

И.А.Климанов<sup>1</sup>, С.К.Соодаева<sup>1</sup>, А.В.Лисица<sup>1</sup>, В.Б.Кудрявцев<sup>2</sup>, А.Г.Чучалин<sup>1</sup>

## Стандартизация преаналитического этапа исследования конденсата выдыхаемого воздуха

1 — ФГУ "НИИ Пульмонологии Росздрава", г. Москва;

2 — Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова

*I.A.Klimanov, S.K.Soodaeva, A.V.Lisitsa, V.B.Kudryavtsev, A.G.Chuchalin*

## Standardizing of pre-analytic evaluation of exhaled breath condensate

### Summary

There are numerous problems regarding standardization of collection of exhaled breath condensate (EBC) and interpretation of results of its investigation despite the great interest to this field worldwide. Due to this, theoretical substantiation of standardizing the EBC pre-analytic evaluation is important. This article proposes a standardizing technique for the EBC collection and evaluation of fixed components of epithelium lining fluid. Considering several limitations, this technique could be used both for fundamental research and clinical practice.

### Резюме

Несмотря на пристальный интерес к исследованиям конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) в клинической практике, остается много вопросов по стандартизации методики сбора КВВ, интерпретации получаемых результатов и возможности сравнения данных различных исследований между собой. В этой связи несомненна актуальность теоретического обоснования стандартизации преаналитического этапа исследования КВВ.

В статье предложена методика стандартизации процедуры сбора КВВ и оценки нелетучих компонентов жидкости, выстилающей эпителий бронхов, что с учетом некоторых ограничений может использоваться как для теоретических изысканий, так и в клинической практике.

Несмотря на значительный прогресс в диагностике заболеваний респираторного тракта, стандартизации и унификации лечебных схем, у многих пациентов затруднена ранняя диагностика [1]. Кроме того, для диагностики применяются в основном инвазивные методы (провокационные бронхоконстрикторные тесты, бронхоскопические исследования, биопсии). Поэтому, остается актуальной необходимость разработки чувствительных, простых и необременительных для пациентов неинвазивных методик. Информативно в этом отношении исследование различных биомаркеров в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ). Использование таких методик позволяет избежать проведения инвазивных исследований, снизить затраты на диагностику и, как следствие, улучшить прогноз, благодаря ранней медикаментозной терапии [1, 2].

К настоящему времени в КВВ обнаружено более 100 химических соединений, которые в той или иной степени отражают процессы, происходящие в респираторном тракте [2]. Несмотря на пристальный интерес к исследованиям КВВ в клинической практике и на все возрастающее число работ, посвященных данной проблематике, остается большое количество вопросов по стандартизации методики сбора КВВ, интерпретации получаемых результатов и возможности сравнения данных различных исследований между собой [3]. В доступных нам литературных источниках удалось обнаружить лишь единичные работы, в которых предприняты попытки стандарти-

зации процедуры сбора КВВ [4, 5, 6] и определения факторов, влияющих на концентрации исследуемых веществ в КВВ [7, 8].

В этой связи несомненна актуальность теоретического обоснования стандартизации преаналитического этапа исследования КВВ. Для решения этой задачи рассмотрим нелетучий, химически инертный компонент жидкости, выстилающей эпителий бронха (ЖВЭБ), находящийся в ней в концентрации  $X$  (Моль / л, или  $M$ ) и оценим изменение этой концентрации в ходе конденсации выдыхаемого воздуха.

КВВ представляет собой жидкость, образующуюся в результате охлаждения и последующей конденсации выдыхаемого воздуха, поэтому ее состав определяется составом выдыхаемого воздуха. С физической точки зрения выдыхаемый воздух представляет собой аэрозоль или аэродисперсную систему, состоящую из газообразной дисперсионной среды и взвешенной в ней жидкой дисперсной фазы (аэрозольные частицы), иначе говоря, это взвесь жидких частиц в газе [9].

