

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

© Авраменко Я.М., Борзих О.А.  
УДК: 616.24-00872.72:616-07-037

### МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ ДО ЗБОРУ ТА АНАЛІЗУ КОНДЕНСАТУ ВОЛОГИ ВИДИХУВАНОВОГО ПОВІТРЯ\*

Авраменко Я.М., Борзих О.А.

Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»

*В настоящее время одним из перспективных неинвазивных методов диагностики в пульмонологии, кардиологии, эндокринологии, онкологии является исследование конденсата влаги выдыхаемого воздуха (КВВ). Существенным ограничением исследования КВВ в клинической практике является отсутствие общепринятых стандартов его сбора и изучения содержания в нем биологических веществ, имеющих ультра низкие концентрации. Всплеск научного и практического интереса к данному вопросу привел к организации целевой группы American Thoracic Society и European Respiratory Society и разработки рекомендаций по забору конденсата. Нами были изучены и проанализированы рекомендации ATS/ERS и разработан алгоритм забора КВВ.*

**Ключевые слова:** конденсат выдыхаемого воздуха, рекомендации ATS/ERS, биомаркеры, алгоритм сбора конденсата.

Одним з важливих напрямків сучасної медицини є неінвазивна діагностика. Актуальність проблеми обумовлена щадними методами забору матеріалу для аналізу, коли пацієнту не доводиться відчувати біль, фізичний і емоційний дискомфорт; безпекою досліджень через неможливість зараження інфекціями, що передаються через кров або інструментарій. Неінвазивні методи діагностики можуть застосовуватися, з одного боку, в амбулаторних умовах, що забезпечує їх широке поширення; з іншого боку - у пацієнтів в реанімаційному відділенні, тому що тяжкість стану хворого не є протипоказанням для їх виконання. Вданий час одним із перспективних неінвазивних методів в пульмонології, кардіології, ендокринології, онкології є дослідження конденсату вологи видихуваного повітря (КВВП). КВВП містить багато компонентів, основним з яких є видихувана конденсована рідина: вона складає 99% об'єму КВВП. Лише незначна її фракція містить нелеткі молекули, які можуть бути гідрофільні та гідрофобні. Леткі водорозчинні частинки при конденсації адсорбуються разом з рідиною. КВВП не містить клітин, однак в ньому багато представлених різні біологічно активні речовини, які продукуються клітинними елементами слизової дихальних шляхів про, що вже є багато доказів [1], [2], [3].

Суттєвим обмеженням дослідження КВВП в клінічній практиці є відсутність загальноприйнятих стандартів його збору і вивчення вмісту в ньому біологічних речовин, що мають ультра низькі концентрації.

Основними шляхами вирішення проблеми є стандартизація та створення уніфікованих підходів до збору та аналізу КВВП. Вразі вирішення цих основних проблемних напрямків, буде отримано більше доказовості та ефективності застосування даного методу діагностики. Сплеск наукового та практичного інтересу до даного питання призвів до організації цільової групи American Thoracic Society та European Respiratory Society в 2001 році та розробки рекомендацій по забору конденсату опублікованих в 2005 році [1] з переглядом та внесеними змінами в 2012 р. [3] та 2013 р. [4]. На даному етапі існуючі проблеми вирішуються шляхом слідування рекомендацій ATS/ERS по КВВП:

- стандартизація термінології;
- визначення складу КВВП;
- опис процедури збору конденсату.

Результатом впровадження рекомендацій ATS/ERS є подальший розвиток даного напрямку неінвазивної діагностики захворювань:

- серійне виготовлення спеціальних пристроїв для збору конденсату - типу EcoScreen® - (Jaeger Tonnie Hoeschberg, Німеччина); трубка R - Tube® -(Respiratory Research, Inc., США), та комплектуючих – загубники, уловлювачі слини, носові кліпси та інші.

- сформульовано загально прийняті умови проведення процедури збору КВВП: час збору конденсату, тривалість процедури, кількість конденсату, температура охолодження під час збору конденсату та температуру зберігання проб до проведення аналізу, інтен-

\* Цитування при атестації кадрів: Авраменко Я.М., Борзих О.А. Методичні підходи до збору та аналізу конденсату вологи видихуваного повітря // Проблеми екології і медицини. – 2017. – Т. 21, № 5-6. – С. 56–58.

сивність видиху, маневр видиху, контроль забруднення слиною, положення тіла під час процедури, підготовка пацієнта до проведення процедури (полоскання рота, утримання від їжі та паління).

- виділено нові субстрати в КВВП: інтерлікіни, цитокіни, хемокіни, ейкозаноїди, еритропоетин, аденозин, ДНК та інші.

