

ВЛИЯНИЕ ИНГАЛЯЦИОННОГО САЛЬБУТАМОЛА НА СПЕКТР ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ

МУСТАФИНА МАЛИКА ХАРИСОВНА, ORCID ID: 0000-0002-0250-9949; канд. мед. наук, доцент кафедры кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); старший научный сотрудник ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства, Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. E-mail: mustafina_m_kh@staff.sechenov.ru

КРАСОВСКИЙ СТАНИСЛАВ АЛЕКСАНДРОВИЧ, ORCID ID: 0000-0001-9642-0947; канд. мед. наук, старший научный сотрудник ФГБУ «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства, Россия, 115682, г. Москва, Ореховый бульвар, д. 28. E-mail: sa_krasovsky@mail.ru

СИЛАНТЬЕВ АРТЕМИЙ СЕРГЕЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0001-8360-1415; научный сотрудник Института персонализированной кардиологии Центра «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. E-mail: artsilan@gmail.com

СУВОРОВ АЛЕКСАНДР ЮРЬЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0002-2224-0019; канд. мед. наук, научный сотрудник Института персонализированной кардиологии Центра «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. E-mail: suvorov_a_yu_1@staff.sechenov.ru

КОПЫЛОВ ФИЛИПП ЮРЬЕВИЧ, ORCID ID: 0000-0002-4535-8685; докт. мед. наук, профессор,

директор Института персонализированной кардиологии Центра «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. E-mail: kopylov_f_yu@staff.sechenov.ru

Реферат. Введение. Больным муковисцидозом с нарушением вентиляционной функции легких часто назначают ингаляционные препараты. Летучие органические соединения в выдыхаемом воздухе отражают метаболические процессы в бронхолегочной системе и могут быть полезны для мониторинга фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств. **Цель исследования** заключалась в выявлении различий профилей летучих органических соединений до и через 20 минут после ингаляции 400 мкг сальбутамола у взрослых с муковисцидозом с помощью времяпролетной масс-спектрометрии реакции переноса протона. **Материалы и методы.** Образцы выдыхаемого воздуха были собраны у 96 взрослых пациентов с муковисцидозом (50 мужчин и 46 женщин, средний возраст $25,8 \pm 7,3$ года) в начале исследования и через 20 минут после ингаляции 400 мкг сальбутамола методом протонной времяпролетной масс-спектрометрии. Профили летучих органических соединений были указаны как ионы с различными отношениями массы к заряду (m/z). **Результаты и их обсуждение.** С помощью протонной времяпролетной масс-спектрометрии у взрослых пациентов с муковисцидозом было выявлено 167 признаков (ионов). Образцы выдыхаемого воздуха до и после ингаляции 400 мкг сальбутамола различались по концентрации 76 ионов ($p < 0,01$). Наиболее существенно увеличилась представленность следующих летучих органических соединений: $m/z=42,03$ (ацетонитрил) и $m/z=44,04$ ($C_2H_5NH_2$) с процентным изменением на 93,8% и 53,8%, соответственно ($p < 0,001$). В свою очередь, представленность $m/z=71,06$, $m/z=181,01$ (п-ксилол) и $m/z=89,05$ (ацетоин) снизились наиболее значительно при процентном изменении на 26,1%, 23,4% и 23,0%, соответственно ($p < 0,001$). **Выводы.** Результаты демонстрируют влияние сальбутамола на состав метаболитов выдыхаемого воздуха, что следует учитывать при сборе проб в последующих исследованиях. Кроме того, протонная масс-спектрометрия может быть полезным инструментом для неинвазивного терапевтического мониторинга лекарственных средств.

Ключевые слова: сальбутамол; муковисцидоз; анализ выдыхаемого воздуха; протонная масс-спектрометрия; летучие органические соединения.

Для ссылки: Мустафина М.Х., Красовский С.А., Силантьев А.С., [и др.]. Влияние ингаляционного сальбутамола на спектр выдыхаемого воздуха у взрослых пациентов с муковисцидозом // Вестник современной клинической медицины. – 2024. – Т. 17, вып. 6. – С. 49–55. DOI: 10.20969/VSKM.2024.17(6).49-55.

EFFECT PROVIDED BY INHALED SALBUTAMOL ON EXHALED BREATH SIGNATURES IN ADULT PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS

MUSTAFINA MALIKA KH. ORCID ID: 0000-0002-0250-9949; Cand. sc. med., Associate Professor at the Cardiology Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Senior Researcher, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia; 8-2 Trubetskaya str., 119991 Moscow, Russia. E-mail: mustafina_m_kh@staff.sechenov.ru

KRASOVSKY STANISLAV A. ORCID ID: 0000-0001-9642-0947; Cand. sc. med., Senior Researcher, Federal Pulmonology Research Institute, Federal Medical and Biological Agency of Russia, 28 Orekhoviy Boulevard, 115682 Moscow, Russia. E-mail: sa_krasovsky@mail.ru

SILANTYEV ARTEMIY S. ORCID ID: 0000-0001-8360-1415; Researcher, World-Class Research Center – Digital Biodesign and Personalized Healthcare, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8-2 Trubetskaya str., 119991 Moscow, Russia. E-mail: artsilan@gmail.com

