

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 543.51:612.233

ВОЛАТОМИКА В ЗДРАВООХРАНЕНИИ: ТЕХНИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ И КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

**Силантьев А. С., Туттер Д. С., Быкова А. А., Кардонский Д. А.,
Бетелин Б. В., Чомахидзе П. Ш., Копылов Ф. Ю.**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Москва, Россия

Контактная информация:

Силантьев Артемий Сергеевич,
ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет),
ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, Москва, Россия,
119991.
E-mail: artsilan@gmail.com

Статья поступила в редакцию 15.12.2022
и принята к печати 29.12.2022.

РЕЗЮМЕ

Волатом представляет собой совокупность всех летучих соединений, как органических, так и неорганических, источником происхождения которых является исследуемый объект. В отличие от метаболома, включающего в себя только соединения эндогенного происхождения, в волатом входят вещества и эндогенного, и экзогенного происхождения. Волатом выдыхаемого воздуха содержит тысячи метаболитов и летучих органических соединений (ЛОС), которые образуются как в дыхательных путях, так и в системах внутренних органов и тканей. Исследование химического компонентного состава выдоха человека способно дать клинически полезную информацию о состоянии его здоровья, при этом проводимые исследования являются неинвазивными и абсолютно безопасны для пациента. Применяемые инструментальные методы при исследовании волатома человека позволяют обследовать большие количества пациентов в короткие сроки, в том числе и в режиме реального времени. Все это способствует высокому интересу со стороны медицинского сообщества к исследованиям волатома выдыхаемого воздуха человека и дает основания полагать, что настоящие методы исследования обладают высоким потенциалом для внедрения в клиническую практику.

Ключевые слова: волатом, выдыхаемый воздух, легколетучие органические соединения, масс-спектрометрия, электронный нос, GC-MS, PTR, PTR-TOF.

Для цитирования: Силантьев А.С., Туттер Д.С., Быкова А.А., Кардонский Д.А., Бетелин Б.В., Чомахидзе П.Ш., Копылов Ф.Ю. Волатомика в здравоохранении: технические основы и клиническое применение. Российский журнал персонализированной медицины. 2023;3(1):98-108. DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-1-98-108.

VOLATOMICS IN HEALTHCARE: TECHNICAL BASIS AND CLINICAL APPLICATION

**Silant'ev A. S., Tuter D. S., Bykova A. A., Kardonsky D. A.,
Betelin V. B., Chomakhidze P. S., Kopylov P. Y.**

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Corresponding author:

Silant'ev Artemiy S.,
I. M. Sechenov First Moscow State Medical
University (Sechenov University),
Trubetskaya str., 8, p. 2, Moscow, Russia,
119991.
E-mail: artsilan@gmail.com

Received 15 December 2022; accepted
29 December 2022

ABSTRACT

Volatilome is a collection of all volatile compounds, both organic and inorganic, the source of which is the object under study. Unlike the metabolome, which includes only compounds of endogenous origin, the concept of volatilome includes substances of both endogenous and exogenous origin. Exhaled air volatilome contains thousands of metabolites and volatile organic compounds (VOCs), which are formed both in the respiratory tract and in the systems of internal organs and tissues. The study of the chemical composition of human exhalation can provide clinically useful information about the state of human health, while the studies are non-invasive and safe for the patient. The instrumental methods used in the study of human volatilome make it possible to online examine large numbers of patients. All this contributes to a high interest on the part of the medical community in the study of human exhaled air volatilome and suggests that the methods of these research methods have a high potential for implementation in clinical practice.

Key words: electronic nose, exhalation, GC-MS, mass-spectrometry, PTR, PTR-TOF, volatile organic compounds, Volatilome.

For citation: Silant'ev AS, Tuter DS, Bykova AA, Kardonsky DA, Betelin VB, Chomakhidze PS, Kopylov PY. Volatomics in healthcare: technical basis and clinical application. Russian Journal for Personalized Medicine. 2023;3(1):98-108. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-1-98-108.

Список сокращений: ЛОС — легколетучие органические соединения, GC-MS — Gas Chromatography – Mass-Spectrometry, MS — Mass-Spectrometry, PTR-MS — Proton Transfer Reaction – Mass-Spectrometry, SIFT-MS — Selected Ion Flow Tube Mass-Spectrometry, TOF — Time-Of-Flight Mass-Spectrometry.

ВВЕДЕНИЕ

Волатом представляет совокупность всех летучих соединений, как органических, так и неорганических, источником происхождения которых является исследуемый объект. В отличие от метаболома, включающего в себя только соединения эндогенного происхождения, в волатом входят вещества и эндогенного, и экзогенного происхождения. Волатом выдыхаемого воздуха содержит тысячи метаболитов и летучих органических соединений (ЛОС), которые образуются как в дыхательных путях, так и в системах внутренних органов и тканей. Исследование химического компонентного состава выдоха человека способно дать клинически полезную информацию о состоянии его здоровья, при этом проводимые исследования являются неинвазивными и абсолютно безопасны для пациента. Применяемые инструментальные методы при исследовании волатама человека позволяют обследовать большие количества пациентов в короткие сроки, в том числе и в режиме реального времени. Все это способствует высокому интересу со стороны медицинского сообщества к исследованиям волатама выдыхаемого воздуха человека и дает основания полагать, что настоящие методы исследования обладают высоким потенциалом для внедрения в клиническую практику.

ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЛАТОМА ВЫДОХА ЧЕЛОВЕКА

Для исследования легколетучих органических соединений (ЛОС) основным методом инструментального анализа компонентного состава выдыхаемого воздуха является масс-спектрометрия [1], а также, в меньшей степени, иные аналитические методы, например, инфракрасная или эмиссионная спектроскопия [2–5]. Широкое применение масс-спектрометрии для изучения газового состава выдоха обусловлено высокой чувствительностью и специфичностью данного метода анализа. В среднем методы масс-спектрометрии позволяют регистрировать количества летучих органических соединений на уровне миллионных (ppm) и мил-

лиардных долей (ppb), а наиболее чувствительные приборы дают возможность проводить детекцию ЛОС вплоть до триллионных долей (ppt) [6, 7]. В отношении используемых типов масс-спектрометрических детекторов в последнее десятилетие наблюдается устойчивая тенденция отказа от приборов с одним квадрупольным масс-анализатором (MS) в пользу более селективных приборов с времяпролетными (TOF) или tandemными масс-анализаторами (MS/MS или QTOF). Среди используемых методов ионизации ЛОС для исследования газовых сред человека наиболее распространены метод электронного удара (EI) совместно с газовой хроматографией в сочетании с масс-спектрометрией (GC-MS), масс-спектрометрия с ионизацией методом переноса протона (PTR-MS), масс-спектрометрия выбранных ионов в потоке (SIFT-MS) [1].

Газовую хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией (ГХМС) часто рассматривают как золотой стандарт для исследования легколетучих органических соединений. Масс-спектрометры типа ГХМС широко распространены в лабораториях, в том числе и для проведения рутинных клинических исследований. Опыт применения метода газовой хроматографии с масс-спектрометрической детекцией насчитывает несколько десятилетий, предварительное хроматографическое разделение позволяет повысить специфичность анализа, в том числе для соединений с одинаковым массовозарядным соотношением, а спектральные библиотеки для настоящего метода содержат несколько сотен тысяч индивидуальных соединений [8–10]. Также стоит отметить, что ГХМС не является эффективным методом для исследования пробы в режиме реального времени, однако некоторые технические подходы, такие как криофокусировка, позволяют сконцентрировать пробу и тем самым упростить предварительную пробоподготовку и сократить общее время, затрачиваемое на проведение исследования [11, 12]. Вместе с тем, данный метод не лишен определенных недостатков, во многом определяющих активное развитие альтернативных методов масс-спектрометрического анализа. К основным таким недостаткам можно отнести особенности ионизации электронным ударом и необходимость использования хроматографии. Применение ионизации электронным ударом сопровождается высокой фрагментацией исходной молекулы, что не позволяет эффективно проводить исследование многокомпонентных газовых смесей, таких как выдох человека, в режиме реального времени [13]. В свою очередь это приводит к необходимости предварительного хроматографического разделения образца, что накладывает ограничения

на минимальное время анализа, как правило, оно составляет 25–35 минут.

В отличие от широко применяемого в газовой хроматографии электронного удара масс-спектрометрия с ионизацией методом переноса протона (PTR) является более «мягким» методом ионизации пробы, позволяющим получать молекулярный ион для исходного соединения, благодаря чему можно эффективно исследовать компонентный состав выдыхаемого воздуха человека в режиме реального времени. Возможность ионизации ЛОС методом переноса протона определяется энергией сродства к протону для такого ЛОС-вещества, соединения с энергией ионизации ниже, чем энергия сродства к протону для молекулы воды, ионизированы не будут. Для ионизации веществ с энергией сродства к протону ниже, чем у молекулы воды, существуют методы ионизации пробы ионом аммония, оксидом азота или ксеноном, также возможна оценка продуктов фрагментации в источнике, что значительно расширяет спектр детектируемых соединений и повышает селективность проводимого анализа для некоторых классов веществ [14–17]. К достоинствам метода PTR-TOF следует отнести малое время проведения исследования (30–120 секунд) [18], а также низкую стоимость такого исследования. В то время как сами приборы типа PTR-TOF все еще значительно дороже приборов типа GC-MS, их эксплуатация и затраты на проведение анализа могут быть значительно меньше. В то время как масс-спектрометрия, совмещенная с ионизацией методом переноса протона, позволяет эффективно проводить качественный анализ компонентного состава выдыхаемого воздуха человека в реальном времени, задача количественного анализа значительно осложняется свойствами исследуемого объекта [17, 19]. В настоящий момент не существует единого подхода к стандартизации и методологии проведения исследований выдыхаемого воздуха в режиме реального времени [1, 20]. Сложность единой стандартизации такого рода исследований обусловлена неоднородностью методов отбора проб выдыхаемого воздуха, а также неоднородностью самого выдоха человека [1, 21]. Проведенные исследования показывают, что концентрация летучих органических соединений в процессе дыхания динамически изменяется и различается как в начале и конце выдоха, так и на протяжении всего акта дыхания [22]. Несмотря на сложности, связанные с интерпретацией получаемых результатов, интерес к исследованию волатома выдоха человека в режиме реального времени не уменьшается.

С точки зрения необходимости предварительного отбора образца методы исследования выды-

хаемого воздуха человека можно разделить на требующие такого отбора и методы исследования в режиме реального времени. Наиболее часто предварительная пробоподготовка используется с методами масс-спектрометрии, совмещенной с газовой хроматографией. Для исследования волатома выдыхаемого воздуха в режиме реального времени преимущественно используются масс-анализаторы высокого разрешения совместно с SIFT или PTR ионизацией образца. Для отбора проб газовой фазы человека наиболее часто используются инертные газовые мешки; в дальнейшем такая проба может быть подана напрямую в прибор или же подвергнута дополнительной пробоподготовке и концентрированию, например, методами твердофазной микроэкстракции [23–27]. Однако отбор и транспортировка газовой фазы выдоха человека для анализа ЛОС имеет ограничения. Хранение проб выдыхаемого воздуха в инертных мешках позволяет успешно сохранить состав газовой фазы, однако сопровождается значительными потерями для ЛОС за счет их сорбции: потери достигают 50 % за 3–6 часов [28].

