

КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Светашев И.А.¹, Гудова Н.В.¹, Мехтиев Э.Р.¹, Пасивкина М.А.¹, Затевалов А.М.¹

<https://elibrary.ru/zagsom>

ПРИМЕНЕНИЕ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ–МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В АНАЛИЗЕ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Роспотребнадзора» ул. Адмирала Макарова, д. 10, г. Москва, Россия

В статье рассмотрены возможности использования газовой хроматографии–масс-спектрометрии (ГХ–МС) для анализа летучих органических соединений (ЛОС) в выдыхаемом воздухе с целью диагностики и мониторинга заболеваний верхних дыхательных путей (ВДП). Приведены принципы метода ГХ–МС и особенности его применения для дыхательной метаболической, включая пробоподготовку, сбор и концентрирование ЛОС. Рассмотрены перспективы раннего выявления вирусных и бактериальных инфекций (включая COVID-19 и стрептококковую ангину), а также возможности дифференциации этиологии ОРЗ и мониторинга хронических воспалительных процессов и микробиоты ВДП. Обсуждены сравнительные характеристики ГХ–МС с ионной мобильностью и электронными носами, а также ключевые факторы вариативности дыхательного метаболома и подходы к их контролю. Отмечается, что ГХ–МС остаётся референтным методом для выявления и валидации дыхательных биомаркеров, способствуя развитию неинвазивной диагностики и персонализированного подхода в лечении заболеваний ВДП.

Ключевые слова: газовая хроматография–масс-спектрометрия, летучие органические соединения, выдыхаемый воздух, заболевания верхних дыхательных путей, дыхательная метаболика, диагностика, биомаркеры, COVID-19, стрептококковая инфекция, мониторинг терапии

Для цитирования: Светашев И.А., Гудова Н.В., Мехтиев Э.Р., Пасивкина М.А., Затевалов А.М. Применение газовой хроматографии–масс-спектрометрии в анализе летучих органических соединений для диагностики заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы). Биотехнология в медицине и фармации. 2025; 2(2): 69-87.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-69-87>

EDN: ZAGSOM

Для корреспонденции: Затевалов Александр Михайлович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского. E-mail: zatevalov@gabrich.ru.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Роспотребнадзора.

Поступила 02.06.2025

Принята к печати 16.07.2025

Svetashev I.A.¹, Gudova N.V.¹, Mehtiev E.R.¹, Pasivkina M.A.¹, Zatevalov A.M.¹

APPLICATION OF GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY IN THE ANALYSIS OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS FOR THE DIAGNOSIS OF UPPER RESPIRATORY TRACT DISEASES

¹ G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, Rospotrebnadzor st. Admiral Makarova, 10, Moscow, Russia

The article considers the possibilities of using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to analyze volatile organic compounds (VOCs) in exhaled air for the purpose of diagnostics and monitoring of upper respiratory tract diseases (URTD). The principles of GC-MS method and peculiarities of its application for respiratory metabolomics, including sample preparation, collection and concentration of VOCs are presented. The prospects of early detection of viral and bacterial infections (including COVID-19 and streptococcal sore throat), as well as the possibilities of differentiating the etiology of acute respiratory infections and monitoring chronic inflammatory processes and microbiota of the respiratory tract are considered. Comparative characteristics of GC-MS with ion mobility and electron nosodes are discussed, as well as key factors of respiratory metabolome variability and approaches to their control. It is noted that GC-MS remains a reference method for the detection and validation of respiratory biomarkers, contributing to the development of noninvasive diagnosis and personalized approach in the management of respiratory diseases.

Key words: gas chromatography-mass spectrometry, volatile organic compounds, exhaled air, upper respiratory tract diseases, respiratory metabolomics, diagnosis, biomarkers, COVID-19, streptococcal infection, therapy monitoring

For citation: Svetashev I.A., Gudova N.V., Mekhtiev E.R., Pasivkina M.A., Zatevalov A.M. Application of gas chromatography–mass spectrometry in the analysis of volatile organic compounds for the diagnosis of upper respiratory tract diseases (literature review). Biotechnologiya v medicine i farmacii [Biotechnology in medicine and pharmacy] (in Rus.). 2025; 2(2): 69-87 (in Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-69-87>

EDN: ZAGSOM

For correspondence: Zatevalov Alexander Mikhailovich, Doctor of Biological Sciences. Chief Researcher at G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology. E-mail: zatevalov@gabrich.ru

Information about authors:

Zatevalov A.M. <https://orcid.org/0000-0002-1460-4361>
Svetashev I.A. <https://orcid.org/0009-0002-9239-802X>
Gudova N.V. <https://orcid.org/0000-0002-9579-1102>
Mekhtiyev E.R. <https://orcid.org/0000-0002-9942-2662>
Pasivkina M.A. <https://orcid.org/0000-0001-6223-1347>

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests

Acknowledgement. The study was carried out within the framework of the state assignment of Rosпотребнадзор.

Received 02.06.2025

Accepted 16.07.2025

Диагностика заболеваний верхних дыхательных путей (ВДП) традиционно базируется на клинических симптомах, микробиологических анализах мазков и визуализирующих методах. Однако многие методы инвазивны, требуют времени или ограничены чувствительностью. В этой связи растёт интерес к неинвазивным диагностическим технологиям, таким как анализ выдыхаемого воздуха на летучие органические соединения (ЛОС) – низкомолекулярные метаболиты, выделяемые с дыханием. Выдыхаемый воздух содержит сотни ЛОС, профиль которых способен отражать метаболическое состояние организма и наличие патологии [1]. Преимущества подхода очевидны: сбор выдоха не травматичен, безопасен и может повторяться многократно, предоставляя неограниченный объём проб без дискомфорта для пациента [1]. Так, «дыхательные тесты» уже нашли применение в медицине: известный тест с 13С-мочевинной для диагностики *Helicobacter pylori* и измерение фракционного оксида азота (FeNO) для мониторинга астмы [1]. Эти примеры демонстрируют, что дыхательная диагностика может обеспечить раннее обнаружение заболеваний и мониторинг лечения без инвазивных процедур.

Особенно актуально использование выдыхаемого воздуха для инфекционных болезней верхних дыхательных путей – например, вирусных и бактериальных респираторных инфекций. Быстрая дифференциация возбудителя (вирус или бактерия) по дыханию пациента могла бы помочь избежать неоправданного назначения антибиотиков и своевременно изолировать заразных больных [2],[3]. Пандемия COVID-19 придала импульс исследованиям в этой области. Уже в 2022 г. Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) чрезвычайно одобрило первый дыхательный тест на COVID-19, основанный на газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ–МС), с высокой точностью (чувствительность ~91%, специфичность ~99%) [4]. В Нидерландах была внедрена электронная «спиронос» (SpiroNose) для массового скрининга на коронавирус по выдоху: отрицательный результат такого теста позволял быстро исключить инфекцию. Эти достижения подчёркивают потенциал «дыхательных биомаркеров» для ранней диагностики заболеваний ВДП и мотивируют дальнейшие исследования.

Тем не менее, переход дыхательного анализа из лаборатории в клинику идёт медленно. Несмотря на сотни публикуемых работ по поиску «дыхательных» биомаркеров, до практического внедрения доведены лишь считанные тесты [1]. Проблемы стандартизации, высо-

кая вариабельность ЛОС у разных людей и неясность связи конкретных летучих маркеров с определёнными болезнями пока сдерживают широкое применение [1],[3]. Особенно сложна ситуация с заболеваниями ВДП, где на состав выдоха влияют как системные метаболические процессы хозяина, так и обменные продукты микрофлоры дыхательных путей [3]. Тем не менее, в последние годы продемонстрированы убедительные примеры того, как профиль ЛОС в выдохе позволяет обнаруживать и дифференцировать инфекции дыхательных путей – включая грипп, COVID-19, туберкулёз, стрептококковые инфекции – а также отслеживать хронические воспалительные процессы [2],[5].

Газовая хроматография–масс-спектрометрия (ГХ–МС) на сегодняшний день считается «золотым стандартом» в анализе ЛОС выдыхаемого воздуха [1],[6]. Данный обзор фокусируется на использовании ГХ–МС для метаболомики ЛОС – комплексного анализа летучих метаболитов – с целью диагностики заболеваний ВДП. Мы рассмотрим принципы метода и его пригодность для «дыхательной» диагностики, современные подходы к пробоподготовке дыхательных проб, ключевые области применения (от раннего выявления инфекций до мониторинга терапии), факторы, влияющие на дыхательный метаболом, сравнение ГХ–МС с альтернативными технологиями (ионная мобильность, электронные носы), текущий статус клинического внедрения и перспективы развития. Обзор основан на данных последних исследований и включает ~70 источников из рецензируемой литературы.

Принципы метода ГХ–МС и применимость для ЛОС-метаболомики

Газовая хроматография–масс-спектрометрия представляет собой комбинацию двух аналитических техник: газовой хроматографии для разделения смеси летучих соединений и масс-спектрометрии для идентификации и количественного определения этих соединений по их масс-спектральным «отпечаткам». Применительно к анализу выдыхаемого воздуха, ГХ–МС даёт возможность одновременно детектировать десятки и сотни ЛОС различной природы – альдегиды, кетоны, спирты, углеводороды, эфиры и др. [1]. Благодаря высокой чувствительности (пределы обнаружения – от ppb до ppt, в зависимости от вещества и условий анализа) и спектральной специфичности, ГХ–МС позволяет обнаруживать даже следовые концентрации маркерных веществ в выдохе и узнавать их структуру по библиотекам масс-спектров [1],[6]. Именно способность идентифицировать неизвестные ранее метаболиты делает ГХ–МС

основным инструментом непредвзятого поиска биомаркеров (untargeted analysis) в дыхательной метаболомике.

В типичной реализации метод включает сбор определённого объёма выдоха пациента, выделение/концентрацию содержащихся в нём ЛОС и введение сконцентрированной пробы в газовый хроматограф. В капиллярной колонке ГХ соединения разделяются во времени по полярности и летучести; затем последовательно поступают в масс-спектрометр, где ионизируются (например, электроударной ионизацией) и фрагментируются. Регистрируется масс-спектр – характерный набор масс ионов – по которому вещество опознаётся либо сравнением со спектральной библиотекой, либо по точной массе (в случае высокоразрешающего MS) [1]. В результате за один анализ (обычно 20–60 минут) можно получить хроматограмму дыхания с пиками десятков ЛОС и спектральными идентификациями для каждого пика [1]. Такой формат данных удобно использовать для метаболомных сравнений – например, выявления, какие вещества отличаются между больными и здоровыми, или до и после лечения.

ГХ–МС успешно применялась в исследованиях при самых разных патологиях дыхательных путей – от астмы и хронической обструктивной болезни лёгких до пневмоний, туберкулёза и рака лёгкого [1],[2]. В частности, для инфекций дыхательных путей анализ выдоха на ГХ–МС позволил обнаружить ряд специфических микробных метаболитов (например, продуцируемых бактериями летучих кислот, аминов, сернистых соединений), а также индикаторов иммунного ответа хозяина (альдегиды и алканы при оксидативном стрессе воспаления) [1],[2]. Такой двойной характер информации – отражающей и патоген, и реакцию организма – делает дыхательную метаболомику ценной для дифференциальной диагностики. Например, с помощью ГХ–МС удалось по профилю выдоха различать вирусные и бактериальные респираторные инфекции [3], а также обнаруживать уникальные метаболиты, характерные для конкретных возбудителей (например, *Streptococcus pyogenes* или *Mycobacterium tuberculosis*) [6].

Конечно, метод ГХ–МС требует выполнения нескольких этапов *пробоподготовки* и участия квалифицированного персонала, что несколько осложняет его применение на месте лечения (point-of-care) [1]. Обычно сбор и концентрирование проб выдоха происходит офлайн с последующим анализом в лаборатории. Несмотря на это, ценность ГХ–МС как исследовательского инструмента для дыхательных биомаркеров чрезвычайно высока [1]. В силу высокой точности и достоверности данных ГХ–МС остаётся референтным методом для валидации результатов, полученных более простыми сенсорными технологиями (такими как электронные носы или ИМС) [1]. В совокупности, ГХ–МС составляет основу современной ЛОС-метаболомики дыхания и является ключевым звеном на пути перевода дыхательных тестов из эксперимента в клинику.

Пробоподготовка дыхательных проб для ГХ–МС

Анализ ЛОС в выдохе осложнён тем, что их концентрации крайне низки (обычно от нг/л до пг/л, т.е. ppt–ppt) на фоне значительного содержания воды и CO₂ [1]. Поэтому необходим этап *концентрации* целевых соединений перед ГХ–МС. Существуют различные подходы к сбору и обогащению летучих метаболитов из дыхания, и

выбор метода существенно влияет на обнаруживаемый профиль ЛОС [3]. В данном разделе рассмотрены основные варианты пробоподготовки: сорбционные трубки с термодесорбцией, твёрдофазная микроэкстракция, игольчатые ловушки, химическая дериватизация и различные типы дыхательных проб (альвеолярный воздух, общий экспирационный воздух, анализ мазков).

Сбор дыхания на сорбционные трубки и термодесорбция. Наиболее распространённым методом является отбор выдоха в трубку, заполненную сорбентом, с последующей термодесорбцией захваченных ЛОС прямо в газовый хроматограф. В качестве сорбентов применяются пористые полимеры (Tenax TA, Tenax GR и др.), графитизированный углерод (Carbograph, Carborack) или молекулярные сита из углерода (Carboxen) [1]. Выбор сорбента определяется диапазоном летучести искомого соединения: например, Tenax TA эффективно удерживает вещества с диапазоном C₆–C₃₀ и практически не адсорбирует воду, благодаря чему широко используется для непрямого анализа выдоха. Для расширения диапазона иногда применяют многослойные адсорбенты (несколько сорбентов в одной трубке), покрывающие широкий спектр ЛОС от лёгких до тяжёлых [1]. Однако multi-bed трубки могут снижать воспроизводимость из-за различных сил связывания веществ на слоях. Часто компромиссным решением является сочетание двух сорбентов – например, Carbograph 1TD + Carborack X или Tenax TA + Carboxen, позволяющих улавливать как лёгкие (C₃–C₆), так и тяжёлые (C₇–C_{30}) ЛОС. В любом случае, захваченные в пробоотборнике компоненты затем быстро нагреваются (обычно до 200–300 °C) и переносятся потоком газа-носителя в колонку ГХ – этот процесс называется термодесорбцией. Преимущество сорбционных трубок – возможность собрать значительный объём дыхания (литры) и тем самым сконцентрировать даже следовые компоненты для обнаружения ГХ–МС [3]. Метод хорошо стандартизирован и подходит для хранения проб (трубки могут храниться герметично в холоде до анализа) [1]. Ограничения связаны с потенциальной потерей летучих фракций (очень лёгкие газы могут проскочить сорбент) и требованием специального оборудования для термодесорбции.

