

## Диагностическое значение исследования экспирации эндогенных нелетучих веществ

Дальневосточный государственный медицинский университет, г. Хабаровск

V.A.Dobrykh, I.E.Mun, O.P.Gnatjuk

## Diagnostic value of measurement of exhaled endogenous nonvolatile substances

### Summary

The total amount of nonvolatile substances in exhaled breath condensate (EBC) is a biomarker of formation of dispersed aerosol in airways. Exhaled endogenous nonvolatile substances have been studied in 358 healthy persons and patients with respiratory, heart, and renal diseases. The exhalation of endogenous nonvolatile substances was not associated with gender but enhanced with aging. Smoking, acute period of pneumonia, and chronic renal insufficiency increased nonvolatile substances volume in EBC. Chronic heart failure and COPD reduced this parameter. Concentration of nonvolatile substances in EBC increased in all these diseases. Proposed diagnostic test could be useful for investigation of EBC.

### Резюме

Суммарное количество нелетучих веществ в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) является биомаркером образования дисперсионного аэрозоля в дыхательных путях. Изучена экспирация эндогенных нелетучих веществ у 358 здоровых людей и больных с заболеваниями респираторной системы, сердца, почек. Установлено, что выведение нелетучих веществ не связано с полом обследуемых, но усиливается с возрастом. Курение, острый период заболевания пневмонией, хроническая почечная недостаточность увеличивают экспирацию нелетучих веществ. При сердечной недостаточности и ХОБЛ она снижается. Концентрация нелетучих веществ в КВВ при всех изученных заболеваниях была повышенной. Предлагаемый диагностический тест может быть полезным при исследовании компонентов КВВ.

Рост интереса к изучению конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ), подтверждаемый многочисленными публикациями по данной теме, объясняется не только известными преимуществами получения этого биосубстрата, но и его большими потенциальными диагностическими возможностями. В частности, в докладе рабочей группы GOLD подтверждена перспективность исследования веществ, выделяющихся с выдыхаемым воздухом, в изучении ХОБЛ [1]. В последние годы на рынке медицинского оборудования в последние годы появились устройства, предназначенные для сбора конденсата.

В то же время изучение КВВ до сих пор не унифицировано, а методика получения, исследования и интерпретации характеристик эндогенных веществ, растворенных в КВВ, только формируется [2–5].

В последние годы проявился особый интерес к изучению образования на поверхности бронхов и альвеол и переноса потоком воздуха дисперсионного аэрозоля как носителя эндогенных нелетучих веществ (ЭНВ) — процесса, названного нами ранее (В.А.Добрых) диспергационным транспортом, включающим в себя не только образование аэрозоля при дыхании (микродиспергирование), но и крупных частиц при кашле (макродиспергирование) [3–8]. Как показали наши ранее проведенные исследования, количество диспергационного аэрозоля и соответственно объем ЭНВ в конденсате связаны с характером патологического процесса, показателями вентиляции, физическими свойствами бронхоальвеолярного содержимого [7].

Широкое использование КВВ в качестве биосубстрата для диагностических исследований при раз-

личных заболеваниях делает достаточно актуальной задачу сравнительной оценки суммарного количества ЭНВ при различных нозологиях и синдромах в клинике внутренних болезней. Такое исследование не только позволит выявить особенности функционирования микродиспергационного транспорта в условиях разной патологии, но и будет полезным с сугубо практической стороны, позволяя интерпретировать результаты изучения отдельных нелетучих компонентов КВВ при этих заболеваниях. Таким образом, сравнительное исследование суммарных объемов ЭНВ и их концентрации в КВВ имеет как преимущественно теоретическое (функционирование механизма микродиспергационного транспорта в физиологических условиях и при патологии), так и прикладное значение (более точный расчет и интерпретация экспирации отдельных нелетучих химических ингредиентов, присутствующих в КВВ).

Цель настоящего исследования — провести сравнительную оценку суммарного количества ЭНВ в КВВ у здоровых людей и больных с патологиями, способными влиять на свойства диспергационного аэрозоля (заболеваниями респираторной системы, хронической сердечной и почечной недостаточностью).