Таким образом, на сегодняшний день масс-спектрометрия является основным и наиболее эффективным методом исследования волатома выдоха человека. Среди методов масс-спектрометрии наиболее широко используются газовая хроматография с масс-спектрометрической детекцией, а также масс-спектрометрия с ионизацией методом переноса протона. В настоящее время существует тенденция к росту использования PTR-масс-спектрометрии для исследования выдыхаемого воздуха в режиме реального времени, что связано с эффективностью данного метода для изучения летучих органических соединений, скоростью проведения исследования, а также потенциалом для внедрения в клиническую практику. Вместе с тем методы исследования химического состава выдыхаемого воздуха для задач здравоохранения в настоящее время применяются недостаточно, несмотря на значительное число веществ [17, 29–31], а также заболеваний, для которых возможна оценка с использованием данного метода анализа [32–35]. Основными альтернативами методу масс-спектрометрической детекции являются технология электронного носа [5, 36–38], а также методы инфракрасной или эмиссионной спектроскопии [2–4]. Несмотря на то что приборы такого типа значительно дешевле масс-спектрометров, их низкая специфичность и чувствительность, а в случае технологии электронного носа также и низкая робастность затрудняют их широкое применение в научной и клинической практике.

ПРИМЕНЕНИЕ АНАЛИЗА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА В МЕДИЦИНЕ

Развитие патологических состояний у человека сопровождается локальными, на уровне отдельного органа или ткани, метаболическими изменениями, что в свою очередь приводит к изменению гомеостаза метаболитов для организма в целом. Степень такого рода изменений во многом зависит от типа конкретной патологии, ее локализации и тяжести, а также от ряда иных факторов. Вместе с тем это утверждение справедливо и для компактно локализованных патологий, таких как рак легкого или рак яичников, и для заболеваний, не имеющих столь явной локализации, таких как, например, атеросклероз [39–41]. В качестве маркеров патологических процессов при исследовании выдыхаемого воздуха могут выступать как сами продукты патологического метаболизма, так и вещества, образующиеся в ходе их дальнейших превращений в организме человека. В некоторых случаях в качестве маркера заболевания могут выступать соединения, представленность которых возрастает опосредованно при накоплении патологических метаболитов. Как правило, вещества, рассматриваемые в качестве клинических маркеров при исследовании выдыхаемого воздуха человека, можно классифицировать как низкомолекулярные летучие органические соединения с молекулярной массой до 300 Да. Важно отметить, что метаболом человека консервативен и для большинства патологий характерны не качественные, а количественные изменения в представленности метаболитов. Все вышеперечисленное в большей степени справедливо для летучих органических соединений, однако состав неорганических соединений в выдохе человека также может быть использован для диагностических целей.

На сегодняшний день только ограниченное число методов оценки статуса здоровья человека по анализу компонентного состава выдыхаемого воздуха применяется в клинической практике. Наиболее простым и вместе с тем наиболее широко распространенным примером такого анализа является оценка состояния алкогольного опьянения путем определения концентрации этилового спирта в выдыхаемом воздухе. Проведение такого теста не требует высокого уровня квалификации от персонала и позволяет быстро, дешево и с приемлемой точностью оценить концентрацию этилового спирта в крови. Еще одним примером использования анализа выдыхаемого воздуха для оценки статуса здоровья человека является диагностика инфекции *Helicobacter pylori*. Оценка инфекции *Helicobacter*

pylori возможна на основе измерения соотношения изотопов углерода в выдыхаемом воздухе после уреазного дыхательного теста и применяется в клинической практике, однако эффективность и специфичность такого теста в настоящее время критически пересматривается [42, 43].

Клинически полезная информация может быть получена при измерении уровня оксида азота у пациентов с астмой. В организме человека синтез оксида азота происходит из аргинина за счет NO-синтазы различных изоформ. Образование оксида азота между органами и тканями локализовано неравномерно, и легкие являются одним из органов с наиболее высоким уровнем NO-синтазы [44]. Помимо регуляции гемостаза оксид азота играет важную роль в регуляции функции и патофизиологии заболеваний легких, влияя на продукцию эпителиальной слизи и муцина, функцию реснитчатого эпителия, активность трансмембранных белков калиевых каналов эпителиоцитов. Увеличение концентрации оксида азота в выдыхаемом воздухе сопровождается эозинофильное воспаление, а также достоверно коррелирует с другими показателями воспаления при астме [45, 46]. Также было показано, что концентрация оксида азота возрастает при обострении и снижается при выздоровлении у больных бронхиальной астмой. Несмотря на то, что концентрация оксида азота может увеличиваться и при иных патологических состояниях, например, аллергическом рините, данные состояния клинически отличимы от астмы, что не снижает прогностической ценности оксида азота как диагностического маркера [46].

Измерение концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе также может сообщить ценную информацию о состоянии здоровья пациента. Аммиак вовлечен в биохимические процессы синтеза пуринов и пиримидинов, заменимых аминокислот и аминокислот, а также поддержание кислотно-щелочного баланса в крови [47]. Вместе с тем избыток аммиака оказывает токсический эффект на организм человека. В норме избыточные количества аммиака выводятся из организма человека путем его биотрансформации в мочевины, которая экскретируется с мочой. Однако при нарушении функций печени или почек происходит нарушение процесса нормального метаболизма аммиака, что приводит к росту его концентрации в крови и, как следствие, к увеличению его концентрации в выдыхаемом воздухе. Повышение концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе позволяет неинвазивно диагностировать заболевания печени и почек [48, 49].