Для иллюстрации, в исследованиях по диагностике вентилятор-ассоциированной пневмонии выдох интубированных пациентов пропускали через двухслойную трубку Carbograph/Carborack, после чего проводили ГХ–МС анализ методом time-of-flight. Это позволило одновременно зарегистрировать >1000 различных пиков ЛОС и статистически выделить 12 соединений, отличающих пациентов с пневмонией от контрольных [3]. Другое исследование применило трубки с Tenax TA для сбора выдоха у детей, и выявило воспроизводимые различия по 6 ключевым веществам между здоровыми и инфицированными COVID-19 [1]. Эти примеры подтверждают, что сорбционные методы обеспечивают достаточную чувствительность ГХ–МС для дыхательного анализа даже при очень низких концентрациях маркеров.

Твёрдофазная микроэкстракция (SPME). Альтернативный подход – использование небольшого сорбционного волокна для извлечения летучих соединений. Метод твёрдофазной микроэкстракции не требует насосов и ёмкостей: тонкое кремнезёмное волокно с сорбционным

покрытием (например, полидиметилсилоксан – PDMS, или дивинилбензол/Carboxen/PDMS – комбинированное покрытие для широкополярных анализов) помещается в поток выдыхаемого воздуха на заданное время [1]. За счёт равновесной адсорбции молекул на поверхность волокна происходит концентрирование ЛОС. Далее волокно вводится напрямую в нагретый инжектор газового хроматографа, где адсорбированные вещества десорбируются и

переносятся в колонку. SPME впервые была применена для анализа дыхания в 1997 году Гроте и Павлишины, продемонстрировавшими возможность идентифицировать ацетон, бензол и другие ЛОС в выдохе с помощью этого подхода [1]. С тех пор SPME широко используется в дыхательных исследованиях – например, для ловли высоколетучих растворителей или растворенных газов, которые могут теряться на пористых сорбентах.

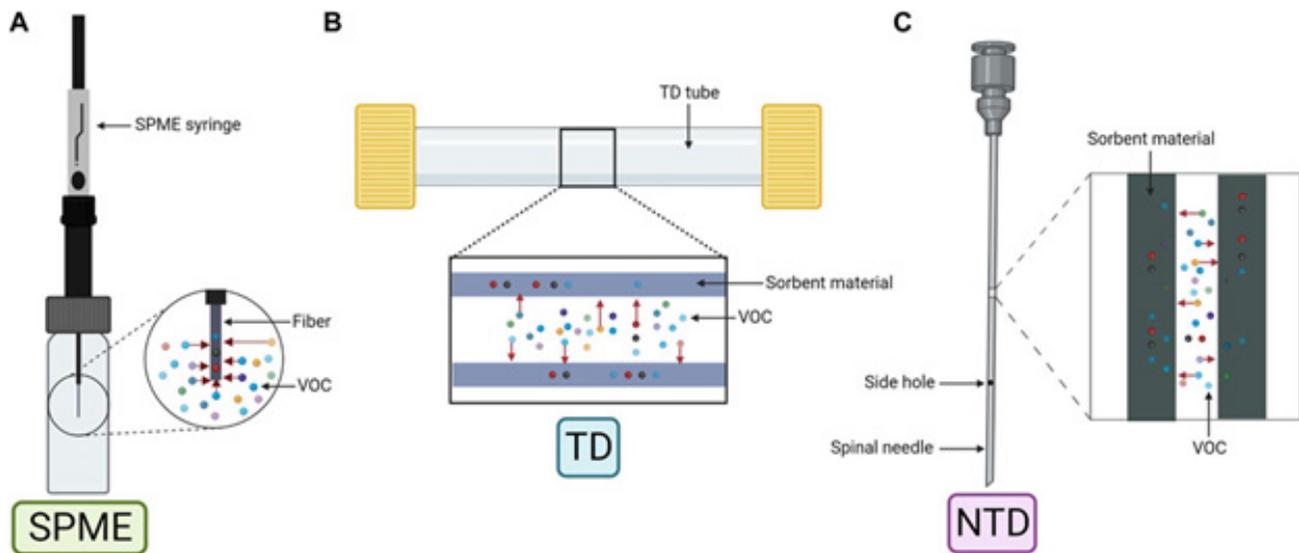


Рис. 1. Основные методы сбора и концентрирования летучих соединений из выдыхаемого воздуха перед ГХ–МС [1]. (А) Твёрдофазная микроэкстракция (SPME): волокно, покрытое адсорбентом, экспонируется в потоке выдоха, затем вводится в инжектор ГХ для термодесорбции. (В) Трубка с сорбентом (TD): через трубку прокачивается определённый объём дыхания, ЛОС улавливаются на сорбенте, затем трубка нагревается в приборе термодесорбции, и высвобожденные вещества поступают в ГХ–МС. (С) Игольчатый ловушечный экстрактор (NTD): сочетает принципы SPME и сорбционной трубки – полая игла, заполненная сорбционным материалом, которой можно отбирать пробу шприцевым способом; нагрев иглы высвобождает аналиты в колонку ГХ.

Преимущества SPME: простота и быстрота отбора проб, отсутствие дополнительного оборудования (волокно вставляется в носоглотку или маску), небольшие требования к объёму пробы [1]. SPME особенно полезна для экспресс-скрининга – время экспозиции волокна может составлять минуты. Однако у метода есть ограничения по ёмкости сорбции: волокно площадью несколько мм² не удержит больших масс аналитов, поэтому чувствительность может уступать трубкам при анализе ультраследовых компонентов. Кроме того, разные типы покрытий имеют свой «оптимальный» диапазон молекулярных масс захватываемых ЛОС (например, PDMS эффективна для гидрофобных низкополярных веществ массой 80–300 а.е.м.) [1]. Выбор волокна влияет на выявляемый метаболит: в недавнем исследовании сравнили три вида покрытий и установили, что комбинированное DVB/Carboxen/PDMS извлекает больше всего различных ЛОС из дыхания. SPME часто применяют для анализа локальных проб – напр., летучих соединений, выделяемых мазками или культурами возбудителей.

Игольчатые ловушки (NTD) и другие методы концентрирования. Развитием идей SPME является needle trap device (NTD) – сорбционная ловушка в форме полой иглы шприца, заполненной адсорбентом [1]. Через такую иглу можно с помощью шприца медленно протянуть заданный объём воздуха (например, 100 мл выдоха); молекулы ЛОС оседают на гранулы сорбента внутри

иглы. Затем та же игла вставляется в порт инжектора ГХ–МС и нагревается, осуществляя термодесорбцию непосредственно в колонку (подобно трубке). Преимущества NTD – малая диффузионная потеря (замкнутая система), возможность проталкивать пробу принудительно и сочетание больших объёмов с компактностью волокна. NTD менее распространены, но показывают хорошую эффективность для разнообразных ЛОС. Другие методы концентрирования включают криогенное улавливание (заморозка выдыхаемого воздуха в криоловушке при –70...–196 °С с последующим быстрым нагревом) – крайне эффективный способ, но требующий сложной техники. Также существуют методы *химического связывания* определённых классов соединений: например, пропускание дыхания через картридж с химическим реагентом, который избирательно реагирует с целевыми ЛОС, образуя стабильные производные. Это относится к разделу дериватизации и рассматривается ниже.

Дериватизация летучих метаболитов. Некоторые диагностически важные соединения в дыхании могут присутствовать в химически активной форме или в концентрациях ниже порога обнаружения ГХ–МС. Дериватизация – это целенаправленная химическая модификация аналитов для повышения их стабильности, летучести или отклика в масс-спектрометре. В практике дыхательного анализа чаще всего дериватизируют карбонильные соединения (альдегиды, кетоны),

связанные, например, с окислительным стрессом и воспалением. Типичный подход – пропускание воздуха через сорбент, пропитанный реагентом О-(2,3,4,5,6-пентафторобензил)-гидроксиламин (PFBHA) или 2,4-динитрофенилгидразином (DNPH), которые селективно реагируют с карбонильными группами, образуя стабильные оксимы или гидразоны [7],[8]. Полученные производные гораздо лучше удерживаются на сорбенте и легче обнаруживаются ГХ–МС благодаря увеличенной молекулярной массе и характерным спектрам [9]. Например, Ломонако и соавт. разработали метод он-сорбентной дериватизации альдегидов выдоха с PFBHA и последующей термодесорбции/ГХ–МС–МС, что позволило достичь пределов обнаружения <200 ppt для альдегидов C₂–C₉ [8]. Авторы успешно применили этот метод для количественного определения ~30 карбонильных метаболитов в дыхании пациентов и показали воспроизводимость ~10% [8]. В другом исследовании дериватизация использована для повышения чувствительности к ацетону: ввод внутреннего стандарта ²H₆-ацетона и последующая реакция позволили надёжно измерять даже небольшие изменения ацетона в выдохе после физ. нагрузки [8]. Таким образом, дериватизация расширяет аналитические возможности ГХ–МС в случаях, когда летучие маркеры слишком реакционноспособны или малоцентрированы. Отметим, что дериватизация усложняет пробоподготовку и обычно применяется в специализированных исследованиях (например, для маркеров оксидативного повреждения липидов – альдегидов малонового диальдегида, 4-гидрокси-ноненаля и др.).

Типы дыхательных проб: смешанный воздух vs. альвеолярный воздух vs. мазки. При отборе проб выдыхаемого воздуха важно понимать, какая часть респираторного тракта формирует обнаруживаемые ЛОС. Традиционно выделяют: «мёртвое пространство» (воздух, заполняющий рот, нос и трахею – не участвующий в газообмене), бронхиальный воздух и альвеолярный воздух (глубокий выдох из лёгочных альвеол) [1]. Смешанный выдох содержит все эти фракции. Для ряда применений, особенно метаболических (например, кетоны, продукты обмена из крови), предпочтителен альвеолярный воздух – он отражает состав крови и метаболизм тканей. Его отбирают либо при помощи методов с контролем уровня CO₂ (специальные клапаны, открывающиеся в конце выдоха), либо предложенным Филлипсом «мешком Хальдэйна–Пристли», собирающим только последнюю порцию выдоха. С другой стороны, при исследованиях инфекций верхних дыхательных путей (носоглотки) может быть информативен и ранний выдох, содержащий ЛОС, вырабатываемые микрофлорой носа и горла. Например, летучие метаболиты бактерий, обитающих в околоносовых пазухах, попадают в общий выдох уже при начале выдыхания [10]. Поэтому для диагностики синуситов часто анализируют именно смешанный выдох, либо даже берут пробы не самого дыхания, а воздуха, отмываемого из полости носа. Существуют методики сбора носового воздуха через катетер и анализа его ЛОС-профиля отдельно от ротового выдоха.

Особое направление – анализ летучих продуктов, выделяемых биологическими образцами верхних дыхательных путей: мазками со слизистой, мокротой, куль-

турой микроорганизмов. В этом случае объектом исследования выступает не сам выдох, а летучие метаболиты патогенов или поражённых тканей. Пример – работа Preti и соавт., где исследовали летучие соединения, характерные для синусных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, сначала на культурах, а затем в образцах гнойного содержимого пазух у пациентов [10]. Методом HS-SPME–ГХ–МС они обнаружили, что у *S. aureus* специфичны летучие маркеры: диметилсульфид, изовалериановая кислота, 2-метил-2-бутаналь и аммиак; а у *E. coli* – индол, октанол и этанол [10]. Часть этих веществ присутствовала и в реальных образцах инфицированной слизистой, что позволило авторам предложить их в качестве *неинвазивных биомаркеров* инфекции синусов [10]. Подобным образом, мазок из горла при ангине можно поместить в закрытый флакон и проанализировать его газовую фазу (headspace) ГХ–МС либо портативным сенсором – так пытаются диагностировать *Streptococcus pyogenes* без посева. Современные работы показывают, что по профилю ЛОС, выделяемых патогенами *in vitro*, можно уверенно отличить, например, *S. pyogenes* от других стрептококков [11]. В частности, Berna и др. идентифицировали 27 летучих метаболитов, уникальных для *S. pyogenes*, что закладывает основу для разработки быстрых «нюхательных» тестов на стрептококковую ангину [11].

Резюмируя, пробоподготовка играет ключевую роль в успехе дыхательного анализа. Тщательно подобранные методы сбора (альвеолярный vs. общий воздух), концентрирования (сорбенты, SPME, NTD) и, при необходимости, дериватизации, позволяют обеспечить надёжное обнаружение нужных ЛОС. В современных исследованиях применяют комбинации методов: например, для поиска новых маркеров может одновременно использоваться SPME для захвата легколетучих фракций и трубки Tenax для тяжелых компонентов [1]. Стандартизация этих процессов – важная задача, над которой работают эксперты, чтобы данные разных лабораторий стали сопоставимы [1]. Уже появляются рекомендации по оптимальным сорбентам, объёмам дыхания, условиям хранения проб и т.д. [3]. Правильно поставленная пробоподготовка обеспечивает воспроизводимость результатов ГХ–МС и приближает внедрение дыхательных тестов в клинику.

Ранняя диагностика инфекций (COVID-19, стрептококк и др.) по выдоху

Одной из самых показательных областей является обнаружение дыхательных инфекций на ранних стадиях – зачастую ещё до развития развёрнутой клиники. Ещё классики медицины отмечали специфический запах дыхания при дифтерии, скарлатине, гриппе. Современные технологии позволяют расшифровать эти «запахи» в терминах конкретных ЛОС и использовать их как биомаркеры инфекции [2],[3].

