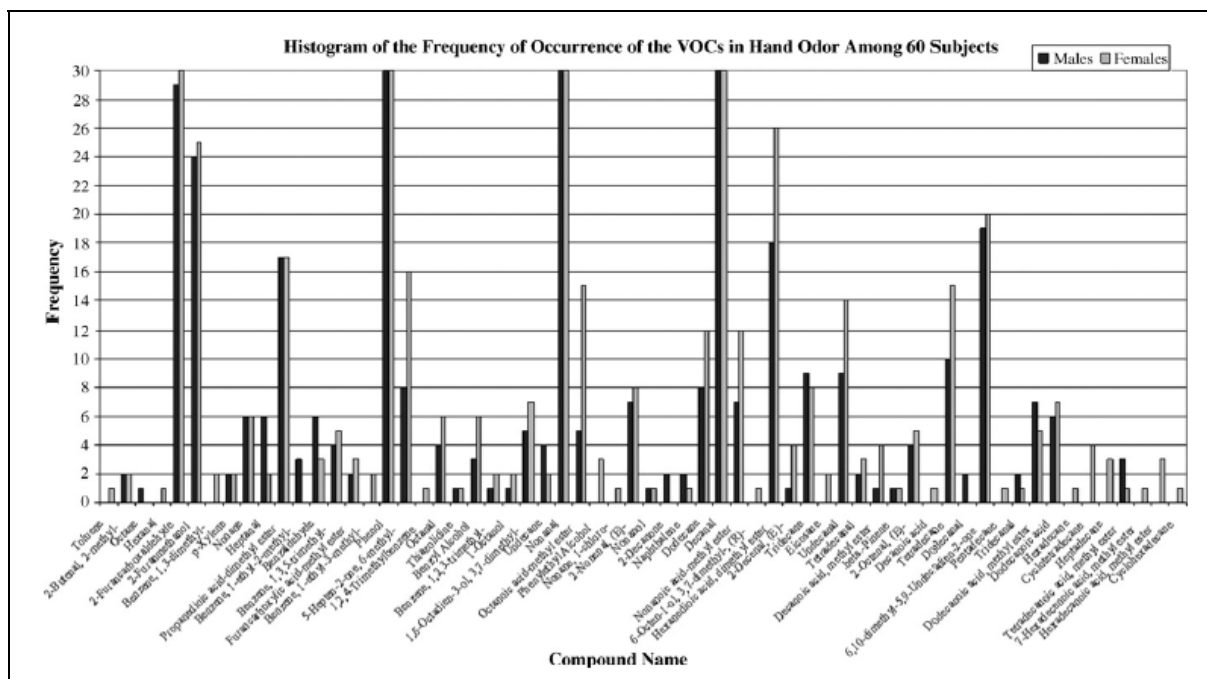
Gaskromatografi/massespektrometri (GC/MS)



Kromatogrammer fra armsved fra samme mand, målt med 7 dages mellemrum. Bemærk de store ligheder, hvilket er en indikation for en konstant individuel lugttype. Metode: "solid phase micro extraction" (SPME)-GC/MS. (Curran et al., 2005a)



Individuelle lugte. Armsved fra 4 forskellige mænd (M1-4) efter 30 min. motion, analyseret med "headspace solid phase microextraction" gaskromatografi/massespektrometri (HS-SPME-GC/MS). Bemærk, at kromatogrammerne indeholder både ligheder og forskelle mellem de 4 mænd. (Curran et al., 2005a)



Histogram over frekvensen af forskellige indholdsstoffer i håndlugt af 60 forsøgspersoner, 30 mænd og 30 kvinder, målt ved "solid phase micro extraction" (SPME)-GC/MS. (Curran et al., 2007)

En forskergruppe fra Konrad Lorenz Instituttet i Wien, har lavet en undersøgelse af lugtprofilerne fra 197 voksne mennesker med "stir-bar sorption extraction (SBSE) (GC/MS). Hver af forsøgspersonerne afleverede 5 gange 3 prøver af: spyt, sved og urin over en 10 ugers periode. Resultatet blev, at der blev fundet 373 toppe i kromatogrammerne, der var konstant forekommende i måleperioden¹³⁴. Heraf udviste 44 toppe (11.8 %) kvantitative individuelle variationer og 12 (3.2 %) kønsbestemt variation. (Penn et al., 2007)

Køn	Flygtige forbindelser
Mænd	(13.71) a ketone, (23.18) 6-phenylundecane, (28.12) unknown, (29.31) entadecanoic acid, (31.96) hexadecanoic acid, (34.94) heptadecanoic acid.
Kvinder	(24.17) a dialkyl ether, (30.22) nonadecane, (33.70) isopropyl hexadecanoate, (35.80) unknown, (37.35) 2-ethyl-hexyl-4-methoxy-cinnamate, (38.79) docosane, (43.35) 1-octyl-4-methoxycinnamate.

Tabel 4.2. Flygtige stoffer i sved og urin fra mennesker, der varierer kvantitativt mellem mænd og kvinder. Tallene parentes angiver retentions tid (RT/min.). (Penn et al., 2007)

I forsøg, der havde til formål, at levere et "videnskabeligt grundlag" for brugen af ID-hunde, blev der fundet større sammenfald i kromatogrammerne blandt tvillinger, end forsøgspersoner, der var knap så beslægtede. Hvilket tyder på, at lugtprofilen har en genetisk basis. (McCormick et al., 1994 og Sommerville et al., 1994)

Andre analyser af individuel kropslugt ved brug af GC/MS: (Ostrovskaya et al., 2000; Curran et al., 2005a og 2005b og Bilag 2).

¹³⁴ I forbindelse med fastlæggelse af "individuelle lugte" eller "kemisk fingeraftryk", er det standardprocedure kun at forholde sig til de kromatografiske toppe, der er konstant forekommende over tid og udelukke resten fra den videre analyse.

MHC bidrager til den individuelle lugt

I en række undersøgelser af lugtprofiler fra forskellige stammer af på congen mus viser ligeledes kvantitative variationer i mængden de forskellige lugtstoffer (Schwende et al., 1984; Singer et al., 1997; Montag et al., 2001; Willse et al., 2005 og Novotny et al., 2007): (se nedenstående tabel).

En undersøgelse, der havde til formål at finde det relative bidrag til lugtprofilen af MHC-type i forhold til baggrundsgener, blev der i alt fundet 55 stoffer med kvantitativ variation, heraf varierede 5 stoffer (3.6 %) med MHC-typen og 8 (14.5 %) med den genetiske baggrund. (Eggert et al., 1996). I et lignende forsøg med 6 forskellige musestemmer blev, der påvist 148 lugtstoffer, hvoraf 108 udviste kvantitative variationer (72.9 %). 25 % af denne effekt tilskrives MHC-forskelle, mens 40 % tilskrives den genetiske baggrund. (Willse et al., 2005) Lignende resultater er opnået hos mennesker, hvor der findes relativt få stoffer, der varierer med HLA-type (Bestmann et al., 1994). Dette modsiges dog af en anden undersøgelse, hvor der blev fundet variationer i 104 ud af 120 kromatografiske toppe (86.6 %), heraf nogle med op til 60 % HLA-association (Eggert et al., 1999).

Lugtstof med variation	Reference
Octanal, phenylacetone, ortho-toluidine og phenol	(Schwende et al., 1984)
Phenyleddikesyre	(Singer et al., 1997)
3-metylbutanol, 2-pentanone	(Montag et al., 2001)
Færomoner: (Didydrofuraner (DHF)), deprivicomin (DBH) , 2-sec-butyl-4,5-dihydrothiazole (SBT) Svovlholdige forbindelser: Dimethylsulfid, Bis(methylthio)methane, SBT, 2-isopropyl-4,5-dihydrothiazole (IPT) Carbonyl metabolitter: 2-heptanone, 6-methyl-5-hepten-3-one (5-hepten-2-one og 3-hepten-2-one)	(Novotny et al., 2007)

Tabel 4.3. Luftstoffer med variation i relation til MHC-forskelle hos forskellige stammer af congen mus (Mus. musculus). Forbehold for nogle resultater (Novotny et al., 2007): Didydrofuraner (DHF) er sat i parentes, da variationen i mængde kan skyldes baggrundsgener frem for MHC-forskelle. 5-hepten-2-one og 3-hepten-2-one er sat i parentes, da der er usikkerhed omkring signifikansen

To af ovennævnte undersøgelser påviser kvalitative forskelle. Den ene undersøgelse på mus finder 2 ud af 55 stoffer (3.6 %), der kun findes hos den ene MHC-type, mens 8 stoffer (14.5 %) er specifikt for den genetiske baggrund. (Eggert et al., 1996) I undersøgelsen på mennesker var 16 ud af 120 (13.3 %) stoffer specifikke for HLA-typen. (Eggert et al., 1999)

Bioguided fraktionering, relationer til MHC og cancermetabolisme

Til at undersøge af den biologisk aktive del af lugtprofilen af urin fra congen stammer af mus GC/MS analyse blevet kombineret med Y-labyrint (Singer et al., 1997). I den bioguidede fraktionering blev proteinerne først fjernet. Dernæst kunne den biologiske aktivitet bestemmes til den sure fraktion, herunder carboxylsyrer. GC/MS viste en betydelig kvantitativ variation i

indholdet af phenyleddikesyre i urinen for de forskellige musestammer. Phenyleddikesyre kan være afledt af MHC-metabolitter, og konjugerer med aminosyrerne glycin og taurin.

Der er påvist statistisk signifikante forskelle i lugtprofilen mellem stammer af mus, hvor mutationer, har ført til ændringer af få aminosyrer i MHC-molekylets antigenbindende kløft (Novotny et al., 2007). (se kapitlet: MHC-komplekset) Derimod er der ikke fundet nogen effekt af mutation i TAP-gener eller ved tilførsel af antibiotika. Et andet resultat af undersøgelsen er, at MHC-forskelle fører til påvirkning af testosteron-mediaterede færomoner (se ovenstående tabel). Hermed er der en forbindelse mellem MHC-type og stoffer med velkendte adfærdsmæssige effekter. Med variationer i indholdet af carbonylmetabolitter, f.eks. 2-heptanon (se ovenstående tabel) kommer lugtprofilen endvidere til at afspejle produkterne af de ”oxidative pathways”. Hvorved, der er forbindelse til stoffer, der er særligt kan knyttes til kræftcellers metabolisme (se kapitlet: Kræftcellers metabolisme).

Elektroniske næser (”gas sensor array”)

I forsøg med anvendelse af elektroniske næser og efterfølgende mønstergenkendelse på computer, kan detekteres forskel på mus af forskellig MHC-type, og endvidere kan musene kønsbestemmes ud fra de lugte, der kan opfanges af den elektroniske næse. (Montag et al., 2001)

GC/MS analyse giver ingen konsensus omkring, hvilke stoftyper, der varierer med MHC.(Röck et al., 2007). En væsentlig faktor er formentlig forskelle i målemetoder, herunder indsamling og opbevaring af prøver. Lugtprofiler udviser store individuelle variationer, hvilket gør det kompliceret at arbejde med (Röck et al., 2007). Andre faktorer, der bidrager til kompleksiteten: art, gruppe og familie (Sommerville et al., 1994); alder, køn og hormonstatus¹³⁵ (Schwende et al., 1984) og kost, helbredsstatus og fysiologisk status (Bestmann et al., 1994.); følelsesmæssig tilstand og forurening: sæbe, kosmetik, parfume, shampoo, rengøringsmidler og tobak (Penn et al., 2007).

Kompleksiteten til trods, understøtter resultaterne, at MHC-forskelle kan detekteres af lugtesansen (Novotny et al., 2007). Forskelle i lugtprofilerne relateret til MHC, er blevet bekræftet i alle ovennævnte undersøgelser med GC/MS, og findes ligeledes bekræftet i undersøgelsen med elektronisk næse (”gas sensor array”).

¹³⁵ Østrogen-implatater nedsætter forskellene i kromatogrammerne for mus (*M.musculus*), dvs. hormon status har målbare konsekvenser på lugtprofilen. (Schwende et al., 1984)

5. Detektorhunde: Kan hunde lugte kræft?

”Hele en mands krop udånder en egenartet eller individuel lugt, som en hund kan genkende, som den af hans herre midt i en mængde af andre folk.”

(Romanes, 1888)

“Hvis der er en vedvarende forandring i lugten, så vil hunden kunne detektere det, det er vi ikke i tvivl om.”¹³⁶

(Barbara Sommerville)

I de foregående kapitler er der argumenteret for, at kræftsygdomme har deres egen ”unikke lugt”, og at hundens ekstraordinære lugtesans, kan være et velegnet detektionssystem. Nærværende kapitel er en gennemgang, først af enkeltstående beretninger om, at hunde har kunnet lugte kræft hos mennesker og efterfølgende mere videnskabelige undersøgelser af fænomenet.

5.1. Enkeltstående observationer

I litteraturen findes en række beretninger (anekdotiske beviser) for at hunde kan lugte sig frem til kræft. Det tog sin begyndelse i 1989 med at Hywel Williams og Andres Pembroke fra King’s College Hospital i London, beretter om en 44 årig kvinde, der henvender sig til lægen, fordi hendes hund havde udvist stor interesse for et pigmenteret område på hendes venstre lår. Hver dag, gennem flere måneder, havde hunden sniffet til mærket i flere minutter, kulminerende med, at hunden prøver at bide mærket væk. Herefter søger kvinden læge, og det viser sig at være ondartet melanoma. (Williams og Pembroke, 1989)¹³⁷ Herefter følger flere beretninger om hundes evne til at lugte cancer (se nedenstående tabel).

¹³⁶ "If there is a consistent change in odour the dogs will be able to detect it, of that we are in no doubt. (Dogs may sniff out some cancers. BBC News 2002)

¹³⁷ D. J. Mulder i Lancet 1971: ”Jeg foreslår, at den lave detektionsgrænse for lugtspor og den store lugthukommelse hos hunde kunne bruges inden for medicinen. De kunne trænes til at detektere anormale metabolitter (i sved, blod, urin og plasma) kendt for at blive udskilt ved forskellige sygdomme. Og de kan måske også detektere andre sygdomme, f.eks. skizofreni – i hvilken kompositionen af de anormale metabolitter er ukendt. Screening ved hunde ville indikere de sygdomme, hvor yderligere biokemisk forskning sandsynligvis vil være profitabel. Til nogle formål kunne det måske være mere bekvemt at benytte billigere makrosmatiske dyr, såsom ål.” (Mulder 1971)

Lewis Thomas foreslår i ”The lives of a cell: notes of a biology watcher” (1974), at hunde kan bruges til at matche mennesker til organtransplantation. (Harvey, 2006)

Michael D. Levitt, The New England Journal of Medicine 1980: ”Hundens lugtesystem siges at være 1000 til 10’000 gange mere følsomt end menneskets; ja vist, er det påstået så meget mere effektivt end noget analytisk apparatur inden for detektion af sprængstoffer. Denne olfaktoriske evne hos hunden kunne give et vigtigt nyt redskab inden for forskning i menneskelige sygdomme. Det synes muligt, endda sandsynligt, at nogle sygdomstilstande, såsom leversvigt, har en karakteristisk lugt, der er udetekterbar for den menneskelige næse, men som vil blive let detekteret af hunden. Hvis så, kan man forestille sig udviklingen af endnu en anden avl af lægeassistent, blodhunde diagnose hjælp, uden tvivl med deres eget fuldt udviklede olfaktoriske nævn, eksamination og stringente certifikation.” (Levitt, 1980)

Kræfttype	Hundens navn (race)	Kilde
Hudkræft (Melanoma)	Ukendt tæve (Border collie X Dobberman)	(Williams og Pembroke, 1989) ¹³⁸
Basal celle carcinoma	”Parker” (Labrador)	(Church og Williams, 2001)
Modermærke kræft	”George” (Schnauzer) ¹³⁹	(Church og Williams, 2001)
Nyrekræft	Ukendt	(Cole, 2004)
Nyrekræft	Ukendt	(Willis et al., 2004)
Brystkræft	Ukendt	(Welsh, 2004)
Prostatacancer	Ukendt (engelsk setter)	(http://www.bmj.com/cgi/eletters/329/7468/712) ¹⁴⁰

Tabel 5.1. Enkeltstående beretninger omkring hundes evne til at detektere kræft¹⁴¹. YouTube (video): <http://www.youtube.com/watch?v=7vsivrUwWg>.

Beretninger: hunde der reagerer spontant

Gill Lacey (46) ”Jeg arbejdede i London på ”Royal National Throat, Nose and Ear Hospital”, og tog en weekend til mine forældres hjem i Winchester. Trudii blev tiltrukket af et modermærke på et af mine ben og ville sniffe og nippe på det. Der var noget mærkeligt ved hendes adfærd og det fik mig til at tro, at hvad det så end var, så var det ubehageligt for hende. Hun var mistænkelig over for det. Så jeg havde ingen anden grund, anden end det faktum at hunden havde sniffet til det til at gå til praktiserende læge. Men jeg havde læst Richard Adams roman: ”The Plague Dogs”, hvor laboratoriehunde flygter og passerer forbi kræftlaboratoriet, og de ved det er slemt, fordi det lugter slemt.” (<http://www.timesonline.co.uk/tol/news/article586949.ece>)

En hund begynder at blive ophidset, når den sidder på skødet af sin ejer. En lille brystcancer fjernes, og hunden slapper af. 3 måneder efter bliver hunden igen ophidset. Ejeren kommer tilbage til hospitalet og får fjernet endnu en lille brystcancer. (Davis, 2006)

Andrian White beretter i ”Rapid Responses” (Willis et al., 2004), at hans engelske setter ændrer adfærd inden han får diagnosticeret prostatacancer. Hunden nægter at forlade hans skød om aftenen, nogen den aldrig havde gjort før, som om hunden ville varme ”cancer zonen”. (<http://www.bmj.com/cgi/eletters/329/7468/712#76054>)

¹³⁸ Dyreetisk bemærkning: ”Vi er endnu ikke gået videre med en afprøvning af ”sniffer hunde” på vores melanoma klinik, men associeret brug af dyr med højt udviklede sensoriske evner inden for cancer diagnose, er værd at overveje – og er uendelig meget bedre end at bruge hunde til at studere tobaks-carcinogenesis.” (Williams og Pembroke, 1989)

¹³⁹ Ejeren af George; Armand Cognetta, tæt på 100 % succesrate; markerer med poten. Tidligere narko- og sprængstofhund. (Svendsen, 1997)

¹⁴⁰ Se nedenstående beretning fra Adrian White: <http://www.bmj.com/cgi/eletters/329/7468/712#76054>.

¹⁴¹ Kan katte lugte kræft? Forfatteren har modtaget en beretning om en kat, der tilsvarende hunde, reagerer over for en mand med tyktarmskræft. Kattens mærkelige adfærd fik en læge på Slagelse Sygehus til at kigge på manden en ekstra gang: ”Det var en tyktarmscancer der ”gemte sig i et knæk”, og derfor ikke blev fundet ved de mange undersøgelser ...”. (Anonym, privat kommunikation) Beretningen kom fra enken efter tyktarmskræftpatienten, der havde læst min blog på nettet: ”Hunde der kan lugte kræft hos mennesker”: <http://www.ebblog.dk/2942/perma/32582/>. Bemærkning: Katte har udmærket lugtesans og blev brugt i hundrede tusindvis under 1. verdenskrig i skyttegravene til at varsle gas.

5.2. Videnskabelige undersøgelser: adfærdsmålinger

En måde til at underbygge påstanden om, at hunde kan detektere cancer, er at udføre statistiske eksperimenter, der viser, at hundene har en succesrate, der er højere end det vil kunne forventes, hvis det skete ud fra rene tilfældigheder (statistisk signifikans).

Blærekræft

I 2004 offentliggør Carolyn M. Willis et al fra Amersham Hospital, Buckinghamshire, England, et "proof of principle study" hvor 6 almindelige hunde af forskellig race, gennem 7 måneder, var blevet trænet til at markere urinprøver fra patienter med blærekræft. Urinprøverne blev præsenteret for hundene i petriskåle på filterpapir, 7 prøver ad gangen, 1 positiv og 6 kontrolprøver ($P=14.3\%$). Hundene skulle markere positive prøver ved at lægge sig ved siden af prøven. Hundene identificerer 22 tilfælde af blærekræft ud af 54 mulige, hvilket er en succesrate på 41% (95% konfidensinterval [CI]: 0.23, 0.58). Bedste hund havde en succesrate på 56% . (Willis et al., 2004)¹⁴². Interessant nok findes et mønster i data, således at patient nr. 1 identificeres korrekt hver gang, mens patienter 3 og 9 slet ikke identificeres. Dette kan indikere en "trætheds-effekt" hos hundene, eller at nogle prøver af blærekræft lettere detekteres af hundene end andre. (Cole, 2004)

Modermærkekræft

Duanne Pickel et al fra Florida State University, har undersøgt to hunde, en standard schnauzer (hund A)¹⁴³ og en golden retriever (hund B), der på forhånd var trænet til lugtopsporing, mht. deres evne til at identificere modermærkekræft (melanoma)¹⁴⁴. I en række forsøg blev biopsier af canceren placeret på raske frivillige sammen med 3-34 kontrol-bandager, der ikke indeholdt kræft. Her kunne begge hunde identificere den korrekte prøve med 100% succesrate. Sandsynligheden for at dette skulle ske ved et tilfælde er ca. 10^{-5} . I en anden forsøgsrække blev hundenes evner afprøvet på syv rigtige meloma-patienter. Canceren blev dækket af en bandage og præsenteret for hundene sammen med 7-29 kontrol-bandager. Hund A lokaliserede den rigtige bandage i 6 ud af 7 patienter (85.7%) Sandsynligheden for at dette skulle ske ved et tilfælde er $10^{-7.1}$. Hund B lokaliserer den rigtige bandage i 3 ud af 4 patienter (75%). Sandsynligheden for at dette skulle ske ved et tilfælde er $10^{-3.5}$. Det var samme patient, hvis cancer hundene ikke kunne finde. Hundene havde ingen fejlagtige identifikationer af cancer, dvs. ingen falsk positive. (Pickel et al., 2004)

¹⁴² Falsk positive: unge menstruerende kvinder, kønsvorter og type II diabetes. (Carolyn Willis, personlig kommunikation)

¹⁴³ Hund A arbejdede som bombhund i staten Florida, og for det amerikanske forsvar. (Pickel et al., 2004)

¹⁴⁴ Hundene markerer korrekt prøve ved at sætte sig og puffe til prøven med enten poten (hund A) eller snuden (hund B). (Pickel et al., 2004)

Lunge- og brystkræft

Michael McMulloch et al. fra Pine Street Foundation, San Anselmo, Californien, har undersøgt 5 almindelige familiehundes evne til at detektere lunge- og brystkræft i prøver af udåndingsluft. Træningen varede 3-4 uger. Hundene blev præsenteret for 5 prøver, 1 positiv og 5 kontroller. 28 prøver af lungekræft blev detekteret med en sensitivitet på 0.99 (95 % [CI]: 0.99, 1.00) og en specificitet på 0.99 (95 % [CI]: 0.75, 1.00). 6 tilfælde af brystkræft blev detekteret med en sensitivitet på 0.88 (95 % [CI]: 0.75, 1.00) og en specificitet på 0.98 (95 % [CI]: 0.90, 0.99). 17 kontroller blev anvendt (raske frivillige). Der blev ikke fundet statistisk signifikant forskel på hundene. (McMulloch et al., 2006)

Prostata og brystkræft

Robert T. Gordon et al fra Scripps Clinic, La Jolla, Californien, har undersøgt ti hunde af blandet race¹⁴⁵, mht. deres evne til at genkende cancer i urinprøver. Hundene blev trænet i en periode på 12-14 måneder. Hver hund blev trænet til enten at detektere enten prostatacancer eller brystkræft, således af 6 hunde blev trænet til at opdage brystkræft og 4 hunde blev trænet til at opdage prostatakræft. Hundene blev hver gang præsenteret for 1 prøve med cancer og 6 kontrolprøver: 1/7 (14.29 %). I det endelige eksperiment med prostatacancer snusede hver hund til urin fra 11 kræftpatienter og 66 kontrolprøver. Der blev udført 3 gentagelser med hver positiv prøve, således at hver hund havde 33 forsøg. I det endelige eksperiment med brystkræft blev der brugt urin fra 9 patienter og 54 kontrolprøver. Der blev udført to gentagelser, hver hund havde 18 forsøg i alt. I forsøg med gentagelser blev den positive prøve flyttet rundt mellem kontrollerne. I gennemsnit markerede hundene korrekt over for prostatacancer i 18 % af tilfældene og 22 % af tilfældene over for brystkræft. Bedste hund, hvad angår både prostatacancer og brystkræft, havde en succesrate på 28 %. Men ingen af hundene havde en succesrate, der var signifikant bedre end det kunne forventes ved ren tilfældighed. (Gordon et al., 2008)

Kræft i æggestokkene

György Horvath et al. fra Sektionen för gynekologisk onkologi, Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg, har trænet en 4 årig sort Riesen Schnauzer, "Hanna" til at detektere lugten af kræft i æggestokkene ud fra biopsimateriale. I en forsøgsrække blev Hanna præsenteret for serier med 2 positive prøver og 8 kontrolprøver fra forskellige typer af rask væv, herunder væv fra rask postmenopause æggestokke. "Hanna" gennemførte 10 serier med 100 % korrekt identifikation. Sandsynligheden for dette skulle være en tilfældighed er 1.02×10^{-7} . I en anden forsøgsrunde blev "Hanna" præsenteret for 2 prøver af kræft i æggestokkene (positive) og 8 prøver fra forskellige andre kræfttyper. "Hanna" gennemførte 4 serier med en sensitivitet på 100 % (8/8) og en specificitet på 91 % (29/32). (Horvath et al., 2008)

Detektionsgrænse: "Hanna" kan detektere ned til 20 cancerceller. (György Horvath, privat kommunikation)

¹⁴⁵ Alle hundene på nær en, var enten blevet kastreret eller havde fået fjernet deres æggestokke. Den ene hund (Kelly, en border collie), der ikke havde fået fjernet sine æggestokke, var den bedste mht. at detektere prostatacancer. (Gordon et al., 2008)

Amersham hospital, Buckinghamshire (UK) (Amerderm Research Trust).

Carolyn M. Willis et al.: "Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: Proof of principle study", beskrevet i British Medical Journal (Willis et al 2004); Hundetrænere: Andy Cook og Claire Guest fra "Hearing Dogs for Deaf People".¹⁴⁶ Planlagt forskning: "Proof of concept" studier omkring hundes evne til at lugte modernærke- og prostatakkræft, er planlagt til år 2008 og 2009. Disse undersøgelser involverer brugen af analytisk kemiske metoder, "headspace-GC/MS", med henblik på at identificere kræftformernes "signaturlugt". Endvidere er en ny hundetræner med erfaring i træning af bombehunde og retmedicinshunde blevet tilknyttet projektet. (Carolyn Willis, personlig kommunikation) "Tangle", en cocker spaniel, oprindeligt trænet af "Hearing Dogs for Deaf People", blev i 2004/05 prisbelønnet som "coolest canine" for med 100 % sikkerhed at kunne identificere cancer. (<http://www.k9magazine.com/viewarticle.php?sid=15&aid=1256&vid=0&npage>)

Cambridge University, Cambridge (UK).

Dr. Barbara Sommerville og Donald Broom: Undersøgelse af 16 tilfælde af familiehunde, der har reageret med angst og ophidselse i forbindelse med cancer. Hvilket kunne tyde på, at hunden betragtede canceren som en trussel mod dens ejer (Davis 2006). Hvis fondsmidler skaffes planlægges en ny serie af eksperimenter omkring hundes evne til at detektere prostatacancer. Hundetræner: Charlie Clarricoates. (BBC News 2002)

Florida State University, Florida: Tallahassee (USA).

Hudlægen Armand Cognetta og hundetrænere Duane Pickel trænede "George", en schnauzer og tidligere bombehund til at identificere vævsprøver af hudkræft. "George" identificerede prøverne korrekt 99 % af tilfældene. (Guthrie 2003 og Davis 2006). James og Dianne Walker har planlagt forskning i hundes evne til at detektere prostatacancer ud fra urinprøver. Hundetræner: Duane Pickel. (http://news.nationalgeographic.com/news/2004/08/0820_040820_detector dogs.html)

Scripps Clinic, Californien: La Jolla (USA)

Robert T. Gordon et al.: "The use of canines in the detection of human cancer", beskrevet i The Journal of Alternative and Complementary Medicine" (Gordon et al 2008); Hundetrænere: Frivillige, flest certificeret gennem Pet Dog Trainers (CDPT); Bedste hunde: brystkræft: "Kalani" (race: rhodesian ridgeback) med 28 % korrekt identification og prostatakkræft: Kelly (race: border collie) med 28 %.