Усиленное образование ацетона из свободных жирных кислот в процессе кетогенеза приводит

к кетоацидозу и, как следствие, повышению уровня ацетона в выдыхаемом воздухе. Этот факт позволяет использовать оценку уровня ацетона в выдыхаемом воздухе для диагностики состояний, сопровождающихся усилением кетогенеза, таких как диабет. Стоит отметить низкую специфичность ацетона для первичной диагностики диабета, так как уровень ацетона будет возрастать и при иных физиологических состояниях, сопровождающихся кетоацидозом, как, например, физические нагрузки или кетогенная диета [50]. Несмотря на невысокую специфичность, уровень ацетона демонстрирует достоверную корреляцию с тяжестью диабета и может использоваться для такой оценки [50, 51]. Помимо ацетона уровень глюкозы в плазме крови связан с веществами, продуцируемыми биотой кишечника и, в первую очередь, одноатомными спиртами: метанолом и этанолом; экзогенными веществами, такими как этилбензол и о-ксилол; а также маркерами окислительного стресса, как, например, метилнитрат и 2-пентилнитрат [51]. Помимо диагностики нарушений обмена веществ, уровень ацетона в выдыхаемом воздухе может быть применен для ранней неинвазивной диагностики хронической сердечной недостаточности. Более высокие уровни ацетона в выдыхаемом воздухе были выявлены у пациентов со сниженной ФВ левого желудочка 2–3 функционального класса [42, 52]. Изопрен образуется как побочный продукт синтеза холестерина в организме человека и является одним из наиболее высокопредставленных летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе. Так же, как и ацетон, изопрен может быть использован для диагностики диабета [53]. Помимо диагностики диабета оценка представленности изопрена в выдыхаемом воздухе представляет больший интерес для неинвазивной оценки нарушений липидного обмена [41, 52, 54].

Изменение уровня метана в выдыхаемом воздухе повышается при таких состояниях, как ожирение или анорексия, а также при воспалительных заболеваниях кишечника [55, 56]. Метан в организме человека синтезируется анаэробными бактериями кишечника и в норме не выявляется в выдыхаемом воздухе. Его детекция в выдыхаемом воздухе указывает на повышенный его синтез анаэробной биотой кишечника и сопутствующие патологии [55].

Помимо метана и другие короткие линейные алканы, такие как пентан и этан, могут быть использованы для оценки состояния здоровья человека по выдыхаемому воздуху. В отличие от метана, пентан и этан образуются при эндогенном окислении клеточных липидов. Существует значительное число биохимических процессов и патологий,

для которых установлено повышение этана в выдыхаемом воздухе: рак молочной железы, язвенный колит, дефицит витамина Е и окислительный стресс. Изменение уровня пентана в выдыхаемом воздухе может указывать на развитие окислительного стресса, артрит, рак молочной железы, астму, ХОБЛ, воспалительные заболевания кишечника, ишемическую болезнь сердца, инфаркт миокарда, заболевания печени, шизофрению, сепсис, физический и умственный стресс и ряд иных патологий [60]. Алканы с большей длиной углеродной цепи, такие как н-октан и н-гептан, рассматриваются в качестве потенциальных маркеров рака легкого [49].

Эндогенные альдегиды рассматриваются как перспективные маркеры онкологических процессов, детекция которых возможна в выдыхаемом воздухе. Предполагается, что увеличение эндогенных альдегидов происходит в результате перекисного окисления липидов, процесса их окислительной дегградации, происходящей в основном под действием свободных радикалов. В первую очередь перекисному окислению подвергаются полиненасыщенные жирные кислоты, и альдегиды являются одними из продуктов реакции. Повышение уровня альдегидов в крови и выдыхаемом воздухе сопровождается такими патологиями, как рак печени, алкогольная болезнь печени, курение, диабет, атеросклероз и окислительный стресс [58–61]. Опосредованные генетически нарушения метаболизма альдегидов и, в частности, глиоксаля, метилглиоксаля и формальдегида могут быть причиной развития диабета, церебральной ишемии, гипертонии, бокового амиотрофического склероза, болезни Альцгеймера и рака легких [39, 59–64].

ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка представленности веществ в выдыхаемом воздухе позволяет эффективно проводить диагностику заболеваний человека, включая заболевания легких, сердечно-сосудистой системы, онкологические заболевания, метаболические нарушения, а также иные патологии. Среди инструментальных подходов к исследованию летучих органических соединений в выдыхаемом воздухе преобладают методы масс-спектрометрии; для изучения неорганических соединений в составе выдыхаемого воздуха, в том числе и газов, используются спектральные методы исследования. Наиболее перспективными методами изучения выдыхаемого воздуха являются методы его исследования в режиме реального времени с использованием масс-спектрометрии высокого разрешения. Значимость такого подхода обусловлена, с одной

стороны, отсутствием необходимости предварительной пробоподготовки, что снижает сроки и стоимость проведения исследования, а, с другой стороны, высокая специфичность и чувствительность используемого метода детекции позволяют эффективно работать с таким многокомпонентным биологическим объектом, как выдыхаемый воздух.