COVID-19: Пандемия стимулировала множество исследований «выдоха» при коронавирусной инфекции. Выявлено несколько характерных летучих метаболитов, повышенных у больных COVID-19. Так, в ряде работ сообщалось об увеличенной концентрации *изопропанола*, *ацетона* и *уксусного альдегида* в выдохе инфицированных по сравнению со здоровыми [4],[12]. Предполагается, что эти вещества отражают усиленное окисление жирных кислот и воспалительный стресс

при вирусной инфекции [1],[4]. ГХ–МС анализ выдоха 98 пациентов с подозрением на COVID-19 позволил с точностью ~80% отличить заболевших: наиболее значимыми признаками оказались повышенные уровни бутанона (метилэтилкетона) и пентанала [4]. Другие исследователи отметили, что соотношение 2-бутанона к ацетону снижается у больных COVID-19, что может служить маркером – двухфакторная модель на этих соединениях дала чувствительность ~96% и специфичность ~100% в диагностике COVID-19 [7]. Важная особенность – профиль ЛОС меняется с временем болезни и штаммом вируса. Так, в 2022 г. было показано, что картина ЛОС при заражении вариантом Дельта отличается от таковой при Омикрон-штамме, и алгоритмы, обученные на одном варианте, теряют точность на другом [4]. Это подчёркивает необходимость обновления моделей под новые патогены либо выявления более универсальных «хозяин-зависимых» маркеров инфекции. Несмотря на эти сложности, дыхательные тесты на COVID-19 быстро продвинулись к практике: помимо уже упомянутого устройства InspectIR (ГХ–МС с ИМС детектором) [4], в ряде стран в 2020–21 гг. испытывались и электронные носы. Например, в Нидерландах SpiroNose по выдоху пациентов отличала COVID-19 с высокой отрицательной прогностической ценностью – негативный результат практически исключал болезнь. Хотя положительные эбонз-результаты требовали подтверждения ПЦР, такая скрининговая методика позволила существенно разгрузить лаборатории. Таким образом, ГХ–МС и связанные технологии доказали свою эффективность для раннего неинвазивного выявления COVID-19. В перспективе комбинированные панели ЛОС могут дифференцировать не только наличие вируса, но и тяжесть течения или прогноз выздоровления.

Streptococcus pyogenes (стрептококковый тонзиллит): Диагностика бактериального тонзиллита (ангина) обычно требует мазка из горла и экспресс-теста на антиген или посева, что неудобно для пациента, особенно ребёнка. Поэтому большой интерес представляет возможность «понюхать» ангину. Недавно в журнале *mSphere* (2023) опубликовано исследование, где сравнили летучие профили патогенных стрептококков (в т.ч. *S. pyogenes*) с другими видами и обнаружили уникальный набор маркерных ЛОС [11]. Среди 27 идентифицированных ЛОС – различные эфиры, альдегиды и сернистые соединения, характерные именно для *S. pyogenes*. Авторы отметили, что эти вещества могут формировать своеобразный «запах», специфичный для возбудителя скарлатины [11]. Ранее *in vitro* также показывали, что *S. pyogenes* при росте выделяет повышенные количества ацетальдегида и пропанала, а вирус гриппа – например, из инфицированных клеток – вызывает всплеск *n*-пропилацетата. Таким образом, стрептококковая инфекция ВДП имеет отличимый дыхательный отпечаток. Практические испытания на пациентах пока ограничены. Однако концептуально возможен дыхательный тест на стрептококк: пациент выдыхает в портативный прибор, тот анализирует наличие специфических комбинаций ЛОС и мгновенно выдаёт результат – похожий по идее на алкотестер, но распознающий ангину. Пока подобные устройства в стадии разработки, но результаты фундаментальных исследований с ГХ–МС внушают оптимизм: неинва-

зивная диагностика бактериального фарингита через выдох, вероятно, станет реальностью в ближайшем будущем [2].

Другие инфекции верхних дыхательных путей: К болезням верхних дыхательных путей относят и вирусные ринофарингиты, грипп, аденовирусные инфекции. Для них тоже изучаются дыхательные маркеры. В эксперименте на клеточных культурах человеческого эпителия показано, что моно-инфекция гриппом А вызывает появление в среде *n*-пропилацетата (летучий эфир), тогда как бактериальное заражение *S. pyogenes* – рост альдегидов [2]. При совместной вирусно-бактериальной инфекции наблюдается комбинация ЛОС от обоих патогенов [2]. Это принципиально важно: коинфекции могут давать сложный профиль. Тем не менее, раннее обнаружение гриппа по выдоху человека было продемонстрировано: за 1–2 дня до появления симптомов у инфицированных добровольцев в выдохе повышались изопрен, октан и некоторые другие углеводороды [3]. Для РС-вируса (респираторно-синцитиального) и риновируса также выявлены характерные изменения дыхательного метаболома у детей – например, повышение летучих органических кислот и снижения некоторых терпенов [3].

Отдельно стоит упомянуть туберкулёз (хотя это скорее нижние дыхательные пути, но диагностический подход общих принципов). Туберкулёз – грозная бактериальная инфекция, требующая раннего выявления. Многие группы пытались найти «дыхательные маркеры» туберкулёза. С помощью ГХ–МС обнаружено несколько соединений, присутствующих в выдохе только у больных активным ТБ и отсутствующих у здоровых [5]. В 2025 г. Mpolokang et al. сообщили об открытии нескольких новых ЛОС, характерных для туберкулёза, и даже обнаружили различия в выдохе между чувствительным и мультирезистентным туберкулёзом [5]. Это указывает на будущую возможность неинвазивно определять лекарственную устойчивость возбудителя по «химическому выдоху» пациента. Хотя это относится к нижним дыхательным путям, сама методология релевантна для ВДП-инфекций: в выдохе содержатся как маркеры системного воспаления, так и прямые метаболиты микробов, что вместе даёт комплексную картину инфекции [3].

Таким образом, ГХ–МС находит применение для ранней и быстрой диагностики инфекций верхних дыхательных путей. В случаях COVID-19 и, потенциально, гриппа – это шанс выделить инфицированных до результатов ПЦР. В случаях бактериальной ангины – возможность мгновенно решить вопрос об антибиотиках. Хотя технология ещё в стадии клинических испытаний, достижения последних лет демонстрируют её реализуемость. Главное преимущество – полная неинвазивность: диагноз по выдоху особенно привлекателен в педиатрии и для массового скрининга.

Дифференциация бактериальной и вирусной этиологии

Острая респираторная инфекция (ОРЗ) – один из самых распространённых поводов обращения, и один из сложных с точки зрения рациональной терапии. Симптомы вирусной и бактериальной инфекции верхних дыхательных путей (например, вирусного бронхита и бактериальной пневмонии, или гриппа и бактериальной ангины) могут перекрываться, а применение антибиотиков при вирусах неэффективно и ведёт к росту

антибиотикорезистентности. Поэтому клиницисты остро нуждаются в быстром методе отличить вирус от бактерии. Исследования показывают, что дыхательный анализ ЛОС может стать таким методом, фиксируя разницу в метаболических паттернах воспаления [2],[3].

Вирусные инфекции обычно вызывают сильный оксидативный стресс и иммунный ответ, что приводит к выбросу липидных пероксидов и их разложению с образованием альдегидов и алканов (напр., повышения в выдохе гексаналя, октана и др.) [1]. Бактериальные инфекции, помимо воспаления, характеризуются присутствием микробных метаболитов – например, летучих жирных кислот, сероводорода, аминов (запах гниения) и др., выделяемых бактериями [2],[10]. ГХ–МС позволяет одновременно регистрировать и те, и другие типы ЛОС. Сравнительные работы на моделях показали чёткую разницу: например, при *чисто бактериальном заражении* дыхательные культуры демонстрировали рост ацетальдегида и пропаналя (как продуктов брожения), а при *чисто вирусном* – появление н-пропилацетата (возможно, из повреждённых клеток) [2]. При *смешанной инфекции* наблюдались и те, и другие изменения [2], но их временная динамика различна. В экспериментах на животных (свиньи, инфицированные гриппом, с последующей суперинфекцией бактериями) отмечено, что сначала профиль ЛОС соответствует вирусной инфекции, а при добавлении бактерии он «смещается» в сторону бактериальных метаболитов [2].

Клинические данные также свидетельствуют о возможности дифференциации. В небольшом исследовании 2021 г. (Kamal et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*) анализировали выдох пациентов с простудой, вызванной либо риновирусом, либо бактериями, и нашли, что паттерн 10 ЛОС позволяет различить эти случаи с точностью ~80% [3]. В другом мета-анализе (He et al., 2024) обобщены данные 14 работ по VOC при пневмонии: сообщается, что суммарная чувствительность дыхательного анализа для выявления пневмонии ~94%, а специфичность ~83% [3]. Эти высокие показатели подразумевают, что профили ЛОС при пневмонии отличимы от профилей при вирусных бронхитах или других невоспалительных состояниях лёгких. Некоторые конкретные маркеры, обсуждаемые в литературе: повышенный уровень *2-метилпентана* и *2,4-диметилгексана* – предполагается, что они больше характерны для бактерий; напротив, высокий *изопреноидный* сигнал (изопрен) может больше соответствовать вирусному поражению [3]. Несколько групп отмечали, что суммарное увеличение альдегидов в выдохе свойственно COVID-19 и пневмониям [1], но для бактериальной пневмонии специфичнее обнаружение летучих азотистых соединений, например триметиламина, получающегося при расщеплении бактериями аминокислот [1].

Отдельно изучался вопрос: способен ли дыхательный анализ отличить *бактериальную пневмонию от вирусной*. Предварительные данные – да, хотя задача сложна. В 2020 г. проведено исследование с участием >100 пациентов, у части из них была бактериальная пневмония, у других – вирусная (включая COVID-19). Модель машинного обучения по 16 ЛОС из выдоха смогла с точностью ~90% различить эти группы [13], [14]. Среди важных признаков назывались *бутанол* и *карбоновые кислоты* (ассоциированные с бактериями) против *повы-*

шенного ацетона и метилнитрата (при вирусах). Хотя эти результаты требуют валидации, они дают надежду на развитие дифференциального дыхательного теста, указывающего врачу: инфекция скорее вирусная (нужны противовирусные меры) или бактериальная (целесообразны антибиотики). В крупных стационарах такие системы могли бы помочь в быстром назначении лечения, минуя длительное ожидание посевов.

Конечно, прямого «анализатора вирус или бактерия» пока нет, и перекрытия профилей возможны (например, при вирусной инфекции с бактериальной суперинфекцией дыхание покажет смешанный рисунок). Тем не менее, сочетание нескольких маркерных ЛОС и продвинутой обработки данных (например, с использованием методов машинного обучения) позволяет достичь высоких диагностических показателей [3]. Преимущество подхода – скорость (анализ занимает минуты, не нужно культивировать патоген) и безболезненность. Уже ведутся работы по внедрению портативных ГХ–МС устройств и ИМС-сенсоров именно для такой дифференциации на уровне кабинета врача. Сдерживающий фактор – чтобы алгоритмы были надёжны, нужны обширные базы данных дыхательных профилей при разных инфекциях, стандартизированные методики пробоподготовки (что обсуждалось выше). В обзоре Ahmed et al. 2017 подчёркивается, что межисследовательская вариабельность пока высока, но усилия по стандартизации (единые методы сбора, общие библиотечные спектры) способны изменить ситуацию [3]. Можно ожидать, что в перспективе дыхательная диагностика станет важным дополнением к лабораторным тестам при ОРЗ, повышая точность этиологического диагноза и способствуя персонализированному подходу в лечении (например, назначать антибиотики только когда «дыхательный анализ» указывает на бактериальную природу).

Мониторинг микробиоты и хронических воспалений ВДП

Летучие органические метаболиты, обнаруживаемые в дыхании, отражают не только острые процессы, но и хроническое состояние микробиоценоза дыхательных путей и степень длительного воспаления. Это открывает возможность неинвазивно контролировать затяжные заболевания ВДП – например, хронический риносинусит (ХРС), муковисцидоз, бронхоэктазы – а также оценивать баланс микрофлоры носоглотки.

Микробиота и ее летучие метаболиты: Различные симбиотические и патогенные микроорганизмы, колонизирующие ВДП, производят характерные ЛОС в процессе своего метаболизма [10]. Например, комменсальные *стафилококки* выделяют диметилсульфид (придающий сладковатый запах) и изовалериановую кислоту (резкий «сырный» запах) [10]. *Pseudomonas aeruginosa* – частый патоген при муковисцидозе – известна продукцией 2-аминоацетофенона с «виноградным» запахом, который действительно ощущается в дыхании больных с тяжёлой синусно-легочной инфекцией [10]. *Анаэробная флора* (например, при гнойных синуситах) генерирует летучие сернистые соединения (сероводород, метантиол), ответственные за зловонный запах гноя. Современная ГХ–МС метаболомика позволяет косвенно судить о составе микробиоты по присутствию этих индикаторных ЛОС. Так, исследо-

вание Preti et al. показало, что в образцах из пазух с анаэробной инфекцией присутствовали соединения, не встречающиеся при нормальной флоре (в т.ч. триэтанаммин и др.), что позволяет предположить активность анаэробов [10]. В перспективе можно представить себе «дыхательный паспорт микробиоты»: определённые комбинации ЛОС указывают на преобладание тех или иных микробных сообществ. Конечно, пока для этого нужны обширные данные корреляции дыхательного метаболома с результатами микробиома 16С-рРНК секвенирования. Но первые шаги делаются: например, Лигор и др. разработали метод прямого Headspace-GC-MS анализа мазков, позволяющий различить грамположительные и грамотрицательные бактерии по уникальным метаболитам [10]. В 2022 г. Chiriac et al. описали подход дифференциации *Gram*⁺ vs *Gram*⁻ штаммов по летучим метаболитам в культуральном бульоне с помощью двухмерной ГХ-МС [10]. Такие разработки приближают время, когда выдох пациента можно будет использовать для оценки *сдвигов микробиоты* (например, в носоглотке при дисбиозе, хронич. тонзиллите и т.п.) – причём не инвазивно, а через анализ ЛОС, ассоциированных с определёнными бактериями.