Pine Street, Californien: San Anselmo (USA)

Michael McCulloch et al.: "Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers.", beskrevet i Integrative Cancer Therapies (McCulloch et al 2006). "Shing Ling-hua", en puddel havde 90 % korrekt identifikation af kræftsvulster; Lungekræft blev markeret med "sit" og brystkræft blev markeret med "dæk". Hundetræner: Kirk Turner. (Guthrie 2003 og Davis 2006) Planlagt forskning: 5 hunde trænes til at detektere kræft i æggestokkene (ovarie cancer), kombineres med kemisk analyse: "Gas Chromatography Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry" (GC/FT-ICR MS). Præliminære resultater indikerer at hundene kan detektere ovarie cancer med en nøjagtighed på 97 %. (<http://www.sciencedaily.com/releases/2006/01/060106002944.htm>; <http://pinestreetfoundation.org/articles/ovarian.html>) (Michael McCulloch, personlig kommunikation)

Tekstboks 5.1. En oversigt over forskningsprojekter vedrørende hundes detektion af cancer: "cancer detection dogs" og "sniffer dogs".¹⁴⁷

Resultaterne omkring hundes evne til at detektere kræft spænder fra en succesrate på 41 % i den engelske undersøgelse (Willis et al., 2004) til 75-100% i de to amerikanske undersøgelser (Pickel et al., 2004 og McCulloch et al., 2006). Den svenske undersøgelse ligger ligeledes på 100 % korrekt identifikation. En forklaring kan være, at modernærkekræft, væv fra kræft i

¹⁴⁶ YouTube (video): <http://www.youtube.com/watch?v=tML1DJQt0Og>.

¹⁴⁷ I en artikel fra Kristelig Dagblad: "Cancer-snusende hunde klonet i Sydkorea" (18. juni 2008), nævnes at moderen til de klonede hunde er japansk hund, der kan detektere cancer. Hvorfor der formentlig foregår arbejde i Japan, der blot ikke er publiceret noget om. (<http://www.kristeligt-dagblad.dk/artikel/289477:Udland--Cancer-snusende-hunde-klonet-i-Sydkorea>)

æggestokkene og prøver af udåndingsluft fra lunge- og brystcancer patienter er lettere for hundene at detektere end urinprøver af blærekræft. Forbedring af trænings- og testmetoder har hos det engelske forskerteam, har ført til en forbedring af præstationen for bedste hund fra en succesrate på 56 % til en succesrate 75 % (Carolyn Willis, personlig kommunikation), hvorved man nærmer sig succesraten i de amerikanske undersøgelser. Træningsmetoderne må derfor angives som en tungtvejende faktor.

Gordon et al. nævner selv, at den lave succesrate (18-22 %) kan skyldes for sen indførelse af blindforsøg, hvorved hunden i stedet for lugten af kræft, har forholdt sig til ubevidste signaler fra hundetræneren. Denne forsøgsrække kan derfor betragtes som fejlslagen. Forfatteren har bemærket, at hundene i denne undersøgelse enten var kastrerede eller havde fået fjernet æggestokkene. Dette kan måske påvirke hundenes evne og motivation til at udføre lugtearbejde?



Figur 5.1. Detektorhunde: 1. "Tangle" udfører lugtarbejde, hvor den bevæger sig af linie med 7 prøver, 1 positiv for prostatacancer og 6 kontrolprøver. 2. Tangle indikerer positiv prøve. (Foto: Carolyn Willis)

6. ”Kemisk fingeraftryk” af cancer

Menneskets kropslugte består af en kompleks blanding af hundredvis af flygtige stoffer (Pauling et al., 1971 og Phillips et al., 1999), og hvert enkelt menneske har sin egen individuelle lugt. Det samme gælder celletyper, der hver afgiver deres egen blanding af flygtige forbindelser (Chen et al., 2008). Kropslugten integrerer således lugtene fra alle kroppens forskellige: væv, kropsvæsker og celletyper.

Men, hvilken betydning har det for lugten, hvis kroppen pludselig indeholder en ny og anderledes form for celler, f.eks. kræftceller? I forbindelse med ”ondartet” transformation sker der forandringer i cellernes stofskifte. Kræftcellerne er typisk karakteriseret ved forhøjet glykolyse (”Warburg effekten”) og forøget oxidativt stress, hvilket giver anledning til dannelsen af en række LPO-produkter. (se kapitlet: Kræftcellers metabolisme)

En anden forandring, der muligvis kan give anledning til en forandring i organismens lugt, er kræftcellernes ”tumor escape”, der kan betyde ændringer i de hundredtusindvis af antigenpræsenterende molekyler hver celle har på sin overflade. (se kapitlet: ”Major histocompatibility complex” (MHC))

Moderne kemisk analytiske metoder¹⁴⁸, herunder forskellige former for gaschromatografi/massespektrometri (GC/MS), har gjort det muligt at detektere lugtstoffer fra f.eks. udåndingsluft helt ned til koncentrationer på 10^{-12} M (O’Neill et al., 1988 og Poli et al., 2005). Det er således blevet muligt at detektere nogle af de forandringer, der sker i menneskers kropslugte, når de har fået cancer.

Kapitlet vil først gennemgå bud på forskellige markører for cancer identificeret ved GC/MS, herunder vil den biologiske betydning af enkelte markører blive diskuteret. Dernæst følger en beskrivelse af resultater opnået ved brug af ”elektroniske næser” (”gas sensor array”). Derudover gives en statistisk evaluering af de forskellige metoder.

6.1. Analyse af udåndingsluft (”Breath analysis”)

I forlængelse af Paulings¹⁴⁹ arbejde er mere end 500 stoffer blevet identificeret i udåndingsluft fra mennesker. Hovedparten af udåndingsluften består af: Nitrogen (N), kuldioxid (CO_2), vand (H_2O) og inaktive gasser¹⁵⁰. Udåndingsluften indeholder en række

¹⁴⁸ Medicinen anvender allerede nu analytisk kemiske metoder som standardtest. Eksempler på analyse af udåndingsluft (”breath test”): Capnografi: $^{13}\text{CO}_2$ - $^{12}\text{CO}_2$ (anæstesi/intensiv medicin); evaluering af ethanol/acetaldehyd (alkohol-indtagelse) ^{13}C -urea eller ammoniak udåndingstest (*Helicobacter pylori* infektion) og NO-udåndingstest for astma. (Buszewski et al., 2007) (se endvidere: Bilag 7)

¹⁴⁹ Pauling et al. arbejdede med ortho-molekylærmedicin. Forskergruppen forsøgte at standardisere målingerne ved at sætte forsøgspersonerne på en ”kemisk diæt” (Vivonex-100), der blev absorberet direkte i maven, således at tarmfloraen ikke fik noget næring og døde. Derved blev variationerne i udåndingsluftens indholdsstoffer reduceret betydeligt. (Pauling et al., 1971)

¹⁵⁰ Edelgasserne fra hovedgruppe 8 i det periodiske system: Helium (He), neon (Ne), argon (Ar), krypton (Kr), xenon (Xe) og radon (Ra).

medicinsk interessante sporgasser i koncentrationer fra 1 nmol/l til pmol/l. Endelig indeholder udåndingsluft ”ikke-flygtige” forbindelser, herunder: isoprostanes, peroxyxynitrite, cytokines, leukotriener og hydrogenperoxid. (Miekisch et al., 2004)



Figur 6.1. Indsamling af prøver af udåndingsluft. Forsøgspersonen puster en enkelt vitalkapacitet ind i et (a.) udåndingsluft-opsamler (Teflon® bulb/Bio-VOC® breath sampler), der opsamler de sidste 150 ml af den udåandede lugt; (b) lugtstofferne udtrækkes ved direkte at indsætte et 75 mm Carboxen/PDME SPME fiber (30 min.) i opsamlingsbeholderen. (Poli et al., 2005)

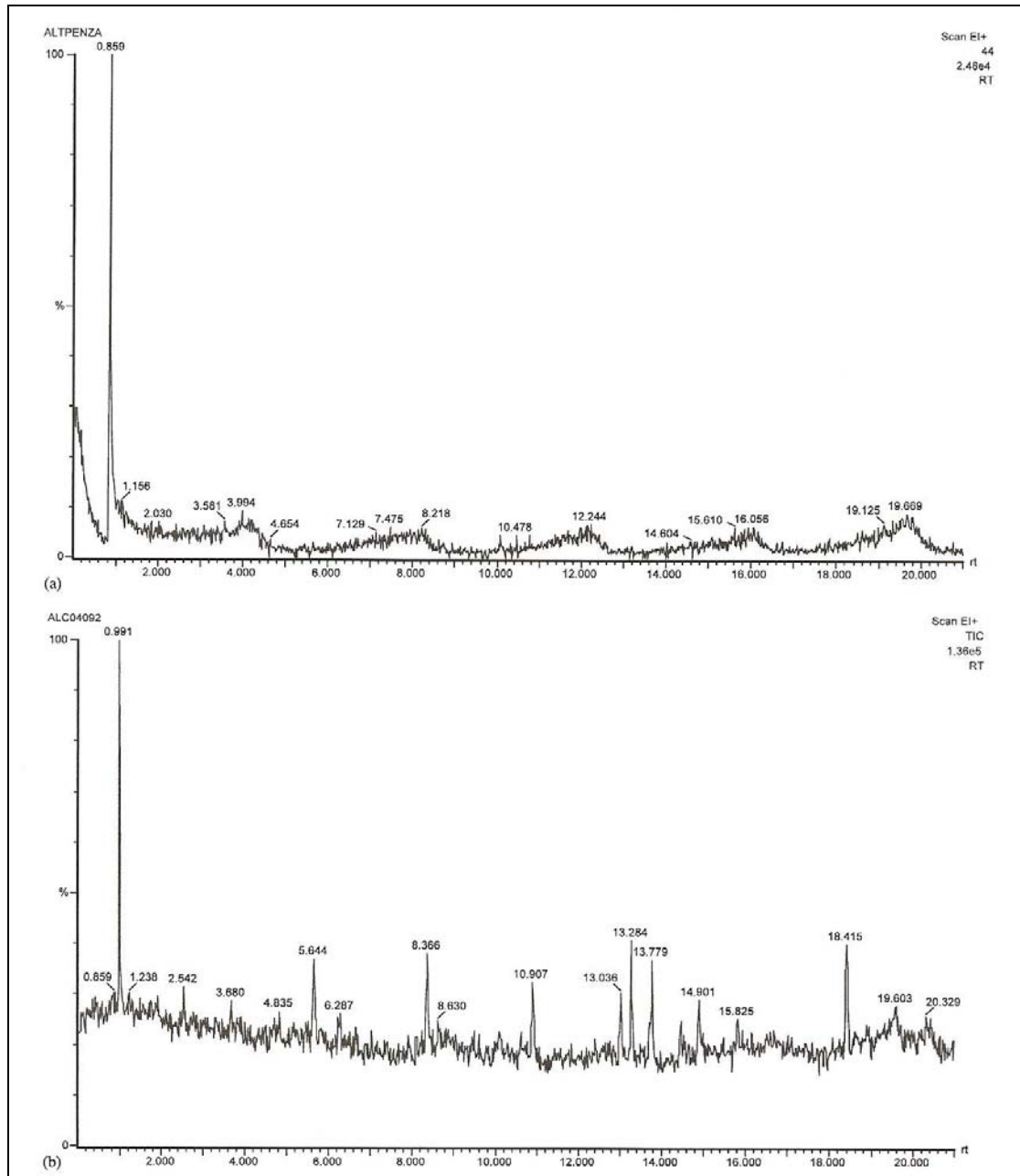
6.2. GC/MS

GC/MS gør det muligt først at adskille, koncentrationsbestemme og derefter at udføre kemisk identifikation af indholdsstofferne i en kompleks prøve, f.eks. kropslugte fra en cancerpatient. Mht. identifikation af de lugtstoffer, der er særlig karakteristiske for cancer, er strategien først at fratrække miljølugte, der stammer fra forurening, m.m. og dernæst fratrække de lugtstoffer, der findes i samme koncentrationer hos raske kontrolpersoner. Hvad der er tilbage er kandidater til markører for cancer.¹⁵¹

Der rettes særlig fokus på udåndingsluft (”breath analysis”), da målinger kan foregå ”non-invasivt” af hensyn til patienterne (Figur 6.1).

¹⁵¹ Mht. nærmere beskrivelse af de forskellige former for GC/MS og metoder til prækoncentration henvises til reviews om analyse af udåndingsluft i relation til cancer: (Manolis, 1983; Rahman og Kelly, 2003; Miekisch et al., 2004; Buszewski et al., 2007 og Smith og Spanel, 2007) Mere specifikt om prækoncentration: (Belda-Iniesta et al., 2007).

Andre mulige anvendelser af GC/MS inden for medicinsk diagnose og screening har været undersøgt i forbindelse med: lunge tuberkulose, afstødning ved hjertetransplantation og sukkersyge. (Phillips et al., 2006 og 2008)



Figur 6.2. GC/MS analyse af udåndingslugt: To tilfældigt valgte prøver, en fra en patient med lungekræft (b) og en fra en rask kontrol (a), analyseret med GC/MS for at verificere forskellig komposition af udåndingsluften. Skønt disse data ikke er analyseret i dybden, viser kromatogrammerne både kvalitative og kvantitative forskelle. (Di Natale et al., 2003)

Forslag til markører for cancer

O'Neill et al. (1988) har analyseret indholdsstofferne i prøver af udåndingsluft fra 8 lungekræftpatienter, hver patient afleverede 2 prøver i duplikat, dvs. i alt 32 prøver. Resultaterne af GC/MS analyse blev overført til computer, der beregnede koncentrationer i forhold til en "intern standard" (perfluorotoluen) og fjernede bidrag fra baggrund og forurening. Computerens "software" sorterede 386 indholdsstoffer i 16 forskellige kemiske klasser. Dernæst blev indholdsstoffer, der var til stede i henholdsvis 75 og 90 % af prøverne identificeret (se nedenstående tabeller).

C	H	O	N	S	Cl	F	Br	I	A	U	RI	Q	Formula	Compound	Occur
4	10										433	1	C4H10	butane	27
4	10										450	1	C4H10	2-methylpropane	26
6	14										486	1	C6H14	hexane	32
6	14										470	1	C6H14	methylpentane	32
10	22										786	1	C10H22	ethylmethylheptane	26
10	22										856	1	C10H22	trimethylheptane	29
10	22										558	1	C10H22	alkane	27
13	28										1567	1	C13H28	trimethyldecane	26
5	8										500	3	C5H8	isoprene	32
6	6										713	5	C6H6	benzene	30
7	8										814	5	C7H8	toluene	31
8	10										900	5	C8H10	ethylbenzene	32
8	10										960	5	C8H10	dimethylbenzene	28
9	12										1001	5	C9H12	methylethylbenzene	29
9	12										1109	5	C9H12	trimethylbenzene	27
9	12										1019	5	C9H12	trimethylbenzene	30
9	12										1056	5	C9H12	alkylbenzene	30
9	12										1037	5	C9H12	alkylbenzene	29
9	12										986	5	C9H12	propylbenzene	28
9	12										949	5	C9H12	ethylmethylbenzene	26
10	14										1096	5	C10H14	dimethylethylbenzene	26
8	8										1028	6	C8H8	styrene	29
10	8										1500	7	C10H8	naphthalene	32
11	10										1555	8	C11H10	methylnaphthalene	29
3	4	1									646	10	C3H4O	propenal	29
3	6	1									628	10	C3H6O	acetone	31
3	6	1									615	10	C3H6O	propenal	25
4	8	1									681	10	C4H8O	2-butanone	30
6	6	1									1600	10	C6H6O	phenol	31
7	6	1									1300	10	C7H6O	benzaldehyde	32
8	15	1									1059	10	C8H16O	octanal	28
8	9	1									1413	10	C8H8O	acetophenone	31
8	13	1									1170	10	C8H18O	methylethylpentanol	28
9	18	1									1154	10	C9H18O	nonanal	31
5	8	2									765	11	C5H8O2	ethylpropanoate	30
5	4	2									1202	11	C5H4O2	furanicarboxaldehyde	28
5	8	2									776	11	C5H8O2	methylisobutanoate	32
6	14	2									1148	11	C6H14O2	2-n-butoxyethanol	26
7	5		1	1							1597	14	C7H5NS	benzothiazole	25
1	2										700	15	CH2CL2	dichloromethane	30
6	4										1200	15	C6H4CL2	dichlorobenzene	32
2	1										766	15	C2HCL3	trichloroethane	32
2	1										476	15	C2HCL3	trichlorofluoromethane	32
2											800	15	C2CL4	tetrachloroethylene	32
1											483	15	CCl3F	trichlorofluoromethane	28

Tabel 6.1. "Volatile organic compounds" (VOC) (Tilstedeværelse >75 %) i udåndingsluften fra lungekræftpatienter. 45 stoffer (O'Neill et al., 1988)

C	H	O	N	S	Cl	F	Br	I	R	U	RI	Q	Formula	Compound	Occur	
5	14											486	1	C6H14	hexane	32
6	14											470	1	C6H14	methylpentane	32
10	22											856	1	C10H22	trimethylheptane	29
5	8											500	3	C5H8	isoprene	32
5	6											713	5	C6H6	benzene	30
7	8											814	5	C7H8	toluene	31
8	10											900	5	C8H10	ethylbenzene	32
9	12											1001	5	C9H12	methyl ethylbenzene	29
9	12											1019	5	C9H12	trimethylbenzene	30
9	12											1056	5	C9H12	alkylbenzene	30
9	12											1037	5	C9H12	alkylbenzene	29
8	8											1028	6	C8H8	styrene	29
10	8											1500	8	C10H8	naphthalene	32
11	10											1556	8	C11H10	methylnaphthalene	29
3	4	1										546	10	C3H4O	propenal	29
3	6	1										528	10	C3H6O	acetone	31
4	8	1										581	10	C4H8O	2-butanone	30
6	6	1										1600	10	C6H6O	phenol	31
7	6	1										1300	10	C7H6O	benzaldehyde	32
8	8	1										1413	10	C8H8O	acetophenone	31
9	10	1										1154	10	C9H10O	nonenal	31
5	8	2										765	11	C5H8O2	ethylpropanoate	30
5	8	2										776	11	C5H8O2	methylisobutenoate	12
1	2											700	15	CH2CL2	dichloromethane	30
6	4											1200	15	C6H4CL2	dichlorobenzene	12
2	1											766	15	C2HCL3	trichloroethane	12
2	1											475	15	C2HCL3	trichlorofluoromethane	12
2												800	15	C2CL4	tetrachloroethylene	12

Tabel 6.2. "Volatile organic compounds" (VOC) (Tilstedeværelse >90 %) i udåndingsluften fra lungekræftpatienter. (O'Neill et al., 1988)

En brugbar markør for lungekræft bør være til stede i mere end 75 % eller 90 % af prøverne, hvorved problemstillingen med udvælgelse af markører for cancer reduceres fra valgt mellem de oprindelige 386 stoffer til 45 stoffer for 75 % tilstedeværelse (Tabel 6.1) og 28 stoffer for 90 % tilstedeværelse (Tabel 6.2).

Kun 9 ud af de 28 stoffer (Tabel 6.2) anses for at være potentielle diagnostiske markører for lungekræft (Klasse 10 og 11): propanol, acetone, 2-butanon, phenol, benzaldehyd, acetophenon, nonenal, ethylpropanoat og methylisobutenotat. De restende 19 stoffer regnes som miljørelateret forurening. (O'Neill et al., 1988)

Et væsentligt problem ved denne tidlige undersøgelse er, at prøverne fra lungekræftpatienterne ikke sammenlignes med prøver fra raske frivillige. Endvidere kan der rejses spørgsmål ved udvælgelsen af markørerne ud fra deres biologiske betydning. F.eks. kan fraserterede alkaner¹⁵² sættes i forbindelse med LPO. Isopren, der er et andet af de fraserterede stoffer er blevet sat i forbindelse med kolesterolbiosyntesen, hvorved det kan være impliceret i forandringer i kræftcellernes cellemembraner (Davis et al., 2001 og Miekish et al., 2004).

Hvad der er bemærkelsesværdigt er fraværet af nitrogen og svovlforbindelser¹⁵³, hvor ingen af den type forbindelser har mere end 90 % tilstedeværelse, og kun bezothiazole findes i mere end 25 % af prøverne (25/32) (Tabel 6.1). Nitrogen- og svovlforbindelser var ellers at forvente i forbindelse med vævshenfald (nekrose) og omdannelser i tumurvævet, men den

¹⁵² Alkaner er ikke blevet påvist for kræftceller *In vitro*. (Gendron et al., 2007)

¹⁵³ Carbondisulfid er omtalt som markør for skizofreni. (Miekish et al., 2004)

manglende tilstedeværelse kan forklares med, at patienterne havde kræft i tidligere stadier. (O'Neill et al., 1988)

Efterfølgende er der blevet foretaget en række undersøgelser med GC/MS i bestræbelserne på at identificere markører for forskellige former for cancer, herunder: blærekræft (Spanel et al., 1999), brystkræft: (Phillips et al., 2003b og 2006), lungekræft: (Phillips et al., 1999, 2003a og 2008; Poli et al., 2005 og Chen et al., 2007) og prostatakræft (Spanel et al., 1999). (Tabel 6.8).

Disse nyere undersøgelser har givet anledning til flere forskellige forslag til kombinationer af biomarkører for lunge- og brystkræft. Markørerne er udvalgt ved brug af forskelligt ”software” til ”mønstergenkendelse”.

Reference	(Phillips et al., 2003a)	(Machado et al., 2005)	(Poli et al., 2005)	(Chen et al., 2007) ¹⁵⁴
Markører	Butan ¹⁵⁵ 3-methyl tridecan 7-methyl tridecan 4-methyl octan 3-methyl hexan Heptan 2-methyl hexan Pentan 5-methyl decan	Isobutan Methanol Ethanol Acetone Pentan Isopren Isopropanol Dimethylsulfid Carbon disulfid Benzen Toluen	Isopren 2-methylpentan Pentan Ethylbenzene Xylener total Trimethylbenzen Toluen Benzen Heptan Decan Styren Octan Pentamethylheptan	Styren Decan Isopren Benzen Undecan 1-hexen Hexanal Propyl benzen 1,2,4-trimethyl benzen Heptanal Methyl-cyclopentan

Reference	(Phillips et al., 2003a)
Markører	Nonane 5-methyl tridecan 3-methyl undecan 6-methyl pentadecan 2-methyl propan 3-methyl nonadecan 4-methyl dodecan 2-methyl octan

Tabel 6.3. Forslag til markører for lungekræft. Markører, der går igen i flere undersøgelser er markeret med farve.

¹⁵⁴ Koncentrationer for disse markører findes angivet på skema i bilag: (Bilag 6, Tabel B6.2)

¹⁵⁵ Butan blev angivet som bedste enkelte markør i denne undersøgelse. (Phillips et al., 2003a)

Reference	(Phillips et al., 2003b)
Markører	2-propanol 2,3-dihydro-1-phenyl-4 (1H)-quinazolinone ¹⁵⁶ 1-phenyl-ethanone ¹⁵⁷ Heptanal Isopropyl-myristate

Tabel 6.4. Forslag til markører for brystkræft. Heptanal er markeret med farve, da denne forbindelse ligeledes er blevet foreslået som markør for lungekræft (se ovenstående tabel).

Se endvidere: Bilag 6.

Det bemærkes umiddelbart, at de markører og sæt af markører, der foreslås i de forskellige undersøgelser varierer meget, skønt enkelte stoffer går igen, f.eks. pentan, heptan, isopren¹⁵⁸ og benzen. Anskues de foreslåede markører ud fra stofgrupper, bliver overensstemmelserne imidlertid større. Alkaner¹⁵⁹ eller methylerede alkaner¹⁶⁰ går igen på alle lister, hvilket kan forklares med alkanernes biologiske betydning som LPO-produkter (Smith et al., 2003; Buszewski et al., 2007 og Belda-Iniesta et al., 2007).

Alkoholer og ketoner går igen på flere lister over markører og kan være relateret til oxidativt stress (Machado et al., 2005). Acetaldehyd¹⁶¹ og formaldehyd¹⁶², der er mellemprodukter i alkoholmetabolismen (Smith et al., 2003 og Buszewski et al., 2007), er foreslået som markører for henholdsvis lungekræft (Smith et al., 2003) og blære- og prostatakkræft. (Spanel et al., 1999) Kilden til benzen og benzen-derivater er ukendt, men går igen som foreslået markør i flere undersøgelser: (Phillips et al., 1999; Machado et al., 2005; Poli et al., 2005; Chen et al., 2007; Phillips et al., 2008).

Butan angives som bedste enkelte markør for lungekræft (Phillips et al., 2003a), mens dette betvivles af en anden forfatter (Miekisch et al., 2004), eftersom butan er et produkt af protein metabolismen og udskilles af den fækale flora. Anvendeligheden som markør for lungekræft må derfor betvivles.

Kromatogrammet for modermærkekræft har en unik top, der ikke er identificeret, men som sandsynligvis er propanal. (D' Amico et al., 2008)

¹⁵⁶ 2,3-dihydro-1-phenyl-4 (1H)-quinazolinone er kendt for at have antitumor aktivitet. (Phillips et al., 2006)

¹⁵⁷ 1-phenyl-ethanone har "anti-invasive" aktivitet, målt på cellekultur af brystkræft (MCF-7/6). (Phillips et al., 2006)

¹⁵⁸ Isopren (C₅H₈) er et biprodukt af kolesterol syntesen gennem omdannelsen af mevalonate til mevalonate-5-pyrophosphate og isopentenyl pyrophosphate. (Davies et al., 2001). Signifikant forhøjet isopren koncentration er endvidere målt for patienter med nyresvigt, samt vævsskader foranlediget af myocardial infarction og ozonforgiftning. (Davis et al., 2001); Forhøjet niveau af isopren forekommer ved hæmodialyse af nyrepatienter. (Smith og Spanel, 2007); Lavere niveau af isopren er observeret hos patienter med forværet tilstand af cystisk fibrose. Niveauet af isopren er aldersafhængigt og udviser døgnvariation. (Miekisch et al., 2004)

¹⁵⁹ En anden forfatter tager forbehold for propan og butan, der hovedsageligt er afledt af proteinmetabolismen og den fækale flora. (Miekisch et al., 2004)

¹⁶⁰ Den biologiske oprindelse af methylerede alkaner er ukendt. (Miekisch et al., 2004)

¹⁶¹ Ud fra *In vitro* målinger er det anslået, at en lungekræftpatient vil udånde en koncentration af acetaldehyd på 100 ppb, mens koncentrationen hos en rask kontrol vil være 5 ppb. (Smith et al., 2003)

¹⁶² Undersøgelse formaldehydkoncentrationen i udåndingsluften fra 3 brystkræftpatienter (BrC): 0.45-1.20 ppm og 3 raske frivillige (HC): 0.3-0.6 ppm. (Ebeler et al., 1997)

Påvirkning af markører fra naturlige processer og andre sygdomme

For det absolutte flertal af de fundne markører er deres forekomst i organismen ikke specifikt forbundet til cancer, dvs. lugtstofferne er naturligt forekommende i organismen (Bilag 2), eller de ændrer koncentration i relation til anden sygdom. (se nedenstående tabeller)

Derfor må man være forberedt på store variationer i koncentrationen af de forskellige markører, hvilket selvfølgelig er en fejlkilde.