### Материалы и методы

В исследовании участвовали 358 человек. Все исследования выполнялись при условии получения информированного согласия пациентов в лечебно-диагностических учреждениях г. Хабаровска в 2002–2006 гг. Среди них было 106 практически здо-

ровых некурящих волонтеров обоего пола (74 мужчины и 32 женщины) и 78 практически здоровых курящих мужчин (пациенты, проходящие медицинский осмотр в консультативно-диагностической поликлинике № 368 г. Хабаровска, студенты медицинского университета) в возрасте 19–72 лет (средний возраст – 28,7 года).

Группа пациентов мужского пола с заболеваниями бронхолегочной системы была представлена 23 больными, страдавшими хроническим бронхитом, связанным с табакокурением, вне обострения заболевания (средний возраст – 47,5 года) и 24 пациентами с ХОБЛ 2–3-й стадии заболевания вне фазы обострения (средний возраст – 66,2 года). Все пациенты в период исследования не страдали другими острыми или декомпенсированными хроническими заболеваниями внутренних органов. Диагностика заболеваний основывалась на существующих рекомендациях [1, 9, 10].

У 53 обследованных курящих молодых мужчин 18–24 лет (средний возраст – 20,2 года) с внебольничной пневмонией тяжелого и нетяжелого течения, находившихся на лечении в пульмонологических отделениях 301-го Окружного военного клинического госпиталя (ОВКГ), диагностика заболеваний проводилась в соответствии с существующими стандартами [11]. Во всех случаях диагноз пневмонии был подтвержден данными рентгенологического исследования. У каждого пациента получение конденсата и подсчет характеристик ЭНВ проводились дважды: в период обострения (2–3-й дни заболевания) и в период разрешения (10–12-й дни заболевания).

Обследованы 59 мужчин – пациентов кардиологического отделения 301-го ОВКГ и инфарктного отделения Краевой клинической больницы № 2 г. Хабаровска с синдромом хронической сердечной недостаточности, причиной которой явилась ишемическая болезнь сердца (ИБС). Средний возраст пациентов составил 58,1 года. Диагноз устанавливался в соответствии с критериями современной классификации ИБС и хронической сердечной недостаточности (ХСН) [12, 13]. По результатам клинико-лабораторного, электрокардиографического, соноскопического исследований у 21 пациента был обнаружен мелкоочаговый (Q-негативный) инфаркт миокарда, у 23 – стенокардия напряжения II, а у 15 – III функциональных классов. По критерию величины фракции выброса (ФВ) левого желудочка пациенты с ХСН были распределены на 2 подгруппы: 1-ю подгруппу составили 30 больных с  $ФВ \leq 0,55$ , 2-ю – 29 пациентов с  $ФВ > 0,55$ . У всех пациентов на основании целенаправленного клинического и рентгенологического исследования были исключены острые и хронические заболевания респираторной системы. Сбор конденсата проводили на 4–8-й дни госпитализации в период общей стабилизации состояния обследуемых и отсутствия ангинозных приступов.

Исследование экспирации ЭНВ в динамике было выполнено у 15 больных с терминальной хроничес-

кой почечной недостаточностью (ХПН), развившейся в результате хронических воспалительных заболеваний почек, и находящихся на программном гемодиализе. У 12 из них причиной ХПН был хронический гломерулонефрит, у 1 – хронический пиелонефрит, у 2 – диабетический гломерулосклероз. Все обследованные были мужского пола, не курили, их средний возраст составил  $46,5 \pm 3,4$  года. Получение конденсата осуществлялось до и после процедуры гемодиализа, выполнявшегося в нефрологическом отделении 1-й Краевой клинической больницы г. Хабаровска. На момент обследования у больных не было клинических симптомов острых заболеваний респираторной системы, а хроническая респираторная патология исключалась на основании предшествующего комплексного клинико-рентгенологического обследования.