Хроническое воспаление ВДП: При длительных воспалительных процессах, даже без острых инфекций, метаболизм слизистой меняется – в выдохе начинают попадать продукты окислительного стресса, цитокин-индуцированных путей и др. Пример – хронический риносинусит (ХРС). У пациентов с ХРС обнаружено повышенное выделение с выдохом ряда альдегидов (например, наонадиеналь) и в то же время снижение некоторых спиртов по сравнению со здоровыми [10]. Предполагается, что это связано с персистирующей иммунной реакцией и ремоделированием слизистой. В принципе, «дыхательный отпечаток» мог бы использоваться для неинвазивного мониторинга эффективности терапии ХРС – например, снижается ли уровень маркеров воспаления после курса кортикостероидного спрея. Аналогично, бронхиальная астма – системное воспаление дыхательных путей – изучалась на предмет ЛОС: помимо FeNO, у астматиков находят повышенные углеводороды (пропан, пентан) как маркеры оксидативной деградации липидов [10]. Также описаны изменения кетоновых тел в выдохе у астмы неконтролируемой против контролируемой [10]. Это открывает возможность объективной оценки степени воспаления и гиперреактивности дыхательных путей по комплексу летучих маркеров – своего рода «метаболический ФВД». Одно исследование (Brinkman et al. 2017) показало, что профиль 15 ЛОС в выдохе отличается у астматиков в период обострения и в период ремиссии, причём эти изменения предшествуют клиническому ухудшению [1]. Таким образом, мониторинг хронических заболеваний дыхательных путей – ещё одна ниша для ГХ-МС дыхательного анализа.

Муковисцидоз (МВ) – наследственная болезнь, характеризующаяся хронической инфекцией дыхательных путей и дисбалансом микрофлоры – особенно интересен для дыхательной диагностики. У больных МВ часто колонизируются *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Burkholderia cepacia* и др. Стандартно мониторинг включает периодическое взятие мокроты или бронхоальвеолярного лаважа. Дыхательный анализ может предоставить непрямо ин-

дикатор смены возбудителя. Показано, что появление *P. aeruginosa* в лёгких пациентов МВ сопровождается возникновением в выдохе специфического «виноградного» запаха – это подтверждено ГХ-МС обнаружением 2-аминоацетофенона [10]. Кроме того, при обострении инфекционного процесса в выдохе МВ повышаются метантиол и некоторые короткие кетоны [3]. В 2024 г. Seidl et al. сообщили, что с помощью электронного носа SpiroNose удалось обнаружить эрадикацию *S. aureus* из лёгких детей с МВ по изменению сигнала 3 датчиков носа [15]. То есть, когда курс антибиотиков устранил золотистый стафилококк, дыхательный профиль заметно поменялся – фактически, е-нос «уловил», что одного из прежних возбудителей больше нет [15]. Такой неинвазивный подход крайне ценен, так как у детей МВ сбор мокроты затруднён. В целом, летучий метаболом при МВ отражает баланс инфекции: преобладание анаэробов даёт больше летучих кислот, преобладание грамотрицательных – характерные альдегиды, и т.д. Уже есть успешные пилотные примеры применения ГХ-МС для ранней диагностики обострений МВ (так называемых острых эпизодов инфекционного обострения) – по изменению концентрации определённых ЛОС за несколько дней до появления клиники [16]. С учётом всего, дыхательный анализ может стать неотъемлемой частью ведения пациентов с хроническими болезнями ВДП: регулярный безболезненный забор информации о состоянии микробиома и воспаления.

Подводя итог, ГХ-МС метаболомика выдоха обеспечивает окно в состояние микробиоты и иммунного баланса дыхательных путей. Это перспективно для персонализированного подхода: например, решать вопрос о продлении антибиотикопрофилактики при МВ исходя из «дыхательного следа» патогена, или отслеживать достаточность контроля астмы по исчезновению маркеров оксидативного стресса. Конечно, эти приложения требуют ещё исследований и создания баз нормативных значений ЛОС. Тем не менее, движение в этом направлении идёт: появляются базы данных вроде Human Breathomics Database, где аккумулируется информация о ЛОС при разных патологиях [1]. В будущем интеграция таких данных с другими «омикомикой» (геномикой, микробиомикой) поможет лучше понять взаимодействие хозяина и микробов и разработать надёжные дыхательные маркеры хронических состояний.

Оценка эффективности терапии по дыхательным ЛОС

Если заболевание уже диагностировано и лечение начато, выдыхаемый метаболом может служить индикатором того, насколько хорошо пациент отвечает на терапию. Изменения концентраций определённых ЛОС в динамике могут указывать на снижение бактериальной нагрузки, угасание воспаления или, напротив, неэффективность лечения.

Антибиотикотерапия инфекций ВДП: В процессе антибактериального лечения, по мере эрадикации возбудителя, ожидается исчезновение или снижение тех ЛОС, которые ассоциированы с данным микробом. Свежий пример – уже упомянутый случай со *Staphylococcus aureus* у детей с муковисцидозом. Электронный нос SpiroNose зарегистрировал значимые изменения сигналов в дыхании у 19 детей, у которых после курса антибиотиков стафилококк был полностью устранён из посевов [15]. При этом у детей, у которых стафилококк сохранялся, дыхательный профиль не изменился

[15]. Иными словами, по данным e-носа можно было понять, у кого *S. aureus* «очистился» из лёгких – ещё до результатов контрольных культур. Подтверждение этому находят и в ГХ–МС анализах: например, в дыхании больных МВ после успешного курса терапии уровень 2-аминоацетофенона существенно снижается (гибнет *Pseudomonas* – пропадает метаболит) [10]. Некоторые работы отмечали, что снижение продуктов нитросоединений и альдегидов коррелирует с клиническим улучшением пневмонии на антибиотиках [3]. Практически, это означает возможность мониторинга эффективности антибиотика без инвазивных процедур. Например, пациент с пневмонией дышит в прибор ежедневно, и врач видит, что на 3-й день профиль ЛОС стал заметно ближе к норме – значит, лечение верно и инфекция подавляется. Если же картина выдоха не меняется, стоит задуматься о смене антибиотика (вероятно, патоген резистент или диагноз неверен). Такая стратегия может ускорить корректировку терапии и улучшить исходы. Конечно, пока она экспериментальна, но предпосылки есть. В *Европейском респираторном журнале* (Kramer et al., 2015) описан «быстрый дыхательный тест» у пациентов с муковисцидозом: в течение 10 минут собирали выдох на масс-спектрометр и мгновенно определяли наличие маркера 2-метилбутанала, что позволяло почти в реальном времени судить, подавлена ли *P. aeruginosa* после ингаляций тобрамицином [3].

Противовоспалительная терапия: В неинфекционных случаях, например астма, ХОБЛ, эффективность противовоспалительных препаратов тоже может находить отражение в дыхательном метаболоме. Известно, что при хорошем контроле астмы (на фоне ингаляционных стероидов) снижается уровень ряда продуктов перекисного окисления липидов в выдохе – таких как пентан и этан [1]. Одновременно снижается содержание окиси азота (FeNO) как маркера эозинофильного воспаления. Если дыхательный профиль показывает устойчиво низкие воспалительные ЛОС, можно уверенно говорить об эффективности терапии и ремиссии. Напротив, рост концентрации, скажем, альдегидов, может сигнализировать о надвигающемся обострении, требующем усиления лечения [1]. Таким образом, дыхательная метаболомика может служить непрямым биохимическим контролем терапии.

Онкологические аспекты: В контексте ВДП отметим также, что некоторые ЛОС рассматриваются как маркеры ответа на терапию опухолей (например, при химиотерапии рака носоглотки меняется профиль выдоха). Однако это выходит за рамки данного обзора, сфокусированного на инфекционно-воспалительных заболеваниях.

Конечно, широкое применение мониторинга по выдоху требует накопления статистики: как именно меняется концентрация того или иного ЛОС при успешном излечении vs при неудаче. Уже предпринимаются попытки построить прогностические модели. Так, восприятие запаха выдоха использовалось врачами столетиями («кризис миновал – запах улучшился»). Теперь ГХ–МС позволяет это количественно оценить. Например, в 2021 г. опубликована модель, прогнозирующая исход пневмонии по динамике 5 соединений (изопрен, диметилсульфид, бензальдегид и др.) – изменение их концентраций в первые трое суток лечения оказалось связано с длительностью госпитализации [13]. Такие данные пока предварительны, но весьма обнадеживают в плане будущей персонализации терапии: если

«дыхательный паспорт» пациента указывает на отсутствие метаболического улучшения, можно агрессивнее менять тактику.

В целом, применение ГХ–МС не ограничивается постановкой диагноза – оно охватывает и дальнейшее ведение пациента. Неинвазивность и повторяемость метода означают, что мониторинг может быть частым, вплоть до ежедневного, без вреда и неудобств. Это особенно ценно для детей, пожилых и тяжёлых больных, где лишние инвазивные процедуры рискованны. Хотя пока дыхательная оценка терапии остаётся предметом исследований, можно ожидать, что в будущем она войдёт в протоколы – например, у пациентов с МВ: ежемесячный ГХ–МС анализ выдоха на наличие индикаторов *Pseudomonas* и *Staphylococcus*, у астматиков – контроль раз в полгода профиля ЛОС как дополнение к спирометрии и FeNO, у больных после пневмонии – убедиться в полной санации. Всё это вписывается в концепцию прецизионной медицины, где лечение настраивается по индивидуальным биомаркерам, в том числе летучим.

Факторы вариативности дыхательного метаболома и их контроль

Состав выдыхаемых ЛОС может существенно варьировать не только от болезни к болезни, но и под влиянием множества *внешних и внутренних факторов*. Питание, образ жизни, возраст, пол, наличие сопутствующих состояний – всё это влияет на дыхательный «фон» и может маскировать или имитировать патологические изменения. В исследованиях дыхательных биомаркеров эти конфузоры необходимо учитывать, а в клинической практике – стараться контролировать, чтобы тесты оставались точными. Рассмотрим основные факторы и подходы к их нивелированию.

Диета и питание: один из самых известных факторов – пища. После употребления чеснока в выдохе на часы появляется аллилметилсульфид, после алкоголя – пары этанола и его метаболитов, при низкоуглеводной диете повышается уровень кетонов (ацетон, ацетоин) [1]. Даже суточные колебания (утром натошак vs после еды) могут влиять: так, ацетон обычно выше утром из-за ночного голодания. Чтобы минимизировать влияние диеты, обычно просят испытуемых натошак или спустя ≥ 4 часа после приёма пищи сдавать дыхание [1]. Также рекомендуют исключить в предшествующие сутки продукты с резкими ароматическими веществами (лук, чеснок, специи) и алкоголь. В клиническом применении дыхательных тестов, вероятно, будут вводиться стандарты подготовки пациента – аналогично тому, как перед биохимическим анализом крови нужно голодать. Например, перед дыхательным тестом на инфекцию может быть инструкция: не есть 8 часов, не курить 2 часа, не пользоваться парфюмом в день теста и т.д. [1, 24].

Возраст, пол: Установлено, что базовый метаболический профиль выдоха меняется с возрастом. У детей, например, часто выше уровни изопрена (связан с холестеринным обменом) и некоторых терпенов [1, 25]. У пожилых повышается выход летучих продуктов окисления липидов – возможно, из-за накопления окислительного стресса и хронических заболеваний [1, 26]. Пол тоже вносит вклад: сообщалось, что у мужчин чуть более высок уровень кетонов и некоторых углеводородов, что связывают с большими мышечными мас-

сами и уровнем гормонов [1]. В исследованиях эти факторы учитывают статистически (например, подбирают сопоставимые по полу и возрасту группы контроля и больных, или проводят стратификацию данных) [1]. В клинике же возможно придётся создавать возрастные/гендерные нормы для дыхательных тестов – аналогично референсным интервалам в анализах крови. Это достаточно решаемо: например, нормальный диапазон этанола в выдохе новорождённого иной, чем у взрослого, и это будет заложено в алгоритм.

Курение, окружающая среда: Курение табака и вдыхание загрязнённого воздуха могут привносить в выдох посторонние ЛОС. У курильщиков стабильно обнаруживается ацетонитрил – маркер сигаретного дыма, который держится в лёгких часами [1]. Также повышены моноокись углерода, бензол и 2,5-диметилфуран (все – компоненты дыма). Поэтому обычно курильщиков либо исключают из исследований, либо анализируют отдельно. Если же планируется диагностировать, скажем, инфекцию у курильщика, нужно понимать, что его «фон» выдоха иной. В идеале, пациентов будут просить воздержаться от курения хотя бы 2–3 часа перед дыхательным тестом (или использовать коррекционные коэффициенты по котинину). Загрязнённый воздух: наличие ЛОС в окружающей среде (например, человек работает с растворителями – в выдохе будут их пары, или живёт у шоссе – в выдохе обнаруживается толуол, бензол) [1]. Для этого в протоколах предусматривают контроль фона: параллельно с забором выдоха собирают пробу комнатного воздуха и измеряют те же соединения [1]. Затем вычитают фоновый уровень, чтобы отделить эндогенные ЛОС от внешних. В клиническом контексте возможно придётся стандартизовать помещение для теста (чистая комната без запахов). В противном случае могут быть ложноположительные находки (например, пациент приходит на тест, пахнущий бензином – прибор «подумал» у него в крови растворитель, а это просто брызги бензина на одежде). Поэтому контроль окружающей среды обязателен [1, 24].