Механизмы образования аэрозольных частиц в респираторном тракте и, соответственно, появление их в выдыхаемом воздухе подчиняются общим физическим закономерностям. Так, из молекулярной физики известны два способа образования аэродисперсных систем:

- конденсационный — образование капель жидкости из молекул перенасыщенного пара — способ "от малого к большому";

- диспергационный — измельчение твердых и / или жидких тел в ходе различных процессов — способ "от большого к малому" [9].

Из механизмов формирования аэрозоля следует, что диспергационные частицы, являясь отражением ЖВЭБ, вне зависимости от своего размера, содержат  $X$  М рассмотренного нами вещества, а конденсационные частицы — 0 М. Пары воды, находящиеся в выдыхаемом воздухе, также не содержат рассматриваемого вещества (0 М) (рис. 1, 2).

Далее, для упрощения модели, примем, что:

1. На образовавшихся диспергационных частицах, которые находятся в количестве  $n$  в одном выдохе, в ходе прохождения их по респираторному тракту не происходит процессов конденсации паров воды, т. е. не происходит разведения этих частиц.
2. Концентрация конденсационных частиц в выдыхаемом воздухе приближается к нулю и не происходит их слияния с диспергационными частицами.
3. При прохождении выдыхаемого воздуха через систему трубок при температуре около  $0^\circ\text{C}$  или невысоких отрицательных температурах из газовой фазы выдыхаемого воздуха конденсируются только пары воды, а аэрозольные частицы, попадая в конденсированные пары, сливаются и растворяются в образовавшейся жидкости.
4. Все аэрозольные частицы попадают в КВВ, т. е. КПД конденсора по аэрозольным частицам приближается к 100 %.
5. Пар выдыхаемого воздуха полностью конденсируется конденсором, т. е. КПД конденсора по пару воды приближается к 100 %.

Обозначим объем образующегося конденсата, как  $V_{\text{квв}}$  (л), а объем  $k$ -й диспергационной аэрозольной частицы как  $V_{\text{аэчастк}_k}$  (л), где  $k = 1, 2, \dots, n$ .

Рассчитаем измеряемую концентрацию ( $X_{\text{изм}}$ ) нелетучего вещества в образовавшемся КВВ с концентрацией  $X$  (М) в ЖВЭБ после образования КВВ за один выдох, при условии, что в  $k$ -ой частице объе-

мом  $V_{\text{аэчастк}_k}$  (л) —  $X_k$  (М). Исходя из представленного механизма формирования КВВ и используя определение молярной концентрации вещества [10], получаем, что измеренная в КВВ концентрация вещества  $X_{\text{изм}}$ , равна:

$$X_{\text{изм}} = \frac{\sum_{k=1}^n X_k * V_{\text{аэчастк}_k}}{V_{\text{квв}}}$$

Так как концентрация вещества для всех частиц одна и та же, то есть  $X_1 = X_2 = \dots = X_n = X$ , то

$$X_{\text{изм}} = \frac{X * \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}}{V_{\text{квв}}} \quad (1)$$

Напомним, что формула (1) описывает один выдох, а для  $j$  количества выдохов формула (1) приобретает вид:

$$X_{\text{изм}}^j = \frac{\left( \left( \frac{X * \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}^1}{V_{\text{квв}}^1} \right) * V_{\text{квв}}^1 + \left( \frac{X * \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}^2}{V_{\text{квв}}^2} \right) * V_{\text{квв}}^2 + \dots + \left( \frac{X * \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}^j}{V_{\text{квв}}^j} \right) * V_{\text{квв}}^j \right)}{V_{\text{квв}}^j}$$

Или

$$X_{\text{изм}}^j = \frac{\left( X * \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}^1 + X * \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}^2 + \dots + X * \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}^j \right)}{V_{\text{квв}}^j}$$

Где,  $V_{\text{аэчастк}_k}^1, V_{\text{аэчастк}_k}^2, \dots, V_{\text{аэчастк}_k}^j$  — объем  $k$ -ой частицы в 1-м, 2-м, ...,  $j$ -м выдохе;  $V_{\text{квв}}^1, V_{\text{квв}}^2, \dots, V_{\text{квв}}^j$  — объем образующегося конденсата за 1-й, 2-й, ...,  $j$ -й выдох;  $V_{\text{квв}}^j$  — суммарный объем конденсата за  $j$  выдохов;  $X_{\text{квв}}^j$  — измеряемая концентрация вещества за  $j$  выдохов.