Сбор КВВ осуществляли с помощью портативного устройства (конденсатора), конструктивно близкого системам, применявшимся в других подобных работах [14–16]. Устройство представляло собой стеклянную колбу объемом 260 мл, охлаждаемую льдом до  $0-3^{\circ}\text{C}$ , что, как показали наши специальные исследования, достаточно для практически полного сбора ЭНВ [7]. Устройство включало в себя клапанную систему с одноразовыми фильтрами и собственно конденсатор паров. Система фильтров обеспечивала очищение воздуха от экзогенных летучих примесей, содержащихся во вдыхаемом воздухе, роль которых в загрязнении КВВ весьма существенна [4].

В процессе сбора КВВ осуществлялись меры по предотвращению попадания в конденсатор содержимого полости рта (предварительное прополаскивание рта и глотки дистиллированной водой, строгое удерживание мундштука в определенном положении, сглатывание слюны).

Сбор КВВ длился 10 мин, что позволяло получать в среднем 0,8 мл конденсата. Для подсчета ЭНВ полученный конденсат помещали на предметное стекло и испаряли при комнатной температуре, предохраняя с помощью специального экрана от попадания пылевых частиц, содержащихся в воздухе. Площадь сухого остатка, окрашенного по способу Романовского–Гимзы, определяли при микроскопировании частиц нелетучих веществ в 12 полях зрения на предметном стекле. На основании планиметрического "метода полей" по А.А. Глаголеву производился расчет площади, занятой ЭНВ [17]. Используя разработанную на образцах плазмы крови математическую модель соотношения площади и объема сухого остатка образца рассчитывали объем и, с учетом количества КВВ, – концентрацию ЭНВ.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы *Excel*. Рассчитывали средние величины, среднеквадратичные отклонения. Достоверность различий средних величин определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Парные корреляционные сопоставления проводились с использованием методов Пирсона и Спирмена.

Влияние физиологических факторов и методических условий на количество экспирируемых ЭНВ (мм<sup>3</sup>)

Фактор	1	2	p
Гендерная принадлежность (1 – мужчины, 2 – женщины)	0,47 ± 0,05 (n = 27)	0,58 ± 0,04 (n = 32)	> 0,05
Фаза менструального цикла (1 – фолликулиновая, 2 – лютеиновая)	0,57 ± 0,05 (n = 32)	0,60 ± 0,05 (n = 32)	> 0,05
Курение сигареты (1 – исходные данные, 2 – после курения)	0,63 ± 0,06 (n = 18)	0,99 ± 0,07 (n = 18)	< 0,05
Повторное исследование (1 – исходные, 2 – повторные данные)	0,66 ± 0,04 (n = 14)	0,55 ± 0,07 (n = 14)	> 0,05
Использование носового зажима (1 – без зажима, 2 – с зажимом)	0,75 ± 0,10 (n = 15)	0,83 ± 0,12 (n = 15)	> 0,05

## Результаты и обсуждение

Исследование характеристик ЭНВ у здоровых некурящих людей молодого возраста показало, что за 10 мин спокойного дыхания экспирируется, как правило, 0,4–0,8 мм<sup>3</sup> ЭНВ. Изучая у этой категории лиц связь с экспирацией ЭНВ методических условий получения КВВ и ряда физиологических факторов, мы пришли к результатам, представленным в таблице.

Как следует из приведенных в таблице данных, экспирация ЭНВ у лиц молодого возраста не зависела от их гендерной принадлежности, а у женщин – от фазы менструального цикла, как и от использования носового зажима и повторения процедуры исследования. Выкуривание сигареты увеличивало объем экспирируемых ЭНВ.

Влияние возрастного фактора и длительного табакокурения на экспирацию ЭНВ было не столь однозначным (рис. 1).

Представленные на рис. 1 данные свидетельствуют о повышении экспирации ЭНВ с возрастом у некурящих мужчин. Проведение корреляционного анализа выявило высокую достоверность этой тенденции:  $r = 0,54$  ( $n = 74$ ;  $p < 0,01$ ). У курящих лиц в возрасте до 45 лет, в сравнении с некурящими, экспирация ЭНВ усиливается ( $p < 0,02$ ), а после 45 лет влияние фактора курения отсутствует.