Сопутствующие заболевания и физиология: Влияние системных факторов тоже велико. Например, сахарный диабет существенно повышает базовый уровень ацетона в выдохе из-за кетоацидоза. Заболевания печени – повышают диметилсульфид (он же обуславливает «печёночный запах» при циррозе) [1, 27]. Почки – при почечной недостаточности растёт выдох аммиака и амины (запах мочевины) [1]. То есть, человек с сопутствующей патологией может иметь «аномальный» дыхательный метаболит не из-за инфекции ВДП, а из-за другого состояния. Это следует учитывать: вероятно, в будущем будет необходимость в персональной калибровке под пациента. Например, если у больного диабет, его порог ацетона для определения бактериальной инфекции должен быть выше. В научных работах обычно подбирают контроль с аналогичной распространённостью сопутствующих болезней, либо в аналитической модели учитывают их как ковариаты [1]. В клинике же – хорошо бы получить информацию об основных влияющих факторах (гликемия, функция печени, БМИ и пр.) и либо заранее коррелировать её с дыхательным тестом, либо использовать комбинированный индикатор. Также физиологические состояния: беременность (меняет гормоны и метаболизм – влияет

на ЛОС), физическая нагрузка (увеличивает выделение кетонов и лактата), стресс (может повышать изопреноиды). В идеале, стандартизация условий сбора решает часть проблем: тест проводят в покое, в одно и то же время суток. Остальные факторы нивелируются статистически или программно (в алгоритме анализа выдоха вшиты поправочные коэффициенты на данные, например, пульса, или уровня глюкозы).

В целом, дыхательные биомаркеры требуют тщательного учета контекстных факторов, больше, чем многие традиционные тесты – ведь выдыхаемый воздух связан с множеством систем организма и внешней средой. Как пишут в обзорах, «*результаты исследований следует интерпретировать с осторожностью, учитывая вариабельность происхождения ЛОС*» [1]. Тем не менее, уже предпринимаются усилия к созданию больших референсных баз данных выдоха у здоровых с разбивкой по полу/возрасту/курению – например, Европейский проект TUEV (Threats in exhaled air) и упомянутый HBDB (Human Breathomics DB) аккумулируют такие сведения [1]. В итоге можно будет математически вычитать «персональный фон» из дыхательного сигнала, выделяя чисто патологический компонент. Некоторые авторы предлагают концепцию динамического контроля: у самого пациента брать эталон в здоровом состоянии и потом смотреть отклонения. Такой подход снял бы влияние межиндивидуальных различий, но требует длительного мониторинга.

Практические меры контроля факторов вариабельности при дыхательных тестах, которые уже сейчас рекомендуются исследователями [1] :

Стандартная подготовка пациента (голодание $\geq 4-6$ ч, исключение определённой пищи и курения в преддверии теста).

Отбор пробы в определённое время суток (обычно утром натощак).

Контрольный забор проб воздуха помещения.

Учёт в анкете пациента факторов: что ел, курил ли, принимает ли медикаменты (некоторые лекарства сами могут метаболизироваться в летучие вещества).

Применение алгоритмов очистки данных: исключение известных экзогенных ЛОС, нормализация по дыхательному CO_2 (для учёта объёма альвеолярного воздуха).

Большие выборки, чтобы «усреднить» индивидуальную вариабельность – метаанализы уже показывают, что объединённые данные более устойчивы [3].

Таким образом, хотя разнообразные факторы способны влиять на дыхательный метаболит, они вполне поддаются контролю и учёту. Современные исследования стремятся проводить дыхательную диагностику в условиях, минимизирующих шум (например, пациент перед сбором выдоха посидел 5 минут спокойно, прополоскал рот дистиллированной водой – чтобы убрать остатки еды и микрофлоры полости рта – и только потом дышит в прибор). В результате повышается надёжность измерений. По мере накопления знаний о влиянии тех или иных переменных будут вырабатываться стандарты, подобно тому, как в клинической лабораторной диагностике есть стандарты натощак/в покое. Всё это критически важно, иначе риск ложных результатов высок: например, съев карри, пациент может «симулировать» инфекционный профиль из-за пряностей – и без поправок можно ошибиться. Учитывая растущий интерес и междисциплинарные усилия (в исслед-

дования дыхания вовлечены не только врачи, но и химики, биоинформатики), можно ожидать, что проблема вариабельности будет во многом решена, открыв путь к надёжным дыхательным биомаркерам.

Сравнение ГХ–МС с ионной мобильностью и электронными носами

Метод ГХ–МС, несмотря на все достоинства, – не единственный инструмент анализа летучих метаболитов. В области «дыхательной диагностики» активно развиваются также технологии на основе ионной мо-

бильности (IMS) и различные типы электронных носов (е-носов). Эти подходы различаются по принципам, возможностям и применимости. Ниже представлено сравнение основных характеристик ГХ–МС, IMS и е-носов, релевантных для задач обнаружения ЛОС при заболеваниях ВДП.

Таблица 1 обобщает ключевые параметры: чувствительность, специфичность (способность идентифицировать вещества), время анализа, требования к прибору и персоналу, а также типичные области применения.

Таблица 1.

Сравнение ГХ–МС с ионной мобильностью и электронными носами

Параметр	ГХ–МС (газовая хроматография–МС)	Ионная мобильность (IMS/GC–IMS)	Электронный нос (массивный сенсорный)
Чувствительность	Очень высокая: обнаружение на уровне ppb–ppt [1]. Концентрация ЛОС обогащается (пробы объёмные, предконцентрация); HR-MS может фиксировать даже следы	Высокая: современные GC–IMS детектируют до низких ppb. IMS без пре-концентрации обычно ~ppb. Оптимально чувствителен к определённым классам (кетоны, амины) [2]	Средняя: зависит от типа датчиков. Металлооксидные сенсоры – ppm уровень, полимерные – десятки ppb. Улучшенные е-носы (nanomaterial) достигают <ppb для некоторых газов, но не для всех [1]
Специфичность / идентификация	Очень высокая: метод разделяет смесь и распознаёт отдельные соединения по масс-спектрам [1]. Позволяет выявлять конкретные биомаркеры и новые вещества	Умеренная: IMS разделяет по дрейфовому времени, но разные вещества могут перекрываться. GC–IMS улучшает разделение, но идентификация ограничена известными дрейф-данными. Часто IMS используется как «отпечаток» – без названия конкретных ЛОС [2]	Низкая: е-нос не распознаёт отдельные соединения, а реагирует на суммарный запах. Выход – многомерный сигнал сенсорной матрицы, требующий обучения. Не говорит, какие именно ЛОС присутствуют [1]
Время анализа	Сравнительно долгое: типичный цикл 20–60 мин (включая хроматографическое разделение) [1]. Быстрее (5–10 мин) при упрощённых методах или с быстрыми колонками, но не real-time	Быстрое: IMS измеряет за секунды-минуты. При прямом вводе дыхания ответ почти мгновенный (on-line IMS) [2]. GC–IMS – около 5–15 мин (быстрее ГХ–МС, т.к. небольшая колонка). IMS подходит для экспресс-скрининга	Мгновенное или несколько минут: е-носы дают ответ в реальном времени или после краткого накопления. Например, SpiroNose – результат <1 мин. Отлично подходят для оперативного контроля (point-of-care, у постели больного)
Аппаратура и портативность	Стационарный лабораторный прибор. Масс-спектрометр – дорогостоящий, громоздкий (десятки кг). Требуется газ-носитель, вакуум. Имеются переносные ГХ–МС, но с ограниченной функциональностью. В целом низкая портативность [1]	IMS приборы могут быть очень компактными (есть портативные и полупортативные GC–IMS системы размером с чемодан). IMS не требует вакуума, небольшое потребление энергии [2]. Разработаны мобильные IMS для полевых условий (напр., InspectIR COVID-19 – размером с ручную кладь) [17]	Наиболее портативны: электронные носы бывают карманными, батарейными. Конструкция простая (датчики + микроконтроллер). Можно интегрировать в мобильные пункты, использовать как индивидуальные мониторы. Высокая полевая применимость
Стоимость и сложность	Очень высокая стоимость: комплекс ГХ–МС \$100–300 тыс. + обслуживание. Требуется высококвалифицированных специалистов (химиков-аналитиков) для обслуживания и интерпретации данных [1]. Анализ данных тоже сложен (многокомпонентные спектры)	Стоимость умеренная: портативный GC–IMS оценивается в ~\$50 тыс. Эксплуатация относительно проста, но тоже требует обучения. Интерпретация результатов (дрейфогаммы) менее наглядна, чем ГХ–МС: обычно нужны предобученные алгоритмы	Низкая стоимость: е-носы от нескольких тысяч до десятков тыс. \$, в зависимости от сенсоров. Просты в использовании – не требуют специального образования (прибор сам выдаёт классификацию). Однако необходима периодическая калибровка и замена датчиков
Применимость в клинике	Исследовательский стандарт, но ограниченно – клинический рутинный скрининг затруднён (долго и дорого). Оптимален для обнаружения новых биомаркеров, подробного анализа состава ЛОС [1]. В клинике – скорее как центральная лаборатория (образцы собираются и отправляются)	Оперативная диагностика и скрининг: IMS подходит для быстрой проверки на конкретное состояние (напр., экспресс-тест на COVID). Уже применяется: InspectIR (GC–IMS) для COVID получил EUA [4]. Может использоваться на местах – в приёмных, аэропортах и пр., где важна скорость	Point-of-care и мониторинг: е-носы идеальны для массового быстрого скрининга (минутный тест в поликлинике). Используются, напр., SpiroNose для сортировки пациентов с респираторными симптомами. Также удобны для длительного индивидуального мониторинга дома (если понадобится частое отслеживание заболевания по выдоху)
Достоинства	– Высочайшая информативность: выявляет конкретные молекулы, открывает новые маркеры – Универсальность: покрывает широкий диапазон ЛОС по массам, полярности – Точность и воспроизводимость при правильной калибровке [1] – Большая библиотека накопленных данных и существующего опыта	– Быстродействие и мобильность: идеальны для экспресс-диагностики на выезде или в точке ухода – Высокая чувствительность к ряду целевых веществ (IMS особенно чувствительна к кетонам, нитро-соединениям и пр.) – Может работать в режиме онлайн (дыхание проходит через прибор непрерывно) [2]	– Простота и скорость: минимальная подготовка, мгновенный результат.– Низкая стоимость владения, возможность широкого распределения по клиникам – Распознавание комплексных запахов: е-нос обучается на целый паттерн, что учитывает совокупный эффект многих ЛОС (полезно, если каждый отдельный не специфичен, а вместе дают «отпечаток»)

Параметр	ГХ–МС (газовая хроматография–МС)	Ионная мобильность (IMS/GC–IMS)	Электронный нос (массивный сенсорный)
Ограничения	<ul style="list-style-type: none"> – Неоперативность: не подходит для моментального скрининга больших потоков (требует времени на анализ). – Стационарность: мало пригоден для полевого использования, домашнего мониторинга. – Сложность обработки большого массива данных – нужны специалисты и вычислительные ресурсы 	<ul style="list-style-type: none"> – Ограниченная селективность: разные вещества могут иметь сходное время дрейфа, возможны ложные срабатывания без ГХ-связки. – Обычно требует обученной модели для интерпретации (паттерн дрейфогаммы), т.е. сам по себе IMS-спектр не всегда явно указывает диагноз – нужно машинное обучение аналогично е-носу [2]. – Некоторые IMS-системы уязвимы к влажности и др. параметрам дыхания, требуют осушения пробы 	<ul style="list-style-type: none"> – Отсутствие информации о конкретных маркерах: е-нос – “чёрный ящик”, выдающий лишь классификацию (напр., “есть болезнь / нет болезни”), без понимания, какие ЛОС ответственные. – Необходимость обучения на больших выборках для надёжной работы, риск переобучения под шум. – Дрейф и старение датчиков: сенсоры могут со временем меняться, требуя рекалибровки; чувствительны к сильным загрязняющим запахам, которые могут “забить” сенсор

Итого: ГХ–МС остаётся незаменимым инструментом для подробного исследования дыхательных метаболитов и подтверждения специфических биомаркеров (в силу высокой чувствительности и способности идентификации) [1]. Однако для повседневной клинической диагностики заболеваний ВДП, где важны быстрота и простота, более применимы портативные технологии. IMS-спектрометры и электронные носы можно рассматривать как комплементарные ГХ–МС: первые – как «быстрые носы с цифрами», вторые – как «искусственные нюхатели» с мгновенной реакцией. В идеале, развитие пойдёт по пути интеграции: когда результаты е-носов и IMS будут калиброваться и проверяться эталонным ГХ–МС (например, сначала ГХ–МС выявляет набор ключевых ЛОС, а затем е-нос настраивается распознавать их сочетание) [2]. Таким образом, каждая технология займёт свою нишу: ГХ–МС – референсные лаборатории и научные центры, IMS – большие экспресс-лаборатории и пункты контроля, электронные носы – кабинеты врачей общей практики и домашний мониторинг. Их сравнительные характеристики, сведённые в таблицу 1, помогают понять, какое решение лучше подходит для конкретной задачи дыхательной диагностики.

Статус клинического внедрения дыхательных анализов ГХ–МС

На 2025 год дыхательная диагностика заболеваний ВДП находится на переходе от лабораторных исследований к первым клиническим применениям. Некоторые дыхательные тесты уже интегрированы в практику, но они в основном несвязаны с ГХ–МС (FeNO, уреазный тест на *H. pylori* и т.д.) [1]. Что касается ГХ–МС анализа ЛОС, то его прямое использование в клинике пока ограничено отсутствием коммерческих протоколов и сложностью прибора. Вместо этого клиническая реализация идёт через более простые технологии, основанные на результатах ГХ–МС исследований – такие как IMS и е-носы, обсужденные в разделе 6. Тем не менее, понимание статуса внедрения подразумевает рассмотрение: (а) существующих прототипов дыхательных тестов для ВДП, (б) примеров клинических испытаний и пилотных проектов, (с) текущих ограничений и пробелов, препятствующих широкому внедрению.