Faktor	Indholdsstof
Fysisk anstrengelse (motion) ¹⁶³	Acetone (↓ 50%) og acetaldehyd (↓ 20-40 %) ¹⁶⁴
Køn	Acetone (↑ kvinder) og trichoroethylen (↑ mænd)
Kost	Acetone (↑ slankekur)
Tarmflora	Nitrogen- og svovlforbindelser ¹⁶⁵
Kropsfedt (BMI)	Toluen (↓) ¹⁶⁶
Døgnvariation	pO ₂ og pCO ₂
Ægløsning	1-dodecanol (↑ X10 ægløsning), methanthiol, methyl sulfid og hydrogensulfid ((↑ X2-3) (ægløsning og menses); Tetradecanol

Tabel 6.5. Faktorer af betydning for resultatet af analyser af udåndingsluft. Forkortelser: "Body Mass Index"(BMI). (Manolis, 1983)

En undersøgelse af sporgasser på raske frivillige ved faste og efter et proteinrigt måltid viste forhøjet koncentration af acetone ved faste og ammoniak koncentrationen faldt først ved et proteinrigt måltid, hvorefter den begyndte at stige. Endvidere blev målt isopren og ethanol, men her blev ikke observeret nogen variation. (Smith et al., 1999)

Forbindelse	Fysiologisk basis
Acetaldehyd	Ethanol metabolisme
Acetone	Decarboxylation af acetoacetat til acetyl-CoA
Ethan	LPO
Ethylen	LPO
Hydrogen	Tarmbakterier
Isopren	Cholesterol biosyntesen
Methan	Tarmbakterier
Methylamin	Protein metabolisme
Pentan	LPO

Tabel 6.6. Fysiologisk oprindelse af udvalgte flygtige forbindelse. (Buszewski et al., 2007)

¹⁶³ Hjertekredsløbssygdomme kan ligeledes forventes at påvirke niveauet af acetone og acetaldehyd. (Miekisch et al., 2004)

¹⁶⁴ Målingerne er foretaget i relation til politiets brug af alkoholtest. (Manolis, 1983)

¹⁶⁵ Forøget koncentration af svovlforbindelser forekommer endvidere ved afstødning af organer i forbindelse med transplantation. (Miekisch et al., 2004)

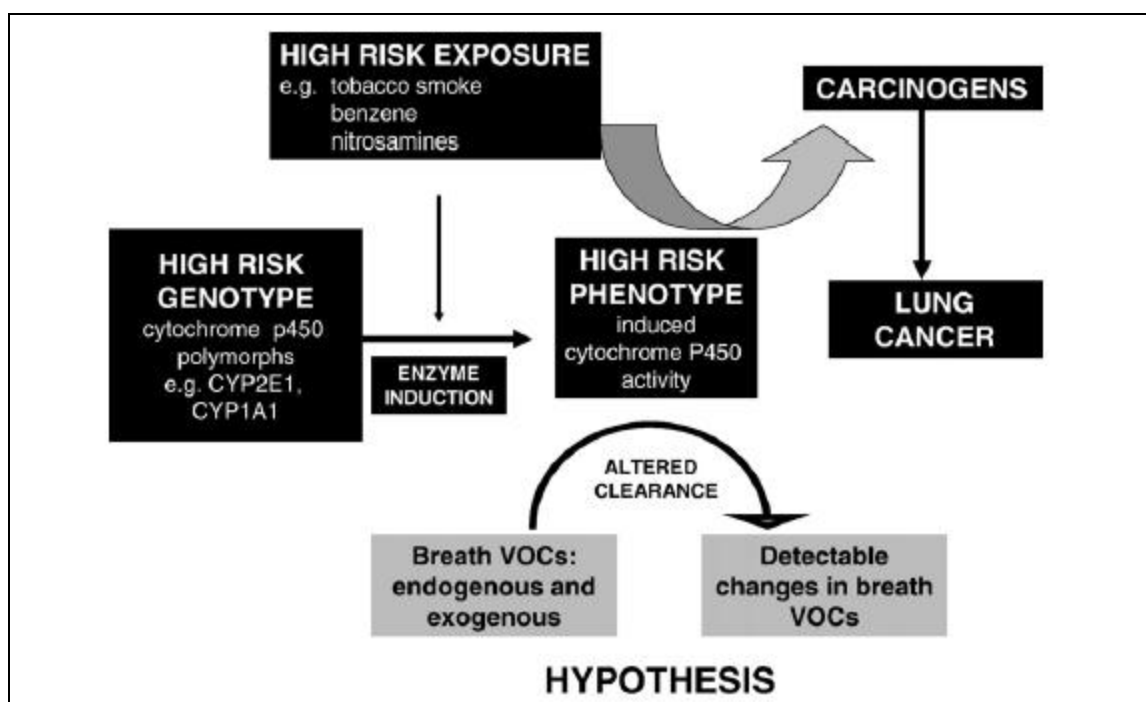
¹⁶⁶ Målingerne er foretaget i relation til toksikologiske test, forgiftning med toluen. (Manolis, 1983)

VOC	Sygdom
Hydrocarbon: Ethan og pentan, isopren	Oxidativt stress
Isopren	Cholesterol metabolisme
Acetone, LPO-produkter	Sukkersyge, ketonemia
Svovlholdige forbindelser, f.eks.: dimethylsulfid, methyl mercaptan, ethyl mercaptan	Leversvigt
Nitrogenholdige forbindelse, f.eks.: ammoniak, dimethylamin og trimethylamin	Uremia, nyresvigt

Tabel 6.7. Forøgede koncentrationer af VOC i relation til specifikke sygdomme. (Manolis, 1983; Smith og Spanel, 1996; Di Natale et al., 2003; Smith et al., 2003; Buszewski et al., 2007) Rygning: acetonitrile (Smith og Spanel, 1996)

Hypotese til forklaring af udvalgte markører

Cytochrom P450 kataboliserer de fleste markører på listen foreslået af Phillips et al. (2008) (Tabel B6.3), herunder: isopropyl alkohol, hexanedion, camphor, benzophenone, tetroxane derivater, benzen, benzosyre, furan og ionone, hvorved det er nærliggende, at cytochrom P450 kan være med til at forme cancerspecifikke lugtprofiler (se nedenstående figur).



Figur 6. 3. Hypotese om at induktion af cytochrome P450 kan påvirke indholdsstofferne i udåndingsluften fra lungekræftpatienter. Eksponering for risikofaktorer, f.eks. tobaksrøg (oxidativt stress) resulterer i produktionen af carcinogener, herunder ROS og lipid peroxidations produkter, der kan inducere kræft (se kapitlet: Kræftcellers metabolisme). Derudover induceres cytochrom P450 enzymet, der findes i flere variationer, hvoraf nogle er med til at give anledning til en "højrisiko fænotype". Cytochrom P450 er med til at bortskaffe mange "volatile organic compounds" (VOC), hvorved ændring i aktiviteten af dette enzym betyder ændringer i lugtprofilen. (Phillips et al., 2008)

Kræfttype	Sensor	Markør	Patienter	Resultat	Sensitivitet	Specificitet	Signifikans	Kilde
Blærekræft	SIFT-MS Precursor ion: H_3O^+	Urin (^{2}He adspace ²): Formaldehyd ¹	BLC: 14 HC: 14	85 ppb 11 ppb			0.0005	(Spænel et al., 1999)
Brystkræft	GC/MS "Sorbent traps"	Udåndingsluft: (EMAC) ² : C_4 - C_{10}	BrC: 51 AM: 142 HC: 42		88.2 %	73.8 %		(Phillips et al., 2003)
		Udåndingsluft: 5 VOC	BrC: 51 AM: 50 HC: 42		93.8 %	84.6 %		(Phillips et al., 2006)
Lungekræft	GC/MS	Udåndingsluft: 22 VOC	LC: 12 HC: 17	100 % korrekt identifikation 93 % korrekt identifikation				(Gordon et al., 1985)
	GC/MS "Sorbent traps"	3 VOC Udåndingsluft: 22 VOC	LC: 60 HC: 48	81.5 % korrekt identifikation:	100 %	81.3 %	0.0003	(Phillips et al., 1999)
		Udåndingsluft: 22 VOC	LC: 87 HC: 132		89.6 %	82.9 %	0.0003	(Phillips et al., 2003)
	GC/MS SPME	Udåndingsluft: 13 VOC	LC: 36 COPD: 25 HC _{precipitate} : 35 HC _{alkaliesaline} : 50	80 % korrekt identifikation	72.2 %	93.6 %		(Poli et al., 2005)
		Udåndingsluft: 11 VOC	LC: 29 HC: 13 CB: 7	79.6 % korrekt identifikation	86.2 %	70 %		(Chen et al., 2007)

¹ Produkt-ion: H_3CO^+

² EMAC: Nonane, 5-methyltridecane, 3-methylundecane, 6-methylpentadecane, 2-methylpropane, 3-methylundecane, 4-methyldodecane, 2-methyloctane.
(Phillips et al., 2003)

Sensor	Markør	Patienter	Resultat	Sensitivitet	Specificitet	Signifikans	Kilde
Modermærkekræft (Melanoma)	G-C/MS	Udåndingsluft: 30 VOC		84.5 %	81 %		(Phillips et al., 2008)
	² Elektronisk næse ² ("gas sensor array")	Udåndingsluft LC: 35 LC-ST: 9 HC: 18	100 % korrekt identifikation (LC) 94 % korrekt identifikation (HC) 44 % korrekt identifikation (LC-ST)				(Di Natale et al., 2003)
Prostatakræft	² Elektronisk næse ² ("gas sensor array")	Hudoverfladen ("Headspace")	LC: 14 ATT: 19 CBD: 6 HC: 20	71.4 %	91.9 %		(Machado et al., 2005)
	SIFT-MS Precursor ion: H ₃ O ⁺	Urin ("Headspace"): Formaldehyd	MC: 9 HC: 31				(D'Amico et al., 2008)
			PC: 24 HC: 14			0.05	(Spanel et al., 1999)

Tabel 6.8. Statistisk evaluering, mlrt. kræftformer, målemetoder og udvalgte biomarkører (lugtstoffer). Forkortelser: Patientgrupper: "Abnormal mammogram "Bladder cancer" (BIC), "c41-anthraxin deficiency"(AA T), "Breast cancer (BrC), "Chronic bronchitis" (CB), "Chronic obstructive pulmonary disease" (COPD), "chronic pulmonary beryllium disease" (CBD), "Lung cancer" (LC), "Lung cancer after surgical therapy" (LC-ST), "Prostate cancer (PC) og "Healthy control" (HC); Markører: "Breath methylated alkane contour" (BMAC), "volatile organic compound" (VOC); Sensorer: gas chromatography/mass spectrometry (G-C/MS), "Selected Ion Flow Tube" (SIFT), "Solid phase micro extraction" (SPME).

Resultater

Med ”Selected-ion flow tube”-MS (SIFT-MS)¹⁶⁷ er der blevet målt statistisk signifikante forskelle på indholdet af formaldehyd i ”headspace” fra urinprøver fra patienter med: blærekræft (85 ppb) og prostatakræft (25 ppb) i forhold til raske frivillige (11 ppb). Den statistiske signifikans er henholdsvis 0.0005 for blærekræft og 0.05 for prostatakræft. (Spanel et al., 1999) (Tabel 6.8)

To analyser med GC/MS er blevet foretaget på udåndingsluft fra brystkræftpatienter og sammenlignet med raske frivillige, samt personer med unormalt mammogram: 1. Sensitivitet: 88.2 % og specificitet 73.8 % (Phillips et al., 2003b) og 2. sensitivitet 93.8 % og specificitet 84.6 % (Phillips et al., 2006).

6 GC/MS analyser er blevet foretaget på udåndingsluft fra lungekræftpatienter af forskellige forskerteam og ved brug af forskellige markører (Tabel 6.8). En undersøgelse gav 100 % korrekt identifikation ved brug af 22 markører (VOC), mens det faldt til 93 % korrekt identifikation ved brug af 3 markører (VOC) (Gordon et al., 1985). To undersøgelser har identificeret lungekræft korrekt med en statistisk signifikans på 0.0003. (Phillips et al., 1999 og 2003b). Sensitiviteten af de 6 forskellige undersøgelser varierer mellem 100 % (Phillips et al., 1999) og 72.2 % (Poli et al., 2005). Specificiteten varierer mellem 93.6 % (Poli et al., 2005) og 70 % (Chen et al., 2007). To af undersøgelserne sammenligner lungekræft med andre lungesygdomme, ”chronic obstructive pulmonary disease” (COPD) (Poli et al., 2005) og kronisk bronkitis (Chen et al., 2007). Begge undersøgelser holder en korrekt identifikation på omkring 80 %, mens specificiteten kun er 70 % for undersøgelsen, der inddrager kronisk bronkitis (Chen et al., 2007).

6.3. ”Elektronisk næse” (”gas sensor array”)

Elektroniske næser virker ud fra det princip, at duftstofferne bindes til en række forskellige sensorer. Hver sensor er dækket med en specialfremstillet polymer, hvor de forskellige polymerer har forskellig affinitet for forskellige duftstoffer. Når duftstoffer bindes til sensorerne ændres ledningsevnen af polymeren. Herved opstår et signal, der kan overføres til tolkning i en computer. (Montag et al., 2001; Pavlou et al., 2002, Smith og Spanel, 2007 og Belda-Iniesta et al., 2007)

Elektroniske næser kan ikke lave kemisk identifikation af lugtstoffer, men reagerer på en kombinationen af den kemiske information i de stoffer, den udsættes for. (Di Natale et al., 2003; Gendron et al., 2007 og Machado et al., 2005) Kemiske næser blev oprindeligt udviklet til fødevarekontrol og toksikologiske undersøgelser, men er på vej til at finde anvendelse inden for medicinsk diagnose. Interessen har specielt været i forbindelse med diagnose af:

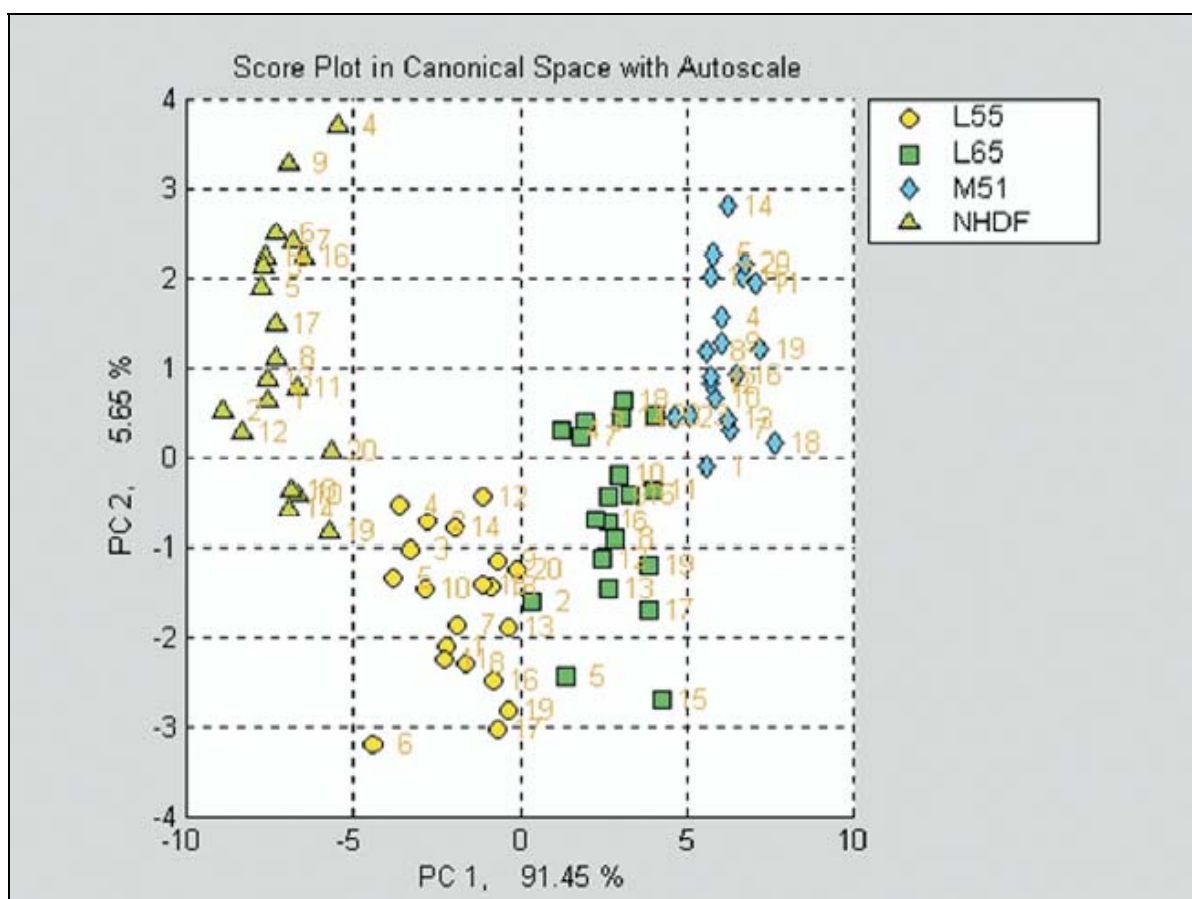
¹⁶⁷ ”Selected-ion flow tube”-MS (SIFT-MS) findes udførligt beskrevet i følgende reference: (Smith og Spanel, 1996). Metoden beror ikke på forudgående adskillelse med GC. I stedet ledes prøven direkte ind i et rør, hvor den reagerer med en ”precursor ion”, hvorved der dannes forskellige produkt-ioner. Disse detekteres efterfølgende ved MS. F.eks. er H_3O^+ blevet anvendt som ”precursor ion” til måling af formaldehyd, de to reagerer og H_3CO^+ dannes som produkt-ion. Koncentrationen af formaldehyd estimeres efterfølgende ud fra måling af koncentrationen af produktionen H_3CO^+ . (Spanel et al., 1999)

lungebetændelse, urinvejsinfektioner (Pavlou et al., 2002) og sukkersyge (Di Natale et al., 2003).

Resultater

Elektroniske næser har foretaget 100 % korrekt identifikation af lungekræft, 94 % korrekt identifikation af raske frivillige (kontroller) og 44 % korrekt identifikation af patienter med lungekræft efter kirurgisk behandling. (Di' Natale et al., 2003) En anden undersøgelse viste 85 % korrekt identifikation (Machado et al., 2005). Sidstnævnte undersøgelse havde relativt høj specificitet (91.9 %). Herved overgik den alle undersøgelserne med GC/MS bortset fra undersøgelsen af Poli et al. (2005) med en specificitet på 93.6 %. (Tabel 6.8)

Modermærkekræft er blevet ca. 80 % korrekt identificeret med elektronisk næse (D' Amico et al., 2008). Derudover kan elektroniske næser skelne mellem cellekulturer af normale celler og cellekulturer af forskellige former af kræft: (Figur 6.4). (Gendron et al., 2007)



Figur 6.4. Eksempel på klyngeanalyse af måling på forskellige celletyper: gul trekant: NHDF (normal human diploid fibrioblast), orange cirkel: L55 (NSCLC, adenocarcinoma), grøn firkant: L65 (NSCLC, adenocarcinoma), blå diamant: M51 (metastatic squamous cell carcinoma fra lungerne). (Gendron et al., 2007)

7. Diskussion

Dr. Sinclair: "Det [lugtesansen] er et af de mest fascinerende emner du kunne vælge på grund af dets uhåndgribelighed og dets dybtliggende følelsesmæssige kvaliteter ... Vi har været i stand til at reducere farve og lyd til vibrationer, men lugt modstår sådan en analyse."

(Oversat fra Bendicheck, 1960)

Det overordnede formål med "Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer" har været, at præsentere en sandsynlig mekanistisk forklaringsmodel for dannelsen af cancer-relaterede lugtstoffer ("cancer signaturlugte"), og hvordan de efterfølgende kan detekteres af en anden organisme gennem lugtesansen, f.eks. hunde (*Canis familiaris*) eller afrikanske kæmperotter (*Cricetomys gambianus*).¹⁶⁸

Til at begynde med, er det vigtigt at forstå, at det normale menneske udsender en masse lugte. Vigtige kilder til disse lugte er: sved, urin, fæces, spyt og ånde (Tabel 1.3 og Bilag 2). Med kemisk analytiske metoder, f.eks. gaskromatografi/massespektrometri (GC/MS) har forskere påvist tusindvis (4941) af forskellige stoffer i prøver af sved, spyt og urin (Penn, et al., 2007). Heraf var 373 lugtstoffer stabile over tid, hvormed de kandiderede til menneskets "kemiske fingeraftryk". 44 af disse stoffer varierede mellem individer og 22 havde kønsbestemt variation. Variationer i menneskers lugt kan tilskrives: alder, køn, hormonstatus og kost. Derudover kan kropslugten påvirkes af forurening, f.eks. tobaksrøg og rengøringsmidler og "moderne hygiejnisk praksis", herunder brugen af sæbe, shampoo, kosmetik og parfume.

En anden vigtig faktor for kropslugten er organismens helbredsstatus. Lugtdiagnose er ikke nogen ny foreteelse inden for medicinen. Helt tilbage til lægerne fra den græske antik, er det blevet beskrevet, hvordan bestemte sygdomme kunne knyttes til karakteristiske lugte, f.eks. ledsages mæslinger af en lugt af "nyplukkede fjer". Inden for den moderne medicin er listen af sygdomme, hvor lugt kan indgå i diagnosen, udvidet betydeligt (Lockman, 1981 og Bilag 3). Lugtdiagnose anvendes i dag primært i forbindelse med infektioner, stofskiftesygdomme og hudsygdomme (autoimmune sygdomme). Inden for "akutmedicin" kan lugtdiagnose være livsvigtig, f.eks. i forbindelse med forgiftninger. Interessant nok er lugte ikke alene knyttet til somatiske sygdomme. Skizofreni har efter sigende en "tung", "stikkende", endog "stinkdyrsagtig" lugt (Smith 1960). Lugten er kemisk identificeret som "trans-3-methyl-2-hexenoic acid" (TMHA) (Bilag 3).

Kan mennesker lugte cancer? I en lille spørgeskemaundersøgelse til læger på danske kræftafdelinger indkom forskellige svar: 3 læger svarede, at kræft har en rådden eller syrlig lugt, mens en ikke mente, at kræftpatienter lugter anderledes end resten af befolkningen. En oplagt forklaring på de forskellige resultater er, at de forskellige kræftformer lugter forskelligt. En læge beretter, at lugt kun kommer fra større cancere med tilhørende infektion, hvorimod små cancere ikke lugter, dvs. den lugt fra cancer, mennesker kan opfatte, stammer

¹⁶⁸ Afrikanske kæmperotter (*Cricetomys gambianus*) anvendes til at detektere tuberkulose på forsøgsplan i Tanzania, samt detektion af landminer. (Læs indlæg om emnet på forfatterens internetblog: <http://www.ebblog.dk/2942/perma/37603/> og <http://www.ebblog.dk/2942/perma/32715/>)

måske ikke fra ”canceren-i-sig-selv”, men derimod fra den ledsagende infektion, immunreaktion og/eller vævshenfald (nekrose). En anden forklaring på de forskellige svar, og hvorfor nogle læger har valgt ikke at svare, kan være bekymring i forhold til at stigmatisere patienter. Kræft er en alvorlig sygdom, og et prædikat om dårlig lugt kan gøre ondt værre.¹⁶⁹

Kræftcellers metabolisme

I forhold til normale celler ændrer kræftceller metabolisme på flere måder, hvoraf forhøjet glykolyse (Warburg effekt) og forøget ”oxidativt stress” med deraf følgende forøgelse i lipid peroxidationen (LPO), er de mest bemærkelsesværdige.

Derudover påvirkes en række cancer-relaterede signalveje, f.eks. MAPK-signalvejene, der kan føre til: ”epithelial-mesenchymal transition” (EMT), migration og invasion (metastase). Herigennem ændres mønsteret i de proteiner, cellen udtrykker. Ændret lugt kan teoretisk set opstå når proteinerne nedbrydes af cellens ”antigen behandlende maskineri” (APM) og fremvises på celleoverfladen (Figur 3.4). Dog skal yderligere omdannelser/nedbrydning finde sted, da MHC-peptiderne ikke i sig selv er flygtige.

Forøget LPO giver anledning til en masse flygtige forbindelser, f.eks.: formaldehyd, alkaner, methylerede alkaner, aldehyder og ketoner (Figur 2.9). Desværre er disse stoffer både flygtige og typisk meget reaktive, hvorfor det er yderst vanskeligt at måle på deres koncentrationer i den levende celle og følge deres vej gennem kroppen. Det har således ikke været muligt at bestemme det relative bidrag fra mitochondrierne, NOX-enzymen og peroxisomer, m.m. Men mitochondrierne menes, at give det største bidrag, op mod 90 % under normale omstændigheder. Men denne balance kan forrykkes i tilfælde af kræft. Årsagskæden står på denne måde svagt.

Et andet problem er, at LPO ikke er specifikt for kræft. LPO er impliceret i en række naturlige processer, og forhøjede niveauer af LPO-produkter kendes fra mange andre sygdomme, f.eks.: infektionssygdomme, astma, leddegigt og hjerte-kredsløbssygdomme. Herved er tilstedeværelsen af stofferne ikke nødvendigvis en indikator for kræft. Derimod kan en ændring i det samlede mønster LPO-produkter måske være det (summen af kvalitative og kvantitative forskelle).

Konsekvenserne af kræftcellernes ændrede metabolisme er mangfoldige. Eksempelvis reagerer LPO-produkter med DNA, hvilket giver anledning til mutationer og DNA-vedhæng. Kan dette være relevant for lugten? DNA-nukleotider er lige tunge nok til at kunne regnes som lugtstoffer i traditionel forstand, dvs. de er tungere end 300 Da.¹⁷⁰ Ikke desto mindre er mutationer i DNA (p53) blevet detekteret i udåndingsluft fra lungecancerpatienter (Gesner et al., 2004). Tilsvarende kan DNA mutationer måske detekteres af dyr gennem deres vomeronasale organ (VNO), men det er så vidt vides ikke blevet undersøgt.

¹⁶⁹ Erkendelse og åbenhed omkring et problem, kan være et skridt på vej hen imod en løsning. Eksempelvis er der opnået gode resultater med aroma-/phytoterapi i relation til kræftsår med ubehagelig lugt. (Warnke et al., 2006)

¹⁷⁰ Molekylærvægten af DNA kan beregnes som antal basepar (bp) gange med 649 Da/bp, herved må et enkelt nukleotid have en masse på ca. 325 Da.

MHC-komplekset

En anden måde hvorpå kræftceller adskiller sig fra normale celler, er at de i nogle tilfælde ændrer udtrykket af MHC-molekylerne på deres overflade. En normal celle udtrykker flere hundrede tusind MHC-molekyler, hvorfor kvantitative overvejelser må indeholde muligheden af, at de ændrede MHC-molekyler kan give et betydningsfuldt bidrag til ”signaturlugten” for kræft. Hele cellens overflade er forandret, men ikke de så afgiver en anderledes lugt? Hvad den konkrete forbindelse er mellem MHC-komplekset og den individuelle lugt, er imidlertid stadig uklart, men der er fremsat en række hypoteser (Figur 3.5).

Der findes mange forklaringer på, hvordan kræftcellers metabolisme og ”tumor escape” kan give anledning til en særlig lugttype (”signaturlugt”). Men ingen af disse mulige årsagssammenhænge er endegyldigt bevist. Hvad man dog med nogen ret kan hævde, er at en ”signaturlugt” for cancer er blevet ”sandsynliggjort”.

Individuel lugttype (”signaturlugte”)

De første forsøg med individuelle lugte blev lavet af George Romanes (1848-94), da han ville gøre det svært for hans terrier, at følge hans lugtspor i Regent Park. (Romanes, 1887). Hvordan kan hunde følge færtten af et bestemt menneske, mellem hundredvis af andre lugtspor? Mange år senere viste H. Kalmus, at hunde har betydeligt sværere ved at kende forskel på lugten af tvillinger end andre mennesker, hvilket tyder på at lugttypen har en genetisk komponent. (Kalmus, 1955).

Laboratorieteknikere på Monell Chemical Senses Center, Philadelphia, USA, gjorde efterfølgende observationer af ”parringsvalg” i indavlede stammer af mus, hvor musene tilsyneladende foretrak at parre sig med mus af anden MHC-type end deres egen (Yamazaki et al., 1976 og Boyse et al., 1987). Efterfølgende har resultaterne af mange adfærdsmålinger givet indikation for, at den individuelle lugttype har noget at gøre med MHC-komplekset.

Individuelle lugttyper for cancer er bekræftet med både GC/MS og ”elektroniske næser” (gas sensor array”) (se kapitlet: ”Kemisk fingeraftryk” af cancer). Men, hvor meget ligner signaturlugten af cancer den individuelle lugt af et menneske eller dyr? Kræftcellers metabolisme varierer betragteligt over tid (D’ Amico et al., 2008). Derfor er det vigtigt om kræftceller får deres specifikke lugt allerede på et tidligt stadie?

