

# ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

---

УДК 616.23/24.-002.1-022-053.2-07: 616.24-008.7

## ИССЛЕДОВАНИЕ КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА ПРИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ У ДЕТЕЙ: РЕАЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ\*\*

*Е. Г. Фурман\*, Ю. М. Печенкин*

*Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера, г. Пермь, Россия*

## STUDY OF EXPIRED AIR CONDENSATE IN PEDIATRIC RESPIRATORY DISEASES: REALITY AND PERSPECTIVES\*\*

*E. G. Furman\*, Yu. M. Pechenkin*

*Perm State Academy of Medicine named after Academician E. A. Wagner, Perm, Russian Federation*

---

Приводятся данные о возможности применения исследования конденсата выдыхаемого воздуха при заболеваниях органов дыхания у детей. В конденсате выдыхаемого воздуха у детей могут быть определены как летучие соединения, так и тяжелые нелетучие субстанции (липиды, медиаторы воспаления, цитокины, оксиданты, пероксид водорода, нитраты и нитриты и другие). Данный метод неинвазивной оценки воспалительных изменений дыхательной системы у детей применяется в ходе научных исследований при бронхиальной астме, муковисцидозе, респираторных инфекциях и ряде других заболеваний. Основными факторами, ограничивающими клиническое применение анализа конденсата выдыхаемого воздуха у детей, являются вариабельность уровня и низкие концентрации биомаркеров (на пороге чувствительности существующих методов анализа).

**Ключевые слова.** Дети, конденсат выдыхаемого воздуха, биомаркеры, бронхиальная астма.

The data on the possibility of using the expired air condensate study in respiratory diseases are presented in the paper. The expired air condensate can consist of both volatile compound and heavy low-volatile substances (lipids, inflammatory mediators, cytokines, oxidants, hydrogen peroxide, nitrates and others). This method of non-invasive assessment of inflammatory respiratory changes in children is applied during scientific studies in case of bronchial asthma, mucoviscidosis, respiratory infections and some other diseases. The basic factors limiting clinical use of expired air condensate analysis in children are the level variability and low biomarker concentrations (at the susceptibility threshold of the existing methods of analysis).

**Key words.** Children, expired air condensate, biomarkers, bronchial asthma.

---

© Фурман Е. Г., Печенкин Ю. М., 2014

e-mail: furman1@yandex.ru

тел. 8 (342) 217 09 40

[Фурман Е. Г. (\*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской педиатрии; Печенкин Ю. М. – аспирант кафедры факультетской педиатрии].

\*\* При поддержке грантов РФФИ №96014 и Президента МД №4241.2012.7

Исследование состояния респираторного тракта, в частности, характеристика местного воспаления при заболеваниях органов дыхания у детей, имеет важное значение в диагностике, дифференциации и мониторинге респираторной патологии.

Для характеристики локального воспаления в респираторной системе используется исследование клеточного состава секретов дыхательных путей, нелетучих медиаторов и маркеров воспаления, которое требует проведения методов исследования с разной степенью инвазивности (оценка бронхоальвеолярного лаважа, трахеального аспирата, изучение индуцированной мокроты и ряда других) [1, 5]. Эти процедуры могут иметь ряд ограничений: не могут проводиться повторно через короткий промежуток времени, имеют ряд противопоказаний к проведению у тяжелых больных, в том числе у детей; требуют специальной подготовки, имеют ограниченное использование в амбулаторной практике. Даже такие малоинвазивные исследования, как анализ индуцированной мокроты у детей, в ряде случаев могут приводить к бронхоконстрикции вследствие ингаляции гипертонического раствора хлорида натрия [5].

В последние годы в пульмонологии детского возраста активно изучается возможность применения различных неинвазивных методов исследования локального воспаления респираторного тракта, к которым относятся анализ выдыхаемого воздуха и его конденсата [1]. Это открывает новые перспективы для исследования выдыхаемого воздуха и неинвазивной диагностики заболеваний органов дыхания у детей [5].

В выдыхаемом воздухе могут определяться различные газы, такие как оксид азота (NO), оксид углерода, этан, пентан, гидрокарбонаты и другие летучие соединения [1, 10].

Первые исследования по выявлению поверхностно-активных свойств конденсата выдыхаемого воздуха, в том числе легочного

сурфактанта, были проведены в нашей стране Г. И. Сидоренко с соавт. в 80-х гг. XX в. [4].