Аналізуючи сучасні рекомендації нами створений алгоритм процедури збору КВВП:

1. Технічні умови:

Для отримання КВВП допустимо використання комерційних приладів або саморобних. Оптимальним для проведення процедури є використання комерційних моделей конденсаторів, так як це дозволяє уникнути багатьох проблем. Комерційні моделі типу EcoScreen®, Jaeger, Apasop мають односпрямований клапан, який попереджує випадкове попадання охолодженого повітря із конденсатора при вдиху, що важливо для попередження змішування повітря. R - Tube® - індивідуальні, не потребують дезінфекції та виключають потрапляння залишку миючих засобів до КВВП, що також негативно впливає на склад конденсату. Пристрій повинен мати уловлювач слини з ротом загубником, оскільки важливий постійний контроль забруднення КВВП слиною так як вже доведено, що забруднення слиною може впливати на рівень різних медіаторів у КВВП. А от використання фільтру, навпаки, не рекомендується оскільки він може стати паскою для молекул, що містяться в видихуваному повітрі. В якості охолоджувального компоненту застосовуються лід, етанол, рідкий азот, заморожені металеві трубки.

В разі використання саморобного пристрою необхідно обов'язково вказати детальну інформацію про конструкцію (уловлювач слини, його опір, матеріал конденсаційної поверхні, метод охолодження, температура конденсатора, їх стійкість протягом періоду збирання).

Пристрій збирають перед початком процедури.

2. Підготовка хворого до проведення процедури:

- Проведення дослідження повинно відбуватися зранку (8.00-12.00), натще серце або щонайменше через 8 год. після легкого сніданку. При повторному обстеженні в інший день, дослідження бажано проводити в один й той самий час доби.

- Не палити протягом 24 годин та не вживати алкоголь[6].

- Не приймати лікарських засобів за 12 год до процедури.

- Перед початком проведення дослідження хворому доступно пояснюють методику проведення, інструктують, а за потреби (діти, пацієнти похилого віку) демонструють процедуру звертаючи увагу на інтенсивність, тривалість видиху, періоди відпочинку, контроль забруднення слиною).

- Проводити дослідження в спокої, не менше ніж через 30 хвилин після фізичного навантаження. Перед дослідженням перепочити 10-15 хвилин.

- Проводити дослідження в одязі, який не стискає грудну клітку, не пережимає верхні дихальні шляхи, та обов'язково звільнивши ротову порожнину від сторонніх предметів (зубні протези, гумка тощо).

- Пацієнту пропонують ретельно зняти з області губ сліди можливого забруднення (слина, косметика, залишки їжі) марлевою серветкою, змоченою дистильованою водою, а потім пропонують тричі прополоскати рот теплою кип'яченою водою.

3. Проведення збору конденсату:

- Усадити пацієнта в зручне сидяче положення, в спокійній обстановці, з відчуттям максимального комфорту.

- Проводити дослідження обов'язково з використанням носової кліпси під час видиху, кліпсу пацієнт знімає при кожному вдосі через ніс.

- Під час дослідження пацієнт повинен щільно затиснути губами загубник, та не повинен закривати загубник язиком або зубами під час видиху.

- Для отримання 1-2 мл. конденсату в середньому потрібно 10 – 15 хв. За умови правильного, рівномірного, не надто повільного видиху через рот, а вдиху тільки через ніс, без втоми пацієнта. Під час збору конденсату потік видихуваного повітря завжди направлений безпосередньо в охолоджену камеру де й збирається у вигляді конденсату.

- При необхідності, повторне дослідження можна провести після відпочинку через 30 хвилин або відкласти на інший день.\*

4. Зберігання та аналіз конденсату

- Зразки КВВП повинні бути заморожені відразу після збору і зберігатися при температурі -70 °С до проведення аналізів. Якщо плануються вимірювання більш ніж одного маркера, то зразки слід збирати в різні пробірки, для того щоб уникнути подальших циклів заморожування-розморожування, які можуть зруйнувати біологічні речовини.

- Більшість медіаторів, які виявляються в КВВП, містяться в ультра низьких концентраціях, а вимірювані значення мають велику варіабельність. Потенційним рішенням даної проблеми є концентрування зразків, яке дозволяє підвищити чутливість і відтворюваність методу. З цією метою можна застосувати ліофілізацію, ресуспензування і вакуумне випаровування в залежності від природи біомаркерів, які планується досліджувати.