7.1. Anvendelse af detektorhunde

”Kan du bruge hunde til at detektere cancer. Nej, du kan ikke. Vær alvorlig. Hunde bærer sygdomme. Så er der den store kvalitetskontrol og helbreds- og sikkerhedsproblemer. Det ville være interessant at vide, om patienter ville stole på en cocker spaniel frem for en diagnose, når det drejede sig om de havde lungekræft eller ej.”

(Dr. Richard Sullivan)¹⁷¹

Eksemplerne på, at hunde tilsyneladende responderer over for lugten af cancer, kan opdeles i to grupper: 1. utrænede hunde, der reagerer spontant, og 2. trænede hunde, der markerer med f.eks. ”sit”, ”dæk” eller ”pote”.

Utrænede hunde, der reagerer spontant

Til den første gruppe af hunde, der reagerer spontant, må kommentaren være, at enkeltstående observationer ikke udgør noget videnskabeligt bevis. Men fænomenet giver indikation for, at hunde muligvis har en evne til at detektere cancer, der er værd at undersøge nærmere. Hundes lugtesans bruges allerede af mennesker i mange andre sammenhæng f.eks. politiets anvendelse af sporhunde og ID-hunde.

I relation til politiets brug af hunde, som der er en mere end hundredårig tradition for, har videnskabelige undersøgelser vist, at hunde har en ganske imponerende evne til at identificere og følge menneskers personlige lugt (fært). Hvis cancer har en signaturlugt, burde hunde kunne genkende den. (Barbara Sommerville).

Men, hvorvidt hundes lugtesans er god nok til at detektere cancer er genstand for uenighed. Dr. Wallace Sampson:

”Jeg tror det er på denne side af absurd. Folks lugt er sådan, at enhver lugt fra en kræftcelle ville blive overdøvet af alle de andre lugte, der findes. Disse lugte vil overvælde receptorerne. At sige at cancer pludseligt ville blive til at detektere med hunde er for langt ude for de fleste videnskabsfolk. Det er ikke plausibelt.”

(Guthrie 2003)

Argumenter imod Sampsons standpunkt er, at hunde kan abstrahere fra stærke lugte. Romanes (1888) prøvede at aflede sin jagthund fra lugtspor ved brug af anisolie, men det virkede ikke. Den kunne stadig skelne mellem hans lugtspor og lugtspor afsat af en masse landarbejdere. Derudover bliver hundes evne til at identificere lugte, bedre, des flere de lærer. Dette gælder i hvert fald op til 10 lugte (Williams og Johnston, 2002).

¹⁷¹ Bemærk argumentationsmåden (retorikken): Først spiller Sampson på frygt for latterliggørelse. Påstanden slås hen som en spøg. Dernæst angribes hundenes karakter (”Ad hominem”). De beskrives som ”sygdomsbærere” og ikke til at stole på. Men spørgsmålet er, hvor meget hold, der er i lægens påstande, eller om de bare er et udtryk for fordomme? (<http://www.timesonline.co.uk/article/0,,2092-1859073,00.html>)

Tages den nyere forskning omkring lugtesansens funktion med i betragtning, kan det meget vel ligge inden for det mulige, at hunde både kan detektere meget svag lugt, og at de kan genkende en signaturlugt på trods af forstyrrelser. Det er et spørgsmål om aktiveringsmønsteret for en række kvalitativt forskellige lugtreceptorer. Den svenske hund ”Hanna”, kan detektere lugten af kræft ned til 20 celler. (György Horvath, privat kommunikation)

Hunde har endvidere vist sig effektive, mht. påvisningen af andre sygdomme. Hunden ”Gaz” kunne identificere sår, der er inficeret med maddiker med en succesrate på 95 % (Welch, 1990). Har man nogen grund til at antage, at det skulle være sværere for hunden at detektere cancer, end tilstedeværelsen af en parasit?

Imidlertid skal man næppe forlade sig på, at familiehunden vil fortælle, hvis man har kræft. Beretningerne om hunde, der har alarmeret deres ejere til at gå til lægen, med noget der efterfølgende har vist sig at være kræft, er ret sjældne.

Trænede hunde (”cancer detector dogs”)

Fremkomsten af hunde, der var trænet til at detektere cancer, har fået en blandet modtagelse af lægevidenskaben (se foregående citater). Hvad der må opfattes som positivt, er dog at undersøgelser omkring ”cancer detector dogs” er blevet publiceret i anerkendte videnskabelige tidsskrifter, herunder British Medical Journal (Willis et al., 2004)¹⁷².

Et af kritikpunkterne mod Willis et al. (2004), har været, at de ikke redegjorde for en årsagssammenhæng mellem, hvad hundene detekterer, og cancer. Man kan eksempelvis forestille sig, at lugten ikke kommer fra ”kræften-i-sig-selv”, men derimod blot er en risikofaktor, der ofte ledsager sygdommen (Leathy, 2004).

I forlængelse heraf har en indvending over for de amerikanske undersøgelser (Pickel et al., 2004 og McCulloch et al., 2006), været at de kun brugte raske frivillige i kontrolgruppen. Herved kan man forestille sig, at hundene ikke responderer på ”kræften-i-sig-selv”, men f.eks. ledsagende infektion, vævshenfald (nekrose) eller en generel sygdomslugt (Horvath, 2008) Willis et al. havde netop ”falske positive” i forbindelse med bl.a. infektion (kønsvorter) og type II diabetes (Carolyn Willis, privat kommunikation), der begge kan ledsages af oxidativt stress. ”Hanna” den svenske hund, kan imidlertid lugte forskel på kræft i æggestokkene og andre kræftformer, hvorfor hun detekterer andet end blot sygdom. (Horvath et al., 2008).

Undersøgelserne af Horvaths et al. (2008) kan imidlertid kritiseres for kun at anvende en hund, og det er heller ikke sikkert, at resultaterne for kræft i æggestokkene kan overføres på andre kræftformer. Måske har netop kræft i æggestokkene en særlig signaturlugt, mens andre kræftformer ikke har. Et andet kritikpunkt mod den svenske undersøgelse, er at ”Hanna” detekterer kræft ud fra vævsprøver. Herved bortfalder en afgørende pointe, nemlig at undersøgelserne kan foregå ”non-invasive” af hensyn til patienterne. Hvis ”Hanna” kun kan identificere kræft i vævsprøver, kan det næppe bruges til noget som helst i praksis?

¹⁷² The Lancet har endvidere berørt emnet i flere omgange: (Smith, 1987 og Williams og Pembroke, 1989)

Hvad er det hundene kan lugte?

“What happens in the nose, when we smell the odour of a rose?”

William Shakespeare (1564-1616)

To hovedkilder til kræftcellernes signaturlugt er blevet fremhævet: 1. kræftcellernes metabolisme, herunder forhøjet glykolyse og LPO og 2. lugte med relation til MHC-komplekset. Derudover kan de to virke i kombination, da ændringen i metabolismen betyder ændret udtryk af en række proteiner, der i nedbrudt form kan ende som ligander for MHC-molekylerne¹⁷³, og efterfølgende give anledning til lugte.

Der findes mange kandidater til biomarkører for cancer, der kan detekteres af hunde, hvorfor man kan forestille sig, at de træned hunde (”cancer detector dogs”), genkender forskellige delmængder af biomarkørerne hver især, dvs. hundene reagerer måske på noget forskelligt?

Det er heller ikke sikkert, at ”cancer detector dogs” og de hunde, der tilsyneladende har reageret spontant over for kræft, lugter det samme. Den adfærdsmæssige kontekst er forskellig. De træned har det tilsyneladende godt med at deltage i sporingsarbejdet, mens flere af de hunde, der har lugtet kræft hos deres ejere, har reageret med: ophidselse, aggression og panik.

Lugtesansen er opdelt i en signalvej, der fører fra 1. næsens lugtepitel og 2. en anden signalvej fra det ”vomeronasale organ” (VNO). Ifølge den traditionelle opfattelse er næsens lugtepitel knyttet til kognitiv adfærd, mens VNO er knyttet til instinktiv/ubevist adfærd. Måske opfatter de træned hunde lugtene af cancer gennem næsens lugtepitel, mens de hunde, der reagerer spontant, kan have opfattet der var noget galt gennem VNO, og altså ubevidst.

Nyere forskning har dog vist et betydeligt overlap i funktion mellem næsens lugtepitel og VNO, men dette ændrer ikke ved, at hundene kan detektere noget forskelligt, og de kan benytte sig af helt forskellige former for perception.

En metode der muligvis kan bidrage til afklaring af spørgsmålet om, hvad hundene egentlig detekterer, er ”bio-guided fraktionering”. Dette er forsøgt i forbindelse med at levere et videnskabeligt grundlag for politiets anvendelse af ID-hunde (Sommerville et al., 1994). Her blev de individuelle lugte bestemt til at ligge i – fraktionen. Men den individuelle lugt fra en person (fært) og lugten fra cancer er forskellige, hvorfor resultaterne ikke umiddelbart kan overføres. Endvidere må anvendelse af bio-guided fraktionering i relation til en så kompleks blanding af stoffer som i tilfældet med cancer, anses som tvivlsom. Man risikerer simpelthen at ødelægge den lugtprofil hundene genkender ved separationen (Yamazaki et al, 1999). For det første er stofferne flygtige, og for det andet kan komponenter af lugtprofilen ende op i forskellige fraktioner.

¹⁷³ Andre ”bærerproteiner” kan f.eks. være medlemmer af lipocalinfamilien: ”major urinary proteins” (MUP) hos mus eller ”odorant binding proteins” (OBP).

Hunde eller rotter?

Et andet spørgsmål, der melder sig i forbindelse med de to lugtsystemer: næsens lugtepitel og VNO, er om hunde er de bedst egnede dyr til at identificere kræft. Hvis signaturlugten af kræft blandt andet består af peptider, der kan detekteres gennem VNO, så har gnavere et betydeligt større antal VNO-receptorer. Eksempelvis har rotter 106 V1R receptorer, mens hunden har 8.

Derudover kan rotter være mere praktiske både at håndtere og opstalde. Tilmed er der lavet et computerstyret trænings-program, der kan lære rotter at diskriminere mellem lugte (Otto et al., 2002). I Afrika er man således langt fremme i forsøg med at bruge rotter til at detektere tuberkulose (<http://www.ebblog.dk/2942/perma/37603/>).

7.2. Anvendelsen af kemiske analysemetoder

Et stort antal markører for kræft er blevet identificeret med GC/MS og SIFT-MS, f.eks. alkaner, methylerede alkaner, isopren, ethanol, acetone, toluen, bezen, m.fl. (se kapitlet: "Kemiske fingeraftryk af cancer og Bilag X")¹⁷⁴. Markørerne er typisk identificeret i prøver af udåndingsluft eller "headspace" fra urinprøver og modermærkekræft, dvs. de lugtbaserede metoder kan foregå "non-invasive", hvilket gør det mere behageligt for patienterne.

Naturlige variationer, og variationer i relation til andre sygdomme, betyder imidlertid, at de fleste markører ikke kan anvendes enkeltvis, men i udvalgte sæt af flere forskellige markører. En forfatter anvender dog udelukkende formaldehyd til identifikation af blære- og prostatakræft (Spanel et al., 1999).

Mht. udvalget af markører bruger forfatterne forskellige sæt af markører til at identificere forskellige kræftsygdomme, f.eks. er markørerne for lungekræft forskellige fra markørerne for brystkræft. Det kan forekomme rimeligt, da markørerne kan afspejle molekulære sygdomsprocesser, der er specifikke for den enkelte kræftform. Men betragtes tilfældet lungekræft, hvor der er lavet 6 forskellige undersøgelser (Tabel 6.8), når forfatterne frem til 6 forskellige sæt af markører. Herved kan udvælgelsen af markører forekomme noget tilfældig (D' Amico et al., 2008).

En forklaring på de, tilsyneladende, tilfældigt udvalgte markører kan være, at lungekræftpatienterne har været forskellige mht. kræftstadie, molekulære sygdomsprocesser, m.m. Hvad der kunne tale imod dette, er at metoderne virker uafhængigt af kræftstadie (Phillips et al., 1999 og 2008). En anden forklaring er, at målemetoderne langt fra er standardiseret, mht. opsamling, opbevaring og den efterfølgende analyse, og lugtstoffer er noget meget følsomt noget at arbejde med. Dertil kommer, at forfatterne har brugt forskellige computerprogrammer ("software") til mønstergenkendelse/klyngeanalyse, hvorfor det ikke er mærkeligt, at resultaterne falder forskelligt ud.

¹⁷⁴ Listen må ikke opfattes som udtømmende.

Det fremgår heller ikke klart i hvilket omfang den ”biologiske betydning” af stofferne, i relation til de molekulære sygdomsprocesser, har været brugt som udvælgelseskriterium. Men her er problemet nok, at årsagssammenhængen mellem lugtstofferne og sygdomsprocesserne er noget vag. Dette på trods af de mange hypoteser for, hvordan det måske kan hænge sammen (se kapitlerne: Kræftcellers metabolisme, MHC-komplekset, og afsnittet: ”Hypotese til forklaring af udvalgte markører”).

Hvis ”signaturlugten” af cancer består af mange forskellige stoffer og primært kvantitative forskelle, sammenlignet med lugten af raske personer, kan det sagtens være muligt, at mange forskellige sæt af markører kan bruges til at identificere cancer. Men dette må selvfølgelig ikke stå i vejen for, at man forsøger at standardisere og optimere metoderne, og herunder finder frem til de bedste markører.

En anden indvending mod nogle af undersøgelserne har været, at de kun benytter raske frivillige i deres kontrolgruppe. Herved kan det tænkes, at markørerne ikke er specifikke for kræft, men kun indikerer mere generelle ledsagefænomener, f.eks.: inflammation, nekrose eller andre lugte, der generelt kendetegner syge mennesker (Horvaths et al., 2008)¹⁷⁵. Flere nyere undersøgelser sammenligner imidlertid med andre patientgrupper: ”chronic obstructive pulmonary disease” (COPD) og rygere (Poli et al., 2005); kronisk bronkitis (Chen et al., 2007); ” α_1 -antitrypsin deficiency” (AAT) og ”chronic pulmonary beryllium disease” (CBD) (Machado et al., 2005) og abnormale mammogrammer (Phillips et al., 2003 og 2006). Kræftpatienterne identificeres stadig korrekt i forhold til disse andre patientgrupper, hvorved generelle sygdomslugte næppe er forklaringen.

En provokerende tanke

Taget under et er begge de lugtbaserede tilgange til identifikation af cancer, hunde og kemisk analytiske metoder, metoder der er under udvikling. Metoderne kan endnu ikke betragtes som optimerede, hvorfor der er mulighed for at opnå endnu bedre resultater.

Hvad der imidlertid kan give stof til eftertanke er, at hunde og kemiske analysemetoder (GC/MS) har omtrent samme detektionsgrænse, dvs. 10^{-12} M. (Belda-Iniesta et al., 2007), dvs. deres ”hardware” er omtrent lige følsomt for at bruge computerterminologi. I de tilfælde hvor hundene en de kemiske analyser overlegne, mht. korrekt identifikation, sensitivitet og specificitet, kan det derfor kun skyldes, at hundens ”software”, dvs. hundens medfødte program til ”mønstergenkendelse” i hjernen, er bedre end de mønstergenkendelsesprogrammer, der er udviklede af mennesker. Eller er der andre muligheder? Hunde er måske klogere end mennesker, når det kommer til at arbejde med lugte?¹⁷⁶

¹⁷⁵ Herved hypostaseres imidlertid eksistensen af ”andre lugte, der generelt kendetegner syge mennesker”. Det er uvist om disse påståede lugte korresponderer til noget i virkeligheden, hvorfor argumentationen måske er usund og kun komplicerer tingene yderligere?

¹⁷⁶ Interessant reference til diskussion om dyrs bevidsthed/kognitive evner: (Sommerville og Broom, 1998)

7.3. Implikationer for kræftbehandlingen

Et andet formål med ”Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer” har været at vurdere mulighederne for at benytte lugt-baserede metoder: GC/MS, SIFT-MS, ”elektroniske næser” og hunde (”cancer detector dogs”), i forbindelse med screening og tidlig diagnosticering af cancer.

Lungekræft er en af de mest dødelige kræftformer, og der findes ingen ordentlige screeningsmetoder. Tidlig diagnose af lungekræft kan give en forøgelse af den forventede 5-årige overlevelse fra 1 % (stadie IV) til 67 % (stadie 1A) (Belda-Iniesta et al., 2007). I tilfældet med brystkræft skønnes screening at kunne reducere dødeligheden med 20-30 %. (Phillips et al., 2003)

I den nedenstående tabel sammenlignes statistiske parametre for identifikation af cancer med konventionelle metoder med resultater af analyser baseret på lugtprøver.¹⁷⁷

Kræfttype	Sensor	Sensitivitet	Specificitet	Kilde
Lungekræft	”Chest CT”	95-100 %	58-93 %	(Machado et al., 2005)
	PET	98.6 %	77.8 %	(Machado et al., 2005)
	GC/MS	100 %	81.3 %	(Phillips et al., 1999)
	Hund (<i>Canis familiaris</i>)	99 %	99 %	(McMulloch et al., 2006)
Brystkræft	Mammografi	75-90%	90-95%	(Ferrini et al., 1996)
	GC/MS	88.2 %	73.3 %	(Phillips et al., 2003)
	Hund (<i>C. familiaris</i>)	88 %	98 %	(McMulloch et al., 2006)

Tabel 7.1. Identifikation af lunge- og brystkræft: Sammenligning mellem konventionelle metoder, kemiske analyser af lugtprøver (GC/MS) og brugen af detektorhunde, mht. sensitivitet og specificitet.

I tilfældet med lungekræft har de 4 nævnte metoder: ”chest CT”, PET, GC/MS og hund (*Canis familiaris*) en sensitivitet på 95-100 % (Tabel 7.1.)¹⁷⁸. Men, hvad angår specificiteten ligger de to lugtbaserede metoder bedst, og hundene har opnået bedste resultat med en specificitet på 99 %. Specificiteten er vigtig i relation til screening, hvor antallet af ”falsk positive” skal være lavt for at screening er praktisk gennemførlig¹⁷⁹.

Hvad angår brystkræft har de to lugtbaserede metoder nogenlunde samme sensitivitet som mammografi, men hundenes har igen bedste specificitet med 98 % (Tabel 7.1).

¹⁷⁷ ”Der findes tre slags løgne: almindelige løgne, forbandede løgne og statistik.” (Mark Twain, 1835-1910)

¹⁷⁸ Forslag til screening for lungekræft (”tre-trins-raket”): 1. ”breath analysis”, 2. CT og 3. PET, med anvendelse i nævnte rækkefølge. (Belda-Iniesta et al., 2007)

¹⁷⁹ Flere af de eksisterende screeningsmetoder har en høj rate af ”falsk positive”, hvilket nødvendiggør, at man efterfølgende udtager vævsprøver. Hvis detektorhunde har lavere rate af ”falsk positive”, kan dette ubehag reduceres for patienterne. (Gordon et al., 2008)

Kræfttype	Sensor	Korrekt identifikation	Kilde
Modermærkekræft	Visuel inspektion ¹⁸⁰	Ca. 70 %	(D' Amico et al., 2008)
	Elektronisk næse	Ca. 80 %	
	Hund (C. familiaris)	100 %	(Pickel et al., 2004)

Tabel 7.2. Identifikation af modermærkekræft: Sammenligning mellem en konventionel metode, kemiske analyse (elektronisk næse) af lugtprøver og brugen af detektorhunde, mht. sensitivitet og specificitet.

Hunde kan påvise modermærkekræft med 100 % korrekt identifikation. Hermed ligger hundene klart over den elektroniske næse med 80 %, og begge de to lugtbaserede metoder ligger opnår højere rate af korrekt identifikation end visuel inspektion af en hudlæge.

De ovennævnte tal (Tabel 7.1 og Tabel 7.2) må indikere, at der kan ligge et stort uudnyttet potentiale, mht. anvendelsen af lugtbaserede metoder i forbindelse med screening og tidlig diagnosticering af visse kræftformer. Kræft i æggestokkene er tidligere nævnt som endnu en kræftform, hvor der ikke findes gode metoder til screening og tidlig diagnosticering, og hvor lugtbaserede metoder kan være relevante.

Tallene må dog tages med det forbehold, at hundene i ovennævnte undersøgelser kun skal identificere cancer i forhold til raske frivillige. Spørgsmålet er derfor om de kan holde den flotte statistik, hvis det afprøves på ”risikogrupperne” for de samme kræftformer. Den svenske undersøgelse giver dog et bud på svaret i om med, at ”Hanna” kan lugte forskel på kræft i æggestokkene og andre kræftformer, dvs. hundene kan trænes til at genkende en specifik kræftform (Horvath et al., 2008).

Mulighederne for at benytte lugtbaserede metoder til screening og tidlig diagnosticering af cancer afhænger endvidere af en række praktiske forhold. Mens elektroniske næser må betragtes som en relativt simpel og billig teknologi at anvende, afhænger GC/MS og SIFT/MS til gengæld af dyrt og kompliceret måleudstyr.

Hvis almindelige familiehunde kan anvendes til ”cancer detector dogs”, og de kan trænes på 3-4 uger (McCulloch et al, 2006), må de være relativt billige i anskaffelse. Til gengæld skal træningen formentlig holdes ved lige, og derudover kommer opstaldning og anden pasning. Hvis man anvendte rotter i stedet for hunde, ville de praktiske problemer blive mindre, men i så fald må det selvfølgelig først undersøges, om rotter er lige så gode til at detektere kræft som de er til at detektere tuberkulose.

Det er allerede nævnt, at de lugtbaserede metoder kan foregå ”non-invasive”, hvilket gør undersøgelserne mere behagelige for patienterne. Endvidere må det betragtes som rimeligt uskadeligt, at få taget en lugtprøve. Røntgenundersøgelser er skønnes til sammenligning at være ansvarlige for 0.6-3.2 % af kræfttilfældene i udviklede lande. (Belda-Iniesta et al., 2007)

¹⁸⁰ Nøjagtigheden af diagnosen kan forbedres ved ”dermoscopic test”; billede-baserede teknikker (epiluminescence), men ingen når 100 % (D' Amico et al., 2008)

Andre sidegevinster

Tænker man lidt mere abstrakt, kan fokusering på lugtstoffer måske betyde, at man inden for sundhedsvæsenet begynder at fokusere mere på lugte, og hvordan sygdomslugte kan være et problem for nogle patienter, f.eks. den 55 årige kræftpatient (p. 4), der var blevet sendt hjem fra arbejde, fordi kollegerne ikke kunne holde lugten ud. Aromaterapi har vist sig effektiv som palliativ behandling i sådanne tilfælde (Warnke et al., 2006).

Hvad angår hundene, kan forskning i ”cancer detector dogs”, måske åbne op for, at hunde lukkes ind på hospitalerne, f.eks. som ”socialhunde” eller ”terapihunde”, der muligvis også kan være med til give bedre overlevelse og forbedre livskvaliteten for kræftpatienterne.¹⁸¹

¹⁸¹ Servicehunde: <http://canix.dk/dk/hunde/hunde.htm> og ”Hunde kan mere end vi aner”. (Lumbye, 07.10.2007)

8. Litteratur

8.1. Bøger

Aamund, Jane: Den hvide verden. Høst & Søn, København: 2000.

Bedicheck, Roy: The sense of smell. A fascinating account of the olfactory sense in animals, insects and birds. London: Michael Joseph LTD, 1960.

Eurell, Jo Ann og Brian L. Flappier. Textbook of veterinary histology. Sixth edition. Blackwell Publishing, 2006.

Fyrand, Ole: Det gådefulde sprog – om hudens kommunikation. Gyldendal, 1997.

Johnston., Robert E., Dietland Müller-Schwarze og Peter W. Sorenson (Eds.): Advances in Chemical Signals in Vertebrates. Springer 1999.

Marchlewska-Koj, Anna, John J. Lepri og Dietland Müller-Schwarze (Eds.): Chemical signals in vertebrates 9. New York: Kluwer Academic/Plenum Publish, 2001.

Miller, Malcolm E. et al.: Anatomy of the dog. London: W.B. Saunders Compagny, 1965.

Stoddart, D. Michael: The scented ape. The biology and culture of human odour. Cambridge: Cambridge University Press, 1990.

Süskind, Patrick: Perfume. The Story of a Murderer, Vintage, 1986

Syrotuck, William G.: Scent and the scenting dog (1972). Mechanicsburg: Barkleigh Productions, Inc., 2000.

8.2. Artikler

Abbas, A. et al.: Analysis of human leukocyte antigen (HLA)-G polymorphism in normal woman and in woman with recurrent spontaneous abortions. European Journal of Immunogenetics. 2004. 31. 275-78.

Acker, Helmut: The oxygen sensing signal cascade under the influence of reactive oxygen species. Philosophical Transactions of The Royal Society B. 2005. 360. 2001-10.

Adans, C.J. og K.G. Johnson: Sleep, work, and the effect of shift work in drug detector dogs *Canis familiaris*. Applied Animal Behaviour Science. 1994. 41. 115-126.

Algarra, Ignacio et al.: The selection of tumor variants with altered expression of classical and nonclassical MHC class I molecules: implications for tumor immune escape. Cancer Immunol Immunother. 2004. 53. 904-10.

- Amadou, Claire, et al.: "Co-duplication of olfactory receptor and MHC class I genes in the mouse major histocompatibility complex. *Human Molecular Genetics*. 2003. 12. 22. 3025-40.
- Amadou, Claire, et al.: The mouse major histocompatibility complex: some assembly required. *Immunological Reviews*. 1999. 167. 211-21.
- Andreyev, A. Yu., Yu, E. Kushnareva og A.A. Starkov: Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Moscow)*. 2005. 70. 2. 246-264.
- Archer, Stephen L. et al.: Mitochondria metabolism, redox signaling and fusion ... a mitochondria-ROS-HIF-1 α -Kv1.5 oxygen-sensing pathway at the intersection between, pulmonary hypertension and cancer. *American Journal of Physiology- Heart and Circulatory Physiology*. (December 14, 2007). Doi: 10.1152/ajpheart.01324.2007
- Balseiro, S.C. og H.R. Correia: Is olfaction detection of human cancer by dogs based on major histocompatibility complex – dependent odour components? – A possible cure and a precocious diagnosis of cancer. *Medical Hypotheses*. 2006. 66. 270-272.
- Barnett, Roy N. og Stuart H. Bender: The odor of apocrine secretion. *Connecticut Medicine*. 1969. 33. 515-17.
- Bartsch, Helmut og Jagadeesan Nair: Chronic inflammation and oxidative stress in the genesis and perpetuation of cancer: role of lipid peroxidation, DNA damage, and repair. *Langenbecks Arch. Surg*. 2006. 391. 499-510.
- Bartsch, Helmut og Jagadeesan Nair: Ultrasensitive and specific detection methods for exocyclic DNA adducts: Marker for lipid peroxidation and oxidative stress. *Toxicology*. 2000. 153. 105-114.
- Baumgart, Eveline et al.: Mitochondrial alterations caused by defective peroxisome biogenesis in a mouse model for Zellweger syndrome (PEX5 Knockout mouse). *American Journal of Pathology*. 2001. 159. 4. 1477-94.
- Baxi, Kosha N. et al.: Is the vomeronasal system really specialized for detecting pheromones? *Trends in Neurosciences*. 2006. 29. 1. doi:10.1016/j.tins.2005.10.002.
- Beauchamp, G.K. et al.: Chemosensory recognition of mouse major histocompatibility types by another species. *PNAS*. 1985. 82. 4186-88.
- Beauchamp, G.K. og K Yamazaki: Chemical signalling in mice. *Biochemical Society Transactions*. 2003. 31. Part 1. 147-151.
- Belda-Iniesta, C. et al.: New screening method for lung cancer by detecting volatile organic compounds in breath. *Clinical & Translational Oncology*. 2007. 9. 364-68.
- Ben-Arie, Nissim et al.: Olfactory receptor gene cluster on human chromosome 17: possible duplication of an ancestral receptor repertoire. *Human Molecular Genetics*. 1994. 3. 2. 229-35.