В последние годы число субстанций, определяемых в конденсате выдыхаемого воздуха, неуклонно растет [1, 2, 10]. В конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ) у детей могут быть определены как летучие соединения (NO), так и тяжелые нелетучие субстанции (белки, липиды, медиаторы воспаления, цитокины, оксиданты, пероксид водорода, нитраты и нитриты и другие) [10, 14]. КВВ не содержит клеток, однако в нем богато представлены различные биологически активные вещества, продуцируемые клеточными элементами слизистой дыхательных путей. В КВВ успешно изучаются мутации ДНК, в частности, при раке легких [7].

Источниками происхождения биомолекул в КВВ являются альвеолярная мембрана (белки сурфактантов), центральные и периферические дыхательные пути (простагландины, цитокины и другие) (рисунк), однако точный вклад разных отделов дыхательной системы в КВВ все еще остается неясным [10]. Horvath et al. (2005) показали сопоставимые уровни пероксида водорода и 8-изопростана при исследовании КВВ через трахеостому и через полость рта [9].

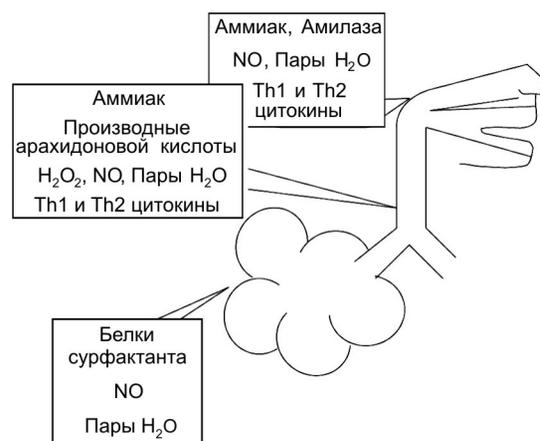


Рис. Источник компонентов КВВ в дыхательной системе

В настоящее время также изучается ряд химических (показатель *pH* КВВ) и биофизических параметров [7].

Конденсат выдыхаемого воздуха получают путем охлаждения выдыхаемого воздуха. Для этого используют коммерческие устройства: RTube (Respiratory Research), EcoScreen (VIASYS Healthcaredevice), ANACON, (Biostec), а также устройства, непосредственно собранные в лабораториях – hand made.

Большинство руководств по стандартизации методов получения конденсата рекомендует получать КВВ при спокойном дыхании, использовать носовые зажимы, удалять слюну, определять температуру охлаждения и время сбора конденсата [2].

На вариабельность полученного объема КВВ и концентрации биомаркеров в нем влияют: температура охлаждения (установлена зависимость ее воздействия на *pH* КВВ), поверхность материала, из которого изготовлено устройство сбора КВВ, тип дыхательной циркуляции и время сбора КВВ [9].

### Показатель *pH* КВВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СОСТОЯНИЯХ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Одним из ведущих биомаркеров является *pH* КВВ. Данный показатель при воспалении в респираторной системе, в частности при бронхиальной астме (БА), определяется продукцией кислотных соединений клетками, участвующими в воспалении слизистой дыхательных путей, и оксидативным стрессом [8, 12]. Уровень *pH* КВВ является нестабильным при комнатной температуре и требует соблюдения определенного температурного режима.

Снижение *pH* КВВ характерно для БА (7,32 – при БА и 7,78 – у здоровых) и коррелирует с эозинофилией мокроты [11]. В то же время тест недостаточно информативен у маленьких детей.

Проведено проспективное и ретроспективное исследование 190 детей в возрасте от 2 до 6 лет с целью изучения возможностей применения *pH* КВВ для установления риска развития БА. Было выявлено, что сниженный показатель *pH* КВВ у детей без клинических проявлений, предшествующий обструкции, является фактором риска БА [16, 17, 18].

### Цитокины и другие биомаркеры КВВ при БА у детей

При бронхиальной астме отмечается тенденция повышения Th2-цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13) и снижение Th1-цитокинов (ИЛ-2, ИФН-γ, ФНО) в КВВ. Уровень ИЛ-4 в КВВ является достоверным индикатором БА детского возраста [19]. Соотношение ИЛ-4/ИФН-γ в КВВ увеличивается, с последующим снижением после назначения ИГКС. Другие данные, касающиеся цитокинов и иных биомаркеров при БА, приведены в табл. 1.