SUVOROV ALEKSANDR YU. ORCID ID: 0000-0002-2224-0019; Cand. sc. med., Researcher, World-Class Research Center – Digital Biodesign and Personalized Healthcare, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8-2 Trubetskaya str., 119991 Moscow, Russia. E-mail: suvorov_a_yu_1@staff.sechenov.ru

KOPYLOV PHILIPP YU. ORCID ID: 0000-0002-4535-8685; Dr. sc. med., Professor, Director, World-Class Research Center – Digital Biodesign and Personalized Healthcare, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8-2 Trubetskaya str. 119991 Moscow, Russia. E-mail: kopylov_f_yu@staff.sechenov.ru

Abstract. Introduction. Inhalers are often prescribed for patients with cystic fibrosis and the impaired ventilation function of the lungs. Volatile organic compounds in exhaled breath reflect changes in body chemistry and may be useful for monitoring the drug pharmacokinetics and pharmacodynamics. **Aim.** The aim of our study was to identify the differences in the volatile organic compounds in breath profiles before and 20 minutes after the inhalation of 400 µg of salbutamol in cystic fibrosis adults, using the proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry. **Materials and Methods.** Breath samples were collected from 96 adult patients with cystic fibrosis (50 males and 46 females, mean age 25.8±7.3 yrs) at baseline and 20 minutes after inhalation of 400 µg of salbutamol by proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry. Volatile organic compound profiles were listed as ions with various mass-to-charge ratios (m/z). **Results and Discussion.** 167 features in exhaled breath were detected in cystic fibrosis adults using proton mass spectrometry. Exhaled breath samples before and after 400 µg salbutamol inhalation differed in 76 volatile organic compounds concentrations (p<0.01). Representation of the following volatile organic compounds increased most significantly: m/z = 42.03 (acetonitrile), m/z = 44.04 (C₂H₅NH⁺) by percentage change 93.8% and 53.8%, respectively (p<0.001). In turn, the representation of m/z = 71.06, m/z = 181.01 (p-xylene) and m/z = 89.05 (acetoin) decreased most significantly at the percentage changes by 26.1%, 23.4%, and 23.0%, respectively (p<0.001). **Conclusions.** Our results demonstrate the effect of salbutamol on the composition of exhaled breath metabolites, which should be taken into account when collecting samples in subsequent studies. In addition, proton mass spectrometry could be a useful tool for non-invasive therapeutic drug monitoring.

Keywords: salbutamol; cystic fibrosis; breath analysis; proton mass spectrometry; volatile organic compounds.

For reference: Mustafina MKh, Krasovsky SA, Silantsev AS, et al. Effect provided by inhaled salbutamol on exhaled breath signatures in adult patients with cystic fibrosis. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2024; 17 (6): 49-55. DOI: 10.20969/VSKM.2024.17(6).49-55.

Введение. Муковисцидоз (МВ) – это генетическое заболевание, характеризующееся в первую очередь поражением бронхолегочной системы с развитием хронического воспаления [1]. Постоянные инфекции приводят к разрастанию гладкомышечных клеток бронхов и развитию бронхиальной гиперреактивности, что требует назначения ингаляционных бронходилататоров [2].

Пациенты с МВ в ингаляционной форме принимают бронхорасширяющие препараты, глюкокортикоиды, антибиотики и муколитики [3]. Преимуществом ингаляционного способа введения препарата является воздействие непосредственно на дыхательные пути, отсутствие системного влияния, что характеризуется высокой эффективностью и безопасностью. В клинической практике терапевтический ответ на ингаляционный препарат оценивают с помощью спирометрии, например, по показателю объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ₁). Однако, для более глубокого понимания механизма действия препарата и оценки его эффективности интерес представляет исследование метаболомных профилей, изменяющихся под действием ингаляционного лекарственного средства. Большая часть работ исследует фармакодинамику и фармакокинетику препарата в сыворотке крови и других биологических жидкостях [4,5,6]. Однако, как правило, ингаляционные препараты характеризуются быстрым воздействием, что затрудняет их метаболомный анализ в сыворотке крови. Кроме того, сбор и подготовка образцов биологических жидкостей приводит к потере данных в связи с разрушением ряда летучих органических соединений (ЛОС) и ошибкам при обработке данных. В этой связи анализ

выдыхаемого воздуха в режиме реального времени для отслеживания реакции на ингаляционный препарат обладает рядом преимуществ. Кроме того, отбор проб выдыхаемого воздуха – неинвазивная процедура, что особенно важно для пациентов с МВ.

Протонная времяпролетная масс-спектрометрия (proton-transfer reaction time-of-flight mass spectrometry – PTR-TOF-MS) является аналитическим методом, позволяющим с высокой точностью в режиме реального времени мониторировать терапевтическое вмешательство. С помощью PTR-MS Harrison G. R. и соавт. отслеживали изменение концентрации пропафола и его метаболитов в выдыхаемом воздухе у пациентов в послеоперационном периоде [7]. В другом исследовании с участием пациентов с эпилепсией с помощью протонной масс-спектрометрии оценивался уровень метаболитов лекарственного препарата вальпроевой кислоты [8].