- Bestmann, H.J. et al.: Chemical analysis of urinary chemosignals in humans. *Advances in the Biosciences*. 1994. 93. 529-34.
- Bernier, Ulrich R. et al.: Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*). *Analytical Chemistry*. 2000. 72. 747-56.
- Bernier, Ulrich R., Matthew M. Booth og Richard A. Yost: Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 1. thermal desorption of attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*) from handles glass beads. *Analytical Chemistry*. 1999. 71. 1-7.
- Bhandawat, Vikas, Johannes Reisert og King-Wai Yau: Elementary response of olfactory receptor neurons to odorants. *Science*. 2005. 308. 1931-34.
- Bjering, Sidse, Ingunn Idsø Deinboll og Jan Mæhlen: Luktesansens betydning for mennesket. *Medicinsk årbog*. 2001. 23-30
- Boschat, Corina et al.: Pheromone detection mediated by a V1r vomeronasale receptor. *Nature neuroscience*. 2002. 5. 12. 1261-2.
- Boehm, Thomas og Frank Zufall: MHC peptides and the sensory evaluation of genotype. *Trends in Neurosciences*. 2006. 29. 2. 100-107.
- Boyse, Edward A., Gary K. Beauchamp og Kuino Yamazaki: The genetics of body scent. *Trends in Genetics*. 1987. 3. 4. 97-102.
- Brar, Sukhdev S. et al.: An NAD(P)H oxidase regulates growth and transcribition in melanoma cells. *Am. J. Physiol. Cell. Physio*. 2002. 282. C1212-24.*
- Brar, Sukhdev S. et al.: Redox signalling of NF- κ B by membrane NAD(P)H oxidases in normal and maglignant cells. *Protoplasma*. 2003.221. 117-127.
- Brandon, M., P. Baldi og D.C. Wallace: Mitochondrial mutations in cancer. *Oncogene*. 2006. 25. 4647-62.
- Brennan, Peter A. og Eric Keverne: Something in the air? New insights into mammalian pheromones. *Current Biology*. 2004. 14. R81-R89.
- Brennan, Peter A.: The nose knows who's who: chemosensory individuality and mate recognition in mice. *Hormones and Behavior*. 2004. 46. 231-240.
- Brennan, Peter A. et al: Patterns of expression of the immediate-early gene *egr-1* in the accessory olfactory bulb of female mice exposed to pheromonal constituents of male urine. *Neuroscience*. 1999. 90. 4. 1463-70.

- Brookes, Paul S. et al.: Calcium, ATP, and ROS: a mitochondrial love-hate triangle. *American Journal of Cell Physiology*. 2004. 287. 817-33.
- Brown, Richard E.: Mammalian social odors: A critical review. *Advances in the Study of Behavior*. 1979. 10. 103-62.
- Brown, Richard: What is the role of the immune system in determining individually distinct body odours? *International Journal of Immunopharmacology*. 1995. 17. 8. 655-61.
- Brown, Richard E. et al.: "Class I and class II regions of the major histocompatibility complex both contribute to individual odors in congenic inbred strains of rats. *Behaviour Genetics*. 1989. 19. 5. 659-74.
- Brown, Richard E. et al.: The major histocompatibility complex and the chemosensory recognition of individuality in rats. *Physiology & Behavior*. 1987. 40. 65-73.
- Bhutta, Mahmood F.: Sex and the nose: human pheromonal responses. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2007. 100. 268-274.
- Buck, Linda. og Axel, Richard.: A novel multigene family may encode odorant receptors: A molecular basis for odor recognition. *Cell*. 1991. 65. 175-187.
- Buck, Linda B.: The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals. *Cell*. 2000. 100. 611-18.
- Buck, Linda B.: The search for odorant receptors. *Cell*. 2004. S116. S117-S119.
- Buck, Linda B.: Unraveling chemosensory diversity. *Cell*. 1995. 83. 349-52.
- Buszewski, Boguslaw et al.: Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. *Biomedical Chromatography*. 2007. 21. 553-66.
- Carew, Jennifer S. og Peng Huang: Mitochondrial defects in cancer. *Molecular cancer*. 2002. Dec. 9; 1: 9. doi:10.1186/1476-4598-1-9.
- Cheetham, Sarah A. et al.: The genetic basis of individual-recognition signals in the mouse. *Current Biology*. 2007. 17. 1771-77.
- Chamero, Pablo et al.: Identification of protein pheromones that promote aggressive behaviour. *Nature*. 2007. 450. 899-903.
- Chamulitrat, Walee et al.: Association of gp91phox homolog nox1 with anchorage-independent growth and MAP kinase-activation of transformed human keratinocytes. *Oncogene*. 2003. 22. 6053.
- Chen, Xing et al.: A study of volatile organic compounds exhaled by lung cancer cells in vitro for breath diagnosis. *Cancer*. 2007. 110. 4. 835-44.

Christofk, Heather R. et al.: The M2 splice isoform of pyruvate kinase is important for cancer metabolism and tumour growth. *Nature*. 2008. 452. 230-234.
doi:10.1038/nature06734

Church, John og Hywel Williams: Another sniffer dog for the clinic. *The Lancet*. 2001. 358. 930.

Cole, T.J. teaching dogs new tricks. *British Medical Journal*. 2004. 329. 715.
doi:10.1136/bmj.329.7468.715.

Curran, Allison et al.: Analysis of the uniqueness and persistence of human scent. *Forensic Science Communications*. 2005a. 7. 2.
http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/april2005/research/2005_04_research02.htm

Curran, Allison, M et al.: Comparison of the volatile organic compounds present in human odor using SPME-GC/MS. *Journal of Chemical Ecology*. 2005b. 31. 7. 1607-19.

Curran, Allison M. et al.: The frequency of occurrence and discriminatory powers of compounds found in human scent across a population determined by SPME-GC/MS. *Journal of Chromatography B*. 2007. 846. 86-97.

Czarnecka, Anna M., Pawel Golik og Ewa Bartnik: Mitochondrial DNA mutations in human neoplasia. *Journal of Applied Genetics*. 2006. 47. 1. 67-78.

D'Amigo, A. et al.: Identification of melanoma with a gas sensor array. *Skin Research and Technology*. 2008. 14. 226-236.

Davies, Simon, Patrik Spanel og David Smith: A new 'online' method to measure increased exhaled isoprene in end-stage renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2001. 16. 836-39.

Di Natale, Corrado et al.: Lung cancer identification by analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors. *Biosensors and Bioelectronics*. 2003. 18. 1209-18.

Dorries, Kathleen M., Elisabeth Adkins-Regan og Bruce P. Halpern: Sensitivity and behavioural responses to the pheromone androstenedione are not mediated by the vomeronasal organ in domestic pigs. *Brain Behaviour and Evolution*. 1997. 49. 53-62.

Dulac, Catherine og Richard Axel: A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. *Cell*. 1995. 83. 195-206.

Ebeler, Susan E., Andrew J. Clifford og Takayuki Shibamoto: Quantitative analysis by gas chromatography of volatile carbonyl compounds in expired air from mice and human. *Journal of Chromatography B*. 1997. 702. 211-15.

Elsaesser, Rebecca og Jacques Paysan: The sense of smell, its signalling pathways, and the dichotomy of cilia and microvilli in olfactory sensory cells. *BMC Neuroscience*. 2007. 8. (Suppl 3): S1.

Eggert, Frank: MHC-associated and MHC-independent urinary chemosignals in mice. *Physiology & Behavior*. 1996. 59. 1. 57-62.

Eggert, Frank et al.: The major histocompatibility complex and the chemosensory signalling of individuality in humans. *Genetica*. 1999. 104. 265-73.

Eklund, Amy: The effect of early experience on MHC-based mate preferences in two B10.W strains of mice (*Mus domesticus*). *Behavior Genetics*. 1997a. 27. 3. 223-29.

Eklund, Amy: The major histocompatibility complex and mating preferences in wild house mice (*Mus domesticus*). *Behavioral Ecology*. 1997b. 8. 6. 630-34.

Eklund, Amy C. et al.: Polymorfism in the HLA-linked olfactory receptor genes in the hutterites. *Human Immunology*. 2000. 61. 711-17.

Fan, Wufang et al.: Identification of seven new human MHC class I region genes around the HLA-F locus. *Immunogenetics*. 1996. 44. 97-103.

Fan, Wufang et al.: Olfactory receptor-like genes are located in the human major histocompatibility complex. *Genomics*. 1995. 27. 119-23.

Filiatre, J.C. et al., Behavioral variability of olfactory exploration of the pet dog in relation to human adults. *Applied Animal Behaviour Science*. 1991. 30. 341-50.

Finkel, Toren og Nikki J. Holbrook: Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000. 408. 239-47.

Firestein, Stuart: A Nobel nose: the 2004 Nobel Prize in physiology and medicine. *Neuron*. 2005. 45. 333-338.

Frederico, Alessandro et al: Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int. J. Cancer*. 2007. 121. 2381-86.

Gago-Dominguez, Manuela, Xuejuan Jiang og J. Esteban Castelao: Lipid peroxidation, oxidative stress genes and dietary factors in breast cancer protection: a hypothesis. *Breast Cancer Research*. 2007. 9. 1. 201. doi: 10.1186/bcr1628.

Garzia-Lora, Angel, Ignacio Algarra og Federico Garrido: MHC class I antigens, immune surveillance, and tumor immune escape. *Journal of Cellular Physiology*. 2003. 195. 346-55.

Gendron, Kirsten B. et al.: In vitro discrimination of tumor cell lines with an electronic nose. *Otolaryngology-Head and Neck Surgery*. 2007. 137. 269-73.

Gessner, Christian et al.: Detection of p53 gene mutations in exhaled breath condensate of non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer*. 2004. 43. 215-22.

Gilbert, Avery Nelson, Kunio Yamazaki og Gary K. Beauchamp: Olfactory discrimination of mouse strains (*Mus musculus*) and major histocompatibility types by humans (*Homo sapiens*). Journal of Comparative Psychology. 1986. 100. 3. 262-65.

Giles, Gregory I.: The redox regulation of thiol dependent signalling pathways in cancer. Current Pharmaceutical Design. 2006. 12. 4427-43.

Gillis, Carisa et al.: Scent-mediated kin recognition and a similar type of long-term olfactory memory in domestic dog (*Canis familiaris*). Johnston., Robert E., Dietland Müller-Schwarze og Peter W. Sorenson (Eds.): Advances in Chemical Signals in Vertebrates. Springer 1999: 309-314.

Gordon, Robert T. et al.: The use of canines in the detection of human cancers. The Journal of Alternative and Complementary Medicine. 2008. 14. 1. 61-7.

Gordon, S.M. et al.: Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. Clin. Chem. 1985. 31. 8. 1278-82

Grant, Frederick W.: Comments on a proposed mechanism of formation of the “schizophrenic odor factor”. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology. 1973. 6. 1. 335-36.

Harvey, Lisa M. et al.: The use of bloodhounds in determining the impact of genetics and the environment on the expression of human odortype. J. Forensic Sci. 2006. 51. 5. 1109-14.

Hatt, Hanns: Molecular and cellular basis of human olfaction. Chemistry & Biodiversity. 2004. 1. 1857-69.

Hayden, Gregory F.: Olfactory diagnosis in medicine. Postgraduate Medicine. 1980. 67. 110-15.

Henderson, et al.: Cancer vaccines and immunotherapies: emerging perspectives. Vaccine. 2005. 23. 2359-62.

Hedge, Ashok N.: MHC molecules in the vomeronasale organ: contributors to pheromonal discrimination? TRENDS in Neurosciences. 2003. 26. 12. 646-50.

Hepper, Peter G.: Long-term retention of kinship recognition established during infancy in the domestic dog. Behaviour Processes. 1994. 33. 3-14.

Hepper, Peter G.: The discrimination of human odour by the dog. Perception. 1988. 17. 4. 549-54.

Horvath, György et al.: Human ovarian carcinomas detected by specific odor. Integrative Cancer Therapies. 2008. 7. 2. 76-80.

Houstis, Nicholas, Evan D. Rosen og Eric S. Lander: Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. Nature. 2006. 440. 944-8.

- Hoye, Adam T. et al., Targetting mitochondria. *Accounts of Chemical Research*. 2008. 41. 1. 87-97.
- Hsu, Tin-Chen et al.: Activator protein 1 (AP-1)- and nuclear factor κ B (NF- κ B)-dependent transcribntional events in carcinogenesis. *Free Radical Biology & Medicine*. 2000. 28. 9. 1338-48.
- Hunt, Joan S. et al.: HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *The FASEB Journal*. 2005. 19. 681-93.
- Hurst, Jane L. et al.: MHC odours are not required or sufficient for recognition of individual scent owners. *Proceedings of The Royal Society B*. 2005. 272. 715-724.
- Hyams, Jeffrey S.: Intestinal gas in children. *Current Opinion in Pediatrics*. 1996. 8. 467-70.
- Issel-Tarver og Jasper Rine: Organisation and expression of canine olfactory receptor genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. 94. 10897-902.
- Jacob, S et al.: Paternally inherited HLA alleles are associated with women's choice of male odor. *Nature Genetics*. 2002. 30. 175-79.
- Kajiya, Kentaro et al.: Molecular bases of odor discrimination: recognition of olfactory receptors that recognize overlapping sets of odorants. *The Journal of Neuroscience*. 2001. 21. 16. 6018-25.
- Kalmus, H.: The discrimination by the nose of the dog of individual human odours and in particular of the odours of twins. *The British Journal of Animal Behaviour*. 1955. 3. 23-31.
- Kavaliers, Martin et al.: Olfactory-mediated parasite recognition and avoidance: linking genes to behaviour. *Hormones and Behavior*. 2004. 46. 272-83.
- Kawahara, Tsukasa, Mark T. Quinn og J. David Lambeth: Molecular evolution of the reactive oxygen-generating NADPH oxidase (Nox/Duox) family of enzymes. *BMC Evolutionary Biology*. 2007. 7. 109. doi: 10.1186/1471-2148-7-109.*
- Kelliher, Kevin R.: The combined role of the main olfactory and vomeronasale systems in social communication in mammals. *Hormones and Behavior*. 2007. 52. 561-70.
- Kelliher, Kevin R. et al.: Pheromonal recognition memory induced by TRPC2-independent vomeronasal sensing. *European Journal of Neuroscience*. 2006. 23. 3385-90.
- Keverne, Eric B.: Pheromones, vomeronasale function, and gender-specific behaviour. *Cell*. 2002. 108. 735-8.
- Keverne, Eric B.: The vomeronasale organ. *Science*. 1999. 286. 716-20.

Knapp, Lealie A., Julie Robson and John S. Waterhouse: Olfactory signals and the MHC: A Review and a case study in *Lemur catta*. American Journal of Primatology. 2006. 68. 568-584.

Komar, Debra: The use of cadaver dogs in locating scattered, scavenged human remains: preliminary field test results. Journal of Forensic Sciences. 1999. 44. 2. 405-7.

Köhler, H.B.K. et al., Involvement of reactive oxygen species in TNF- α mediated activation of the transcription factor NF- κ B in canine dermal fibroblast. Veterinary Immunology and Immunopathology. 1999. 71. 125-42.

Krisher, K. og C.C. Pfeiffer: Biochemical relationship between kryptopyrrole (Mauve Factor) and trans-3-methyl-2-hexenoic acid (Schizophrenia odor). Research Communications in Pathology and Pharmacology. 1973. 5. 9-15.

Kroemer, G.: Mitochondria in cancer. Oncogene. 2006. 25. 4630-2.

Lambeth, J. David: Nox enzymes, ROS, and chronic disease: an example of antagonistic pleiotropy. Free Radic. Biol. Med. 2007. 43. 3. 332-47.

Lambeth, J. David: Nox enzymes and the biology of reactive oxygen. Nature. 2004. 4. 181-89.

Lehmann, Paul F og Earl H. Freimer: The nose in diagnosis. The Lancet. 1983. 8319. 292-93.

Leinders-Zufall, Trese et al: MHC class I peptides as chemosensory signals in the vomeronasal organ. Science. 2004. 306. 1033-37.

Leinders-Zufall, Trese, et al.: Ultrasensitive pheromone detection by mamalian vomeronasal neurons. Nature. 2000. 405. 792-96.

Leybold, Bradley G. et al.: Altered sexual and social behaviour in trp2 mutant mice. PNAS. 2002. 99. 9. 6376-81.

Lévai, Olga et al.: Cells in the vomeronasale organ express odorant receptors but project to the accessory olfactory bulb. The Journal of Comparative Neurology. 2006. 498. 476-90.

Levitt, Michael D.: Intestinal gas production – recent advances in flatology. The New England Journal of Medicine. 1980. 302. 26. 1474-5.

Liddell, Keith og John White: The smell of cancer. British Journal of Dermatology. 1975. 92. 215-17.

Liman, Emily R., David P. Corey og Catherine Dulac: TRP2: A candidate transduction channel for mammalian pheromone sensory signalling. PNAS. 1999. 96. 5791-96.

Lin, Michael T og M. Flint Beal: Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. Nature. 2006. 443. 787-95.

- Ling, Yi-He et al: Reactive oxygen species generation and mitochondrial dysfunction in the apoptotic response to bortezomib, a novel proteasome inhibitor, in human H460 non-small cell lung cancer cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003. 278. 36. 33714-23.
- Lockman David: Olfactory diagnosis. *Cutis*. 1981. 27. 645-47.
- Loebel, Dietrich: Cloning, post-translational modifications, heterologous expression and ligand-binding of boar salivary lipocalin. *Biochem. J*. 2000. 350. 369-379.
- Lorenzo, Norma et al.: Laboratory and field experiments used to identify *Canis lupus var. familiaris* active odor signature chemicals from drugs, explosives, and humans. *Anal. Bioanal. Chem*. 2003. 376. 1212-24.
- Lukas, Terrence, Eta S. Berner og Charles Kanakis: Diagnosis by smell? *Medical Education*. 1977. 52. 349-50.
- Machado, Roberto F. et al.: Detection of lung cancer by sensor array analysis of exhaled breath. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2005. 171. 1286-91.
- Malik, Fayaz et al.: Reactive oxygen species generation and mitochondrial dysfunction in the apoptotic cell death of human myeloid leukaemia HL-60 cells by a dietary compound withaferin A with concomitant protection by N-acetyl cysteine. *Apoptosis*. 2007. 12. 2115-33.
- Malone, Nicholas et al.: "Social status, odour communication and mate choice in wild house mice. Chemical signals in vertebrates 9. New York: Kluwer Academic/Plenum Publish, 2001: 217-24.
- Manolis, Antony: The diagnostic potential of breath analysis. *Clinical Chemistry*. 1983. 5-15.
- Manning, C. Jo, Edward K. Wakeland og Wayne K. Potts: Communal nesting in mice implicate MHC genes in kin recognition. *Nature*. 1992. 360. 581-83.
- Marchese, Silvana et al.: Lipocalins of boar salivary glands binding odours and pheromones. *Eur. J. Biochem*. 1998. 252. 563-68.
- Masotti, Lanfranco, Emanuela Casali og Tommaso Galeotti: Lipid peroxidation in tumor cells. *Free Radical Biology & Medicine*. 1988. 4. 377-86.
- Marnett, Lawrence J.: Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*. 2002. 181-82. 219-22.
- McCulloch, Michael et al.: Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung cancer and breast cancers. *Integrative Cancer Therapies*. 2006. 5. 1. 30-39.
- McCormick, J.P. et al.: Gas chromatography and pattern matching of headspace samples from human sweat. *Advances in the Biosciences*. 1994. 93. 539-42.

- Mehra, Narinder K. og Gurvinder Kaur: Gene map of the human leukocyte antigen (HLA) region. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2003. 5. 7. 1-17
- Michael, Richard P., R.W. Bonsall og M. Kutner: Volatile fatty acids, “copulins”, in human vaginal secretions. *Psychoneuroendocrinology*. 1975. 1. 153-63.
- Miekisch, Wolfram et al.: Diagnostic potential of breath analysis – focus on volatile organic compounds. *Clinica Chimica Acta*. 2004. 347. 25-39.
- Miller, Greg: Axel, Buck share award for deciphering how the nose knows. *Science*. 2004. 306. 5694. 207.
- Mitchell, S.C. og R.L. Smith: Trimethylaminuria: The fish malodour syndrome. *Drug Metabolism and Disposition*. 2001. 29. 4. 517-21.
- Moldovan, Leni og Nicanor I. Moldovan: Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and Cell biology*. 2004. 122. 395-412.
- Mombaerts, Peter: Genes and ligands for odorant, vomeronasale and taste receptors. *Nature Reviews. Neuroscience*. 2004. 5. 263-78.
- Montag, Stefanie et al.: “Electronic nose” detects major histocompatibility complex-dependent prerenal and postrenal odor components. *PNAS*. 2001. 98. 16. 9249-9254.
- Montag, Stefanie et al.: “Electronic nose” detects major histocompatibility complex-dependent prerenal and postrenal odor components. *PNAS*. 2001. 98. 16. 9249-54.
- Moreno-Sánchez, Rafael et al.: Energy metabolism in tumor cells. *FEBS Journal*. 2007. 274. 1393-1418.
- Mulder, D. J.: Dogs in diagnosis. *The Lancet*. 1971. 7723. 555.
- Mundy, Nicholas I.: Genetic basis of olfactory communication in primates. *American Journal of Primatology*. 2006. 68. 559-67.
- Murakami, Akira og Hajime Ohigashi: Targeting NOX, INOS and COX in inflammatory cells: chemoprevention using food phytochemicals. *Int. J. Cancer*. 2007. 121. 2357-63.
- Myznikov, N.M.: Sensitivity of the olfactory analyser in service dogs and methods of enhancing it. *Pavlov Journal of Higher Nervous Activity*. 1958. 8. 691-96.
- Nelson, Kirstin K. og J. Andres Melendez: Serial review: The powerhouse takes control of the cell: the role of mitochondria in signal transduction. *Free Radical Biology & Medicine*. 2004. 37. 6. 768-784.
- Niimura Yoshihito og Masatoshi Nei: Evolutionary dynamics of olfactory and other chemosensory receptor genes in vertebrates. *Journal of Human Genetics*. 2006. 51. 6. 505-17.

- Nishikawa, Makiya: Reactive oxygen species in tumor metastasis. *Cancer Letters*. 2008. 266. 53-59.
- Novotny, Milos V. et al.: Chemical identification of MHC-influenced volatile compounds in mouse urine. I: quantitative proportions of major chemosignals. *J. Chem. Ecol.* 2007. 33. 417-34.
- Ober, Carole et al.: HLA and Mate Choice in humans. *American Journal of Human Genetics*. 1997. 61. 497-504.
- Ober, Carole, Lowel R. Weitkamp og Nancy Cox: HLA and mate choise. Johnston., Robert E., Dietland Müller-Schwarze og Peter W. Sorenson (Eds.): *Advances in Chemical Signals in Vertebrates*. Springer 1999: 189-200.
- Ohshima, Hiroshi, Masayuki Tatemichi og Tomohiro Sawa: Chemical basis of inflammation-induced carcinogenesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2003. 417. 3-11.
- Olender, Tsviya et al.: The canine olfactory subgenome. *Genomics*. 2004. 83. 3. 361-72.
- O'Neill, H.J. et al.: A computerized classification technique for screening for the presence of breath biomarkers in lung cancer. *Clin. Chem.* 1988. 34/8. 1613-18.
- Ohta, S.: Contribution of somatic mutations in the mitochondrial genome to the development of cancer and tolerance against anticancer drugs. *Oncogene*. 2006. 25. 4768-76.
- Ostrovskaya, Asira et al.: Study and identification of volatile compounds from human skin. *Journal of Cosmetic Science*. 2002. 53. 2. 147-48.
- Otto, James, Michael F. Brown og William Long III: Training rats to search and alert contraband odors. *Applied Animal Behaviour Science*. 2002. 77. 217-32.
- Pauling, Linus et al.: Quantitative analysis of urine vapour and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1971. 68. 10. 2374-2376.
- Parkinson, C.K.: Distinktive odour in mental illness. *Medical Journal of Australia*. 1969. 2. 1078.
- Pause, Bettina M. et al.: Perception of HLA-related body odors during the course of menstrual cycle. Johnston, Robert E., Dietland Müller-Schwarze og Peter W. Sorenson (Eds.): *Advances in Chemical Signals in Vertebrates*. Springer 1999: 201-08.
- Pavlou, Alexandros K. et al.: Use of an electronic nose system for diagnosis of urinary tract infections. *Biosensors & Bioelectronics*. 2002. 17. 893-899.
- Penn, Justin J.: The scent of genetic compability: sexual selection and the major histocompability complex. *Ethology*. 2002. 108. 1-21.

- Penn, Dustin J. et al: Individual and gender fingerprints in human body odour. *Journal of the Royal Society Interface*. 2007. 4. 331-40.
- Penn, Dustin og Wayne K. Potts: How do major histocompatibility complex genes influence odor and mating preferences. *Advances in Immunology*. 1998a. 69. 411-36.
- Penn, Dustin og Wayne K. Potts: Untrained mice discriminate MHC-determined Odors. *Physiology & Behavior*. 1998b. 63. 3. 235-43.
- Petros, John A. et al: mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. *PNAS*. 2005. 102. 3. 719-24.
- Pickel, Duane et al.: Evidence for canine olfactory detection of melanoma. *Applied Animal Behaviour Science*. 2004. 89. 107-16.
- Pistoia, Vito et al.: Soluble HLA-G: are they clinically relevant? *Seminars in Cancer Biology*. 2007. 17. 469-79.
- Phillips, Michael et al.: Detection of lung cancer using weighted digital analysis of breath biomarkers. *Clinica Chimica Acta*. 2008. 393. 76-84.
- Phillips, Michael et al.: Detection of lung cancer with volatile markers in the breath. *Chest*. 2003a. 123. 6. 2115-23.
- Phillips, Michael et al.: Prediction of breast cancer using volatile biomarkers in the breath. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2006. 99. 19-21.
- Phillips, Michael et al.: Volatile markers of breast cancer in the breath. *The Breast Journal*. 2003b. 9. 3. 184-91.
- Phillips, Michael et al.: Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study. *Lancet*. 1999. 353. 1930-33.
- Phillips, Michael et al.: Prediction of lung cancer using volatile biomarkers in breath. *Cancer Biomark*. 2007. 3. 2. 95-109.
- Poli, Diana et al.: Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow up study. *Respiratory Research*. 2005. 6. 71. doi:10.1186/1465-9921-6-71
- Poran, N.S.: Cyclic attractivity of human female odors. *Advances in the Biosciences*. 1994. 93. 555-60.
- Potts, Wayne K., C. Jo Manning og Edward K. Wakeland: Mating pattern in seminatural populations of mice influenced by MHC genotype. *Nature*. 1991. 352. 619-21.
- Porter, Richard H. et al.: Maternal recognition of neonates through olfactory cues. *Physiology & Behavior*. 1983. 30. 151-54.

- Porter, Richard H.: Odor signatures and kin recognition. *Physiology & Behavior*. 34. 445-48.
- Porter, Richard H.: Olfaction and human kin recognition. *Genetica*. 1999. 104. 259-63.
- Porter, Richard H.: The biological significance of skin-to-skin contact and maternal odours. *Acta Paediatrica*. 2004. 93. 12. 1560-62.
- Quignon, Pascale, et al.: Comparison of the canine and human olfactory receptor gene repertoires. *Genome Biology*. 2003. 4. 12: R80.
- Radisky, Derek C. et al.: Rac1b and reactive oxygen species mediate MMP-3-induced EMT and genomic instability. *Nature*. 2005. 436. 123-7.
- Rahman, Ifran og Frank Kelly: Biomarkers in breath condensate: a promising new non-invasive technique in free radical research. *Free Radical Research*. 2003. 37. 12. 1253-66.
- Ramsey, Mathew R. og Norman E. Sharpless: Ros as a tumour suppressor? *Nature Cell Biology*. 2006. 8. 1213-15.
- Rawson, Nancy E. og George Gomez: Cell and molecular biology of human olfaction. *Microscopy Research and Technique*. 2002. 58. 142-51.
- Restrepo, Diego et al.: Odortypes and MHC peptides: complementary chemosignals of MHC haplotype? *Trends in Neurosciences*. 2006. 29. 11. 604-9.
- Rinaldi, Andrea: The Scent of life. The exquisite complexity of the sense of smell in animals and humans. *EMBO reports*. 2007. 8. 7. 629-33.
- Roberts II, L. Jackson og J.D. Morrow: Products of the isoprostane pathway: unique bioactive compounds and markers of lipid peroxidation. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2002. 59. 808-20.
- Roberts, S. Graig og Anthony C. Little: Good genes, complementary genes and human mate preferences. *Genetica*. 2008. 132. 309-21.
- Rodriguez, Ivan: Pheromone receptors in mammals. *Hormones and Behavior*. 2004. 46. 219-230.
- Romanes, G.J.: Experiments on the sense of smell in dogs. *Nature*. 1887. july 21. 273-74.
- Smith, David og Patrik Spanel: The challenge of breath analysis for clinical diagnosis and therapeutic monitoring. *The Analyst*. 2007. 132. 390-96.
- Rouquier, Sylvie og Dominique Giorgi: Olfactory receptor gene repertoires in mammals. *Mutation Research*. 2007. 616. 95-102.