Таблица 1

#### Биомаркеры в КВВ при БА

Биомаркер	Основные результаты
<i>Цитокины</i>	
RANTES	Повышенный уровень
ИЛ-13	Повышенный уровень у детей с БА, коррелирует с показателями ФВД
ИЛ-4	Повышенный уровень у детей с БА – 2,4 пг/мл; у здоровых – 2,0 пг/мл
<i>Производные арахидоновой кислоты</i>	
8-изопростан	Повышенный уровень у детей с БА, коррелирует с бронхоспазмом после физической нагрузки
Цистениловые лейкотриены (CysLTs)	Повышенный уровень у детей с БА, коррелирует с бронхоспазмом после физической нагрузки
LTE4	Повышенный уровень
PGE2	Без изменений при БА
<i>Другие биомаркеры</i>	
СРБ	Повышенный уровень у детей с БА, коррелирует с уровнем СРБ в сыворотке
Пероксид водорода	Повышенный уровень у детей с БА

Р. М. Ларюшкина с соавт. [3] установили количественные изменения показателей фосфолипидного спектра сурфактантной системы легких у больных БА детей и предложили метод патогенетической коррекции.

### ПРОИЗВОДНЫЕ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ В КВВ ПРИ БА У ДЕТЕЙ

БА детского возраста сопровождается повышенным уровнем производных арахидоновой кислоты. При этой патологии отмечается повышение 8-изопростаана, цистениловых лейкотриенов (CysLTs), LTE4 и других [13, 15, 20, 21]. I. Horvath et al. [9] установили повышенный уровень лейкотриена LTB4 в КВВ у детей с БА, не получающих ИГКС, – 250 нг за 15 минут, по сравнению с уровнем показателя при БА у получающих ИГКС – 90 нг ( $p < 0,001$ ), и 125 нг – при БА, пролеченной ИГКС ( $p < 0,01$ ) [9].

### БИОМАРКЕРЫ КВВ И КОМОРБИДНЫЕ СОСТОЯНИЯ ПРИ БА

В качестве неинвазивного маркера ГЭРБ используется исследование значения  $pH$  КВВ [11]. Если в любом из 6 тестов исследования КВВ значение  $pH$  КВВ менее 7,4 – это указывает на патологическое увеличение кислотности дыхательных путей и может помочь в диагностике ГЭРБ. Изучается динамика значений  $pH$  КВВ в течение 24-часового мониторинга у больного. Данный тест применяется у детей старше 5 лет. Отмечается повышение значения  $pH$  КВВ после проводимой терапии ГЭРБ.

У людей с БА, подверженных воздействию табачного дыма, отмечаются изменения разнообразных параметров КВВ: более низкий уровень  $pH$  КВВ у взрослых курильщиков с БА, повышенный уровень ИЛ1 $\beta$  и возрастание 8-изопростаана. Это подтверждает провоспалительный характер изменений в респираторной системе под воздействием курения.

Загрязнение окружающего воздуха, главным образом продуктами отработанного топлива, приводит к низкому уровню  $pH$  КВВ у экспонированных детей после воздействия.

Таким образом, потенциальное диагностическое значение анализ КВВ при БА в клинической практике приобретает в следующих ситуациях: диагностика БА (определение  $pH$  КВВ, ИЛ-4, производных арахидоновой кислоты (CysLTs)); верификация тяжести БА с мониторингом для оценки влияния терапевтических вмешательств [14] и диагностика коморбидных состояний (например, ГЭРБ).