Существующие протоколы и устройства: Первый официально одобренный дыхательный тест, связанный с ЛОС, – InspectIR COVID-19 Breathalyzer, получивший EUA от FDA в 2022 г. [17]. Он основан на портативной газовой хроматографии с детектором ионной мобильности и идентифицирует пять целевых ЛОС, ассоциированных с COVID-19 (в основном

кетоны и альдегиды). Тест выполняется обученным оператором, занимает ~3 минуты и выдаёт результат “положительно/отрицательно” [4]. Это пример, как из исследований (в которых ГХ–МС выявил специфические сочетания веществ) родился практически применимый прибор. Другой пример – SpiroNose, разработанный голландской фирмой Breathomix. Это многодатчиковый электронный нос, подключаемый к облачной платформе, уже использовавшийся для скрининга COVID-19 в Нидерландах. Он показал достаточную надёжность в исключении коронавирусной инфекции (при отрицательном дыхательном тесте не требовался ПЦР). Однако при положительном е-нос сигнале всё ещё нужна была верификация классическим методом. Тем не менее, голландские власти закупили ~1800 таких устройств для внедрения на тестовых площадках – то есть фактически одобрили их к клиническому применению. В отношении других заболеваний ВДП, клинически доступных дыхательных тестов пока нет. Но ведутся испытания: например, в Великобритании в 2018–2020 гг. проходило испытание е-носа для различения бактериальной и небактериальной пневмонии в стационаре (проекты EMBER и BREATHE входили в программы NIHR). Эти устройства ещё не оформились в коммерческие продукты, но первые отчёты публиковались с многообещающими результатами (точность ~80–85%). Также имеется прототип дыхательного теста на туберкулёз – это электронный нос *BreatheSpec*, испытывавшийся в Африке как скрининговый инструмент (результат за 10 минут, не хуже экспресс-теста на антиген ТВ) [5].

Примеры клинического применения: Помимо COVID-19 скрининга, можно отметить использование дыхательного анализа для мониторинга хронических заболеваний. В 2021 г. в Торонто (Канада) начал пилотный проект по мониторингу муковисцидоза с помощью SpiroNose: дети приходят на плановый приём и, кроме традиционных тестов, сдают дыхательный отпечаток, чтобы выявить ранние признаки инфекции [15]. Результаты (см. раздел 4.3) показали, что е-нос может отметить клиренс *S. aureus*. Пока это не является стандартом, но уже используется как дополнительная исследовательская опция. В Нидерландах же SpiroNose, изначально внедрённый для COVID, стали испытывать и для других диагнозов – например, различение астмы, ХОБЛ и здоровых по выдоху: в крупной больнице Амстердама он стоит в отделении лёгочных болезней и собирает данные с десятков пациентов, помогая в дифференциальной диагностике сложных случаев (по заявлениям разработчиков, точность отличить астму от ХОБЛ >90%). То есть,

постепенно дыхательный анализ проникает в клинический процесс, но пока больше в рамках исследований и сбора данных для будущих методик.

Ограничения и пробелы: Несмотря на успехи, остаются значительные барьеры к широкому внедрению. Во-первых, стандартизация. Разные центры применяют различные протоколы сбора дыхания, разные приборы и алгоритмы анализа, что затрудняет согласование результатов [18]. В 2020 г. European Respiratory Society создала рабочую группу по стандартизации методов дыхательного анализа, но пока унифицированных руководств нет. Нет и официально утверждённых нормативов – что считать положительным тестом. В случае InspectIR, FDA базировалось на одном крупном исследовании с ~2400 участниками, после чего определило порог алгоритма прибора, при котором достигались заявленные 91% чувствительности и 99% специфичности [4]. Для других заболеваний таких масштабных валидаций ещё не выполнено. Во-вторых, регуляторные сложности. Медицинские приборы должны пройти сертификацию, а новые диагностические тесты – доказать клиническую ценность. Это требует крупных многоцентровых исследований. Пока что большие инвестиции шли в COVID (по понятным причинам), а, например, дыхательный тест на ангину не имел такого финансирования. В-третьих, обучение персонала и восприятие врачами. Врачам требуется понять и принять новые технологии. Исторически, аналогичные ситуации были с тем же урезанным дыхательным тестом на *H. pylori*: сперва недоверие, затем после накопления доказательств – широкое принятие (сейчас это рутинная гастроэнтерология). Для дыхательных тестов ВДП нужен путь доказательной медицины: рандомизированные испытания, показывающие, что, скажем, использование дыхательного e-носа снижает ненужное назначение антибиотиков на столько-то процентов и улучшает исходы.

Текущие пробелы знаний: Не до конца выяснен механизм образования многих дыхательных маркеров при болезнях – затрудняет их специфическую интерпретацию. Например, повышенный изопрен при инфекции: от чего именно он растёт – от лихорадки, гипервентиляции или от действия цитокинов? [1]. Требуются фундаментальные исследования, связывающие метаболизм выдоха с биохимическими путями в организме. Также, пока мало данных о долговременной стабильности маркеров – например, не ясно, должен ли пациент служить своим собственным контролем (т.е. отслеживать отклонения от индивидуальной базы) или можно полагаться на универсальные пороги. Решение этой проблемы повлияет на формат внедрения: либо приборы будут настроены на выявление отклонений у конкретного пациента (требуя предварительной калибровки на нём), либо будут использовать общепопуляционные нормативы. Вероятно, будет нечто среднее: ряд абсолютных критериев плюс учёт индивидуальных характеристик.

Интеграция с клиническим процессом: Прямо сейчас, дыхательный анализ, если и проводится, то как дополнительный тест, результаты которого рассматриваются вкуче с традиционными (ПЦР, посевы, анализы крови). Например, если e-нос указывает на бактериальную инфекцию, врач всё равно может подтвердить это экспресс-тестом. С ростом доверия технология сможет переходить в первичную диагностику (как сейчас те же экспресс-тесты на стрептококк: сначала их перепро-

веряли посевом, а сейчас положительный экспресс у симптомного пациента уже достаточен).

Ниша клинического применения: Вероятнее всего, дыхательные тесты найдут место в *скрининге и сортировке*. Например, в период сезонных вспышек ОРВИ в поликлинике e-нос будет сразу сигнализировать, кому нужна, а кому не нужна антибиотикотерапия (экономия времени и предотвращая неправильно лечение). В больницах – при поступлении пациента с лихорадкой дыхательный анализ поможет быстро предположить COVID, грипп или бактерии, ещё до результатов лаборатории, что важно для мер изоляции и ранней терапии.

Коммерческие разработки: Помимо Breathomix (Нидерланды) и команды InspectIR (США), известны стартапы Owlstone Medical (Великобритания) – они создали систему Breath Biopsy с *FAIMS* (вариант IMS) и проводят клинические испытания по астме и раку легкого [19]. Их устройство ReCIVA пока исследовательское, но Owlstone активно публикуется по дыхательным маркерам и планирует вывести диагностический набор. В Израиле компания Nanose Medical работала над e-носом для *H. pylori*, а сейчас переключилась на COVID – их сенсорная платформа получила CE mark для ковид-скрининга. В Китае ряд университетских групп совместно с компаниями разрабатывают переносные GX–МС для детекции пневмонии (в 2024 опубликован мета-анализ, упомянутый ранее, китайскими авторами, который может подтолкнуть регуляторов Китая к утверждению национального стандарта дыхательного теста для пневмонии) [20].

Ограничения GX–МС непосредственно: Как говорилось, сам по себе GX–МС громоздок для установки в каждой клинике. Скорее, он останется в референс-лабораториях (например, при крупных медцентрах или исследовательских институтах), куда при необходимости будут отправлять сложные образцы для детального анализа. В клинике же будут применяться адаптированные *приборы* – мини-GX–МС, IMS, e-носы. Эту ситуацию можно сравнить с геномикой: есть сложные секвенаторы в лаборатории, а на практике используют экспресс-ПЦР тесты. Так и тут: GX–МС – «секвенатор запахов», IMS/e-nose – «ПЦР-скрининг по запаху».

Пробелы и будущее: Для полного внедрения не хватает крупных валидирующих исследований и, что важно, *экономического обоснования*. Нужно показать, что внедрение дыхательного теста экономически выгодно: например, сокращает ненужные антибиотики на X%, уменьшает длительность госпитализации, снижает стоимость диагностики (потому что один дыхательный тест заменил несколько анализов). Некоторые модели уже просчитываются. Например, подсчитано, что быстрый дыхательный тест на COVID-19 на входе в аэропорту экономит до 0,5 млрд долларов на каждые 10 млн пассажиров за счёт сокращения задержек и карантинных – эти цифры убедили некоторые авиалинии инвестировать в дыхательные приборы. Аналогично, если доказать, что e-нос при ангине экономит десятки тысяч тест-полосок на стрептококк ежегодно, больницы заинтересуются.

В итоге, клиническое внедрение дыхательных методов движется поступательно. Сегодня это индивидуальные проекты и начало коммерциализации (COVID-сценарий сильно помог легитимизации идеи). Завтра – ожидается

расширение показаний. Ближайшие кандидаты, судя по активности исследований:

Дифференциальный тест на инфекции дыхательных путей (вирус или бактерия) – возможно уже через 1–2 года появятся сертифицированные в Европе/Азии приборы.

Скрининг туберкулёза – в условиях стран с высокой заболеваемостью дыхательный e-нос мог бы быстро отсеивать подозрительных; ВОЗ следит за прогрессом (был проект In-TIME).

Мониторинг астмы и ХОБЛ – скорее как вспомогательный в комплексе с другими измерениями; здесь нужен консенсус на уровне профсообществ.

Раннее обнаружение рака лёгкого по выдоху – за рамками ВДП, но тоже активно ведётся, и успех там может повышать доверие ко всем дыхательным тестам.

Вывод: Текущий статус – переходный период: от лаборатории к клинике. Отработаны прототипы, продемонстрированы преимущества (неинвазивность, быстрота, частично экономия). Требуется устранить ограничения: обеспечить стандартизацию, масштабировать базы данных, убедить регуляторов. Многие ограничения решаемы в ближайшие годы при продолжении междисциплинарного сотрудничества. Дыхательная диагностика может занять подобающее место как часть комплексной диагностики болезней ВДП, дополняя традиционные методы и даже в некоторых аспектах превосходя их по удобству и скорости.

Преимущества и ограничения метода ГХ–МС

Использование газовой хроматографии–масс-спектрометрии для анализа ЛОС выдыхаемого воздуха имеет ряд сильных сторон, определивших успех метода в научных исследованиях, а также ряд недостатков, ограничивающих его практическое применение и требующих технических решений.

Преимущества ГХ–МС в дыхательной диагностике:

Высокая чувствительность и детектирование множества соединений одновременно. ГХ–МС способна обнаруживать следовые концентрации (до ppt) летучих метаболитов в сложной смеси [1]. Это критично, поскольку многие потенциальные биомаркеры присутствуют в выдохе в крайне малых количествах. Метод позволяет одновременно проанализировать сотни ЛОС без необходимости заранее выбирать целевые – то есть идеален для *скрининга новых маркеров*. Такая ненаправленная стратегия привела к открытию целого ряда индикаторных веществ при различных заболеваниях.

Специфичность и возможность идентификации веществ. В отличие от агрегированных сенсорных методов, ГХ–МС даёт информацию о конкретных соединениях, за счёт разделения по времени удерживания и характеристических масс-фрагментов [1]. Это позволяет не только фиксировать факт различия профилей, но и понимать, какие именно молекулы вызывают различие. Такой фундаментальный подход помогает связывать обнаруженные ЛОС с биохимическими процессами (например, рост 2-метилбутанала – продукт метаболизма бактерий, увеличение гексанала – признак окисления липидов при воспалении). Знание конкретных маркеров позволяет также разработать узконаправленные тест-системы (например, сенсор на конкретный газ или набор газов).

Высокая воспроизводимость (при стандартных условиях). Современные ГХ–МС при должной кали-

бровке и внутреннем стандарте обеспечивают количественную воспроизводимость <10% RSD для целевого ЛОС [8]. Многие исследования демонстрировали, что идентичные методики сбора/анализа выдоха дают сопоставимые результаты в разных лабораториях, если использовать одинаковые настройки прибора и библиотеки. Это создаёт предпосылки для внедрения: можно выработать стандартный протокол ГХ–МС и получать сопоставимые данные глобально.

Широкий охват химических классов. Комбинация неполярных и полярных колонок, использование дериватизации (при необходимости) – всё это позволяет ГХ–МС анализировать как гидрофобные углеводороды, так и полярные кислоты, амины, кетоны. В дыхании представлены очень разные по химическим свойствам молекулы, и универсальность метода – большой плюс [1].

Большой накопленный опыт и инфраструктура. ГХ–МС – зрелая технология, существующая десятки лет. Для неё разработано множество средств обработки данных, коммерческих библиотек спектров (NIST, Wiley) и т.д. Практически в каждом крупном городе есть лаборатория с ГХ–МС. Это означает, что внедрение дыхательного анализа может опираться на уже существующую базу приборов и кадров (в отличие от совершенно новых технологий). Например, лаборатория, сейчас анализирующая летучие примеси в воздухе, может сравнительно легко адаптироваться к анализу выдоха.

Гибкость и модульность. Системы ГХ–МС могут быть настроены под конкретные задачи: можно поставить более быстрый масс-анализатор (квадруполь) для рутинного мониторинга, или высокоразрешающий (TOF, Orbitrap) для исследования неизвестных. Можно добавлять второй хроматографический измеритель (2D GC) для улучшения разделения сложных матриц [10]. Такие возможности делают метод пригодным и для исследовательских целей (поиск новых биомаркеров), и для целевых (мониторинг определённых веществ).

Ограничения и недостатки ГХ–МС:

Дороговизна и техническая сложность. Как отмечалось, ГХ–МС – дорогое лабораторное оборудование, требующее обслуживания и расходников (газ, вакуумное масло, калибровочные смеси) [1]. Не каждый мед-центр может позволить себе держать такой прибор исключительно для дыхательных тестов. К тому же анализ требует участия квалифицированного химика-аналитика. В эпоху, когда клиническая диагностика стремится к автоматизации и удешевлению, это серьёзный барьер.

Длительность анализа, неподходящая для экспресс-диагностики. Типичный цикл ГХ–МС с отдельным вводом пробы занимает десятки минут [1]. Даже с ускоренными протоколами трудно снизить ниже 5–10 мин на образец. Это не сопоставимо, например, с экспресс-тестом на стрептококк (5 минут для результата у *пациента*). Поэтому ГХ–МС не может использоваться прямо у врача во время приёма – скорее, пациент выдыхает в пробоотборник, а анализ проводится позже в лаборатории. Это удлиняет путь диагностики и снижает ценность быстрого результата, что ограничивает применение в острых ситуациях.