Проводя сравнительную оценку особенностей экспирации ЭНВ при заболеваниях респираторной, сердечно-сосудистой и мочевыделительной систем, мы сопоставляли полученные показатели с аналогичными характеристиками у практически здоровых

лиц контрольных групп, сопоставимых с представителями основных групп по возрасту и параметрам табакокурения. Результаты представлены на рис. 2.

Как показано на рис. 2, объем экспирируемых ЭНВ при спокойном дыхании при разных патологических процессах существенно различается. Превышение нормальных значений объема ЭНВ ( $0,61 \pm 0,03$  мм<sup>3</sup>) отмечено у больных хроническим бронхитом ( $0,76 \pm 0,04$  мм<sup>3</sup>), пневмонией в период разгара заболевания ( $0,82 \pm 0,04$  мм<sup>3</sup>), при ХПН до проведения процедуры гемодиализа ( $0,90 \pm 0,06$  мм<sup>3</sup>). Снижение уровня ЭНВ имеет место у больных ХОБЛ ( $0,51 \pm 0,03$  мм<sup>3</sup>) и у пациентов с ИБС в подгруппе с низкими значениями ФВ левого желудочка ( $0,51 \pm 0,02$  мм<sup>3</sup>). В других сравниваемых группах (больные с пневмонией в стадии разрешения инфильтрата, подгруппа пациентов с ХСН с более высокими показателями ФВ, больные с ХПН после гемодиализа) объем экспирируемых ЭНВ достоверно не отличался от аналогичного показателя в группе контроля.

Концентрация ЭНВ в сравниваемых группах варьировала более резко и была достоверно увеличенной в сравнении с показателями контрольной группы ( $0,110 \pm 0,006$  %), здоровых курильщиков ( $0,130 \pm 0,004$  %), больных пневмонией в период обострения ( $0,19 \pm 0,01$  %), пациентов с ХОБЛ ( $0,16 \pm 0,01$  %), ИБС ( $0,22 \pm 0,02$  %) и ХПН ( $0,18 \pm 0,02$  %). Снижение этого показателя по сравнению с контрольными данными не отмечено ни в одной из сравниваемых групп.

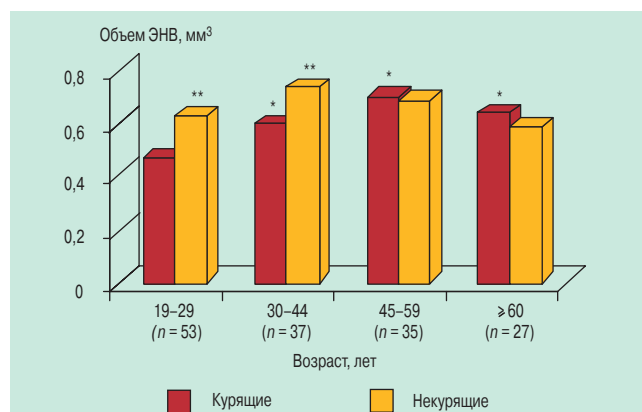


Рис. 1. Экспирация ЭНВ у мужчин без признаков респираторной патологии

Примечание: \* – достоверные различия с группой некурящих, \*\* – различия между курящими и некурящими в одной возрастной группе.

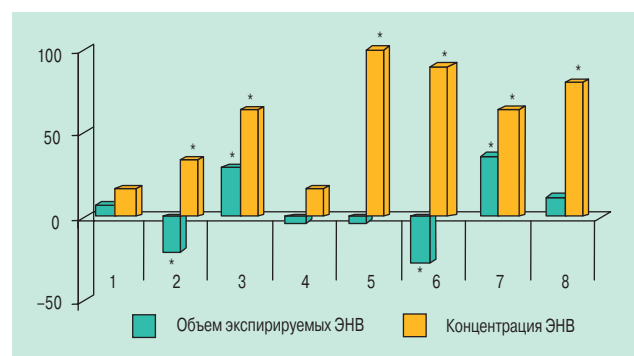


Рис. 2. Изменения объема и концентрации ЭНВ при болезнях респираторной, сердечнососудистой и мочевыделительной систем (% от аналогичных показателей в группе контроля)