Вместе с тем существует ряд проблемных аспектов исследования выдыхаемого воздуха. К ним можно отнести значительное разнообразие используемых инструментальных методов анализа и подходов к пробоподготовке. По сравнению с иными омиксными науками, например, такими как протеомика или метаболомика, исследованиям компонентного состава выдыхаемого воздуха посвящено значительно меньшее число работ. При этом используемые инструментальные методы отличаются большим разнообразием, в том числе и в отношении регистрируемых групп соединений, а методология исследований выдыхаемого воздуха не выработала стандартизированных критериев и подходов к сбору, обработке и интерпретации результатов исследования компонентного состава выдыхаемого воздуха. Существующее разнообразие подходов при отсутствии четкой стандартизации затрудняет систематизацию получаемых результатов исследований для волатома выдыхаемого воздуха. Такие исследования, особенно проводимые без предварительной пробоподготовки и в режиме реального времени, в значительной мере подвержены воздействию факторов, влияющих на компонентный состав выдыхаемого воздуха и, в первую очередь, на результаты измерения для легколетучих органических соединений. Среди таких факторов можно выделить источник происхождения вещества, тип выдоха, аспекты, связанные с растворимостью ЛОС, половозрастные и поведенческие характеристики обследуемого пациента и условия хранения образца.

Для веществ, рассматриваемых в качестве потенциальных биомаркеров, важной задачей является установление факта их эндогенного или экзогенного происхождения для надлежащей интерпретации результатов их измерения. Эта задача осложняется такими факторами, как то, что ряд веществ могут иметь как эндогенное, так и экзогенное или смешанное происхождение, а также попадать в организм человека из объектов внешней среды через кожные покровы или с пищей. Все это будет приводить к изменению представленности для таких ЛОС в выдыхаемом воздухе и риску некорректной интерпретации результатов проводимых исследований.

Способ дыхания пациента при сборе выдоха, а также тип дыхания при выдохе также в значитель-

ной мере влияет на компонентный состав анализируемой газовой смеси. Выдыхаемый через рот или нос воздух, получаемый от одного пациента, будет иметь различный компонентный состав [65]. Выдыхаемый через рот воздух значительно более богат такими веществами, как сероводород, аммиак и метанол, что позволяет предположить значительный вклад биоты ротовой полости в уровень представленности настоящих веществ для выдоха человека. В то же время такие вещества, как ацетон и изопрен, не имеют значимых различий в концентрации в зависимости от типа забора выдыхаемого воздуха: через рот или нос, что позволяет предположить превалирующий вклад системного метаболизма для концентрации этих веществ в выдыхаемом воздухе.

На представленность веществ также будет влиять тип выдоха: спокойное дыхание или форсированный выдох, частота выдохов пациента и ряд других факторов. Связанные с этим аспекты, такие как выделение в выдохе фазы мертвого объема и альвеолярной фазы, также являются чрезвычайно важными для надлежащего и воспроизводимого исследования выдыхаемого воздуха. Предполагается, что воздух, соответствующий альвеолярной фазе выдоха, находится в равновесии с ЛОС крови и наиболее корректно отражает метаболомный профиль для пациента [65, 66]. Пол, возраст и диета обследуемого пациента также влияют на состав выдыхаемого воздуха [40, 67, 68]. При предварительном сборе выдыхаемого воздуха, например, в инертные газовые мешки типа Tedlar, состав газовой фазы также будет зависеть от сроков и условий хранения: при таких условиях ЛОС подвержены конденсации и сорбции на стенках тары, в то время как для газов такой эффект будет выражен минимально [28].

Растворимость легколетучих соединений в воде также влияет на их представленность в выдыхаемом воздухе. Более гидрофильные соединения, такие как изопрен, распределяются по всему пространству дыхательных путей человека. Во время вдоха их поглощение не ограничено только пространством альвеол и происходит по всей площади дыхательных путей. При выдохе часть таких веществ повторно растворяется в пространстве слизистого слоя эпителия дыхательных путей. Также усиление альвеолярного кровотока способствует всасыванию таких веществ и следующему за этим снижению их концентрации в легких. И наоборот, чем более гидрофобно исследуемое вещество, тем для него эти зависимости менее выражены. Предполагается, что задержка дыхания перед выдохом может способствовать установлению равновесной концентрации для газов и ЛОС, а также получению более репрезентативных данных для оценки статус-

са здоровья человека по компонентному составу выдыхаемого воздуха [66].

Исследование выдыхаемого воздуха является областью знаний, развивающейся на стыке медицины, биологии, аналитической химии и биоинформатики. На сегодняшний день именно разработка надлежащей методологии и стандартизация подходов на всех этапах эксперимента являются приоритетными задачами для волатомики как области метаболомных исследований в целом. Изменение подходов к проведению исследований в сторону учета специфики объекта изучения приводит к пересмотру результатов для ранее проведенных исследований. Так, например, применение водород-метанового тестирования для анализа кишечной биоты в настоящее время критически пересматривается. В ходе проведенных исследований было выявлено значительное искажение их результатов в зависимости от состояния гигиены ротовой полости, что ставит вопрос об эффективности клинического применения такого метода [65, 66, 69].

Краеугольным камнем анализа многомерных данных, таких как данные, полученные в результате исследования волатома выдыхаемого воздуха, является строгий методологический контроль и сдерживание чрезмерного оптимизма в отношении эффективности, области применения и предсказательной силы получаемых моделей и их обязательная валидация путем внутренней и внешней проверки. Проведение внешней валидации более репрезентативно, так как позволяет оценить эффективность разработанной модели на разных выборках пациентов и при разных условиях отбора пациентов для выборки, что отвечает конечной цели исследований по обнаружению маркеров заболеваний человека по анализу выдыхаемого воздуха — их внедрению в рутинную клиническую практику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день методы анализа выдыхаемого воздуха убедительно показали свою эффективность для диагностики множества нозологий различной этиологии, локализации и тяжести. Однако возможности и целесообразность применения методов исследования компонентного состава выдыхаемого воздуха для дифференциальной диагностики в рамках скрининговых исследований изучены недостаточно, что ограничивает область их использования в рутинной клинической практике. Несмотря на существующие сложности изучения новых маркеров для патологий человека по анализу компонентного состава выдыхаемого воздуха такого рода исследования остаются клинически

значимыми и перспективными. Накопление и более аккуратная систематизация данных, а также оценка эффективности методов исследования выдыхаемого воздуха для диагностики разного рода патологий, в том числе и дифференциальной диагностики, являются необходимыми этапами для широкого внедрения такого рода исследований в рутинную клиническую практику.