Röck, Frank et al.: Quantitative analysis of Mouse urine volatiles: In search of MHC-dependent differences. PLoS ONE. 2007. 5. e429. 1-8.

Santos, Pablo Sandro Carvalho et al.: New evidence that the MHC influences odor perception in humans: a study with 58 southern brazilian students. Hormones and Behaviour 2005. 47. 384-88.

Schaal, Benoist og Richard H. Porter: "Microsmatic humans" revisited: the generation and perception of chemical signals. Advances in the Study of Behavior. 1991. 20. 135-199.

Schellinck, Heather og Richard E. Brown: Searching for the source of urinary odors of individuality in rodents. Johnston., Robert E., Dietland Müller-Schwarze og Peter W. Sorenson (Eds.): Advances in Chemical Signals in Vertebrates. Springer, 1999.

Schellinck, Heather M. og Richard E. Brown: Searching for the source of urinary odors of individuality in rodents. Johnston, Robert E., Dietland Müller-Schwarze og Peter W. Sorenson (Eds.): Advances in Chemical Signals in Vertebrates. Springer 1999: 267-80.

Schoon, Gertrud A.A: A first assessment of the reliability of an improved scent identification line-up. Journal of Forensic Sciences. 1998. 43. 1. 70-75.

Schoon, Gertrud A.A.: Scent identification lineups by dogs (Canis familiaris): experimental design and forensic application. Applied Animal Behaviour Science. 1996. 49. 257-67.

Schoon, Gertrud A.A. og J.C. Bruin: The ability of dogs to recognize and cross-match human odours. Forensic Science International. 1994. 69. 111-118.

Schrader, Michael og H. Dariush Fahimi: Mammalian peroxisomes and reactive oxygen species. Histochemistry and Cell. Biology. 2004. 122. 383-393.

Schrader, Michael og H. Dariush Fahimi: Peroxisomes and oxidative stress. Biochimica et Biophysica Acta. 2006. 1763. 1755-66.

Schuster, Manfred et al.: Cancer immunotherapy. Biotechnology Journal. 2006. 1. 138-47.

Schwende, F.J., J.W. Jorgenson og M. Novotny: Possible chemical basis for histocompatibility-related mating preferences in mice. Journal of Chemical Ecology. 1984. 10. 11. 1603-14.

Settle, Ray H. et al.: Human scent matching using specially trained dogs. Animal Behaviour. 1994. 48. 1443-48.

Shepherd, Gordon M.: Smells, brains and hormones. Nature. 2006. 439. 149-51.

Shibamoto, T.: Analytical methods for trace levels of reactive carbonyl compounds formed in lipid peroxidation systems. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2006. 41. 12-25.

Singer, Alan G., Gary K. Beauchamp og Kunio Yamazaki: Volatile signals of the major histocompatibility complex in male mouse urine. Proc. Natl. Acad. Sci. 1997. 94. 2210-14.

Singh, Devedra og P. Matthew Bronstad: Female body odour is potential cue to ovulation. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 2001. 268. 797-801.

Singh, P.B.: et al.: Rearing rats in a germ free environment eliminates their odours of individuality. *Journal of Chemical Ecology.* 1990, 16. 1667-82.

Singh, Prim B.: Chemosensation and genetic individuality. *Reproduction.* 2001. 121. 529-539.

Singh, Prim B.: The present status of the 'carrier hypothesis' for chemosensory recognition of genetic individuality. *Genetica.* 1999. 104. 231-233.

Singh, Prim B., Richard E. Brown og Bruce Roser: MHC antigens in urine as olfactory recognition cues. *Nature.* 1987. 327. 161- 63.

Smith, David, Patrik Spänel og Simon Davies: Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study. *Journal of Applied Physiology.* 1999. 87. 1584-88.

Smith, David et al.: Quantification of acetaldehyde released by lung cancer cells in vitro using selected ion flow tube mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* 2003. 17. 845-50.

Smith, David og Patrik Spänel: The challenge of breath analysis for clinical diagnosis and therapeutic monitoring. *Analyst.* 2007. 132. 390-96.

Smith, David og Patrik Spänel: The novel selection-ion flow tube approach to trace gas analysis of air and breath. *Rapid Communications in Mass Spectrometry.* 1996. 10. 1183-98.

Smith, K. og Jacob O. Sines: Demonstration of a peculiar odor in the sweat of schizophrenic patients. *Archives of General Psychiatry.* 1960. 184. 2.

Smith, Leon G. og Benjamin Levinson: The use of smell in differential diagnosis. *The Lancet.* 1982. 8313.1452-53.

Smith, Michelle, Leon G. Smith og Benjamin Levinson: The use of smell in differential diagnosis. *The Lancet.* 1982. December 25. 1452.

Snyder, Solomon H., Pamela B. Sklar og Jonathan Pevsner: Molecular Mechanisms of olfaction. *The Journal of Biological Chemistry.* 1988. 263. 28. 13971-74.

Sommerville, Barbara A., James P. McCormick og Donald M. Broom: Analysis of human sweat volatiles: an example of pattern recognition in analysis and interpretation of gas chromatograms. *Pesticide Science.* 1994. 41. 365-68.

Sommerville, Barbara A. og David Gee: Research on body odours: New prospects for combating crime? *I.C.P.R.* 1987. Juli-August. 18-22.

Sommerville, Barbara A. og D.M. Broom: Olfactory awareness. *Applied Animal Behaviour Science*. 1998. 57. 269-86.

Sommerville, Barbara A. et al.: Volatile identity signals in the human axillary sweat: the possible influence of MHC class I genes. *Advances in the Biosciences*. 1994. 93. 535-38.

Spanel, Patrik et al.: Analysis of formaldehyde in headspace of urine from bladder and prostate cancer patients using selected ion flow tube mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1999. 13. 1354-59.

Spehr, March et al.: Essential role of the main olfactory system in social recognition of major histocompatibility complex peptide ligands. *The Journal of Neuroscience*. 2006. 15. 26. 7. 1961-70.

Spiteller, Gerhard: Are lipid peroxidation processes induced by changes in the cell wall structure and how are these processes connected with diseases? *Medical Hypotheses*. 2003. 60. 1. 69-83.

Stockham, Rex A., Dennis L. Slavin og William Kift: Specialized use of human scent in criminal investigations. *Forensic Science Communications*. 2004. 6. 3.

http://www.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/july2004/research/2004_03_research03.htm

Stowers, Lisa et al.: Loss of sex discrimination and male-male aggression in mice deficient for TRP2. *Science*. 2002. 295. 1493-1500.

Suh, Young-Ah et al.: Cell transformation by superoxide generating oxidase Mox1. *Nature*. 1999. 401. 79-82.

Thesen, Aud, Johan B. Steen og Kjell B. Døving: Behaviour of dogs during olfactory tracking. *Journal of Experimental Biology*. 1993. 180. 247-51.

Tirindelli, Roberto, Carla Mucignat-Caretta og Nicholas J.P. Ryba: Molecular aspects of pheromonal communication via the vomeronasale organ of mammals. *Trends in Neuroscience*. 1998. 21. 482-6.

Troccaz, Myriam et al.: 3-Methyl-3-sulfanylhexasan-1-ol as a major descriptor for the human axilla-sweat odour profile. *Chemistry & Biodiversity*. 2004. 1. 1022-35.

Touhara, Kazushige: Odor discrimination by G-protein-coupled olfactory receptors. *Microscopy Research and Technique*. 2002. 58. 135-41.

Ushio-Fukai, Masuko og Wayne Alexander: reactive oxygen species as mediators of angiogenesis signalling. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2004. 264. 85-97.

Ushio-Fukai, Masuko og Yoshimasa Nakamura: Reactive oxygen species and angiogenesis: NADPH oxidase as a target for cancer therapy. *Cancer Letters*. 2008. 266. 37-52.

Walker, Dianne Biedler et al.: Naturalistic quantification of canine olfaction sensitivity. *Applied Animal Behaviour Science*. 2006. 97. 241-54.

Wang, Zhenshan, Aaron Nudelman og Daniel R. Storm: Are pheromones detected through the main olfactory epithelium? *Mol. Neurobiol.* 2007. 35. 317-23.

Wang, Zhenshan et al.: Pheromone detection in male mice depends on signalling through the type 3 adenylyl cyclase in the main olfactory epithelium. *The Journal of Neuroscience*. 2006. 26 (28). 7375-79.

Warnke, P.H. et al.: Antibacterial essential oils in malodorous cancer patients: Clinical observations in 30 patients. *Phytomedicine*. 2006. 13. 463-67.

Waveren, Corina van et al.: Oxidative phosphorylation dysfunction modulates expression of extracellular matrix – remodelling genes and invasion. *Carcinogenesis*. 2006. 27. 3. 409-18.

Wedekind, Claus et al.: MHC-dependent mate preferences in humans. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 1995. 260. 245-249.

Wedekind, Claus og Sandra Furi: Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? *Proc. R. Soc. Lond. B*. 1997. 264. 1471-79.

Welch, John: A detector dog for Screwworms (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Economic Entomology*. 1990. 83. 1932-34.

Weller, Aron: Communication through body odour. *Nature*. 1998. 392. 126-7.

Williams, Hywel og Andres Pembroke: Sniffer dogs in the melanoma clinic? *The Lancet* 1989. 8640. April 1. 734.

Williams, Marc og James M. Johnston: Training and maintaining the performance of dogs (*Canis familiaris*) on an increasing number of odor discriminations in a controlled setting. *Applied Animal Behaviour Science*. 2002. 78. 55-65.

Willis, Carolyn M. et al.: Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. *British Medical Journal*. 2004. 329. 7468. 712-17.

Willse, Alan et al.: Individual odortypes: interaction of MHC and background genes. *Immunogenetics*. 2006. 58. 967-982.

Wischhusen, Jörg, Anne Wasschbisch og Heinz Wiendl: Immune-refractory cancer and their little helpers – An extended role for immunetolerogenic MHC molecules HLA-G and HLA-E? *Seminars in Cancer Biology*. 2007. 17. 459-68.

Wu, Wen-Sheng: The signalling mechanism of ROS in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev.* 2006. 25. 695-705.

Yamaguchi, M. et al.: Distinctive urinary odors governed by the major histocompatibility locus of the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1981. 78. 9. 5817-20.

Yamazaki, Kuino, et al.: Control of mating preferences in mice by genes in the major histocompatibility complex. *The Journal of experimental Medicine.* 1976. 144. 1324-35.

Yamazaki, Kuino et al.: Distinctive urinary odors governed by the major histocompatibility locus of the mouse. *PNAS.* 1981. 78. 9. 5817-5820.

Yamazaki, Kuino et al.: Familial imprinting determines H-2 selective mating preferences. *Science.* 1988. 240. 4857. 1331-32

Yamazaki, Kuino et al.: Mating preferences of F₂ segregants of crosses between MHC-congenic mouse strains. *Immunogenetics.* 1978. 6. 253-59.

Yamazaki, Kuino et al.: Odortypes: Their origin and composition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999. 96. 1522-25.

Yamazaki, Kuino et al.: Origin, function, and chemistry of H-2 regulated odorants. Johnston, Robert E., Dietland Müller-Schwarze og Peter W. Sorenson (Eds.): *Advances in Chemical Signals in Vertebrates.* Springer 1999: 173-80.

Yamazaki, Kuino et al.: Participation of the murine X and Y chromosomes in genetically determined chemosensory identity. *PNAS.* 1986. 83. 4438-4440.

Yamazaki, Kuino et al.: Recognition among mice. Evidence from the use of a Y-maze differentially scented by congenic mice of different major histocompatibility types. *Journal of Experimental Medicine.* 1979. 150. 755-60.

Yamazaki, Kuino et al.: Sensory distinction between H-2^b and H-2^{bm1} mutant mice. *PNAS.* 1983. 80. 5685-88.

Yeager, Meredith og Austin L. Hughes: Evolution of the mammalian MHC: natural selection, recombination, and convergent evolution. *Immunological Reviews.* 1999. 167. 45-58.

Yeung, Catherine K., Elinor T. Adman og Allan E. Retie: Functional characterization of genetic variants of human FM03 associated with trimethylaminuria. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2007. 464. 251-59.

Yoon, Hayan, L.W. Enquist og Catherine Dulac: Olfactory inputs to hypothalamic neurons controlling reproduction and fertility. *Cell.* 2005. 123. 669-82.

Zarzo, Manuel: The sense of smell: molecular basis of odorant recognition. *Biological Reviews.* 2007. 82. 455-79.

Zhang, Zhou-Min et al.: The study of fingerprint characteristics of the emanations from human arm skin using the original sampling system by SPME-GC/MS. *Journal of Chromatography B.* 2005. 822.244-252.

8.3. Populær litteratur

Bay, Henrik: Den fineste næse: Med næsen forrest. Politiken. Sommermagasinet. 21.06.2000. side 1.

Christensen, Janne Winther: Heste kender hinanden på lugten. Lansbladet hest. 2002. 6. 44-45.

Doyle, Christine: The secret cloud that surrounds us. Family Health. 1970. January. 32-35.

Gibbons, Boyd: The intimate sense of smell. National Geographic. 1986. 170. 3. 324-361.

Jakobsen, Lars Aksel: Doktor i velduft. Det fri Aktuelt. 03.07.1992. Side 19.

Knudsen, Karen Frost og Christina Ingerslev: Sanserne. Hund & Træning. 2005. 3. 3. 10-15.

Krogh, Kasper: Når duften er god ... Berlingske Tidende. 03.06.2007. 2. Sektion. Magasin Søndag. Side 12.

Lacoste, Beatrice: Din lugt – nøglen til kontakt. Berlingske. 1987.02.08.

Lumby, Elisabeth: Hunde kan mere end vi aner. Berlingske. 07.10.2007.

Lumby, Elisabeth: "Nala" advarer sin ejer før et epileptisk anfald. Berlingske. 08.10.2007. Indland. Side 10-11.

McKee, Maggie: Giant rats to sniff out tuberculosis. New Scientists. 2003.
<http://www.newscientist.com/article/dn4488-giant-rats-to-sniff-out-tuberculosis.html>

Fyens Stiftstidende/(Ritzaus Bureau (26.06.2003): Politi opgiver ID-hunde:
<http://www.fyens.dk/article/224454:Indland-Fyn--Politi-opgiver-ID-hunde>

Skovenborg, Erik: Den magiske sans. Aktuel Naturvidenskab. 2000. 6. 12-15.

Svendsen, Robert: Hunde har en fin næse for sygdomme. Politiken. 08.06.1997. 1. sektion. Side 17.

8.4. Hjemmesider

American Bear Organisation: <http://www.americanbear.org/senses.htm>

BBC News (2002): Dogs may sniff out some cancers:
<http://news.bbc.co.uk/1/hi/england/2006037.stm>

Cancer sniffing dogs (YouTube):
<http://www.youtube.com/watch?v=tML1DJQt0Og>

Can dogs smell cancer? (YouTube):
<http://www.youtube.com/watch?v=7vsivrzUwWg>

Can Dogs Smell Cancer? (06.01.2006)
<http://www.sciencedaily.com/releases/2006/01/060106002944.htm>

Charity Funds Research Into Cancer Detection Dogs:
<http://www.k9magazine.com/viewarticle.php?sid=15&aid=1256&vid=0&npage>

Davis, Kathy Diamond (2006): Cancer Detection by Dogs:
<http://www.veterinarypartner.com/Content.plx?P=A&A=2213&S=1&SourceID=47>

Dr Dog, the cancer specialist (06.11.2005):
<http://www.timesonline.co.uk/tol/news/article586949.ece>

Ferrini, Rebecca (1996): <http://www.acpm.org/breast.htm>

Færtteori: <http://www.sporhunde.dk/fart.htm>

Gensplejset plante til detektion af landminer:
<http://opfind.teknologisk.dk/12217>

Gold, Evelina: Cancer-snusende hunde klonet i Sydkorea. Kristelig Dagblad. 18. juni 2008:
<http://www.kristeligt-dagblad.dk/artikel/289477:Udland--Cancer-snusende-hunde-klonet-i-Sydkorea>

Guthrie, Julian (01.06.2003): Sensing Sickness. San Francisco Chronicle:
<http://www.sfgate.com/cgi-bin/article.cgi?f=/chronicle/archive/2003/06/01/CM38469.DTL>

Hargreaves, Guy J. (January 1996): "Police practice detection dog lineup". The Dutch Police Canine Unit: <http://www.fbi.gov/publications/leb/1996/jan964.txt>

Larsen, Morten A. (17.11.2007): Hunde der kan lugte kræft hos mennesker:
<http://www.ebblog.dk/2942/perma/32582>

Larsen, Morten A. (24.01.2008): Rotter opsnuser tuberkulose-smitte:
<http://www.ebblog.dk/2942/perma/37603/>

Medical News: Cancer Detection Goes to the Dogs:

<http://www.medpagetoday.com/HematologyOncology/LungCancer/tb/2442>

Nethundeguiden: http://www.nethundeguiden.dk/artikel_print.php?id=210

Nobelprisen i fysiologi eller medicin 2004:

http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2004/

Nordic Police Dog Union:

<http://home3.inet.tele.dk/nphu/seminar.htm>

Pryke, Rachel G. (27.09.2004): British Medical Journal: Canine olfactory detection of pregnancy too: <http://www.bmj.com/cgi/eletters/329/7468/712>

Roach, John: Dogs in Training to Sniff Out Cancer (20.08.2004)

http://news.nationalgeographic.com/news/2004/08/0820_040820_detector dogs.html

Servicehund: <http://canix.dk/dk/hunde/hunde.htm>

The Pine Street Foundation:

<http://www.pinestreetfoundation.org/>

Warburg hypotesen (Wikipedia): http://en.wikipedia.org/wiki/Warburg_hypothesis

Welsh, James S. (15.10.2004): Another cancer detected by "pet scan":

<http://www.bmj.com/cgi/eletters/329/7468/712#78342>

White, Adrian (28.10.2004): It may be earlier than urine:

<http://www.bmj.com/cgi/eletters/329/7468/712#76054>

Bilag

Kropslugte – Lugte som biomarkører for cancer

Spørgeskema

Undertegnede er ved at skrive et molekylærbiologisk speciale (RUC) om mulighederne for at bruge lugtstoffer, og evt. detektorhunde, til tidlig diagnosticering af kræft.

Jeg henvender mig til danske kræftlæger i håb om, at du/I kan videregive erfaringer omkring de karakteristiske lugte, der optræder i forbindelse med kræftsygdomme.

Håber derfor du vil bruge ca. 10 min. på nedenstående skema.

Navn:	☐ Jeg foretrækker at være anonym
Stilling:	
E- mail:	
1. Din egen subjektive beskrivelse af en lugt, der optræder i forbindelse med kræft:	
2. Beskrivelse af ”case”, hvilken form for kræft var der tale om:	
3. Mener du at kunne genkende nogle af de kemiske forbindelser, der indgår i lugten?	
4. Har du selv en mulig forklaring på, hvad der giver anledning til ovennævnte	

lugte, f.eks. ”kræften i sig selv”, immunrespons og nekrose?

5. Har du oplevet eksempler på, at patienter har henvendt sig til læge efter at kæledyr, f.eks. hunde, har indikeret, at der var noget galt?

Kropslugte

Huden

Table 1
Compounds extracted from the hand odor of 60 subjects

R. T.	Compound name	Frequency of occurrence			Percentage of occurrence (%)		
		Males	Females	Total	Males	Females	Total
3.86	Pyridine ^a	1	0	1	3.33	0.00	1.67
4.67	Toluene ^a	0	1	1	0.00	3.33	1.67
4.74	2-Butenal, 2-methyl-	2	2	4	6.67	6.67	6.67
5.45	Octane ^a	1	0	1	3.33	0.00	1.67
5.73	Hexanal ^a	0	1	1	0.00	3.33	1.67
6.66	2-Furancarboxaldehyde ^a	29	30	59	96.67	100	98.33
7.43	2-Furanmethanol ^a	24	25	49	80.00	83.33	81.67
7.78	Benzene, 1,3-dimethyl- ^a	0	2	2	0.00	6.67	3.33
7.82	<i>p</i> -Xylene ^a	2	2	4	6.67	6.67	6.67
8.32	Nonane ^a	6	6	12	20.00	20.00	20.00
8.51	Heptanal ^a	6	2	8	20.00	6.67	13.33
9.21	Propanedioic acid-dimethyl ester	17	17	34	56.67	56.67	56.67
9.75	Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	3	0	3	10.00	0.00	5.00
9.87	Benzaldehyde ^a	6	3	9	20.00	10.00	15.00
9.89	Benzene, 1,3,5-trimethyl-	4	5	9	13.33	16.67	15.00
10.28	Furancarboxylic acid-methyl ester	2	3	5	6.67	10.00	8.33
10.15	Benzene, 1-ethyl-3-methyl-	0	2	2	0.00	6.67	3.33
10.42	Phenol ^a	30	30	60	100	100	100
10.49	5-Hepten-2-one, 6-methyl- ^a	8	16	24	26.67	53.33	40.00
10.67	1,2,4-Trimethylbenzene	0	1	1	0.00	3.33	1.67
10.78	Octanal ^a	4	6	10	13.33	20.00	16.67
11.10	Thiazolidine	1	1	2	3.33	3.33	3.33
11.26	Benzyl alcohol ^a	3	6	9	10.00	20.00	15.00
11.60	Benzene, 1,2,3-trimethyl-	1	2	3	3.33	6.67	5.00
12.13	1-Octanol	1	2	3	3.33	6.67	5.00
12.43	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- ^a	5	7	12	16.67	23.33	20.00
12.54	Undecane ^a	4	2	6	13.33	6.67	10.00
12.64	Nonanal ^a	30	30	60	100	100	100
12.83	Octanoic acid-methyl ester	5	15	20	16.67	50.00	33.33
12.87	Phenylethyl alcohol ^a	0	3	3	0.00	10.00	5.00
13.47	Nonane, 1-chloro-	0	1	1	0.00	3.33	1.67
13.53	2-Nonenal, (E)- ^a	7	8	15	23.33	26.67	25.00
13.59	Nonanol	1	1	2	3.33	3.33	3.33
13.93	2-Decanone ^a	2	0	2	6.67	0.00	3.33
13.97	Naphthalene ^a	2	1	3	6.67	3.33	5.00
14.19	Dodecane ^a	8	12	20	26.67	40.00	33.33
14.28	Decanal ^a	30	30	60	100	100	100
14.51	Nonanoic acid-methyl ester	7	12	19	23.33	40.00	31.67
14.66	6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)-	0	1	1	0.00	3.33	1.67
14.79	Hexanedioic acid, dimethyl ester	18	26	44	60.00	86.67	73.33
15.07	2-Decenal, (E)-	1	4	5	3.33	13.33	8.33
15.59	Tridecane ^a	9	8	17	30.00	26.67	28.33
15.68	Eicosane	0	2	2	0.00	6.67	3.33
15.71	Undecanal ^a	9	14	23	30.00	46.67	38.33
15.76	Tetradecanal	2	3	5	6.67	10.00	8.33
15.99	Decanoic acid, methyl ester	1	4	5	3.33	13.33	8.33
16.44	.Beta.-Pinene ^a	1	1	2	3.33	3.33	3.33
16.50	2-Octenal, (E)-	4	5	9	13.33	16.67	15.00
16.58	Decanoic acid	0	1	1	0.00	3.33	1.67
16.85	Tetradecane ^a	10	15	25	33.33	50.00	41.67
17.08	Dodecanal	2	0	2	6.67	0.00	3.33
17.67	6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one ^a	19	20	39	63.33	66.67	65.00
18.10	Pentadecane ^a	0	1	1	0.00	3.33	1.67
18.37	Tridecanal ^a	2	1	3	6.67	3.33	5.00
18.52	Dodecanoic acid, methyl ester	7	5	12	23.33	16.67	20.00
18.96	Dodecanoic acid	6	7	13	20.00	23.33	21.67
19.47	Hexadecane ^a	0	1	1	0.00	3.33	1.67
20.36	Cyclotetradecane	0	4	4	0.00	13.33	6.67
20.60	Heptadecane ^a	0	3	3	0.00	10.00	5.00
20.76	Tetradecanoic acid, methyl ester	3	1	4	10.00	3.33	6.67
22.72	7-Hexadecenoic acid, methyl ester	0	1	1	0.00	3.33	1.67
22.94	Hexadecanoic acid, methyl ester	0	3	3	0.00	10.00	5.00
23.76	Cyclohexadecane	0	1	1	0.00	3.33	1.67

^a Identity verified by standard comparison.

Tabel B2.1. Håndlugte. 63 stoffer identificeret fra håndlugte fra 60 personer, 30 mænd og 30 kvinder. Målemetode: "solid phase micro extraction" (SPME)-GC/MS. (Curran et al., 2007)

Compounds	Winter	Spring	Total detection	Percentage distribution ^a
Alkenes				
1,3,5,7-Cyclooctene		1	1	2.56
Alpha-pinene	8	3	11	28.21
Camphene		1	1	2.56
n-limonene		3	3	7.69
3-Dodecene	1		1	2.56
Caryophyllene	5	1	6	15.38
Pentadecene	2		2	5.13
Hexadecene	1		1	2.56
Alkanes				
Undecane		1	1	2.56
Dodecane	2	4	6	15.38
2-Methyl dodecane	1		1	2.56
Tridecane	6	3	9	23.08
Tetradecane	9	10	19	48.72
Pentadecane	10	11	21	53.85
Cyclopentadecane	1		1	2.56
Hexadecane	20	2	22	56.41
2-Methyl hexadecane	5	1	6	15.38
Eicosane	20	17	37	94.87
Alcohols				
2-Ethyl hexanol	18	8	26	66.67
5-Methyl-2-isopropyl cyclohexanol	21	1	22	56.41
Benzyl alcohol	17	4	21	53.85
Phenylethyl alcohol	1	3	4	10.26
3,7-Dimethyl-6-octanol	6		6	15.38
3,7-Dimethyl-2,6-octandiol	1		1	2.56
Cedrol	18	17	35	89.74
Aldehydes				
Benzaldehyde	21	15	36	92.31
Octanal	3	2	5	12.82
Nonanal	9	4	13	33.33
Decanal	19	2	21	53.85
Lilial	1		1	2.56
Esters				
Methyl salicylate	22		22	56.41
Isobornyl propionate	11	5	16	41.03
Miscellaneous				
Acetophenone	4		4	10.26
Tetramethyl thiourea	14		14	35.90
Diphenyl ether	16	10	26	66.67

Tabel B2.2. Identificerede lugtstoffer fra den menneskelige underarm. Metode: "Headspace" SPME GC/MS. Totalt blev der foretaget 39 prøvetagningsrunder fra 15 personer. Tabellen angiver årstidsvariation i forekomsten af stofferne. (Zhang et al., 2005)

Compound (by functional group)	M1	M2	M3	M4	F1	F2	F3	F4
Aldehydes								
2-Furancarboxaldehyde	X		X	X	X	X	X	X
(<i>E</i>)-2-Nonenal ^{a,b,c}			X		X	X	X	
Benzaldehyde ^{c,d,e,f}	X		X			X		
Decanal ^{b,d,g,h,i}	X	X	X	X	X	X	X	X
Hexanal ^{a,b,c,f,h,j,k}					X			
Heptanal ^{b,c,d,e,f,j,k}			X				X	
Nonanal ^{b,d,e,g,h,j}	X	X	X	X	X	X	X	X
Octanal ^{a,b,d,g,h}	X		X					
Tetradecanal	X	X	X			X		
Undecanal ^{c,h}		X	X			X	X	
Carboxylic acids								
Dodecanoic acid ^{c,d,e,h,i}			X					
Tetradecanoic acid ^{d,h,i}			X					
Ketones								
6,10-Dimethyl-5,9-Undecadien-2-one ^{c,d}	X	X	X	X	X	X	X	
6-Methyl-5-hepten-2-one ^{b,c,d,e,g}	X			X	X		X	
Alcohols								
2-Furanmethanol ^d	X	X	X		X	X	X	
Benzyl Alcohol ^{c,d,m}			X					
Phenol ^{c,d,l,m}	X	X	X	X	X	X	X	X
Aliphatic/aromatic								
α -Pinene ^f							X	X
Dodecane ^{b,i}	X	X			X	X	X	X
Heptadecane ^{c,d}		X	X	X		X	X	
Hexadecane ^{d,g}	X	X				X	X	
Naphthalene ^a				X			X	X
Nonane ^{c,d,j}				X				X
Nonane, 1-chloro- ^{d,e}					X			
Tetradecane ^{d,g}	X	X	X	X	X	X	X	X
Toluene ^{c,d,e,f}		X		X			X	X
Tridecane	X	X		X		X	X	
Undecane ^{b,i,h}				X		X	X	
Esters								
7-Hexadecenoic acid-methyl ester ^m		X	X	X	X			X
Acetic acid-phenylmethyl ester			X					
Cyclopentanetridecanoic acid-methyl ester	X							
Decanoic acid-methyl ester		X	X	X	X	X		X
Dodecanoic acid, 10-methyl-, methyl ester		X	X	X	X			X
Dodecanoic acid-methyl ester	X	X	X	X	X	X	X	X
Furancarboxylic acid-methyl ester	X				X	X		
Hexadecanoic acid-methyl ester ^d	X	X	X	X	X		X	X
Hexanedioic acid-dimethyl ester ^d	X			X	X	X		
Hexanoic acid-methyl ester	X			X	X			X

Tabel B2.3. Almindeligt forekommende stoffer i sved fra armhulen, målt hos 4 mænd (M1-4) og 4 kvinder (F1-4). Målemetode: "solid phase micro extraction" (SPME)-GC/MS. (Curran et al., 2005a)

Compound (by functional group)	M1	M2	M3	M4	F1	F2	F3	F4
Methyl 9-methyltetradecanoate	X			X		X		X
Nonanoic acid-methyl ester ^d	X	X	X	X	X	X	X	
Octanoic acid-methyl ester	X	X	X	X	X	X	X	X
Pentadecanoic acid-methyl ester		X		X	X			
Propanedioic acid-dimethyl ester		X	X					
Tetradecanoic acid-methyl ester	X	X	X	X	X	X	X	X
Tridecanoic acid-methyl ester ^d		X	X	X	X	X		X
Undecanoic acid-methyl ester		X	X	X		X		
Amines/amides								
Pyridine ^{d,e}	X				X			

^a Component of residual armpit odor (Munk et al., 2000).
^b Component of human body odor (Haze et al., 2001).
^c Component of human odor (Curran et al., 2005).
^d Component in human skin emanation (Bernier et al., 2000).
^e Component of skin emanations (Bernier et al., 2002).
^f Volatile component of blood (Deng et al., 2004).
^g Volatile component of the skin (Ostrovskaya et al., 2002).
^h Component of skin emanations (Bernier et al., 1999).
ⁱ Component of fingerprint residue (Asano et al., 2002).
^j Component of human breath (Philips, 1997).
^k Component of human breath (Philips et al., 1999).
^l Component of armpit odor (Zeng et al., 1991).
^m Component of armpit odor (Zeng et al., 1996).
ⁿ Component of fingerprint residue (Ramotowski, 2001).