В настоящее время методика сбора образцов выдыхаемого воздуха не стандартизована [9]. Однако, перед отбором проб рекомендуется воздерживаться от приема ингаляционных препаратов, поскольку это, вероятно, может приводить к искажению результатов анализа [9].

Таким образом, исследование изменений состава выдыхаемого воздуха с помощью PTR-TOF-MS под влиянием ингаляционных препаратов может иметь значение как для мониторинга лекарственных препаратов, так и для стандартизации самой процедуры отбора проб выдыхаемого воздуха.

Цель исследования.

Целью настоящей работы было с помощью PTR-TOF-MS выявление изменений эндогенных метаболитов в выдыхаемом воздухе под влиянием коротко

действующего бронходилататора сальбутамола в дозе 400 мкг у взрослых пациентов с МВ.

Материалы и методы.

Пациенты и дизайн исследования

В observational проспективном нерандомизированном исследовании приняли участие 96 взрослых (старше 18 лет) пациентов с МВ из Федерального центра по муковисцидозу ФГБУ Научного исследовательского института пульмонологии ФМБА России. Диагноз был подтвержден генетически и с помощью потового теста. Критериями невключения являлись обострение заболевания, беременность, возраст моложе 18 лет, дыхательная недостаточность и прием ингаляционных препаратов непосредственно в день исследования. Все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Всем пациентам была выполнена форсированная спирометрия с бронходилатационным тестом коротко действующим β_2 -агонистом (сальбутамол в дозе 400 мкг в форме дозированного аэрозольного ингалятора с использованием спейсера) с соблюдением стандартов качества исследований Российского респираторного общества (РРО), Американского торакального общества (АТО) и Европейского респираторного общества (ЕРО) [10, 11]. Анализировали следующие параметры: форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), объем форсированного выдоха за 1 секунду ($ОФВ_1$), $ОФВ_1/ФЖЕЛ$. Должные значения для форсированной спирометрии были рассчитаны с использованием системы должных значений Global Lung Function Initiative (GLI) 2012. Результаты были представлены в процентах от должных значений (отношение полученного значения к должному значению, результат умножен на 100%).

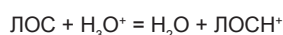
Положительный бронходилатационный тест оценивался по $ОФВ_1$: относительный прирост на 12% и более, а также абсолютный прирост на 200 мл и более от исходного значения $ОФВ_1$ [10].

Исследование было одобрено этическим комитетом Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Локальный этический протокол № 02-23 от 26.01.2023), а также проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и зарегистрировано на сайте ClinicalTrials.gov (NCT05727852).

Анализ выдыхаемого воздуха

Перед исследованием выдыхаемого воздуха пациенты за 3 часа не принимали пищу, все напитки, кроме воды, не осуществляли активные физические упражнения, а также прием любых ингаляционных препаратов в день исследования. Сбор образцов с анализом выдыхаемого воздуха в режиме реального времени осуществлялся дважды: при начале исследования и далее через 20 минут после ингаляции коротко действующим β_2 -агонистом, (сальбутамол в дозе 400 мкг), который применялся при бронходилатационном тесте. Рисунок 1 демонстрирует временной интервал сбора образцов выдыхаемого воздуха с помощью PTR-TOF-MS.

В положении сидя пациент осуществлял вдох через нос и форсированный выдох через рот в одноразовый пластиковый мундштук. Форсированный выдох проводился трехкратно с паузами между попытками в течение 1 минуты; регистрация полного маневра выдоха занимала 20-40 секунд. Анализ выдыхаемого воздуха осуществлялся в режиме реального времени с помощью высокочувствительного аналитического метода протонной времяпролетной масс-спектрометрии (proton-transfer reaction time-of-flight mass spectrometry - PTR-TOF-MS). Принцип анализа основывается на протонном переносе иона H^+ от иона-реагента, гидроксония, H_3O^+ к аналиту (определяемому ЛОС).



Далее определяется соотношение массы к заряду протонированного аналита (mass-to-charge ratio, m/z), диапазон регистрации составил 10-685 m/z . По определенным соотношениям m/z с помощью библиотеки IONICON и данных литературы в последующем произведена идентификация ЛОС.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка проводилась на программном обеспечении R v4.3 software.

Для количественных показателей определяли характер распределения (с использованием критерия Шапиро-Уилка), среднее значение, стандартное отклонение, медиану, 95% доверительный интервал, а также минимальное и максимальное значения. Для категориальных и качественных признаков определяли долю и абсолютное количество значений.