Таблица 2

### Биомаркеры КВВ в оценке тяжести, степени контроля БА и эффективности терапии у детей

Биомаркер	Основные результаты
<i>Цитокины</i>	
RANTES	Уровень коррелирует ( $r = -0,72$ ) с ОФВ1 и уровнем ESR сыворотки
ФНО	Коррелирует с чувствительностью ДПК к метахолину
ИЛ-4	Повышенный уровень ассоциируется с тяжестью и плохой контролируемостью. Снижается после ИГКС
ИФН- $\gamma$	Повышенный уровень отражает более тяжелое течение у детей
$pH$ КВВ	Показатель повышается на фоне противовоспалительной терапии
MMP-9	Повышенный уровень. Коррелирует с ОФВ1 у детей
Липоксин А4	Снижен у детей в астматическом статусе
<i>Производные арахидоновой кислоты</i>	
8-изопростаан	Повышенный уровень отражает плохой контроль БА, снижается после устранения воздействия аллергенов, коррелирует с показателями ФВД. Повышен у детей с астматическим статусом
Цистениловые лейкотриены (CysLTs)	Повышенный уровень отражает плохой контроль БА и более выраженную тяжесть астмы
LTE4	Снижается после противовоспалительной терапии (ИГКС и антилейкотриеновые препараты). Коррелирует с гиперреактивностью дыхательных путей
LTB4	Уровень снижается после устранения воздействия аллергенов и ИГКС

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КВВ ПРИ ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Обнаружены различия метаболического профиля у детей со стабильным и нестабильным муковисцидозом [6, 11, 15].

Определен сниженный уровень *pH* КВВ, с более выраженным уменьшением показателя при инфицировании *Pseudomonas Aeruginosa*.

Установлено, что уровень пероксида водорода КВВ достоверно предсказывает изменения показателя ФЖЕЛ у этих больных [19]. Заболевание характеризуется повышенным уровнем ИЛ-6 и ИЛ-8. Повышение ИЛ-8 – индикатор бактериальной колонизации, и отмечается уменьшение содержания ИЛ-8 в КВВ после антибактериальной терапии.

При синдроме обструктивного апноэ сна установлено, что повышенный уровень ИЛ-6 коррелирует с клиническими проявлениями и со степенью дисфункции сердечно-сосудистой системы [9].

Внебольничная пневмония характеризуется повышенным уровнем лейкотриена В4 (LTB4) в КВВ с нормализацией показателя через 1 неделю [6, 9] на фоне лечения. Исследование состояния воздухоносных путей выявило более низкий уровень *pH* КВВ у детей с острым обструктивным бронхитом (медиана возраста – 24 месяца) – 7,87 и с повторными бронхообструкциями (медиана возраста – 52 месяца) – 7,86 по сравнению со здоровыми ( $p < 0,05$ ).

### ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Исследование КВВ – неинвазивная методика для повторного получения биоматериала респираторного тракта и его анализа. Может применяться при тяжелых респираторных заболеваниях и у детей старше 4 лет.

2. Реальным диагностическим потенциалом обладает определение в КВВ полулетучих

липидных медиаторов (лейкотриена В4 и 8-изопростана), ряда цитокинов и *pH* КВВ.

3. Основные факторы, ограничивающие клиническое применение данной методики, – вариабельность уровня и низкие концентрации биомаркеров (на пороге чувствительности существующих методов анализа). Определение производных арахидоновой кислоты является потенциально полезным для установления диагноза БА у детей

4. Установлено, что бронхоспазм, индуцируемый физической нагрузкой при БА, коррелирует с повышением в КВВ 8-изопростана и цистениловых лейкотриенов (CysLTs), с их последующим снижением после назначения больному антилейкотриеновых препаратов.

5. Уровень *pH* КВВ менее 7,4 может указывать на патологическое увеличение кислотности дыхательных путей, что помогает в диагностике респираторных синдромов, ассоциируемых с ГЭРБ

6. Перспективными направлениями изучения КВВ являются: метаболомика, протеомика и геномика КВВ, а также разработка новых методов анализа КВВ, включая on-line-детекцию.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Анаев Э. Х., Чучалин А. Г. Исследование конденсата выдыхаемого воздуха в пульмонологии (обзор зарубежной литературы). Пульмонология 2002; 2: 57–65.
2. Климанов И. А., Соодаева С. К., Лисица А. В., Кудрявцев В. Б., Чучалин А. Г. Стандартизация преаналитического этапа исследования конденсата выдыхаемого воздуха. Пульмонология 2006; 2: 53–55.
3. Ларюшкина Р. М., Рывкин А. И., Побединская Н. С., Решетова Т. Г., Соколова Т. Б., Филина И. В. Изменения фосфолипидных компонентов легочного сурфактанта и их коррекция при атопической бронхиальной астме. Педиатрия 2010; 89 (4): 17–21.