Tabel B2.3 (fortsat). Almindeligt forekommende stoffer i sved fra armhulen, målt hos 4 mænd (M1-4) og 4 kvinder (F1-4). Målemetode: "solid phase micro extraction" (SPME)-GC/MS. (Curran et al., 2005a)

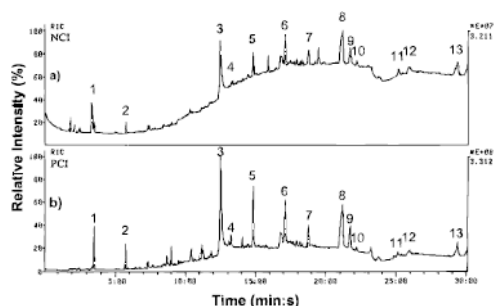


Figure 1. Reconstructed ion chromatograms of (a) NCI and (b) PCI from PPINCI analysis of thermally desorbed and cryofocused volatiles from five glass beads handled by a human subject. Separation by GC was effected by a 20 m $\times$ 0.25 mm i.d. (d_f = 0.25 μ m) Carbowax column. Compounds noted by peak numbers: (1) hexamethylcyclotrisiloxane, (2) octamethylcyclotrisiloxane, (3) lactic acid, (4) decanoic acid, (5) dodecanoic acid, (6) tetradecanoic acid, (7) pentadecanoic acid, (8) hexadecanoic acid, (9) hexadecenoic acid, (10) methyl hexadecanoate, (11) heptadecanoic acid, (12) heptadecenoic acid, and (13) octadecanoic acid.

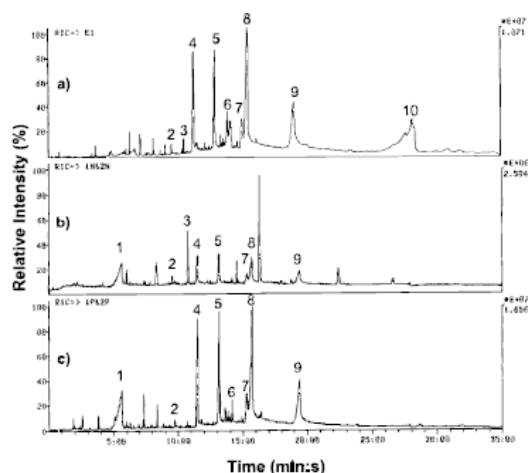


Figure 2. Reconstructed ion chromatograms of (a) EI, (b) NCI from PPINCI, and (c) PCI from PPINCI analyses of thermally desorbed and cryofocused volatiles from five glass beads handled by the same human subject. Separation by GC was effected by a 25 m $\times$ 0.20 mm i.d. HP5 fused-silica open tubular column (d_f = 0.33 μ m). Compounds noted by peak numbers: (1) lactic acid, (2) decanoic acid, (3) decamethylcyclopentasiloxane, (4) dodecanoic acid, (5) tetradecanoic acid, (6) pentadecanoic acid, (7) hexadecenoic acid, (8) hexadecanoic acid, (9) octadecanoic acid, and (10) mono(2-ethylhexyl)hexanedioic acid.

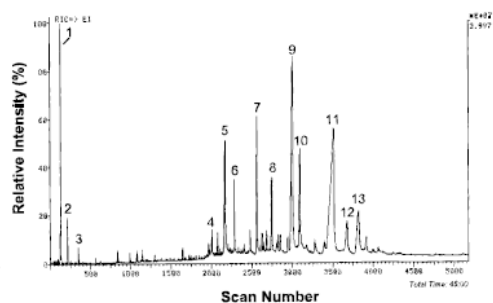


Figure 3. Reconstructed ion chromatogram of an EI analysis of thermally desorbed and cryofocused volatiles from five glass beads handled by the same human subject, examined in the previous figures. Separation by GC was effected by a 25 m $\times$ 0.20 mm i.d. HP-FFAP fused-silica open tubular column (d_f = 0.33 μ m). Compounds noted by peak numbers: (1) 1,1-difluoroethane, (2) hexamethylcyclotrisiloxane, (3) octamethylcyclotrisiloxane, (4) lactic acid, (5) glycerol, (6) dodecanoic acid, (7) tetradecanoic acid, (8) pentadecanoic acid, (9) hexadecanoic acid, (10) hexadecenoic acid, (11) octadecanoic acid, (12) octadecenoic acid, and (13) octadecadienoic acid.

Figur B2.1. Analyse af lugtstoffer fra den menneskelige hånd afsat på glasperler i forbindelse med forskning i, hvilke stoffer, der tiltrækker myggen (*Aedes aegypti*), der spreder gul feber. (Bernier, 1999)

compound	identified peak no. ^a	notes ^c	M ^b	compound	identified peak no. ^a	notes ^c	M ^b
Carboxylic Acids							
acetic acid	26	S,5,6	60	methyltetradecanoic acid	233	C	242
2-propenoic acid	43	S,6	72	methyltridecanoic acid	237	C	242
propanoic acid	40	S,5,6	74	pentadecanoic acid	239	S,5,6	242
2-butenic acid	69	S	86	9-hexadecenoic acid	249	S	254
2-methyl-2-butenic acid	72	C	100	methylpentadecanoic acid	246	C	256
3-methyl-2-pentenoic acid	81	C	114	hexadecanoic acid	250	S,5,6	256
3-methylpentanoic acid	89	C	116	heptadecenoic acid	255	C	268
hexanoic acid	90	S,6	116	methylhexadecanoic acid	253	C	270
heptanoic acid	109	S,6	130	heptadecanoic acid	258	S,6	270
octanoic acid	139	S,6	144	11-phenoxynundecanoic acid	292	A,E	278
nonanoic acid	158	S,6	158	9,12-octadecadienoic acid	263	S	280
decanoic acid	161	S,6	172	9-octadecenoic acid	267	S,5	282
undecanoic acid	176	A,6	186	methylheptadecanoic acid	264	C	284
dodecanoic acid	190	S,6	200	octadecanoic acid	269	S,5,6	284
methyl-dodecanoic acid	205	C	214	docosanoic acid	295		340
tridecanoic acid	209	S,6	214	lactic acid	117	S,2,5,6	90
tetradecenoic acid	217	C	226	hexanedioic acid	286	A,E	146
methyltridecanoic acid	220	C	228	heptanedioic acid	291	A,E	160
tetradecanoic acid	223	S,6	228	benzoic acid	142	S,6	122
pentadecenoic acid	238	B	240	4-hydroxybenzoic acid	152	C	138
methyltetradecanoic acid	232	C	242	4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid	221	B	168
Alcohols							
2-butanol	18	C,(17),2	74	dodecanol	175	A	184
3-methyl-4-penten-2-ol	42	B,C	100	tridecanol	189	A	200
2-hexen-1-ol	59	C	100	1-tetradecanol	210	C,5	214
4-hexen-1-ol	56	C	100	2-hexadecanol	245	C,(57)	242
1-hexen-3-ol	60	C,(17)	100	2-heptadecanol	254	B,C	256
2-methyl-3-pentanol	62	B,C	102	cholest-5-en-3-ol	303	S,6	386
1-hepten-3-ol	83		114	phenol	110	S,5,6	94
1-octen-3-ol	111	A,D	128	benzyl alcohol	125	S,5,6	108
2-octen-1-ol	102	C	128	phenylethyl alcohol	141	A,6,5	122
2-methyl-3-octenol	120	B,C	142	2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-methylphenol	260	A,D	225
nonenol	134	C	142	ethylene glycol	112	S,2,6	62
3,7-dimethyl-6-octen-1-ol	144	B,C	156	glycerol	131	S,6	92
decanol, substituted	153	D	156	2-(hydroxymethyl)-2-methyl-1,3-propanediol	96	A,E	120
2-decanol	155	S,(57)	158	Aldehydes			
propanal	6	S,2,6	58	nonanal	135	S,5	142
2-methylpropanal	12	6	72	3,7-dimethyl-2,6-octadienal	133	B,C	132
2-methyl-2-butanal	23	B,C	84	decanal	157	B,5	156
2-methylbutanal	31	C,6	86	dodecanal	171	B	184
3-methylpentanal	49	C	100	2-methylhexadecanal	213	A,B	254
heptanal	88	S,2,5	114	benzaldehyde	106	S,5	106
2,2-dimethylhexanal	103	C,(27)	128	3-hydroxy-4-methylbenzaldehyde	132	B	136
octanal	108	B,5	128	4-phenylmethoxybenzaldehyde	243	A	212
2,4-nonadienal	113	C	138	Aliphatics/Aromatics			
pentene	14	B	70	2-methyl-2-undecene	124	D,E	168
4-methyl-2-pentene	17	C,(27)	84	3-methyl-5-undecene	123	D,E	168
hexane	19	S,1,2,3	86	4-methyl-4-undecene	119	B,C	168
dimethylpentadiene	24	B,C	96	2-methyl-2-dodecene	145	C	182
2-methyl-1-hexene	33	C	98	methyl-dodecene	147	C	182
heptane	35	B,1,2,3	100	tetradecene	163	C	196
3-ethyl-1,4-hexadiene	45	A,B,(27)	110	cyclotetradecane	214	E	196
2-methyl-1-heptene	46	C	112	tetradecane	172	B	196
2-octene	55	2	112	pentadecane	181	S	212
3-octene	54		112	hexadecene	196	D,E	224
4-octene	53		112	cyclohexadecane	240	E	224
2,4-dimethylhexane	57	C,(17),(27)	114	hexadecane	197	S	226
octane	58	S,1,5	114	heptadecane	215	S,5	240
3,4-nonadiene	63	C	124	9-octadecene	226	C	252
2,6-dimethyl-1-heptene	61	B,C,(17)	126	methylheptadecane	229	C	254
4-ethyl-3-heptene	80	B,C	126	octadecane	230	S,5	254
4-nonene	85	C,(27)	126	trimethyl-3-methylenhexadecane	248	A,B	272
nonane	87	S,1,5	128	heneicosane	259		296
N-menth-6-ene	127	A	138	docosane	271	S,5	310
menthane	130	A	140	tricosane	274	S	324
trimethyl-1,5-heptadiene	74	D,E	138	tetracosane	287	A,5	338
2,7-dimethyl-1-octene	84	A,E	140	pentacosane	297		352
5-decene	101	C,(27)	140	cholesta-3,5-diene	301	A,B	392
decane	114	S,2,5,6	142	triacontene, branched	300	C	410
undecadiene	115	B	152	squalene	299	S,4,5	418

Tabel B2.4. Lugten af et fingeraftryk. Resultater fra GC/MS analyse af lugtspor afsat på glasperler af 4 forskellige mænd. (Bernier et al., 2000)

Table 1 (Continued)

compound	identified peak no. ^a	notes ^c	M _r ^b	compound	identified peak no. ^a	notes ^c	M _r ^b
Aliphatics/Aromatics (Continued)							
benzene	29	S,1,2,3,6	78	ethylbenzene	78	1,2,3	106
toluene	51	S,1,2,3,6	92	propylbenzene	104	(17)	120
styrene	86	S,2,3	104	4,4'-dimethyl-1,1'-biphenyl	228	A	182
1,4-dimethylbenzene	77	C,1,2,3,5	106				
Amides/Amines/Related							
propanamide	128	S	73	N-methyl-N-nitroso-1-dodecanamine	275	A	228
N,N-diethyl-3-methylbenzamide (DEET)	198		191	N,N-dimethyl-1-dodecanamine	183		213
N,N-bis(2-hydroxyethyl)dodecanamide	185	A,E	287	N,N-dimethyl-1-tridecanamine	199		227
N,N-didodecyl formamide	285	B	381	N,N-dimethyl-1-tetradecanamine	216		241
1,3-butanediamine	22	B	84	N,N-dimethyl-1-pentadecanamine	234		255
N,N-dimethyl-1,2-ethanediamine	5	D,E	116	N,N-dimethyl-1-hexadecanamine	244		269
N-ethylcyclopentamine	219	A	113	N,N-dimethyl-1-heptadecanamine	252		283
N,N-dimethyl-3-butoxypropylamine	167	A	159	N,N-dimethyl-1-octadecanamine	262		297
N,N-dimethyl-3-benzyloxypropylamine	170	B	193				
Esters							
2-butenic acid, butyl ester	38	A,(27)	128	tetracosanoic acid, methyl ester	298	A,B	382
butanoic acid, methyl ester	39	A,B,2	102	pentanedioic acid, ester	273	D,E	>144
nonanoic acid, methyl ester	184		172	pentanedioic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	276	C	244
tridecanoic acid, methyl ester	207	A	228	hexanedioic acid, ester	278	D,E	>160
13-methylpentadecanoic acid, methyl ester	235	C	270	hexanedioic acid, ester branched	283	C,D,E	>160
14-methylpentadecanoic acid, methyl ester	247	C	270	hexanedioic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	280	C	258
methylhexadecanoic acid, methyl ester	251	C	284	hexanedioic acid, octyl ester	288	B	258
heptadecanoic acid, methyl ester	257	C	284	heptanedioic acid, dibutyl ester	294	B	272
octadecanoic acid, methyl ester	261	C	296	hydroxybutanoic acid, ethyl ester	52	A	128
hexadecanoic acid, methyl ester	256		270	3-hydroxybenzoic acid, methyl ester	178	C	152
16-methylheptadecanoic acid, methyl ester	266	C	298	4-hydroxybenzoic acid, propyl ester	204	B,C	180
octadecanoic acid, methyl ester	265	B	298	2-hydroxybenzoic acid, phenylmethyl ester	242	B,C	228
hexadecanoic acid, butyl ester	270		312	2,4-dihydroxy-3,6-dimethylbenzoic acid, methyl ester	218	A,E	196
octadecanoic acid, phenyl ester	293		360				
tetradecanoic acid, undecyl ester	282	A,B	382				
Halides/Related							
methyl iodide	9	6	142	1-chlorohexadecane	241	B	260
1-chlorohexane	76	1	120	1,6-dichloro-1,5-cyclooctadiene	160	B,D	176
1-chloroheptane	105		134	benzylchloride	118	S,6	126
1-chlorononane	129		162	3-chlorobenzeneamine	149	C	127
1-chlorododecane	180		204	2-chloro-1-methylethylbenzene	168	D	154
1-chlorotetradecane	202		232	1-chloro-4-(4-methyl-4-pentyl)benzene	169	D	194
1-chloropentadecane	225	B	246	2,3-dichlorobenzeneamine	177	C	161
Heterocyclics							
2-methyl-1H-pyrrole	71	(57)	81	trimethylpyrazine	116	A	122
3-methyl-1H-pyrrole	73		81	3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine	208	C	136
pyridine	48	S,5,6	79	5-methyl-2-methylthio-4(1H) pyrimidinone	212	A	156
3-pyridinamine	67		94	1-methylpiperazine	121	C	100
4-pyridinamine	66		94	2-ethylpiperazine	224	C	114
4-methyl-2-pyridinamine	95	C	108	2,5-dimethylpiperazine	173	C	114
2-methylpyridine	79	C,2,5	93	oxazole	37		69
4(1H)-pyridinone	70		95	2-methylfuran	21		82
6-amino-3-pyridine carboxylic acid	201	B	138	3-methylfuran	20		82
3(1-methyl-2-pyrrolidinyl)pyridine (nicotine)	166	4	162	2,3-dihydro-4-methylfuran	15	B,C,(57)	84
1,2,3,4-tetrahydroquinoline	154		133	2-furanmethanol	75	(27)	98
2,3,4-trimethylquinoline	203	A	171	benzofuran	136	2	118
2-ethylpiperidine	122	(27)	113	dihydro-5-tetradecyl-2(3H)furanone	268	B	282
1-piperidineethanol	97	D,E	129	2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	140	A	144
4-piperidineethanamine	195	A	114				
1-phenyl-3-(1-piperidinyl)-2-buten-1-one	289	A	229	2-methoxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	206	B	140
1H-indole	191	S,6	117	2H-1-benzopyran-2-one	179	C	146
indole, substituted	227	D	>117	3-acetyl-6-methyl-2H-pyran-2,4(3H)dione	164	A	168
4,5-dihydro-2-methyl-1H-imidazole	94		84	thiazolidine	211		89
1,5-dimethyl-1H-pyrazole	143	C	96	2-methylisothiazole	186	A	99
pyrazine	44		80	5-methyl-2(5H)thiophene	162	A,B	114
2,6-dimethylpyrazine	93	B	108	2-methoxy-5-methylthiophene	236	C	128
Ketones							
butanone	11	S,2,3,5,6	72	2-nonen-4-one	138	B	140
2-pentanone	34	S,2,5	86	2-decanone	146	S	156
3-pentanone	30	S,2,6	86	2-methoxy-2-octen-4-one	150	B,C	162
2-hexanone	36	C	100	6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one	174	A	194
6-methyl-3,5-heptadien-2-one	82	C	124	3-hydroxyandrost-11,17-dione	302	A	304
6-methyl-5-hepten-2-one	107	S	126				
Sulfides							
carbon disulfide	10	3,5,6	76	dimethyl disulfide	47	S,5	94

Tabel B2.4. (fortsat). Lugten af et fingeraftryk. Resultater fra GC/MS analyse af lugtspor afsat på glasperler af 4 forskellige mænd. (Bernier et al., 2000)

Table 1 (Continued)

compound	identified peak no. ^a	notes ^c	M _r ^b	compound	identified peak no. ^a	notes ^c	M _r ^b
thiomethane	4	2,5,6	48	Thio/Thioesters/Sulfonyls			
2-thiopropene	50		76	<i>o</i> -(2-butenylthio)phenol	231	B	180
1-methylthiobutane	194	C, (2?)	104	thiocarbamic acid, butyl ester	32	A,E	127
1-thiododecane	188	D	202	acetylthiocarbamic acid, methyl ester	193	B	130
3-methylthietane	68	A	88	methanesulfonylchloride	16		114
3-(methylthio)-1,2-propanediol	165	D	122	1,1'-sulfonylbis[4-chlorobenzene]	272	B,C	286
urea	25	6	60	Urea/Related			
methylurea	41	6	74	thiourea	64	6	76
				<i>N,N</i> -dimethylthiourea	91		104
				Miscellaneous			
1-isocyanato-3-methylbenzene	192	B	133	1,2,3-trimethoxypropane	156	A	134
1,3-dimethoxybutane	126	A,E	118	1,4-benzenedicarbonitrile	148	A	128
Compounds Present in Background/Blank Analyses							
methyl chloride	1	6	50	3-isopropoxy-1,1,1,7,7-hexamethyl-3,5,5-	182		576
tetrachloroethene	7	3,5	164	tris(trimethylsiloxy)tetrasiloxane			
1,1-difluoroethane	3	S	66	2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol	99	C,1,5	206
fluoroethene	2		46	2,5-bis(1,1-dimethylethyl)phenol	98		206
1,1,2-trichloro-1,2,2-trifluoroethene	8		167	2,4-bis(1,1-methylpropyl)phenol	100		206
1-silacyclo-3-pentene	27		84	4,6-di(1,1-dimethylethyl)-2-methylphenol	151	B	220
silacyclopentane	28		86	1,2-benzenedicarboxylic acid, diethyl ester	200	5	222
trimethylsilanol	13		90	1,2-benzenedicarboxylic acid, butylphenylmethyl ester	277		312
hexamethylcyclotrisiloxane	65		222	1,2-benzenedicarboxylic acid, diheptyl ester	279		362
octamethylcyclotetrasiloxane	92		296	1,2-benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester	284		390
decamethylcyclopentasiloxane	137		370	1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl ester)	281		390
dodecamethylcyclohexasiloxane	159		444	1,2-benzenedicarboxylic acid, diisononyl ester	290	A	418
tetradecamethylheptasiloxane	187		458	1,2-benzenedicarboxylic acid, undetermined ester	286	D,E	>415
hexadecamethylcyclheptasiloxane	222		532				

^a Peak numbers are assigned only to peaks identified wholly or partially and represent the elution order on an HP5 column. ^b Listed with each compound is the corresponding relative molecular mass (M_r). ^c Explanation of notes: (S) Confirmed by comparison of retention time and/or mass spectrum to that of the standard. (A) Identity of the compound is questionable, although the most reasonable identity is listed. The EI library search purity value is low (less than 750) either from the absence of characteristic masses in the sample mass spectrum or the presence of additional masses in the sample spectrum compared with the library spectrum. (B) The M_r of this compound is known from CI analysis. The actual structure given is questionable due to differences in fragmentation pattern of the library mass spectrum compared with the sample mass spectrum. (C) The structure is known to a reasonable degree of certainty. Uncertainty exists in the location of the substituted functional group and/or in the double-bond location. (D) The class or base structure of this compound is characterized by a specific EI fragmentation pattern. The information from CI may not be available to assist in determining the identity of this compound. (E) The M_r from CI analysis for this compound is questionable. (1) Reported previously in breath.³⁴ (2) Reported previously as a volatile human effluent.³⁵ (3) Reported previously as a volatile in human blood.³⁶ (4) Reported previously as a component of fingerprint residue.³¹ (5) Reported previously as a volatile human odor.⁴⁰ (6) Reported previously as a volatile human odor or present in effluent.³⁰⁻³⁸ (?) Compound reported previously is a different isomer of the listed compound.

Tabel B2.4 (fortsat.). Lugten af et fingeraftryk. Resultater fra GC/MS analyse af lugtspor afsat på glasperler af 4 forskellige mænd. (Bernier et al., 2000)

Lugtdiagnose

Lockman

TABLE I Odors in Clinical Medicine

Condition	Site of Odor	Aroma	Clinical Setting
Diabetic ketoacidosis	Breath, sweat	Fruity aroma of old apples	Acutely ill, polyuria, polydipsia, ketones in blood and urine
Liver failure (fetor hepaticus) ^a	Breath, urine ^a	Musty, rotten eggs and garlic, smell of a freshly opened corpse	Generally found in those with portal-systemic encephalopathy
Anaerobic infections ^{a,11}	Breath, wound surgical site	Putrid	Fetor oris (halitosis) alone may indicate an anaerobic infection in the lung, mouth, sinuses or perhaps a diverticulum in the GI tract Trauma of musculoskeletal system with gas gangrene Postoperatively in GI tract or in pelvis
Cutaneous infections, vagabond's disease, infected eczemas, pemphigus, Darier's disease, decubiti, infected leg ulcers, and ulcerating skin cancers.	Site of disease, but odor may seem to emanate from all over	Pungent, malodorous	Usually a neglected long-standing condition with secondary infection
Bromhidrosis ¹¹	Sweat, mainly axillae and feet	Pungent, strong smelling	Any area where sweat evaporation is impeded, particularly in the axillae, feet and groin Foods such as garlic, onion and curry Drugs such as arsenic may produce a garlic-like odor A nasal foreign body may produce this odor even though there may be no local nasal symptoms
Foreign bodies ¹²	Site of foreign body or in sweat	Pungent, putrid	Vaginal foreign bodies Nasal foreign bodies An external foreign body, such as a ring
Fetor oris (halitosis)	Mouth, breath	Pungent	Usually neglect of oral hygiene May reflect anaerobic infection of mouth (Vincent's angina) or of sinus or lung
Inborn errors of metabolism ^{13,14}	Urine, sweat and occasionally breath are malodorous in the following diseases		
1. Phenylketonuria		Stale, sweaty smell like locker room towels	Mental deterioration, hypopigmentation Defect is due to lack of phenylalanine hydroxylase
2. Maple syrup urine disease		Caramel, maple syrup	Mental retardation, poor feeding, vomiting in first weeks of life
3. Dais-Hause syndrome		Dried malt or hops	Mental retardation with spasticity
4. Odor of sweaty feet Syndrome I		Sweaty feet	Mild retardation, acidosis, dehydration Defect is caused by decreased iso-valeryl CoA
5. Odor of sweaty feet Syndrome II		Sweaty feet	First week of life, acidosis, seizures, defect of green acyldehydrogenase
6. Odor of cat syndrome		Cat's urine	Ketoacidosis, failure to thrive Resembles Werdnig-Hoffman syndrome
7. Fish odor syndrome (trimethylaminuria)		Dead fish	Neutropenia, anemia, splenomegaly
8. Rancid butter syndrome		Rancid butter	Poor feeding, hepatic dysfunction

^a Sometimes it is difficult to distinguish between the smell of fetor hepaticus and that of halitosis or alcohol. When this happens, the smell of the urine can often help to identify this condition.

Tabel B3.1. Lugtdiagnose. Lugte inden for den kliniske medicin. (Lockman, 1981)

Disease	Characteristic body odour
Diabetic ketosis	Breath and sweat has the fruity aroma of decomposing apples
Gout	Characteristic sweat odour
Typhoid	Body smell of freshly baked brown bread
Diphtheria	Sweetish odour
Smallpox	"The stench of smallpox is well known"
Scurvy	Sweat has a putrid odour
Scrofula	A smell like that of stale beer
Yellow fever	An odour which resembles that of a butcher shop
Schizophrenia	Pungent body odour due to increased amounts of trans-3-methyl-2-hexanoic acid in the sweat
Phenylketonuria	A musty odour, resembling stale, sweaty locker room towels
Defective metabolism of amino acids (valine, leucine and isoleucine)	Smell of maple syrup or caramelized sugar in sweat and urine (Maple syrup urine disease)
Inability to metabolize methionine	Odour of boiled cabbage in breath, sweat and urine
Hyperaminoaciduria	Smell of dried malt or hops (Oast house syndrome)
Inability to metabolize butyric and hexanoic acids	The odour of the sweaty feet syndrome

From Liddell (1976).