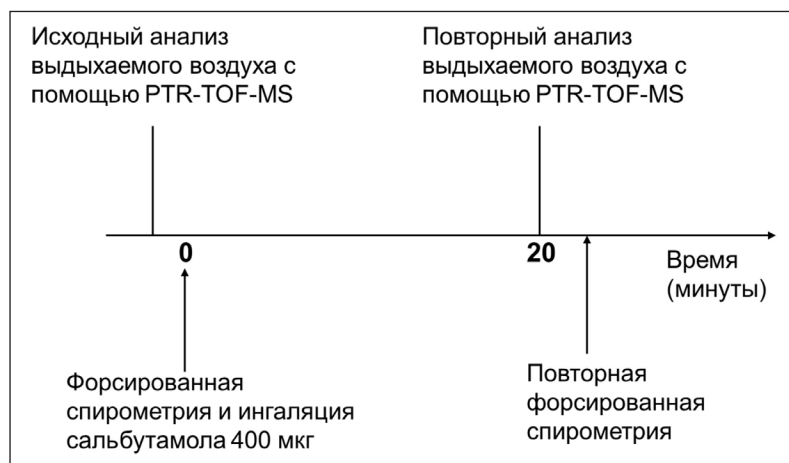


Рисунок 1. Временной интервал сбора образцов выдыхаемого воздуха с помощью PTR-TOF-MS.

Примечание: PTR-TOF-MS (proton-transfer reaction time-of-flight mass spectrometry) – протонная времяпролетная масс-спектрометрия.

Figure 1. Time interval for collecting exhaled breath samples using PTR-TOF-MS.

Note: PTR-TOF-MS – proton-transfer-reaction time-of-flight mass spectrometry.

Количественная оценка представленности целевого соединения (признака) проводилась путем оценки площади пика для целевого иона. Окно экстракции ионного тока для соединения (признака) рассчитывалось по следующей формуле:

$$\text{ion peak area window} = \frac{2 * \sqrt{mz_{exp}}}{\sqrt{mz_{ref}}} \div 5000$$

Оценка изменений ЛОС до и после ингаляции сальбутамола в дозе 400 мкг проводилась с использованием медиан и критерия Вилкоксона.

Результаты.

В исследовании приняли участие 96 пациентов: 50 мужчин и 46 женщин, в возрасте от 18 до 44 лет, средний возраст составил 25,8±7,3 лет. Большая часть пациентов имели обструктивные нарушения (среднее значение ОФВ₁/ФЖЕЛ составило 62,4 ± 13,1%), средней степени тяжести (среднее значение ОФВ₁ составило 57,6 ± 24,6% от должных значений). Положительный бронходилатационный тест был выявлен у 24 пациентов. Общая характеристика пациентов представлена в *таблице 1*.

Таблица 1

Характеристика пациентов

Table 1

Patient characteristics

Пациенты, n	96
Возраст, годы, M±SD	25.8±7.3
Пол – Мужчины, n (%)	50 (52%)
ИМТ кг/м ² , M±SD	19.5 ± 3.7
mMRC, баллы	1.0 ± 0.7
ФЖЕЛ % от должн., M±SD	76.0 ± 21.2
ОФВ ₁ % от должн., M±SD	57.6 ± 24.6
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ %, M±SD	62.4 ± 13.1
МОС ₇₅ % от должн., M±SD	29.6 ± 27.8
Положительный бронходилатационный тест, n (%)	24 (25%)

Примечание: M±SD – среднее значение и стандартное отклонение; mMRC – шкала одышки; n – количество, ИМТ – индекс массы тела; ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость; МОС₇₅ – максимальная объемная скорость при выдохе 75% ФЖЕЛ.

Анализ выдыхаемого воздуха.

С помощью протонной масс-спектрометрии PTR-TOF-MS при обследовании 96 пациентов и для 197 образцов выдыхаемого воздуха было выявлено 167 признаков (ЛОС), представленных в виде соотношения m/z.

Образцы выдыхаемого воздуха до и после ингаляции 400 мкг сальбутамола различались по уровню представленности для 76 ЛОС (p<0,01). Для следующих ЛОС установлено наибольшее увеличение представленности: ЛОС с m/z=42,03 (ацетонитрил) и m/z=44,04 (C₂H₅NH⁺) на 93,8% и 53,8%, соответственно (p<0.001) (*рисунок 2 А, Б*). Уменьшение представленности установлено для следующих ЛОС: m/z=71,06, m/z=181,01 (п-килол) и m/z=89,05 (ацетоин) на 26,1%, 23,4% и 23,0%, соответственно (p<0.001) (*рисунок 3 А, Б, В*). Различия представленности ионов представлены в *таблице 2*.

Обсуждение.

С помощью PTR-TOF-MS метода нам удалось выявить различия спектров выдыхаемого воздуха под воздействием коротко действующего β₂-агониста (сальбутамола в дозе 400 мкг) в режиме реального времени. Эти изменения обусловлены быстрыми метаболическими реакциями под влиянием ингаляционного препарата, а именно механизмами активации бета-адренорецепторов с последующим расслаблением гладких мышц дыхательных путей.