4. Сидоренко Г.И., Зборовский Э.И., Левина Д.И. Поверхностно-активные свойства конденсата выдыхаемого воздуха (новый способ исследования функций легких). Терапевтический архив 1980; 3: 65–68.
5. Фурман Е.Г., Корюкина И.П. Бронхиальная астма у детей: маркеры воспаления и состояние функции внешнего дыхания. Пермь 2010; 183.
6. Bodini A, D'Orazio C, Peroni D, Corradi M, Folesani G, Baraldi E, Assael B.M, Boner A, Piacentini G.L. Biomarkers of neutrophilic inflammation in exhaled air of cystic fibrosis children with bacterial airway infections. *Pediatr. Pulmonol.* 2005; 40 (6): 494–499.
7. Carpagnano G.E., Palladino G.P., Gramiccioni C, Foschino Barbaro M.P., Martinelli D. Exhaled ERCC-1 and ERCC-2 microsatellite alterations in NSCLC patients. *Lung. Cancer* 2010; 68; 305–307.
8. Dut R, Dizdar E.A, Birben E, Sackesen C, Soyer O.U, Besler T, Kalayci O. Oxidative stress and its determinants in the airways of children with asthma. *Allergy* 2008; 63 (12): 1605–1609.
9. Exhaled Biomarkers / edited by I. Horvath. European Respiratory Society Monograph 2010; 49: 198.
10. Kazani S, Israel E. Exhaled breath condensates in asthma: diagnostic and therapeutic implications. *J. Breath. Res.* 2010; 4: 1512–1521.
11. Kharitonov S.A, Barnes P.J. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. *Biomarkers* 2002; 7 (1): 1–32.
12. Klimanov I.A, Soodaeva S.K. Mechanisms of production of exhaled breath condensate and oxidative markers in respiratory diseases. *Pulmonology* 2009; 2: 113–119.
13. Lex C, Zacharasiewicz A, Payne D.N.R, Wilson N.M, Nicholson A.G, Kharitonov S.A, Barnes P.J, Bush A. Exhaled breath condensate cysteinyl leukotrienes and airway remodeling in childhood asthma: A pilot study. *Respir. Res.* 2006; 7: 63–71.
14. MacGregor G, Ellis S, Andrews J, Imrie M, Innes A, Greening A.P, Cunningham S. Breath condensate ammonium is lower in children with chronic asthma. *Eur. Respir. J.* 2005; 26 (2): 271–276.
15. Montuschi P. LC/MS/MS analysis of leukotriene B4 and other eicosanoids in exhaled breath condensate for assessing lung inflammation. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* 2009; 877 (13): 1272–1280.
16. Nicolaou N.C, Lowe L.A, Murray C.S, Woodcock A, Simpson A, Custovic A. Exhaled breath condensate pH and childhood asthma: Unselected birth cohort study. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 2006; 174 (3): 254–259.
17. Profita M, La Grutta S, Carpagnano E, Riccobono L, Di Giorgi R, Bonanno A, Pace E, Gjomarkaj M. Noninvasive methods for the detection of upper and lower airway inflammation in atopic children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006; 118 (5): 1068–1074.
18. Ratnawati Morton J, Henry R.L, Thomas P.S. Exhaled breath condensate nitrite/nitrate and pH in relation to pediatric asthma control and exhaled nitric oxide. *Pediatr. Pulmonol.* 2006; 41 (10): 929–936.
19. Robroeks C.M.H.H.T, Jupsis Q, Damoiseaux J.G.M.C, Heijmans P.H.M, Rosias P.P.R, Hendriks H.J.E, Dompeling E. Cytokines in exhaled breath condensate of children with asthma and cystic fibrosis. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2006; 96 (2): 349–355.
20. Shibata A, Katsumuma T, Tomikawa M, Tan A, Juki K, Akashi K, Eto J. Increased leukotriene E4 in the exhaled breath condensate of children with mild asthma. *Chest* 2006; 130 (6): 1718–1722.
21. Thomas P.S, Lowe A.J, Samarasinghe P, Lodge C.J, Huang Y, Abramson M.J, Dbar-mage S.C, Jaffe A. Exhaled breath condensate in pediatric asthma: promising new advance or pouring cold water on a lot of hot air? A Systematic Review. *Pediatr. Pulmonol.* 2013; 48: 419–442.

Материал поступил в редакцию 20.01.2014