Tabel B3.2. Karakteristiske kropslugte relateret til sygdom. (Brown, 1995)

Disease	Possible volatile breath metabolite
Phenylketonuria	phenylpyruvic acid, phenyllactic acid, phenylacetic acid
Histidinemia	2-imidazolepyruvic acid, 2-imidazoleacetic acid, 2-imidazolelactic acid
Cystinuria	cadaverine, piperidine, putrescine, pyrrolidine
Tyrosinemia	p-hydroxyphenylpyruvic acid
Maple syrup urine disease	2-oxoisocaproic acid

Tabel B3.3. Flygtige åndedræts metabolitter i udvalgte medfødte stofskiftesygdomme. (Manolis, 1983)

Psykiske sygdomme

Der findes flere beretninger om, at sindssyge og i særdeleshed skizofrene skulle have en særlig lugt: "there is an odour peculiar to the insane, which is not met with in ordinary hospitals for the sick, however dirty they may be." (Smith, 1960). Denne lugt er blevet beskrevet som: tung, ubehagelig og stikkende, endog "stinkdyrs-agtig" (Smith, 1960)

C.K. Parkinson beretter, at lægerne på et sindssygehospital i Darlinglinghurst, Australien, brugte lugten til at diagnosticerede patienter, hvor man var i tvivl om, hvor vidt de var sindssyge. Hertil benyttede man et særligt rengjort rum, hvor patienterne tog ophold. Denne praksis blev anvendt i 1920'erne, og muligvis tidligere. (Parkinson, 1969)

Senere er den skizofreni lugt faktor blevet identificeret. I sved har den kemiske betegnelse: "trans-3-methyl-2-hexenoic acid" (TMHA)¹ (Krisher og Pfeiffer; 1973, Grant, 1973 og Brown, 1995), og i urin: "Mauve factor" eller: "2,4 dimethyl-3-ethyl pyrrole", også kaldet "kryptopyrrole" (KP). KP skulle have en beroligende virkning på kaninhjerner (Krischer og Pfeiffer, 1973).

Der er lavet undersøgelser af, hvor gode henholdsvis rotter og mennesker er til at genkende lugten af skizofreni. Rotter i Y-labyrint: 70 % korrekte lugtidentifikation med en standard afvigelse (SD) på 0,046 og med signifikans niveau på 0.0001. Det menneskelige lugtpanel var også bedre til at identificere lugten, end forventet ved ren tilfældighed. Med hensyn til forekomst af lugten, er den blevet fundet i 69 % af 85 skizofrene patienter, og 43 % af 99 patienter med organiske sindssygdomme. (Smith, 1960)

Forgiftninger

Evnen til at stille en foreløbig diagnose på baggrund af lugt kan være nødvendig, f.eks. hvis det skal vurderes på en skadestue, om et barn har drukket organiske opløsningsmidler. Andre former for forgiftninger med karakteristisk lugt er arsenikforgiftning, der lugter af hvidløg (Gibbons 1986) og cyanidforgiftning, der lugter af mandel. (Manolis, 1983 og Smith et al., 1982)

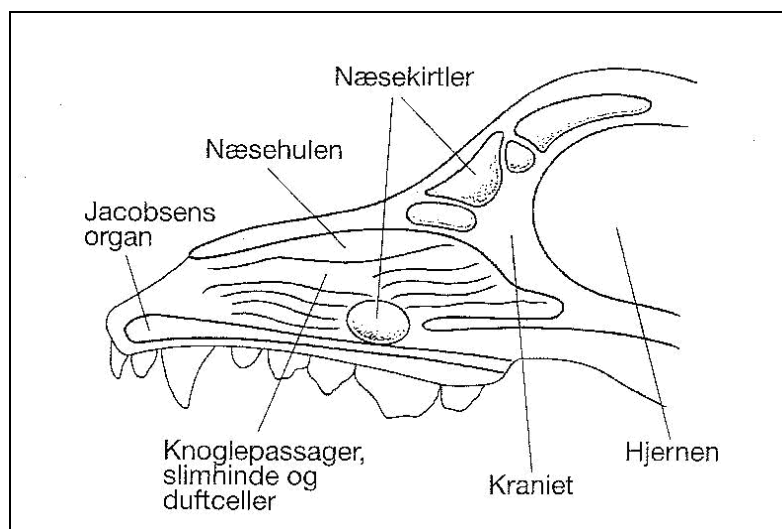
Derudover er der karakteristiske lugte knyttet til brug af rusmidler, f.eks.: alkohol, tobak og hash. (Smith et al., 1982)

¹ Frederick W. Grant kritiserer syntesevejen for at indeholde nogle meget ustabile mellemprodukter, hvorfor han ikke vurderer at den er realistisk.

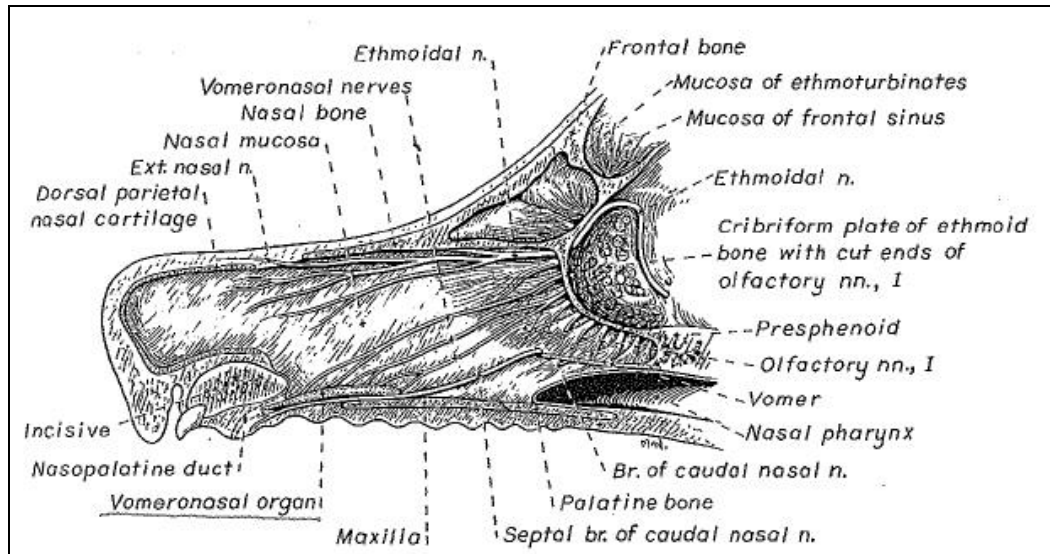
Hundens lugtesans

Anatomiske illustrationer

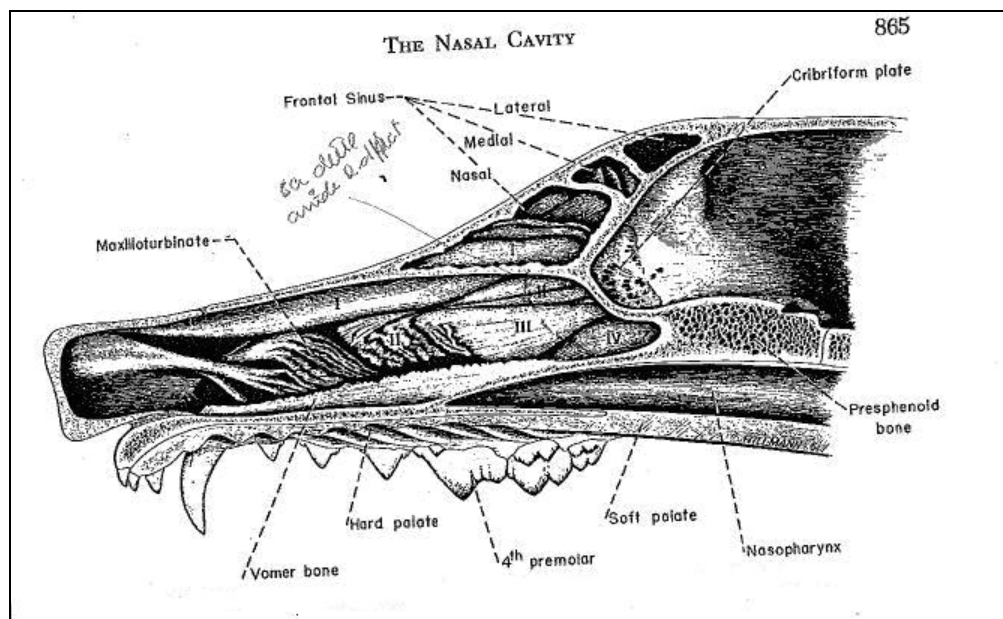
Anatomiske illustrationer af hundens næse, der viser placeringen af Lugtepitlet i øverste del af næsehulen (Figur B4.3) og ”Jakobsens organ” (”det vomeronasale organ” (VNO)) (Figur B4.1 og B4.3), samt mikroskopisk afbildning af VNO (figur B4.4).



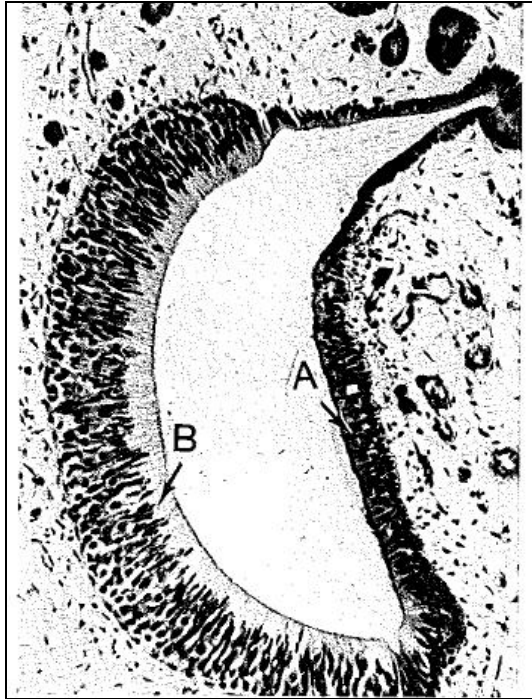
Figur B4.1. Tværsnit af hundens næse. (Knudsen og Ingerslev, 2005)



Figur B4.2. Lodret snit gennem hundens næse med fjernelse af både den brusk- og benagtige del af septum for at vise distributionen af nerver på skillevæggens slimhinde (Miller et al., 1965)



Figur B4.3. Lodret snit gennem hundens næse med fjernelse af septum, afslørende endoturbinater I-V. (Modificeret fra Miller et al., 1965 og Vibeke Danzer, personlig kommunikation)



Figur B4.4. Hundens "vomeronasale" kanal. Det laterale epithelium (A) indeholder celler med og uden cillier, mens det mediale epithelium (B) indeholder neurosensoriske og sustentaculare epithialceller. (Eurell og Frappier, 2006)

NOX/DUOX og sygdom

Disease	Tissue	Candidate Nox/Duox
Diseases of Decreased Nox Activity		
Chronic granulomatous disease	Phagocytes	Nox2
Defective gravity perception	Inner ear	Nox3
Hypothyroidism	Thyroid gland	Duox2
Diseases of Increased Nox Activity		
Arthritis	Phagocytes	Nox2
Inflammatory bowel disease	Phagocytes, Intestinal epithelium	Nox2
		Nox1
Shock lung (adult respiratory distress syndrome)	Lung	Nox2, others?
Lung fibrosis	Lung	Nox4, Duox
Emphysema	Lung	Nox1, Nox3
Asthma	Lung	Nox4, Nox2
Pulmonary hypertension	Lung	Nox4
Cardiac fibrosis in heart failure	Heart	Nox2, Nox4
Cardiac hypertrophy	Heart	Nox2
Electrophysiologic remodeling in atrial fibrillation	Heart	Nox1, Nox2
Hypertension	Heart	Nox1, Nox2
Atherosclerosis	Vasc. sm. muscle	Nox1, Nox2
Diabetic vascular disease (includes blindness, neuropathy, atherosclerosis)	Vascular	Nox1, Nox2
Diabetic nephropathy	Kidney	Nox1, Nox2
Renal hypertension	Kidney	Nox4, Nox2
Glomerulonephritis	Kidney	Nox2
Acute tubular necrosis	Kidney	Nox2, Nox4
Hemodialysis-induced renal failure	Kidney	Nox2
Cancers		Nox2, others?
Melanoma	Skin	Nox4
Barrett's adenocarcinoma	Esophagus	Nox5
Prostate cancer	Prostate	Nox1, Nox5
Gastric cancer	Stomach	Nox1
Colon cancer	Colon	Nox1
Glioblastoma	Brain	Nox4, Nox5
Inflammatory pain	Peripheral nerves	Nox1
Alzheimer's disease	Brain	Nox2, Nox3, Nox1?
Parkinson's disease	Brain	Nox2
Amyotrophic lateral sclerosis	Spinal motor neurons	Nox2
Deafness	Inner ear	Nox3
Type I Diabetes	Pancreatic islets	Nox1, Nox2
Pancreatitis	Pancreas	Nox1

Tabl B5.1. Sygdomme der involverer NOX eller DUOX enzymerne. Tabellen angiver sygdom, påvirkede væv og de NOX/DUOX enzymer, der menes at være involveret i sygdomsprocessen. (Lambeth, 2007)

Biomarkører for cancer

Styrene (ethenylbenzene)
Heptane, 2,2,4,6,6-pentamethyl
Heptane, 2-methyl
Decane
Benzene, propyl-
Undecane
Cyclopentane, methyl-
Cyclopropane, 1-methyl-2-pentyl-
Methane, trichlorofluoro-
Benzene
Benzene, 1,2,4-trimethyl-
1,3-butadiene, 2-methyl- (isoprene)
Octane, 3-methyl-
1-hexene
Nonane, 3-methyl-
1-heptene
Benzene, 1,4-dimethyl
Heptane, 2,4-dimethyl
Hexanal
Cyclohexane
Benzene, 1-methylethenyl-
Hepatanal

Tabel B6.1. "Kemiske fingeraftryk" af lungekræft. 22 "volatile organic compounds" (VOC), der adskiller sig i koncentration mellem lungekræftpatienter og raske mennesker. VOC med de mest betydningsfulde forskelle i koncentration er anført øverst på listen. 15 af de 22 stoffer er alkaner eller alkane derivater, der kan relateres til LPO og aktiviteten af cytochrom P450. Alkaner/derivater + 6 andre identiske med O'Neill: isoprene, benzene og 4 benzene derivater. (Phillips et al., 1999)

Chemical names of VOCs	Mean retention time $\pm$ 0.020, min	k = Concentration/peak area	Breath diagnosis cutoff (g/mL) (peak area = 200)
Styrene	4.490	$7.516 \cdot 10^{-13}$	$1.5032 \cdot 10^{-10}$
Decane	7.740	$2.654 \cdot 10^{-14}$	$5.308 \cdot 10^{-12}$
Isoprene	1.290	$1.441 \cdot 10^{-10}$	$2.882 \cdot 10^{-8}$
Benzene	1.748	$2.561 \cdot 10^{-13}$	$5.122 \cdot 10^{-11}$
Undecane	10.560	$1.119 \cdot 10^{-13}$	$2.238 \cdot 10^{-11}$
1-hexene	1.465	$1.314 \cdot 10^{-12}$	$2.628 \cdot 10^{-10}$
Hexanal	2.840	$1.136 \cdot 10^{-13}$	$2.272 \cdot 10^{-11}$
Propyl benzene	5.968	$5.954 \cdot 10^{-13}$	$1.1908 \cdot 10^{-10}$
1,2,4-trimethyl benzene	6.985	$1.149 \cdot 10^{-13}$	$2.298 \cdot 10^{-11}$
Heptanal	4.615	$2.594 \cdot 10^{-13}$	$5.188 \cdot 10^{-11}$
Methyl cyclopentane	1.652	$8.632 \cdot 10^{-12}$	$1.7264 \cdot 10^{-9}$

VOC indicates volatile organic compound.

Tabel B6.2. Udvalgte markører for lungekræft med angivelse af målte koncentrationer i udåndingsluft. (Chen et al., 2007)

	Breath VOC	CAS #	NIST #
1	Isopropyl alcohol	67-63-0	229015
2	4-Penten-2-ol	625-31-0	235505
3	Ethane, 1,1,2-trichloro-1,2,2-trifluoro-	76-13-1	233813
4	Propane, 2-methoxy-2-methyl-	1634-04-4	229277
5	1-Propene, 1-(methylthio)-, (E)-	42848-06-6	26402
6	2,3-Hexanedione	3848-24-6	291460
7	5,5-Dimethyl-1,3-hexadiene	1515-79-3	113453
8	3-Hexanone, 2-methyl-	7379-12-6	231728
9	1H-Indene, 2,3-dihydro-4-methyl-	824-22-6	2991
10	Camphor	21368-68-3	73611
11	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-, (1S)-	464-48-2	114690
12	3-Cyclohexene-1-methanol, α,α -4-trimethyl-	98-55-5	231634
13	<i>p</i> -menth-1-en-8-ol	N/A	151924
14	5-Isopropenyl-2-methyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-2-ol	N/A	185009
15	α Isomethyl ionone	127-51-5	196736
16	2,2,7,7-Tetramethyltricyclo[6.2.1.0(1,6)]undec-4-en-3-one	N/A	189499
17	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	6846-50-0	151177
18	Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester	23676-09-7	107721
19	Bicyclo[3.2.2]nonane-1,5-dicarboxylic acid, 5-ethyl ester	24238-73-1	269408
20	Pentanoic acid, 2,2,4-trimethyl-3-carboxyisopropyl, isobutyl ester	N/A	140775
21	Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester	74381-40-1	59556
22	1,2,4,5-Tetroxane, 3,3,6,6-tetraphenyl-	16204-36-7	11836
23	Benzophenone	119-61-9	118652
24	2,5-Cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylidene-	6738-27-8	215417
25	Furan, 2-[(2-ethoxy-3,4-dimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene)methyl]-	55162-49-7	47619
26	Benzene, 1,1-(1,2-cyclobutanediyl)bis-, <i>cis</i> -	7694-30-6	62825
27	Benzene, 1,1-[1-(ethylthio)propylidene]bis-	53699-80-2	149972
28	Anthracene, 1,2,3,4-tetrahydro-9-propyl-	101580-33-0	155542
29	9,10-Anthracenediol, 2-ethyl-	839-73-6	153923
30	Benzene, 1,1-ethylidenebis[4-ethyl-	10224-91-6	11431

Tabel B6.3. 30 markører for lungekræft udvalgt ved "weighted digital analysis" (WDA). (Phillips et al., 2008)

Analysemetoder: Indholdsstoffer i kondensat af udåndingsluft/ "Exhaled breath condensate" (EBC)

Biomarker	Analysis	Values in EBC
ROS: superoxide anion, hydroxyl radical and hydrogen peroxide	Chemiluminescence, enzymatic, spectroscopy, ESR/EPR	H ₂ O ₂ (0.02–0.5 µM)
RNS: nitric oxide (nitrite and nitrate), peroxynitrite, nitrotyrosine, Nitrosothiols	Electrometry, spectroscopy, GC/MS, HPLC, immunoassay, ESR/EPR	3-Nitrotyrosine (0.66–6.3 ng/ml); nitrite/nitrate (0.64–20.2 µM); Nitrosothiol (0.08–0.46 µM)
Lipid peroxidation products: TBARS, malondialdehydes, 4-HNE, F ₂ -isoprostanes	Colorimetry, ELISA, enzyme immunoassay (EIA), GC/MS, HPLC	MDA (35.6 ± 4.0 nmol/l) by GC/MS; TBARS (~0.5 µM) F ₂ -isoprostanes (3.9–15.8 pg/ml) by EIA kit and (80–120 pg/ml) by GC/MS in COPD, low detection limit in non-smoking controls)
Cytokines, chemokines and growth factors: IL-1β, TNF-α, IL-4, IL-6, IF-γ, IL-10, VEGF, soluble interleukin-2 receptor protein (sIL-2R), IF-γ	ELISA, lumines, RIA, GC/MS	IL-4 (35.7 ± 6.2 pg/ml), IL-6 (~3 pg/ml), IL-10 (~20 ng/ml), IL-8 (~10 pg/ml), IF-γ (3.7 ± 0.2 pg/ml); IL-1β (370 pg/ml); TNF-α (120 pg/ml); sIL-2R (2159 U/ml); VEGF (2.5 pg/ml)
LTs and prostaglandins (PGs)	ELISA, HPLC, RIA, GC/MS	Thromboxane B ₂ (25 to 30 pg/ml); leukotriene B ₄ (7 ± 0.5 pg/ml); cys-Lts (1.4 ± 0.5 pg/ml); PGE ₂ (44.3 pg/ml)
pH	Electrometry, colorimetry	Normal (pH 7.57); Asthma (acute pH 5.23, stable pH 7.43); COPD (pH 7.16); Cystic fibrosis (acute pH 5.32, chronic pH 5.88)
Antioxidants: total antioxidant capacity, glutathione, vitamin E, C, uric acid, albumin and other metabolites	Spectrophotometry, immunoassay, HPLC, GC/MS, NMR/metabolomics	Glutathione (14.1 ± 0.8 nM)

Tabel B6.1. Forskellige biomarkører i EBC og deres måling. Det bemærkes at ikke alle de stoffer, der nævnes her er flygtige for så vidt de ikke holder sig inden for grænsen på 300 Da. Det gælder f.eks.: cytokiner, chemokiner og vækstfaktorer, der er proteiner og måles i kilo Dalton (kDa), f.eks. har ikke en glycosyleret rekombinant human TNF-α en molekylvægt (MW) på 16.598 kDa¹. (Rahman og Kelly, 2003)

¹ Vægten af proteiner kan beregnes som: antal aminosyrer (AA) gange 110 Da/aa.

Typer af detektorhunde

1	Abalone (endangered mollusk poaching) detector dog
2	Agricultural product (importation) detector dog
3	Arson (accelerant) detector dog
4	Brown tree snake (pest species) detector dog
5	Airport/runway detector dog
6	Cadaver (human remains) detector dog
7	Chemical weapon detector dog
8	Citrus canker detector dog
9	Concealed person detector dog
10	Currency detector dog
11	Drug (narcotic) detector dog
12	Explosives (bomb) detector dog
13	Gas leak detector dog
14	Gold ore detector dog
15	Gun/ammunition detector dog
16	GYPSY moth larvae detector dog
17	Land mine trip wire detector dog
18	Melanoma detector dog
19	Missing person detector dog
20	Rotten power pole detector dog
21	Scent line-up detector dog
22	Screw worm detector dog
23	Seal detector dog
24	Search and rescue (warm blood) detector dog
25	Syringe needle (dried blood) detector dog
26	Termite detector dog
27	Tracking (fleeing suspect) detector dog
28	Truffles detector dog
29	Water search detector dog
30	Wildlife detector dog

Tabel B8.1. Detektorhunde: Hundes lugtesans kan komme mennesket til gavn inden for mange forskellige områder. (Lorenzo et al., 2003)

Hunde der kan lugte kræft hos mennesker

Skrevet af walcan 17 november 2007, klokken 09:00

Jeg er ved at skrive et speciale, der bl.a. kommer til at omhandle hundes evne til at kunne lugte kræft. I 1989 bragte det anerkendte medicinske tidsskrift "The Lancet" en artikel om en "border collie"X"doberman" tæve, der havde udvist meget vedholdende interesse for et pigmenteret mærke på låret af en 44 årig kvinde. Hunden snusede til mærket minutter om dagen, og til sidst forsøgte hunden at bide i mærket gennem bukserne. Hundes adfærd fik kvinden til at gå til lægen, hun fik konstateret hudkræft (Melanoma). Hunden har herved formentlig reddet kvindens liv.

Efterfølgende er der fremkommet flere "anekdotiske beviser" for at hunde har "opsporet kræft" i mennesker, og dermed medvirket til tidlig diagnosticering. Denne evne er endvidere blevet bekræftet ved flere videnskabelige undersøgelser, skønt der stadig er en del usikkerhed omkring metoden.



Citat fra artiklen i The Lancet: "Sniffer dogs in the Melanoma Clinic": "Vi er endnu ikke gået videre med en afprøvning af "sniffer hunde" på vores melanoma klinik, men associeret brug af dyr med højt udviklede sensoriske evner inden for cancer diagnose, er værd at overveje – og er uendelig meget bedre end at bruge hunde til at studere tobaks-carcinogenesis." (Williams og Pembroke 1989)

Hvis nogen af læserne selv har haft, eller kender til lignende oplevelser, hvor hunde har markeret over for kræft, eller anden sygdom, vil jeg selvfølgelig være meget interesseret. Der har også været et program om hundes evne til at lugte sig frem til kræft i fjernsynet, men jeg husker ikke hvad programmet hed, eller hvornår det blev sendt?

Litteratur

Williams, Hywel og Andres Pembroke: Sniffer dogs in the melanoma clinic? The Lancet. 1989. 8640. 734-734.

Links

http://en.wikipedia.org/wiki/Canine_cancer_detection;

<http://www.k9magazine.com/viewarticle.php?sid=15&aid=1256&vid=0&npage=>;

http://news.nationalgeographic.com/news/2004/08/0820_040820_detector dogs.html;

http://www.nytimes.com/2006/01/17/health/17dog.html?_r=2&oref=slogin&oref=slogin;

<http://www.wchstv.com/newsroom/healthyforlife/2120.shtml>;

http://www.dailymail.co.uk/pages/live/articles/health/healthmain.html?in_article_id=344596&in_page_id=1774

YouTube videoer med "detector-hunde" og terapihunde

Narkohund (Træning): <http://www.youtube.com/watch?v=hMg3lDgIBnA>; Detektorhund

(Træning): <http://www.youtube.com/watch?v=WwhCqHzGl9E>, Hund finder skadedyr og

skimmelsvamp: http://www.youtube.com/watch?v=_0W9rmBBllM; Hund finder termitter:

<http://www.youtube.com/watch?v=WMZZkfQR3Kg>

Hund hjælper børn med cancer (Terapihunde/Service

hunde): <http://www.youtube.com/watch?v=y0-tt5GxIr8>;

<http://www.youtube.com/watch?v=Vjs4oMMHunY>;

<http://www.youtube.com/watch?v=BMhAguzWZjk>;

<http://www.youtube.com/watch?v=TSgEcIOmojo>;

<http://www.youtube.com/watch?v=hsIg5eQB1Co>

Kilde: <http://www.ebblog.dk/2942/perma/32582/>

Rotter finder landminer

Skrevet af walcan 19 november 2007, klokken 06:36



I forlængelse af mit forige indlæg om hunde, der kan lugte cancer hos menneske, fik jeg et tip om dyr, kan hjælpe menneskeheden på en anden måde. Rotter har i lighed med hunde en meget veludviklet lugtesans, og kan trænes til at assistere minerydning ved at lugte sig frem til landminer.

Se videoer om rotter, der er trænet til minerydning:

<http://www.dr.dk/NETTV/Update/2007/11/16/171315.htm>

<http://www.infocast.dk/berlingske/mediamaker.php?id=2258&offset=&category=ALL&q=&#>

Kilde: <http://www.ebblog.dk/2942/perma/32715/>

Rotter opsnuser tuberkulose-smitte

Skrevet af walcan 24 januar 2008, klokken 18:46



I går aftes kunne man på DR-tv se et indslag om, hvordan afrikanske kæmperotter (*Cricetomys gambianus*), er blevet trænet til at opsnuse tuberkulose i Tanzania. Rotterne kan efter 6-8 måneders træning detektere tuberkulose i spytprøver fra patienter. Tuberkulose markeres ved at rotten bider eller kradser mod prøven. Rottens belønning: en peanut. Tidligere har der i denne blog været et indlæg om hvordan kæmperotter på tilsvarende måde kan trænes til at opspore landminer: <http://www.ebblog.dk/2942/perma/32715/>

Links

DR Update (23.01.2008; 20:40):

<http://www.dr.dk/NETTV/Update/2008/01/23/20080123203444.htm>

Rats help sniff out TB: <http://news.bbc.co.uk/1/hi/health/3486559.stm>

Giant rats to sniff out tuberculosis: <http://www.newscientist.com/article/dn4488-giant-rats-to-sniff-out-tuberculosis.html>

Kilde: <http://www.ebblog.dk/2942/perma/37603/>