В литературе представлены исследования по оценке влияния сальбутамола на профили ЛОС в выдыхаемом воздухе. Так, Brinkman P. и соавт. изучали взаимосвязи метаболитов сальбутамола у 78 пациентов с бронхиальной астмой в выдыхаемом воздухе и в моче с терапией пероральными глюкокортикостероидами [12]. В работе Brinkman P. и соавт. использовали аналитический метод – газовая хроматография масс-спектрометрия (GC-MS), который является золотым стандартом определения ЛОС и их концентраций. Однако, GC-MS характеризуется сложностью пробоподготовки, требованиями к техническому оснащению лаборатории, где проводится анализ образца, и дороговизной исследования. При подготовке образцов для анализа с помощью GC-MS часто используются мешки Тедлар для сбора образцов и их последующей транспортировки в лабораторию. В нашем исследо-

Таблица 2

Различия представленности летучих органических соединений до и после ингаляции сальбутамола**

Table 2

Differences in the presence of volatile organic compounds before and after salbutamol inhalation**

ЛОС	m/z	Пре, площадь*	Пост, площадь *	% изменения	Медиана разницы*
Ацетонитрил	42,03	298 [264; 347]	577 [503; 717]	93,79	279,2 [247,9; 310,0]
C ₂ H ₅ NH ⁺	44,04	340 [303; 412]	522 [450; 637]	53,76	182,6 [129,5; 187,4]
NA	71,06	182 [111; 371]	135 [110; 204]	-26,14	-47,6 [-47,9; -4,2]
Ацетоин	89,05	185 [98; 405]	143 [90; 240]	-22,96	-42,6 [-52,8; -6,5]
П-килол	181,01	20 [13; 50]	15 [12; 23]	-23,43	-4,59 [-9,1; -2,7]

Примечание: ЛОС – летучие органические соединения; m/z – соотношение массы к заряду
NA – not available – не определяемое ЛОС; площадь – площадь пика для целевого иона выраженная в числе событий в секунду (count per second),

*p<0,001,

**значение и 95% доверительный интервал в скобках.

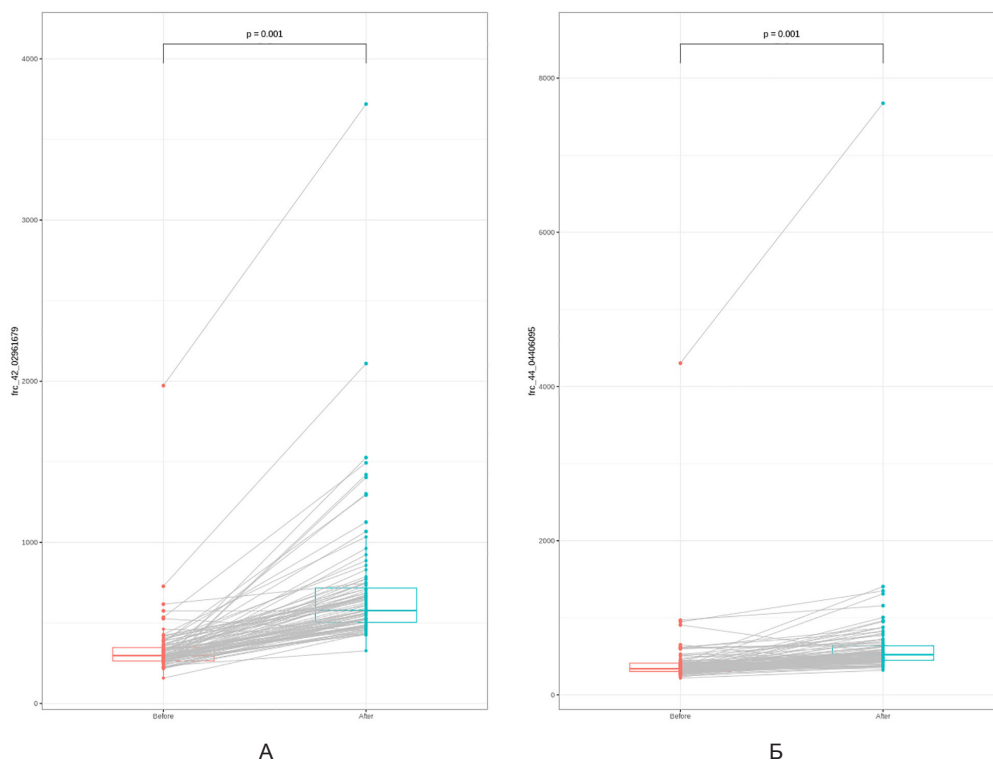


Рисунок 2. Отклик для ацетонитрила (А) и C₂H₅NH⁺ (Б) до и после ингаляции 400 мкг салбутамола.
Figure 2. Response for acetonitrile (A) and C₂H₅NH⁺ (B) before and after inhalation of 400 µg of salbutamol.