В итоге для данной модели формирования КВВ получаем:

$$X_{\text{изм}}^j = \frac{X * \sum_{i=1}^j \left( \sum_{k=1}^n V_{\text{аэчастк}_k}^i \right)}{V_{\text{квв}}^j} \quad (2)$$

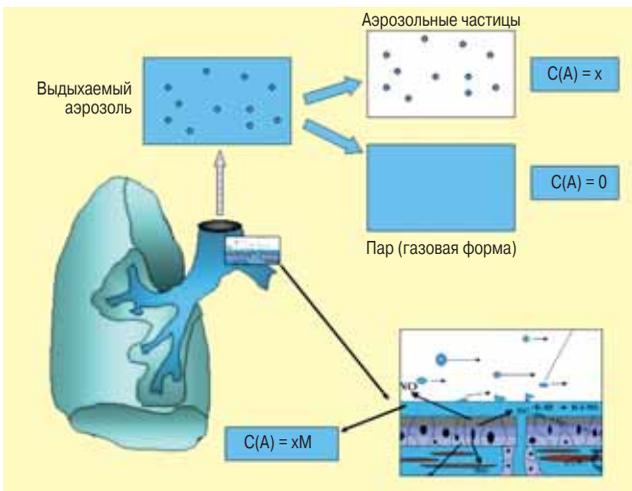


Рис. 1. Изменение концентрации нелетучего компонента ЖВЭБ в ходе формирования КВВ.  $C(A)$  — молярная концентрация рассматриваемого вещества

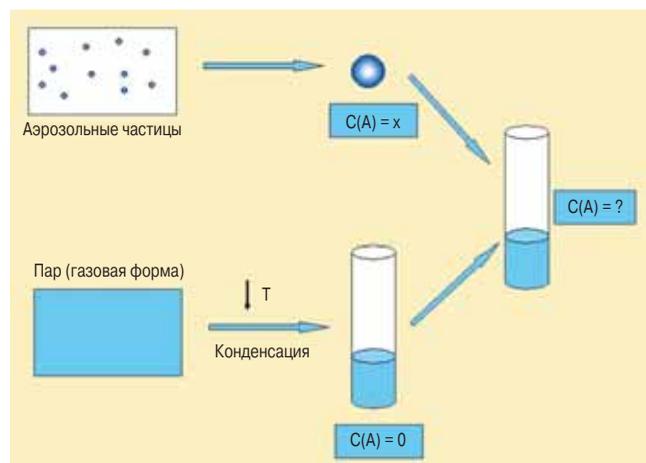


Рис. 2. Изменение концентрации нелетучего компонента ЖПЭБ в ходе формирования КВВ

Таким образом, для предложенной модели формирования КВВ удалось показать, что измеряемая концентрация рассматриваемого нелетучего вещества, находящегося в концентрации  $X$  (М) в ЖВЭБ, напрямую зависит от концентрации этого вещества в ЖВЭБ, суммы объемов аэрозольных частиц в выдыхаемом воздухе, и обратно пропорциональна конечному объему КВВ. Соответственно, чтобы исключить влияние указанных параметров на измеряемую концентрацию рассматриваемого вещества, преобразуем формулу (2) и приведем ее к следующему виду:

$$X = \frac{X_{изм}^j * V_{квв}^l}{\sum_{i=1}^j \left( \sum_{k=1}^n V_{аэчастиц}^k \right)} \quad (3)$$