Примечание: 1 – показатели ЭНВ у больных хроническим бронхитом, 2 – у больных ХОБЛ, 3 – у больных пневмонией в период обострения, 4 – у больных пневмонией в период разрешения, 5 – у больных ИБС с нормальными параметрами фракции выброса левого желудочка, 6 – у больных ИБС со сниженной фракцией выброса, 7 – у больных с ХПН до гемодиализа, 8 – у тех же больных после гемодиализа. \* –  $p < 0,05$  (статистически значимые различия с соответствующими показателями в контрольной группе).

Корреляционный анализ обнаружил связь экспирации ЭНВ с некоторыми важными лабораторными и функциональными параметрами, отражающими степень функциональных нарушений у пациентов в обследованных группах. Так, в объединенной группе больных хроническим бронхитом и ХОБЛ была выявлена достоверная связь объема ЭНВ с объемом форсированного выдоха за 1-ю с (ОФВ<sub>1</sub>) ( $r = 0,46$ ;  $p < 0,01$ ), в группе больных ИБС — с величиной ФВ ( $r = 0,42$ ;  $p < 0,01$ ), в группе больных ХПН — с уровнем гиперкалиемии ( $r = 0,36$ ;  $p < 0,05$ ).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что количество экспирируемых ЭНВ существенно варьирует при ряде заболеваний, достигая в отдельных случаях почти 2-кратной разницы (у больных ХПН и ИБС). Высокие значения объема ЭНВ в период разгара пневмонии могут быть следствием изменения физических характеристик бронхоальвеолярного содержимого, облегчающих процессы диспергирования в условиях воспаления (снижение его адгезивности и упругости за счет действия нейтрофильных и макрофагальных протеиназ и усиления транссудации [18]). Снижение экспирации ЭНВ при ХОБЛ, связанное с уровнем ОФВ<sub>1</sub>, вероятно, является производным существенного ограничения скорости воздушного потока и изменения физических свойств бронхоальвеолярного содержимого, в частности усиления адгезивности за счет снижения продукции сурфактанта, что характерно для поздних стадий заболевания [19]. Уменьшение экспирации ЭНВ у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, возможно, также связано с вторичными вентиляционными и бронхиальными дискриническими нарушениями. У пациентов с ХПН выявленные отклонения, очевидно, можно объяснить ростом в жидкостях и тканях, в том числе и в бронхоальвеолярном содержимом и соответственно в диспергируемых аэрозольных частицах, количества нелетучих соединений азота и других метаболитов. Повышенная экспирация ЭНВ у этих пациентов, таким образом, является своеобразной компенсаторной реакцией на снижение выделительной функции почек.

Обнаруженная нами разница в повышении концентраций ЭНВ в сравниваемых группах ( $v \geq 2$  раз), на наш взгляд, является фактором возможных ошибок при интерпретации тех или иных отклонений концентрации отдельных ЭНВ в конденсате. Так, обнаруженное нами значительное повышение концентрации ЭНВ у больных ИБС происходит при существенном снижении их общего объема. Подобная зависимость может сформировать противоположные точки зрения на содержание в КВВ отдельных нелетучих компонентов у этой категории пациентов в зависимости от того, рассчитывается ли общее количество вещества или его концентрация.

Таким образом, подсчет суммарного количества и концентрации экспирируемых ЭНВ может стать полезным тестом в диагностике нарушений процесса микродиспергирования бронхоальвеолярного содержимого при ряде заболеваний внутренних органов.

## Заключение

Опираясь на результаты ряда исследований и собственный длительный опыт изучения нелетучих компонентов КВВ [2, 4, 5, 7, 8], мы можем представить несколько общих положений, касающихся исследования микропримесей КВВ.