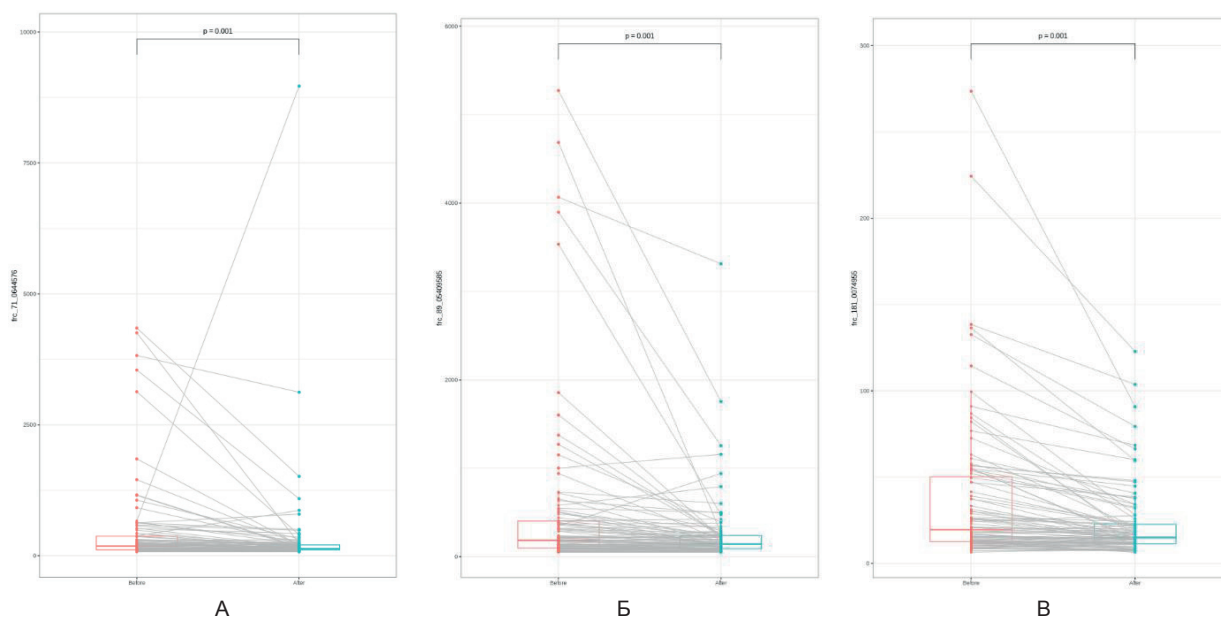


Рисунок 3. Отклик для признака с m/z = 71,06 (А), ацетона (Б) и п-ксилола (В) после ингаляции 400 мкг салбутамола.

Figure 3. Response for the trait with m/z = 71.06 (A), acetoin (B), and p-xylene (C) after inhalation of 400 µg of salbutamol.

вании мы анализировали спектры ЛОС с помощью времяпролетной протонной масс-спектрометрии (PTR-TOF-MS). Данный метод отличается преимуществом проведения анализа в режиме реального времени, без специальной подготовки образцов, что позволяет регистрировать неустойчивые гидрофобные молекулы. Аналитический прибор находится в условиях стационара, что упрощает исследование с участием пациентов с тяжелыми респираторными заболеваниями, такими как МВ.

В другом исследовании Gaugg M.T. и соавт. с помощью вторичной ионизацией электрораспылением (SESI-MS) отслеживали ЛОС в течение 10 и 30 минут после ингаляции салбутамола также в режиме реального времени [13]. Было выявлено изменение летучих жирных кислот в выдыхаемом воздухе, а также метаболита салбутамола-4-О-сульфата у пациентов с бронхиальной астмой и хронической обструктивной болезнью легких [13]. Обнаружение жирных кислот в выдыхаемом воздухе согласуется

с описанными ранее липолитическими эффектами бета-адренергических агонистов [14].

Наше исследование является первым с участием пациентов с МВ по анализу изменения состава выдыхаемого воздуха под влиянием коротко действующих бронходилататоров. Известно, что примерно у половины пациентов с МВ выявляется бронхиальная гиперреактивность [15]. И адекватный прием бронхорасширяющих препаратов может оказывать влияние на качество жизни и прогноз заболевания. Однако не все пациенты, особенно во взрослом возрасте, имеют приверженность в приеме бронходилатационной терапии [16]. Анализ выдыхаемого воздуха по выявлению изменений профилей ЛОС по воздействию бронхорасширяющих препаратов позволил бы отследить адекватный прием бронходилататоров и их эффективность.

Исследование состава выдыхаемого воздуха может применяться для мониторинга не только бронхорасширяющих препаратов, но и препаратов других фармакологических групп. Так, Paredi P. и соавт. с помощью GC-MS выявили изменение концентрации этана в выдыхаемом воздухе у пациентов с МВ, принимавших глюкокортикостероиды [17]. В другом исследовании Montuschi P. и соавт. оценивали изменение значимого биомаркера оксидативного стресса 15-F2t-Изопростана в конденсате выдыхаемого воздуха в ответ на антибиотикотерапию у пациентов с МВ [18]. Вероятно, в будущем будут проведены исследования по мониторингу таргетной терапии модификаторами гена CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator), которая имеет большую клиническую значимость у пациентов с МВ.

В нашей работе мы установили увеличение представленности ацетонитрила в выдыхаемом воздухе через 20 минут после ингаляции сальбутамола 400 мкг. Ацетонитрил является метаболитом синильной кислоты, которая была определена в более ранних исследованиях как продукт жизнедеятельности *Pseudomonas aeruginosa* [19]. Кроме того, в нашем предыдущем исследовании мы определили ацетонитрил как предиктор хронической инфекции *Burkholderia cepacia* [20]. Вероятно, бронходилатация оказывает влияние на метаболические процессы жизнедеятельности хронической персистирующей респираторной микрофлоры.