Конфликт интересов/ Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors stated no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES

1. Leemans M, Bauër P, Cuzuel V, Audureau E, Fromantin I. Volatile Organic Compounds Analysis as a Potential Novel Screening Tool for Breast Cancer: A Systematic Review. *Biomark Insights*. 2022 Jan 23;17:117727192211007.
2. Vaks VL, Domracheva EG, Pripolzin SI, Chernyaeva MB. Multifrequency high precise subTHz-THz-IR spectroscopy for exhaled breath research. In: Razeghi M, Baranov AN, Zavada JM, Pavlidis D, editors. 2016. p. 99340E.
3. Selvaraj R, Vasa NJ, Nagendra SMS, Mizaikoff B. Advances in Mid-Infrared Spectroscopy-Based Sensing Techniques for Exhaled Breath Diagnostics. *Molecules*. 2020 May 9;25(9):2227.
4. Shorter JH, Nelson DD, McManus JB, Zahniser MS, Milton DK. Multicomponent Breath Analysis With Infrared Absorption Using Room-Temperature Quantum Cascade Lasers. *IEEE Sens J*. 2010 Jan;10(1):76–84.
5. Gardner J, Vincent T. Electronic Noses for Well-Being: Breath Analysis and Energy Expenditure. *Sensors*. 2016 Jun 23;16(7):947.
6. Claflin MS, Pagonis D, Finewax Z, et al. An in situ gas chromatograph with automatic detector switching between PTR-and EI-TOF-MS: isomer-resolved measurements of indoor air. *Atmos Meas Tech*. 2021;14(1):133–52.
7. Durham NC. Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry (PTR-MS) for Ambient and (Compliance) Source Testing Discussion. 2019.
8. Ma P, Li J, Chen Y, et al. Non-invasive exhaled breath diagnostic and monitoring technologies. *Microw Opt Technol Lett*. 2021 Dec 30.
9. Lawal O, Ahmed WM, Nijssen TME, et al. Exhaled breath analysis: a review of 'breath-taking' methods for off-line analysis. *Metabolomics*. 2017 Oct 19;13(10):110.
10. Stein S. Mass Spectral Reference Libraries: An Ever-Expanding Resource for Chemical Identification. *Anal Chem*. 2012 Sep 4;84(17):7274–82.