1. При оценке и интерпретации содержания в конденсате различного рода эндогенных веществ необходимо учитывать их способность (или неспособность) перемещаться с поверхности альвеол и дыхательных путей в воздушное пространство в виде отдельных молекул (летучесть — способность к испарению, или нелетучесть как отсутствие такого свойства), поскольку эти вещества попадают в КВВ посредством разных физических механизмов.
2. Более информативен расчет суммарного количества экспирируемых веществ, а не их концентрации, которая сильно зависит от переменного процесса конденсации паров воды при сборе КВВ.
3. Содержание любого ЭНВ в КВВ зависит не только от его концентрации в жидкости бронхоальвеолярного пространства, но и от количества образующегося при дыхании диспергационного аэрозоля.
4. Суммарный объем экспирируемых ЭНВ является количественным эквивалентом формирования и транспорта диспергационного аэрозоля при дыхании.

## Литература

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Diseases (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report. Publication Number 2701. April 2001: 1–100. Updated 2003. GOLD website ([www.goldcopd.com](http://www.goldcopd.com)). Accessed 2 December 2004. The updated 2005 reports available on [www.goldcopd.com](http://www.goldcopd.com).
2. *Risby T.H.* Further discussions on breath condensate analysis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 167: 1301–1302.
3. *Kharitonov S.A.* Exhaled markers of inflammatory lung disease ready for routine monitoring? *Swiss Med. Wkly* 2004; 134: 175–192.
4. *Добрых В.А., Мун И.Е.* Некоторые методические проблемы изучения конденсата выдыхаемого воздуха при патологии органов дыхания. *Пробл. туб.* 2005; 3: 33–35.
5. *Климанов И.А., Соодаева С.К., Лисица А.В. и др.* Стандартизация преаналитического этапа исследования конденсата выдыхаемого воздуха. *Пульмонология* 2006; 2: 53–55.
6. *Garey K.W., Neuhauser M.M., Robbins R.A.* Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers. *Chest* 2004; 125 (1): 22–26.
7. *Добрых В.А.* Диспергационный транспорт и физические свойства бронхолегочного содержимого у больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких: Автореф. дис.... д-ра мед. наук. Л.; 1989.
8. *Horvath I.* Exhaled breath condensate contains more than only volatiles. *Eur. Respir. J.* 2003; 22: 187–188.
9. *Чучалин А.Г. (ред.)* Хроническая обструктивная болезнь легких (федеральная программа): Практик. руководство

- для врачей. 2-е изд. М.: НИИ пульмонологии МЗ РФ; 2004.
10. Кокосов А.Н. Хронический бронхит и обструктивная болезнь легких: аналитический очерк. Тер. архив 2000; 3: 75–77.
11. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Яковлев С.В. (ред.) Внебольничная пневмония у взрослых: Практ. рекомендации по диагностике, лечению и профилактике: Пособие для врачей. М.: Атмосфера; 2003.
12. Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю. Эпидемиологические исследования сердечной недостаточности: состояние вопроса. Consilium Medicum 2002; 3: 35–37.
13. Ковалев Ю.Р. (ред.). Кардиология в вопросах и ответах. СПб: Фолиант; 2002.
14. Исакова В.Н. Физические свойства конденсата выдыхаемого воздуха у больных с патологией внутренних органов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Хабаровск; 1997.
15. Гончарова В.А., Борисенко Л.В., Доценко Е.К. Показатели калликреин-кининовой системы крови и биохимический состав конденсата влаги выдыхаемого воздуха у больных острым бронхитом. Клини. мед. 1996; 7: 46–48.
16. Таганович А.Д. Получение конденсата выдыхаемого воздуха и анализ маркеров заболеваний легких. Белорус. мед. журн. 2002; 2: 4–10.
17. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. М: Медицина; 1990.
18. Мукоактивная терапия / Амелина Е.Л., Анаев Э.Х., Красовский С.А. и др. М.: Атмосфера; 2006. 21–23.
19. Чучалин А.Г. Хронические обструктивные болезни легких. М.: Бином; 2000. 371–377.

Поступила 05.04.07  
© Коллектив авторов, 2008  
**УДК 616.24-008.7-074**