Мы выявили также установили снижение представленности ацетоина и п-ксилола у пациентов с МВ после ингаляции сальбутамола 400 мкг. Ацетоин является гидрофобной молекулой оксигенированного углеводородного липида. Можно предположить, что изменение концентрации ацетоина обусловлено липолитическими эффектами бета-адренергические агонисты [14]. Кроме того, предполагается, что ацетоин используется в качестве внешнего источника энергии рядом ферментирующих бактерий [21]. Ароматический углеводород п-ксилол также являлся предиктором *Burkholderia cepacia* в нашем предыдущем исследовании [20], а также был описан в исследовании van Horck et al. в составе выдыхаемого воздуха при обострении заболевания у детей с МВ [22]. Углеводороды в выдыхаемом воздухе могут свидетельствовать о перекисном окислении липидов

и оксидативном стрессе [23]. Таким образом, неспецифичность ЛОСов в некоторой степени усложняет интерпретацию метаболомного профилирования для терапевтического мониторинга.

Одним из ограничений нашего исследования является отсутствие группы контроля, необходимого для отслеживания изменений ЛОС во вдыхаемом воздухе, а также отсутствие применения плацебо для исключения влияния изменения скорости форсированного выдоха на спектр ЛОС до и после ингаляции сальбутамола. Кроме того, все пациенты взрослого возраста, имели длительный стаж приема антибактериальных препаратов, и около четверти пациентов принимали таргетную терапию модификаторами CFTR гена. Все эти факторы могли оказать влияние на состав выдыхаемого воздуха. При идентификации ЛОС по соотношению m/z нам не удалось определить ЛОС с $m/z=44,04$ ($C_2H_5NH^+$), $m/z=71,06$, в связи с отсутствием данным по этим ионам в библиотеке IONICON и данным литературы. Однако вполне вероятно, что по мере развития метода этот вопрос будет решен в будущих исследованиях. К сожалению, нам не удалось зафиксировать изменение концентрации непосредственных метаболитов сальбутамола, что вероятно обусловлено недостаточной разрешающей способностью аналитического прибора. Необходимы дальнейшие исследования со стандартизацией сбора образцов и использованием разных ионов-реагентов вместо иона гидроксония H_3O^+ для увеличения разрешающей способности протонной масс-спектрометрии.

Таким образом, протонная масс-спектрометрия может являться перспективным методом мониторинга ингаляционных лекарственных препаратов. Однако, необходимы дальнейшие многоцентровые стандартизированные исследования для проверки ранее выявленных биомаркеров и потенциального открытия новых.

Выводы.

По результатам настоящей работы с помощью PTR-TOF-MS в режиме реального времени у 96 взрослых пациентов с муковисцидозом было выявлено достоверное увеличение ацетонитрила и неидентифицированного ЛОС с $m/z=44,04$ ($C_2H_5NH^+$), а также достоверное снижение ацетоина, п-ксилола и неидентифицированного ЛОС с $m/z=71,06$ в выдыхаемом воздухе после ингаляции сальбутамола в дозе 400 мкг.