Ограниченная портативность и требования к условиям. ГХ–МС нельзя просто перенести или возить – он обычно стационарно установлен. Полноценный масс-спектрометр требователен к окружающей среде (тем-

пература, вибрации). Это исключает его использование в полевых условиях, на дому у пациента и т.п. (за редкими исключениями портативных системы, пока не обладающих полной мощностью лабораторных).

Сложность интерпретации комплексных данных. Результат анализа выдоха ГХ–МС – сложная многопиковая хроматограмма и набор масс-спектров. Для клинициста такая информация не читаема непосредственно. Требуется этап обработки: пик-пикинг, де-конволюция, идентификация, статистический анализ отличий – всё это делается с помощью специализированного ПО (например, MATLAB скрипты, программы типа XCMS, SmileMS и др. для метаболомики) [1]. Это трудоёмко и требует навыков. В реальном времени врач не получит ответа «вещество X повышено в 2 раза». Такие отчёты могут формироваться только по завершении анализа. Хотя в перспективе возможна автоматизация (алгоритм будет сразу сравнивать профиль пациента с контрольной базой и выдавать заключение), на текущий момент такого программного обеспечения для клинического использования не разработано (существует только в виде исследовательских скриптов).

Чувствительность к условиям пробоподготовки. ГХ–МС результаты могут сильно меняться, если сорбция или десорбция проведены иначе, если образец загрязнён внешними примесями и т.д. Как отмечалось, дыхательные ЛОС очень низкоконцентрированы и подвержены потерям и артефактам (например, окислению, адсорбции на стенках). Требуется строго соблюдать протоколы. Даже тогда возможны систематические погрешности: напр., часть соединений плохо восстанавливается после хранения проб или нестабильна при термодесорбции [1]. Некоторые гидрофильные ЛОС могут оставаться в ловушке и не выходить полностью (так, спирты могут теряться). Всё это создает ограничения по набору ЛОС, которые реально можно надёжно измерять ГХ–МС: например, очень летучие (C₂-C₃) и очень полярные кислоты – трудно. Для них нужны специфические предобработки (криоулавливание, дериватизация). В итоге, без специальных мер ГХ–МС может не видеть часть потенциальных маркеров.

Необходимость стандартизации между приборами. Если разные лаборатории используют разные типы колонок или разные библиотеки масс, результаты могут быть несопоставимы [4]. ЛОС-метаболомика пока не имеет единого внутреннего стандарта (как например, в клинической химии принято выражать глюкозу в ммоль/л – здесь нет стандартизованных единиц для многих ЛОС, нет сертифицированных референсных материалов). Это осложняет признание метода: пока каждый исследователь пользуется своим “списком” маркеров, трудно разработать универсальный тест-набор.

Слабая доступность для развивающихся стран. Там, где самая высокая потребность в неинвазивной диагностике (например, диагностика ТБ в сельской местности Африки), ГХ–МС недостижим из-за цены и требования инфраструктуры. Портативные варианты, о которых говорили, могут восполнить, но сами по себе ГХ–МС установками останутся привилегией крупных центров. Значит, непосредственно на местах метод не поможет – нужно транслировать его в более простые устройства.

ГХ–МС предоставляет беспрецедентные возможности для открытия и валидации дыхательных маркеров заболеваний ВДП благодаря своей чувствительности и

аналитической мощи [1]. Этот метод фактически заложил фундамент всей области дыхательной диагностики, позволив научно подтвердить старые клинические наблюдения и выявить множество новых потенциальных индикаторов. Однако непосредственное клиническое использование ГХ–МС ограничено его дороговизной, сложностью и неоперативностью. Поэтому стратегия внедрения состоит в том, чтобы использовать ГХ–МС как референтный метод (эталон, на который калибруются более простые сенсорные подходы) и как научный инструмент (для углубленного понимания патогенеза и поиска новых мишеней), тогда как на передовую линию диагностики выйдут устройства, разработанные на основе знаний, полученных с помощью ГХ–МС (IMS, e-носы и пр.).

Тем не менее, у ГХ–МС есть роль и в клинике – например, в центрах-экспертизах для подтверждения редких состояний (как хромато-масс-спектрометры сейчас используют в токсикологии для уточнения отравлений, так же могут применяться и для сложных диагностических случаев дыхательных болезней). Кроме того, прогресс технологий может постепенно нивелировать некоторые ограничения: уже появляются компактные ГХ–МС с небольшими турбомолекулярными насосами, пригодные для лабораторий ближе к пациенту; вводятся автоматические системы обработки (программное обеспечение на базе AI, которое сможет из массива пиков выдавать «диагноз»). Всё это, вероятно, в будущем сделает ГХ–МС более дружелюбным к практическому врачу.

Таким образом, метод обладает уникальным сочетанием чувствительности и специфичности, но пока не обходится без профессионалов и затрат, что сдерживает его широкое применение непосредственно у постели больного. Устранение этих ограничений – задача дальнейшего развития, и некоторые её решения лежат не только в плоскости техники (миниатюризация, удешевление), но и в плоскости организации здравоохранения (централизация тестирования, обучение кадров, интеграция с другими методами). В любом случае, преимущества ГХ–МС перевешивают недостатки в тех ситуациях, когда требуется максимальная достоверность и информативность, поэтому этот метод останется краеугольным камнем дыхательной диагностики и в будущем.

Перспективы развития и интеграции с другими omics-технологиями

Глядя вперёд, область применения ГХ–МС в дыхательной медицине и анализ летучих маркеров обещает расширяться и углубиться благодаря научно-техническому прогрессу и интеграции с концепцией персонализированной (точной) медицины. Перспективы можно сгруппировать в несколько направлений: (1) технологическое совершенствование методов анализа ЛОС, (2) объединение данных дыхательного метаболома с другими «-омными» данными (геном, протеом, микробиом), (3) разработка персонализированных профилей («метаболомных паспортов») для мониторинга здоровья, (4) внедрение искусственного интеллекта для интерпретации сложных мульти-факторных данных выдоха, (5) новые клинические приложения, выходящие за рамки диагностики, такие как терапевтический мониторинг и скрининг предрасположенности.

Технологическое развитие: Уже сейчас появляются компактные лаборатории-на-чипе для газового анали-

за, встраивающие мини-ГХ колонки и мини-МС детекторы. Ожидается, что в ближайшие годы на рынок выйдут переносные ГХ–МС приборы, способные если не заменить большие системы, то выполнять ограниченный анализ ключевых маркеров. Например, компания Owlstone Medical разрабатывает портативный масс-спектрометрический детектор на основе полевой асимметричной ИМС (FAIMS) для «дыхательной биопсии». Такие устройства позволят объединить чувствительность масс-спектрометрии с удобством портативного скрининга. В перспективе 5–10 лет можно ожидать появление мультисенсорных платформ, где электронный нос, ИМС и ГХ–МС модуль работают совместно: е-нос обеспечивает мгновенный ответ, ГХ–МС – последующий подтверждающий анализ. Такой гибрид мог бы действовать как: пациент дышит, прибор сразу говорит “вероятно стрептококк”, тут же отбирает пробу в микроколону, через 5 мин МС-часть подтверждает присутствие, скажем, изовалериановой кислоты и диметилсульфида, характерных для *S. pyogenes*. Это повысит надёжность диагностики.

В плане пробоподготовки – активно исследуются новые материалы сорбентов (металлоорганические каркасы, наноструктуры), способные более избирательно улавливать целевые классы ЛОС или быть регенерируемыми для многократного использования [1]. Это позволит создавать персональные носимые сборщики дыхания (к примеру, кассета с нанопорами, которую пациент периодически меняет и отправляет на анализ). Также, миниатюризация лазерных спектрометров (как CRDS – спектроскопия поглощения) обещает дополнить ГХ–МС: можно будет параллельно измерять быстрые газовые маркеры типа NO, CO₂, а ГХ–МС – медленные тяжелые ЛОС, объединяя данные в одном отчёте.

Интеграция с другими omics: Персонализированная медицина стремится учитывать комплекс данных о пациенте – генетику, эпигенетику, белковый профиль, микробиоту. Дыхательный метаболом может стать ещё одним уровнем этой пирамиды. Например, если у пациента по геному известно замедление метаболизма лекарств (фармакогеномика), это может отразиться на выдохе (накопленные летучих метаболитов препаратов) – тогда дозу можно корректировать, контролируя дыхание. Уже ведутся исследования по бретомике лекарств: мониторинг концентраций анестетиков, противотуберкулёзных препаратов, других ЛС в выдохе как показатель фармакокинетики [8]. В будущем, интегрировав эти данные с фармакогеномикой, врачи смогут в режиме реального времени подстраивать терапию (например, настройка инфузии анестетика по оперативному измерению выдоха).

Соединение микробиома и летучих метаболитов – перспективнейшее направление. Метагеномное секвенирование выявляет состав и функции микробов, а дыхательный анализ – функциональный отпечаток их присутствия. Связывая одно с другим, можно глубже понять, какие бактерии какие ЛОС производят *in vivo*. Например, сочетание 16S секвенирования мазка из носа и ГХ–МС выдоха может позволить построить модели: “наличие *Moraxella* увеличивает уровень индола в выдохе” или “присутствие анаэробов коррелирует с сероводородом”. Эти знания можно обратно закладывать в диагностические алгоритмы. То есть, дыхательный тест может стать не самостоятельной методикой, а ча-

стью мульти-омного диагностического пакета. Врачи будут оценивать вместе: ПЦР на вирусы, секвенирование на бактерии, дыхательный профиль на метаболиты – и на пересечении этих данных ставить максимально точный диагноз и выбирать таргетную терапию.

Персонализированные профили и мониторинг: В концепции 4P-медицины (предиктивная, профилактическая, персонализированная, партисипативная) дыхательные технологии займут место как неинвазивные предикторы. Возможен подход “baseline & deviation”: когда каждый человек имеет свой базовый «нормальный» метаболом выдоха (с учётом его генов, диеты, образа жизни), зафиксированный в здоровом состоянии, и умные устройства (возможно даже носимые, как фитнес-трекеры) отслеживают отклонения от этой нормы. Например, у индивида А обычно изопрен 100 ppb, пентан 5 ppb. Если начинается вирусная инфекция, изопрен падает (вследствие цитокинового подавления синтеза холестерина), пентан растёт (из-за оксидативного стресса) – прибор улавливает тренд “нетипичный сдвиг”, предупреждает пользователя или врача: «вероятно начало инфекции». Это позволит прогнозировать заболевание до симптомов и принимать меры раннего вмешательства. Такие проекты уже в зародыше: исследование Kamal et al. 2021 показало, что у добровольцев изменения VOC в выдохе при экспериментальном заражении вирусом обнаруживались раньше клинических проявлений [2]. В будущем, интеграция с носимыми датчиками (например, датчики дыхания в масках или мундштуках фитнес-устройств) сделает мониторинг постоянным. В каждом доме может появиться анализатор воздуха, который не только VOC в комнате меряет, но и распознаёт «паттерн кашля и дыхания» домочадцев – если кто-то начинает болеть, устройство уведомит. Это, конечно, футуристично, но технически достижимо при развитии IoT (интернета вещей) и алгоритмов AI.

Искусственный интеллект и большие данные: Уже сейчас методы машинного обучения – неотъемлемая часть анализа дыхательных метаболомных данных [4]. В перспективе роль AI ещё возрастёт. Сложные нейросетевые модели смогут учитывать одновременно VOC, данные электронного медкарты, геномные параметры и выдавать дифференцированные прогнозы. Например, мультимодальный AI, обученный на совмещённых данных (выдох + клиника + геном), будет предсказывать ответ на терапию: “У пациента X с 95% вероятностью антибиотик Y устранит инфекцию, так как профиль ЛОС и ген варианта метил-изопрен-трансферазы соответствуют хорошему метаболизму Y”. Другой аспект AI – открытие новых комбинаций маркеров. Нейросети могут найти неочевидные нелинейные связи между концентрациями десятков ЛОС и наличием определённого заболевания, что человеку трудно подметить. Такие комбинированные биомаркеры (не один метаболит, а соотношения нескольких) уже появляются [7]. AI также позволит адаптировать диагностические алгоритмы под новые условия – например, если появится новый вирус, система, обученная на сходных признаках, возможно, сможет его выделить по дыханию даже без специфической тренировки (transfer learning).

Помимо диагностики инфекций, можно ожидать, что дыхательный анализ найдёт применение в

смежных областях:

Онкология ВДП: раннее выявление рака гортани, носоглотки, лёгкого – по специфическим летучим метаболитам опухолей. ГХ–МС выявило ряд кандидатов (например, 2-нонанон, некоторые сесквитерпены) [10]. Сейчас идут большие исследования, их интеграция с liquid biopsy (поиском мутаций в крови) может дать сверхточные комбинированные скрининги.

Заболевания мозга (нейродегенеративные) проявляются изменениями метаболитов в выдохе – напр., при болезни Паркинсона описаны характерные “мыскусные” запахи, что подтвердила ГХ–МС (повышен гиппуровая кислота и др.). Сочетание с нейрогеномикой могло бы дать неинвазивные тесты.

Экологическая и профессиональная медицина: мониторинг экспозиции вредных веществ через дыхательный выпуск. ГХ–МС тут прямо используется (оценка летучих продуктов метаболизма растворителей у рабочих), это расширится – профосмотры смогут включать дыхательный тест на наличие маркеров токсинов (например, ацетонитрил у курильщиков, метилэтилкетон у рабочих химзаводов и пр.), предупреждая ранние профзаболевания.

Персонализация питания и метаболический статус: breathprint может дать моментальный срез состояния обмена веществ (уровень кетоза, сгорания жиров vs углеводов). Уже сейчас есть гаджеты, измеряющие ацетон для контроля диеты (Keyto device). Развитие ГХ–МС и omics позволит составлять индивидуальные рекомендации: “в вашем выдохе много аммиака – возможно, избыток белка в рационе, уменьшите нагрузку на печень” и т.д.