11. Tsutsui K, Nemoto M, Kono M, et al. GC-MS analysis of exhaled gas for fine detection of inflammatory diseases. 2022.
12. Aksenov AA, Zamuruyev KO, Pasamontes A, et al. Analytical methodologies for broad metabolite coverage of exhaled breath condensate. *Journal of Chromatography B*. 2017;1061:17–25.
13. Majchrzak T, Wojnowski W, Lubinska-Szczygeł M, et al. PTR-MS and GC-MS as complementary techniques for analysis of volatiles: A tutorial review. *Anal Chim Acta*. 2018 Dec;1035:1–13.
14. Wang Y, Shen C, Li J, et al. Proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS). *Mass Spectrometry Handbook*; John Wiley & Sons, Inc: Hoboken, NJ, USA. 2012;109:605–30.
15. Blake RS, Monks PS, Ellis AM. Proton-transfer reaction mass spectrometry. *Chem Rev*. 2009;109(3):861–96.
16. Li H, Almeida TG, Luo Y, et al. Fragmentation inside PTR-based mass spectrometers limits the detection of ROOR and ROOH peroxides. *Atmospheric Measurement Techniques Discussions*. 2021;2021:1–24.
17. Romano A, Hanna GB. Identification and quantification of VOCs by proton transfer reaction time of flight mass spectrometry: An experimental workflow for the optimization of specificity, sensitivity, and accuracy. *Journal of Mass Spectrometry*. 2018 Apr;53(4):287–95.
18. Pleil JD, Hansel A, Beauchamp J. Advances in proton transfer reaction mass spectrometry (PTR-MS): applications in exhaled breath analysis, food science, and atmospheric chemistry. *J Breath Res*. 2019 Jun 4;13(3):039002.
19. Pugliese G, Trefz P, Brock B, et al. Extending PTR based breath analysis to real-time monitoring of reactive volatile organic compounds. *Analyst*. 2019;144(24):7359–67.
20. Roquencourt C, Grassin-Delyle S, Thévenot EA. ptairMS: real-time processing and analysis of PTR-TOF-MS data for biomarker discovery in exhaled breath. *Bioinformatics*. 2022 Mar 28;38(7):1930–7.
21. Sola Martínez RA, Pastor Hernández JM, Yanes Torrado Ó, et al. Exhaled volatile organic compounds analysis in clinical pediatrics: a systematic review. *Pediatr Res*. 2021 May 12;89(6):1352–63.
22. Schwoebel H, Schubert R, Sklorz M, et al. Phase-resolved real-time breath analysis during exercise by means of smart processing of PTR-MS data. *Anal Bioanal Chem*. 2011 Oct 26;401(7):2079–91.
23. Harshman SW, Pitsch RL, Davidson CN, et al. Characterization of standardized breath sampling for off-line field use. *J Breath Res*. 2020 Jan 1;14(1):016009.
24. Fabian P, Brain J, Houseman EA. Origin of Exhaled Breath Particles from Healthy and Human Rhinovirus-Infected Subjects. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*. 2011 Jun;24(3):137–47.
25. Harshman S, Grigsby C, Ott D. Exhaled Breath Condensate for Proteomic Biomarker Discovery. *Chromatography*. 2014 Jul 2;1(3):108–19.
26. Fernández-Peralbo MA, Calderón Santiago M, Priego-Capote F, et al. Study of exhaled breath condensate sample preparation for metabolomics analysis by LC–MS/MS in high resolution mode. *Talanta*. 2015 Nov;144:1360–9.
27. Yuan ZC, Zhang Y, Cai SH, et al. Solid phase microextraction for human breath analysis of environmental and occupational exposures: A review. *Advances in Sample Preparation*. 2022 Aug;3:100023.
28. Zhao J, Zhu L, Zhang W. The Effect of Tedlar Bags on the Composition of Exhaled Human Breath Samples. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022 Sep 30;2022:1–6.
29. Shaltaeva YR, Vasilev VK, Yakovlev DY, et al. Detection heart failures (HF) biomarkers by proton transfer reaction — mass spectrometry and ion mobility spectrometry. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng*. 2016 Oct;151:012017.
30. Meurs J, Sakkoula E, Cristescu SM. Real-Time Non-Invasive Monitoring of Short-Chain Fatty Acids in Exhaled Breath. *Front Chem*. 2022 Apr 26;10.
31. Inomata S, Sato K, Hirokawa J, et al. Analysis of secondary organic aerosols from ozonolysis of isoprene by proton transfer reaction mass spectrometry. *Atmos Environ*. 2014 Nov;97:397–405.
32. Malinovskaya L, Bykova A, Chomakhidze P, et al. Exhaled breath mass spectrometry in heart failure diagnostics. *Int J Nanotechnol*. 2019;16(1/2/3):147.
33. Bayer B, Stosch M, Striedner G, Duerkop M. Comparison of Modeling Methods for DoE Based Holistic Upstream Process Characterization. *Biotechnol J*. 2020 May 17;15(5):1900551.
34. Capozzi V, Makhoul S, Aprea E, et al. PTR-MS Characterization of VOCs Associated with Commercial Aromatic Bakery Yeasts of Wine and Beer Origin. *Molecules*. 2016 Apr 12;21(4):483.
35. PTR-MS in the Medical Sciences. In: *Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2013. p. 267–309.
36. van der Sar IG, Wijbenga N, Nakshbandi G, et al. The smell of lung disease: a review of the current status of electronic nose technology. *Respir Res*. 2021 Dec 17;22(1):246.
37. Thepudom T, Kladsomboon S, Pogfay T, et al. Portable optical-based electronic nose using dual-sensors array applied for volatile discrimination. In: *2012 9th International Conference on Electrical Engineering/ Electronics, Computer, Telecommunications and Information Technology*. IEEE; 2012. p. 1–4.