Прозрачность исследования. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (РНФ) (проект № 24-15-00549 по теме «Разработка методов неинвазивной диагностики хронических заболеваний легких с использованием протонной масс-спектрометрии выдыхаемого воздуха и методов искусственного интеллекта»). Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Dickinson KM, Collaco JM. Cystic Fibrosis. *Pediatr Rev.* 2021; 42 (2): 55-67. DOI: 10.1542/pir.2019-0212
2. Verhaeghe C, Delbecq K, de Leval L, et al. Early inflammation in the airways of a cystic fibrosis foetus. *J Cyst Fibros.* 2007; 6 (4): 304-308. DOI: 10.1016/j.jcf.2006.12.001
3. Lahiri T, Hempstead SE, Brady C, et al. Clinical Practice Guidelines From the Cystic Fibrosis Foundation for Preschoolers With Cystic Fibrosis. *Pediatrics.* 2016; 137 (4): e20151784. DOI: 10.1542/peds.2015-1784
4. Kiss A, Lucio M, Fildier A, et al. Doping control using high and ultra-high resolution mass spectrometry based non-targeted metabolomics—a case study of salbutamol and budesonide abuse. *PLoS One.* 2013; 8(9): e74584. DOI: 10.1371/journal.pone.0074584
5. Wang Y, Caldwell R, Cowan DA, Legido-Quigley C. LC-MS-Based Metabolomics Discovers Purine Endogenous Associations with Low-Dose Salbutamol in Urine Collected for Antidoping Tests. *Anal Chem.* 2016; 88 (4): 2243-2249. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b03927
6. Quan-Jun Y, Jian-Ping Z, Jian-Hua Z, et al. Distinct Metabolic Profile of Inhaled Budesonide and Salbutamol in Asthmatic Children during Acute Exacerbation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017; 120 (3): 303-311. DOI: 10.1111/bcpt.12686
7. Harrison GR, Critchley AD, Mayhew CA, Thompson JM. Real-time breath monitoring of propofol and its volatile metabolites during surgery using a novel mass spectrometric technique: a feasibility study. *Br J Anaesth.* 2003; 91 (6): 797-799. DOI: 10.1093/bja/aeg271
8. Erhart S, Amann A, Haberlandt E, et al. 3-Heptanone as a potential new marker for valproic acid therapy. *J Breath Res.* 2009; 3 (1): 016004. DOI: 10.1088/1752-7155/3/1/016004
9. Horváth I, Barnes PJ, Loukides S, et al. A European Respiratory Society technical standard: exhaled biomarkers in lung disease. *Eur Respir J.* 2017; 49 (4): 1600965. DOI: 10.1183/13993003.00965-2016
10. Российское респираторное общество, Российская ассоциация специалистов функциональной диагностики, Российское научное медицинское общество терапевтов. Методические рекомендации «Спирометрия». – Москва, 2023. – 64 с. [Rossiyskoye respiratornoye obshchestvo, Rossiyskaya assotsiatsiya spetsialistov funktsional'noy diagnostiki, Rossiyskoye nauchnoye meditsinskoye obshchestvo terapevtov [Russian Respiratory Society, Russian Association of Functional Diagnostics Specialists, Russian Scientific Medical Society of Therapists]. Metodicheskiye rekomendatsii «Spirometriya» [Methodical recommendations "Spirometry"]. Moskva [Moscow]. 2023; 64 p. (In Russ.). Режим доступа [URL]: https://spulmo.ru/upload/kr/Spirometria_2023.pdf?t=1&ysclid=m373no584g35402104
11. Stanojevic S, Kaminsky DA, Miller MR, et al. ERS/ATS technical standard on interpretive strategies for routine lung function tests. *Eur Respir J.* 2022; 60 (1): 2101499. DOI: 10.1183/13993003.01499-2021
12. Brinkman P, Ahmed WM, Gómez C, et al. Exhaled volatile organic compounds as markers for medication use in asthma. *Eur Respir J.* 2020; 55 (2): 1900544. DOI: 10.1183/13993003.00544-2019
13. Gaugg MT, Engler A, Nussbaumer-Ochsner Y, et al. Metabolic effects of inhaled salbutamol determined by exhaled breath analysis. *J Breath Res.* 2017; 11 (4): 046004. DOI: 10.1088/1752-7163/aa7caa
14. Haffner CA, Kendall MJ, Maxwell S, Hughes B. The lipolytic effect of beta 1- and beta 2-adrenoceptor activation in healthy human volunteers. *Br J Clin Pharmacol.* 1993; 35 (1): 35-39. DOI: 10.1111/j.1365-2125.1993.tb05667.x
15. Marion CR, Izquierdo M, Hanes HC, Barrios C. Asthma in Cystic Fibrosis: Definitions and Implications of This Overlap Syndrome. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2021; 21 (2): 9. DOI: 10.1007/s11882-020-00985-7
16. Rouzé H, Viprey M, Allemann S, et al. Adherence to long-term therapies in cystic fibrosis: a French cross-sectional study linking prescribing, dispensing, and hospitalization data. *Patient Prefer Adherence.* 2019; 13: 1497-1510. DOI: 10.2147/PPA.S211769
17. Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, et al. Exhaled ethane is elevated in cystic fibrosis and correlates with carbon monoxide levels and airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161 (4 Pt 1): 1247-1251. DOI: 10.1164/ajrccm.161.4.9906122
18. Montuschi P, Lucidi V, Paris D, et al. Metabolomic Analysis by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy as a New Approach to Understanding Inflammation and Monitoring of Pharmacological Therapy in Children and Young Adults With Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol.* 2018; 9: 595. DOI: 10.3389/fphar.2018.00595
19. Enderby B, Smith D, Carroll W, Lenney W. Hydrogen cyanide as a biomarker for *Pseudomonas aeruginosa* in the breath of children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2009; 44 (2): 142-147. DOI: 10.1002/ppul.20963
20. Mustafina M, Silantyev A, Krasovskiy S, et al. Identification of Exhaled Metabolites Correlated with Respiratory Function and Clinical Features in Adult Patients with Cystic Fibrosis by Real-Time Proton Mass Spectrometry. *Biomolecules.* 2024; 14 (9): 1189. DOI: 10.3390/biom14091189
21. Xiao Z, Xu P. Acetoin metabolism in bacteria. *Crit Rev Microbiol.* 2007; 33 (2): 127-140. DOI: 10.1080/10408410701364604
22. van Horck M, Smolinska A, Wesseling G, et al. Exhaled volatile organic compounds detect pulmonary exacerbations early in children with cystic fibrosis: results of a 1 year observational pilot study. *J Breath Res.* 2021; 15 (2): 026012. DOI: 10.1088/1752-7163/abda55
23. Chan HP, Lewis C, Thomas PS. Oxidative stress and exhaled breath analysis: a promising tool for detection of lung cancer. *Cancers (Basel).* 2010; 2 (1): 32-42. DOI: 10.3390/cancers2010032