Наконец, важная перспектива – междисциплинарное сотрудничество: объединение усилий химиков, биологов, врачей, инженеров. Это уже выражается в появлении крупных консорциумов (например, консорциум буреломики TUEV, проект SniffPhone – мини e-нос, подключаемый к смартфону, поддержанный ЕС). Такие проекты помогут преодолеть отставание внедрения, разработать единые стандарты и продвигать технологию.

В свете растущего тренда на неинвазивные цифровые биомаркеры, дыхательные VOC занимают уникальное положение: они прямо связаны с метаболизмом организма и микробиоты, их сбор – бескровный и быстрый, а информация – комплементарна другим omics. В идеале, через 10–15 лет, картина медицинского обследования может быть такой: пациенту делают секвенирование генома (однократно), периодически – анализы крови и мочи, *постоянно* – мониторинг дыхания через умный сенсор. Все эти данные стекаются в единый персональный цифровой профиль, который под управлением AI выдаёт предупреждения и персонализированные назначения.

Конечно, для реализации этих перспектив необходимо решить перечисленные в разделе 7 проблемы: стандартизацию, валидацию, образование клиницистов. Но направление движения ясное – за последние 5 лет оно резко ускорилось (количество публикаций по breathomics растёт экспоненциально) [1]. ГХ–МС останется центральным методическим стержнем этого прогресса, как метод, гарантирующий научную строгость и достоверность новых находок. А тесная интеграция дыхательной метаболомики с другими omics вписывает анализ выдоха в общую канву персонализированной

медицины 21 века – медицины, где диагноз и лечение строятся на многопараметрическом учёте уникальных характеристик пациента.

Заключение

Газовая хроматография–масс-спектрометрия анализа летучих органических соединений выдыхаемого воздуха открыла качественно новые возможности в неинвазивной диагностике и мониторинге заболеваний верхних дыхательных путей. Проведённый обзор показал, что ЛОС-метаболомика дыхания уже находит успешное применение в выявлении таких инфекций, как COVID-19 и стрептококковый тонзиллит, позволяет отличать вирусную и бактериальную природу респираторных заболеваний, а также отслеживать хронические воспалительные процессы и микробиоту ВДП. Метод ГХ–МС, обладая высокой чувствительностью и специфичностью, стал золотым стандартом обнаружения и идентификации дыхательных биомаркеров [21]. С его помощью выявлены ключевые летучие метаболиты, ассоциированные с патологическими состояниями – от альдегидов и кетонов оксидативного стресса до специфических продуктов жизнедеятельности бактерий и вирусов [2]. Эти знания легли в основу разработки первых дыхательных тест-систем, некоторые из которых уже внедряются в клиническую практику (например, дыхательный анализатор на COVID-19) [4].

ГХ–МС характеризуется существенными преимуществами – неинвазивностью, быстротой сбора проб, возможностью многократного повторения и отсутствием риска для пациента [1]. В эпоху, когда минимизация вмешательства и комфорт пациента становятся приоритетом, дыхательные тесты обладают огромной привлекательностью. Пациенту зачастую достаточно просто подышать в аппарат в течение нескольких минут, чтобы врач получил ценную диагностическую информацию. При заболеваниях ВДП это особенно актуально: очаг патологии напрямую контактирует с выдыхаемым воздухом, поэтому информативность такого анализа высока. Кроме того, метод безопасен эпидемиологически – его можно применять даже в разгар инфекционной вспышки, не подвергая персонал риску (современные дыхательные приборы зачастую одноразовые мундштуки и встроенные фильтры, защищающие оператора) [17].

Тем не менее, объективно существуют ограничения и задачи, которые предстоит решить. В их числе – необходимость стандартизации методов пробоподготовки и анализа, учёт влияния внешних факторов на дыхательный метаболит, повышение доступности и снижения стоимости оборудования. В обзоре подробно рассмотрены факторы variability (питание, курение, возраст и др.) и подчеркнута важность их контроля для получения надёжных результатов [1]. Без унификации протоколов и калибровки под реальные условия невозможен переход дыхательных тестов из лабораторий в рутину. С другой стороны, уже предпринимаемые усилия – формирование баз данных, работа международных консорциумов – внушают уверенность, что эти барьеры будут постепенно устранены.

Сравнение ГХ–МС с альтернативными подходами (IMS, электронные носы) показало, что вместо конкуренции следует ожидать их синергичного сосуществования. ГХ–МС останется методом выбора для глубокой качественно-количественной оценки выдо-

ха и подтверждения найденных маркеров, тогда как более портативные IMS и сенсорные системы возьмут на себя массовый скрининг и точечные bedside-диагностические задачи [1]. Это отражается уже сейчас: например, прототипы e-носов обучаются по данным ГХ–МС [2]. Такое разделение ролей оптимально сочетает плюсы разных технологий и должно ускорить внедрение дыхательной диагностики.

Перспективы развития дыхательных методов – весьма широки. В обозримом будущем можно ожидать появления комплексных персонализированных дыхательных профилей, интегрированных с другими omics-данными конкретного пациента, что позволит точно и заранее прогнозировать заболевания, и подбирать терапию. Современная медицина движется к персонализации, и *дыхательный анализ* органично вписывается в эту парадигму, предоставляя уникальную метаболическую информацию о текущем состоянии организма. Развитие искусственного интеллекта для обработки больших данных только усилит значимость этого направления.

В заключение, ГХ–МС анализ летучих органических соединений выдоха зарекомендовал себя как мощный инструмент исследования метаболических и ми-

кробных процессов при болезнях дыхательных путей. Научные доказательства, рассмотренные в обзоре, свидетельствуют о высокой информативности дыхательного метаболома в диагностике инфекций, воспалений и иных патологий ВДП. Внедрение этого подхода в клинику – вопрос времени и преодоления технико-организационных барьеров. Преимущества неинвазивных дыхательных тестов – безболезненность, быстрота, безопасность – настолько значительны, что стимулируют дальнейшие инвестиции и исследования в этой области. Можно уверенно прогнозировать, что в ближайшее десятилетие анализ выдыхаемого воздуха из экспериментального метода превратится в рутинный диагностический приём, дополняющий (а в некоторых случаях и заменяющий) традиционные методы диагностики заболеваний верхних дыхательных путей. Это улучшит раннее выявление болезней, сделает мониторинг терапии более тонким и персонализированным, а главное – повысит комфорт и качество медицинской помощи для пациентов. Такой прогресс будет прямым воплощением стремления современной медицины к более гуманному, точному и эффективному диагностическим технологиям.

ЛИТЕРАТУРА (п. п. 1–21 см. REFERENCES)

22. Федоров Д.С., Калужин О.В., Афанасьев С.С., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г. Скрининговая диагностика рака кишечника по результатам метаэкспозомного исследования. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (1): 58–64.
23. Чистякова О.М., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Гребенщикова Л.Ю., Радьков О.В. Газовый спектр сигнальных молекул, выделяемых вагинальными стафилококками у женщин при досрочном преждевременном разрыве плодных оболочек и маловодии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (6): 294–300.
24. Затевалов А.М., Гашенко В.И., Гудова Н.В., Гречишников О.Г. «Подход «единое здоровье» (one health)» (обзорная статья). *Биотехнология в медицине и фармации*. 2025; 2 (1): 16–25.
25. Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Омарова М.А., Роговский В.С., Федоров Д.С., Безродный С.Л. Структура микробиом-ассоциированного экспозома при рассеянном склерозе, раке кишечника и сахарном диабете 2 типа и дислипидемиях. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2022; 3: 20–28.
26. Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Затевалов А.М., Помазанов В.В., Терешина Е.В. Развитие концепции экспозома в оценке влияния микробиома на нарушения липидного и углеводного обмена человека. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2021; 4: 26–42.
27. Затевалов А.М., Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Оценка степени тяжести сахарного диабета 2 типа методом микробиом-ассоциированной экспозомки у пациентов с нарушениями углеводного и липидного обмена. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2021; 4: 43–53.

REFERENCES

1. Bajo-Fernández, M., Souza-Silva, É. A., Barbas, C., Rey-Stolle, M. F., & García, A. (2023). GC-MS-based metabolomics of volatile organic compounds in exhaled breath: Applications in health and disease. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 10, Article 1295955. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1295955>
2. Traxler, S., Barkowsky, G., Saß, R., Klemenz, A.-C., Patenge, N., Kreikemeyer, B., Schubert, J. K., & Miekisch, W. (2019). Volatile scents of influenza A and S. pyogenes (co-)infected cells. *Scientific Reports*, 9, Article 18894. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55334-0>
3. Ahmed, W. M., Lawal, O., Nijsen, T. M., Goodacre, R., & Fowler, S. J. (2017). Exhaled volatile organic compounds of infection: A systematic review. *ACS Infectious Diseases*, 3(10), 695–710. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00088>
4. McCartney, M. M., Borrás, E., Rojas, D. E., Hicks, J. M., Sánchez, J. M., & Mazzone, P. J. (2022). Predominant SARS-CoV-2 variant

- impacts accuracy when screening for infection using exhaled breath vapor. *Communications Medicine*, 2(1), Article 158. <https://doi.org/10.1038/s43856-022-00221-5>
5. Mpolokang, A. G., Setlhare, T. C., Bhattacharyya, S., Chimowa, G., et al. (2025). New volatile organic compounds from the exhaled breath of active tuberculosis patients. *Scientific Reports*, 15, Article 5197. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89178-8>
6. Berna, A. Z., Merriman, J. A., Mellett, L., Parchment, D. K., Caparon, M. G., & Odom John, A. R. (2023). Volatile profiling distinguishes *Streptococcus pyogenes* from other respiratory streptococcal species. *mSphere*, 8(5), e00194-23. <https://doi.org/10.1128/msphere.00194-23>
7. Xie, Z., Morris, J. D., Pan, J., Cooke, E. A., Sutaria, S. R., Balcom, D., Marimuthu, S., Parrish, L. W., Aliesky, H., Huang, J. J., Rai, S. N., Arnold, F. W., Huang, J., Nantz, M. H., & Fu, X.-A. (2024). Detection of COVID-19 by quantitative analysis of carbonyl compounds in exhaled breath. *Scientific Reports*, 14(1), Article 14568. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61735-7>
8. Lomonaco, T., Romani, A., Ghimenti, S., Biagini, D., Bellagambi, F. G., Onor, M., ... Di Francesco, F. (2018). Determination of carbonyl compounds in exhaled breath by on-sorbent derivatization coupled with thermal desorption and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Breath Research*, 12(4), 046004. <https://doi.org/10.1088/1752-7163/aad202>
9. Xie, Z., Morris, J. D., Mattingly, S. J., Sutaria, S. R., Huang, J., Nantz, M. H., & Fu, X.-A. (2023). Analysis of a broad range of carbonyl metabolites in exhaled breath by UHPLC-MS. *Analytical Chemistry*, 95(9), 4344–4352. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04604>
10. Preti, G., Thaler, E., Hanson, C. W., Troy, M., Eades, J., & Gelperin, A. (2009). Volatile compounds characteristic of sinus-related bacteria and infected sinus mucus: Analysis by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 877(22), 2011–2018. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.05.028>
11. Berna, A. Z., Merriman, J. A., Mellett, L., Parchment, D. K., Caparon, M. G., & Odom John, A. R. (2023). Volatile profiling distinguishes *Streptococcus pyogenes* from other respiratory streptococcal species [Preprint]. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.1128/msphere.00194-23>
12. Remy, R., Kemnitz, N., Trefz, P., Fuchs, P., Bartels, J., Klemenz, A.-C., Rührmund, L., Sukul, P., Miekisch, W., & Schubert, J. K. (2022). Profiling of exhaled volatile organics in the screening scenario of a COVID-19 test center. *iScience*, 25(10), Article 105195. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105195>
13. Żuchowska, K., & Filipiak, W. (2024). Modern approaches for detection of volatile organic compounds in metabolic studies focusing on pathogenic bacteria: Current state of the art. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 14(4), 100898. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2023.11.005>
14. Belizário, J. E., Faintuch, J., & Malpartida, M. G. (2022). Breath biopsy and discovery of exclusive volatile organic compounds for diagnosis of

- infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 934018. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.934018>
15. Seidl, E., Licht, J.-C., de Vries, R., Ratjen, F., & Grasemann, H. (2024). Exhaled breath analysis detects the clearance of *Staphylococcus aureus* from the airways of children with cystic fibrosis. *Biomedicines*, 12(2), 431. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12020431>
 16. Crone, E., Chou, H., Craster, A., Karaman, I., Boyle, B., Pocock, L., Allsworth, M., Gale, L., & Floto, A. (2024). VOC breath biomarkers for early detection and monitoring of acute pulmonary exacerbations in people with cystic fibrosis. *European Respiratory Journal*, 64(Suppl. 68), OA2909. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2024.OA2909>
 17. Center for Devices and Radiological Health. (2024, May 31). In vitro diagnostics EUAs – Other tests for SARS-CoV-2. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/vitro-diagnostics-euas-other-tests-sars-cov-2>
 18. Ahmed, W. M., Lawal, O., Nijssen, T. M., Goodacre, R., & Fowler, S. J. (2017). Exhaled volatile organic compounds of infection: A systematic review. *ACS Infectious Diseases*, 3(10), 695–710. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00088>
 19. Liangou, A., Tasoglou, A., Huber, H. J., Wistrom, C., Brody, K., Menon, P. G., Bebekoski, T., Menschel, K., Davidson-Fiedler, M., DeMarco, K., Salphale, H., Wistrom, J., Wistrom, S., & Lee, R. J. (2021). A method for the identification of COVID-19 biomarkers in human breath using proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry. *eClinicalMedicine*, 42, 101207. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101207>
 20. He, J., Zhong, R., Xue, L., Wang, Y., Chen, Y., Xiong, Z., Yang, Z., Chen, S., Liang, W., & He, J. (2024). Exhaled volatile organic compounds detection in pneumonia screening: A comprehensive meta-analysis. *Lung*, 202(5), 501–511. <https://doi.org/10.1007/s00408-024-00737-8>
 21. Schulz, E., Woollam, M., Grocki, P., Davis, M. D., & Agarwal, M. (2023). Methods to detect volatile organic compounds for breath biopsy using solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Molecules*, 28(11), 4533. <https://doi.org/10.3390/molecules28114533>