38. Anzivino R, Sciancalepore PI, Dragonieri S, et al. The Role of a Polymer-Based E-Nose in the Detection of Head and Neck Cancer from Exhaled Breath. *Sensors*. 2022 Aug 29;22(17):6485.
39. Berenguer C v, Pereira F, Pereira JAM, Câmara JS. Volatilomics: An Emerging and Promising Avenue for the Detection of Potential Prostate Cancer Biomarkers. *Cancers (Basel)*. 2022;14(16):3982.
40. Taucher J, Hansel A, Jordan A, et al. Detection of isoprene in expired air from human subjects using proton transfer reaction mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 1997;11(11):1230–4.
41. Karl T, Prazeller P, Mayr D, et al. Human breath isoprene and its relation to blood cholesterol levels: new measurements and modeling. *J Appl Physiol*. 2001 Aug 1;91(2):762–70.
42. Shatila M, Thomas AS. Current and Future Perspectives in the Diagnosis and Management of *Helicobacter pylori* Infection. *J Clin Med*. 2022;11(17):5086.
43. Cardos AI, Maghiar A, Zaha DC, et al. Evolution of Diagnostic Methods for *Helicobacter pylori* Infections: From Traditional Tests to High Technology, Advanced Sensitivity and Discrimination Tools. *Diagnostics*. 2022;12(2):508.
44. Kobzik L, Bredt DS, Lowenstein CJ, et al. Nitric Oxide Synthase in Human and Rat Lung: Immunocytochemical and Histochemical Localization. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1993 Oct;9(4):371–7.
45. Prado CM, Martins MA, Tibério IFLC. Nitric Oxide in Asthma Physiopathology. *ISRN Allergy*. 2011 Apr 19;2011:1–13.
46. Ashutosh K. Nitric oxide and asthma: a review. *Curr Opin Pulm Med*. 2000 Jan;6(1):21–5.
47. Koga T, Naraoka H. Synthesis of Amino Acids from Aldehydes and Ammonia: Implications for Organic Reactions in Carbonaceous Chondrite Parent Bodies. *ACS Earth Space Chem*. 2022 May 19;6(5):1311–20.
48. Essiet IO. Diagnosis of kidney failure by analysis of the concentration of ammonia in exhaled human breath. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*. 2013;4(6):859–62.
49. Butterworth RF. Hepatic encephalopathy. *Alcohol Research & Health*. 2003;27(3):240.
50. Saasa V, Malwela T, Beukes M, et al. Sensing Technologies for Detection of Acetone in Human Breath for Diabetes Diagnosis and Monitoring. *Diagnostics*. 2018 Jan 31;8(1):12.
51. Massick S. Portable breath acetone measurements combine chemistry and spectroscopy. In: *Proceedings of the SPIE, San Jose, CA, USA*. Citeseer; 2007.
52. van den Broek J, Güntner AT, Pratsinis SE. Highly Selective and Rapid Breath Isoprene Sensing Enabled by Activated Alumina Filter. *ACS Sens*. 2018 Mar 23;3(3):677–83.
53. Neupane S, Peverall R, Richmond G, et al. Exhaled Breath Isoprene Rises During Hypoglycemia in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2016 Jul 1;39(7):e97–8.
54. Hyspler R, Crhova S, Zadák Z, Gasparic J. Breath isoprene as a measure of the depression in cholesterol synthesis in intensive care patients. *Atheroscler Suppl*. 2001 May;2(2):102.
55. Wilder-Smith CH, Olesen SS, Materna A, et al. Breath methane concentrations and markers of obesity in patients with functional gastrointestinal disorders. *United European Gastroenterol J*. 2018 May;6(4):595–603.
56. Ozato N, Saito S, Yamaguchi T, et al. Association between breath methane concentration and visceral fat area: a population-based cross-sectional study. *J Breath Res*. 2020 Apr 1;14(2):026008.
57. Das S, Pal M. Non-invasive monitoring of human health by exhaled breath analysis: A comprehensive review. *J Electrochem Soc*. 2020;167(3):037562.
58. Sinha R, Lockman KA, Homer NZM, et al. Volatomic analysis identifies compounds that can stratify non-alcoholic fatty liver disease. *JHEP Reports*. 2020 Oct;2(5):100137.
59. Li W, Yuan XM, Ivanova S, et al. 3-Aminopropanal, formed during cerebral ischaemia, is a potent lysosomotropic neurotoxin. *Biochemical Journal*. 2003;371(2):429–36.
60. O'Brien PJ, Siraki AG, Shangari N. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. *Crit Rev Toxicol*. 2005;35(7):609–62.
61. Chen J, Huang W, Cheng CH, et al. Association Between Aldehyde dehydrogenase-2 Polymorphisms and Risk of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease: A Meta-Analysis Based on 5,315 Individuals. *Front Neurol*. 2019 Mar 28;10.
62. Qiao Y, Maiti K, Sultana Z, et al. Inhibition of vertebrate aldehyde oxidase as a therapeutic treatment for cancer, obesity, aging and amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Med Chem*. 2020 Feb;187:111948.
63. Ivanova S, Batliwalla F, Mocco J, et al. Neuroprotection in cerebral ischemia by neutralization of 3-aminopropanal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(8):5579–84.
64. Shinpo K, Kikuchi S, Sasaki H, et al. Selective vulnerability of spinal motor neurons to reactive dicarbonyl compounds, intermediate products of glycation, in vitro: implication of inefficient glutathione system in spinal motor neurons. *Brain Res*. 2000;861(1):151–9.
65. Sukul P, Schubert JK, Zanaty K, et al. Exhaled breath compositions under varying respiratory

rhythms reflects ventilatory variations: translating breathomics towards respiratory medicine. *Sci Rep* [Internet]. 2020;10(1):14109. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70993-0>

66. Corradi M, Mutti A. Exhaled breath analysis: from occupational to respiratory medicine. *Acta Biomed.* 2005;76(Suppl 2):20.

67. Španěl P, Dryahina K, Smith D. Acetone, ammonia and hydrogen cyanide in exhaled breath of several volunteers aged 4–83 years. *J Breath Res.* 2007;1(1):011001.

68. Westhoff M, Litterst P, Maddula S, et al. Differentiation of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) including lung cancer from healthy control group by breath analysis using ion mobility spectrometry. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry.* 2010;13(3):131–9.

69. Erdrich S, Tan ECK, Hawrelak JA, et al. Hydrogen–methane breath testing results influenced by oral hygiene. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):26. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79554-x>

Информация об авторах:

Силантьев Артемий Сергеевич, научный сотрудник научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет);

Тутер Денис Сергеевич, к.м.н., научный сотрудник отдела медицинской информатики ФГУ ФНЦ НИИСИ РАН, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет);

Быкова Александра Александровна, к.м.н., доцент кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины им. Н. В. Склифосовского, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет);

Кардонский Дмитрий Александрович, инженер-химик научно-технологического парка биомедицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет);

Бетелин Владимир Борисович, д.ф.-м.н., директор ФГУ «Федеральный научный центр Научно-исследовательский институт системных исследований РАН»;

Чомахидзе Петр Шалвович, д.м.н., главный научный сотрудник Института персонализированной кардиологии, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет);

Копылов Филипп Юрьевич, д.м.н., директор Института персонализированной кардиологии, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет).

Author information:

Silantsev Artemiy S., Researcher at Biomedical Science & Technology Park, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University);

Tuter Denis S., Candidate of Medical Sciences, Researcher of Medical Informatics department of Scientific Research Institute for System Analysis of the Russian Academy of Sciences, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University);

Bykova Aleksandra A., Candidate of Medical Sciences, Associate professor at Department of Cardiology, Functional and Ultrasound Diagnostics of N. V. Sklifosovsky Institute for Clinical Medicine, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University);

Kardonsky Dmitry A., Engineer at Biomedical Science & Technology Park, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University);

Betelin Vladimir B., Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Director of the Research Institute for System Research of the Russian Academy of Sciences;

Chomakhidze Petr Sh., Doctor of Medical Sciences, Science Chief at Personalized Cardiology Department, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University);

Kopylov Philipp Yu., Doctor of Medical Sciences, Director of Personalized Cardiology Department, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University).