Отметим, что формула (3) имеет помимо теоретического еще и практическое применение, так как все члены формулы (3), находящиеся в правой части уравнения, измеряемы практически. Показатель  $X_{изм}^j$  измеряется, исходя из того, какое вещество определяется в данном исследовании,  $V_{квв}^l$  — измеряется с помощью градуированных пробирок или другими способами измерения объема жидкости,

$$\sum_{i=1}^j \left( \sum_{k=1}^n V_{аэчастиц}^k \right)$$

регистрируется счетчиками аэрозольных частиц.

Однако в реальной ситуации формулы (2) и, соответственно, (3) имеют ряд ограничений, связанных с тем, что концентрация исследуемого нелетучего вещества неодинакова в различных выдыхаемых аэрозольных частицах. Причинами этого являются: неравномерное распределение исследуемого вещества на протяжении респираторного тракта, присутствие в измеряемом пространстве конденсационных частиц, не содержащих в себе интересующих нелетучих молекул, процессы конденсации на уже образовавшихся диспергационных частицах. Строгий количественный учет данных процессов представляется весьма затруднительным. Параметром, ограничивающим применение на практике формулы (3), является возможная разноразличность коэффициентов полезного действия (КПД) конденсаторов по аэрозольным частицам (КПД<sub>аэ</sub>) и по пару воды (КПД<sub>воды</sub>). КПД<sub>аэ</sub> представляет собой отношение количества аэрозольных частиц, попавших в конденсат, к коли-

честву аэрозольных частиц в выдыхаемом воздухе. КПД<sub>воды</sub> отображает отношение количества конденсата к количеству воды в выдыхаемом воздухе. В существующих конденсаторах КПД далек от 100 %. Так, для широко используемого в настоящее время конденсатора *EcoScreen*, этот параметр варьирует от 20 % до 40 % в зависимости от минутной вентиляции легких (МВЛ). Причем, чем выше МВЛ, тем ниже КПД, что, по всей видимости, связано со временем контакта выдыхаемого воздуха с охлаждающей поверхностью прибора [8].

Таким образом, предложенная методика стандартизации процедуры сбора КВВ и оценки нелетучих компонентов ЖВЭБ, при условии учета вышеупомянутых ограничений, может использоваться как для теоретических изысканий, так и в клинической практике.

## Литература

1. Чучалин А.Г. Белая книга. Пульмонология. М.; 2000.
2. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Exhaled markers of pulmonary disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001; 163 (3): 1693–1711.
3. Hyde R.W. I don't know what you guys are measuring but you sure are measuring it!" A fair criticism of measurements of exhaled condensates? Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2002; 165 (5): 561–562.
4. Effros R.M., Hoagland K.W., Bosbous M. et al. Dilution of respiratory solutes in exhaled condensates. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2002; 165 (5): 663–669.
5. Effros R.M., Biller J., Foss B. et al. A simple method for estimating respiratory solute dilution in exhaled breath condensates. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2003; 168: 1500–1505.
6. Effros R.M., Dunning M.B. 3rd, Biller J., Shaker R. The promise and perils of exhaled breath condensates. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2004; 287 (6):1073–1080.
7. Schleiss M.B., Holz O., Behnke M. et al. The concentration of hydrogen peroxide in exhaled air depends on expiratory flow rate. Eur Respir J. 2000; 16 (6): 1115–1118.
8. McCafferty J.B., Bradshaw T.A., Tate S. et al. Effects of breathing pattern and inspired air conditions on breath condensate volume, pH, nitrite, and protein concentration. Thorax 2004; 59: 694–698.
9. Райс П. Аэрозоли. М.: Мир; 1987.
10. Степин Б.Д., Цветков А.А. Неорганическая химия. М.: Высшая школа; 1994. 608.

Поступила 12.04.06  
© Коллектив авторов, 2006  
УДК 612.221.08