*Примітка\* На даний момент немає досліджень, які свідчать про вплив затримки дихання, вплив кашлю (як довільного, так і індукованого) під час процедури, на концентрацію біомаркерів у КВВП, Об'єм КВВП не залежить від функціональних показників легень, включаючи об'єм форсованого видиху за 1 секунду (ОФВ1) і форсовану життєву ємність легень (ФЖЄЛ), у здорових суб'єктів і хворих з бронхообструктивними захворюваннями. В даний час немає даних, що вказують на зміну концентрації маркерів в КВВП при зміні калібру дихальних шляхів, немає даних про потенційний вплив раси, статі і положення тіла під час збору КВВП.*

**Висновки:**

1. Наразі в Україні через відсутність національних рекомендацій по збору та аналізу КВВП варто слідувати рекомендаціям ATS/ERS [1].

2. Застосування наведеного алгоритму, створеного на ґрунті рекомендацій ATS/ERS може суттєво поширити впровадження даного методу дослідження в різних галузях медицини, стандартизації аналізу біомаркерів.

**Література**

1. Horvath I., Hunt J., Barnes P.J. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions // Eur. Respir. J. 2005; 26: 523-548.
2. Liang Y., Yeligar S.M., Brown L.A.S. Exhaled breath condensate: a promising source for biomarkers of lung disease // The Scientific World J. 2012. Article ID 217518: 7 p. – URL: <http://dx.doi.org/10.1100/2012/217518>

3. Ahmadzai H., Huang S., Hettiarachchi R., Lin J.L., Thomas P.S., Zhang Q. Exhaled breath condensate: a comprehensive update // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51(7): 1343-1361.
4. Hoffmeyer F., Raulf-Heimsoth M., Brüning T. Exhaled breath condensate and airway inflammation // *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 9(1): 16-22.
5. Scheideler L., Manke H.G., Schwulera U., Inacker O., Hammerle H. Detection of nonvolatile macromolecules in breath. A possible diagnostic tool? // *Am Rev Respir Dis.* 1993; 148: 778-784.
6. Garey K., Neuhauser M.M., Robbins R.A., Danziger L.H., Rubinstein I. Markers of inflammation in exhaled breath condensate of young healthy smokers // *Chest.* 2004; 125: 22-26.
7. Dekhuijzen P.N., Aben K.K.H., Dekker I., Aarts L.P., Wielders P.L., van Herwaarden C.L. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary diseases // *Am J Respir Crit Care Med.* 1996; 154: 813-816.
8. Kasielski M., Nowak D. Long-term administration of N-acetylcysteine decreases hydrogen peroxide exhalation in subjects with chronic obstructive pulmonary disease // *Resp Med.* 2001; 95: 448-456.
9. Ho L.P., Faccenda J., Innes J.A., Greening A.P. Expired hydrogen peroxide in breath condensate of cystic fibrosis patients // *Eur Respir J.* 1999; 13: 103-106.
10. Carpagnano G.E., Kharitonov S.A., Resta O., Foschino-Barbaro M.P., Gramiccioni E., Barnes P.J. Increased 8-isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients // *Chest.* 2002; 122: 1162-1167.
11. Shahid S.K., Kharitonov S.A., Wilson N.M., Bush A., Barnes P.J. Increased interleukin-4 and decreased interferon- $\gamma$  in exhaled breath condensate of children with asthma // *Am J Respir Crit Care Med.* 2002; 165: 1290-1293.
12. Carpagnano G.E., Resta O., Foschino-Barbaro M.P., Gramiccioni E., Carpagnano F. Interleukin-6 is increased in breath condensate of patients with non-small cell lung cancer // *Int J Biol Markers.* 2002; 17: 141-145.
13. Bucchioni E., Kharitonov S.A., Allegra L., Barnes P.L. High levels of interleukin-6 in the exhaled breath condensate in patients with COPD // *Respir Med.* 2003; 97: 1299-1302.
14. Carpagnano G.E., Kharitonov S.A., Foschino-Barbaro M.P., Resta O., Gramiccioni E., Barnes P.J. Increased inflammatory markers in the exhaled breath condensate of cigarette smokers // *Eur Respir J.* 2003; 21: 589-593.
15. McRae K., De Perrot M., Fischer S., Waddell T.K., Liu M., Keshavjee S. Detection of IL-10 in the exhaled breath condensate, plasma and tissue during ischemia-reperfusion injury in experimental lung transplantation // *J Heart Lung Transplant.* 2001; 20: 184.
16. Shi T., Su D., Liu T., Tang K., Camp D.G., Qian W.J., Smith R.D. Advancing the sensitivity of selected reaction monitoring-based targeted quantitative proteomics // *Proteomics.* 2012; 12(8): 1074-1092.
17. Brand J., Haslberger T., Zolg W., Pestlin G., Palme S. Depletion efficiency and recovery of trace markers from a multiparameter immunodepletion column // *Proteomics.* 2006; 6(11): 3236-3242.