

## ВОЗМОЖНОСТИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ПАЦИЕНТОВ НА СТАДИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

© 2022 г. А. А. Чередникова<sup>1, 2, \*</sup>, А. Г. Кузьмин<sup>1</sup>, Ю. А. Титов<sup>1</sup>, А. Ю. Зайцева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт Аналитического Приборостроения Российской академии наук, Санкт-Петербург, 198095 Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 195251 Россия

\*e-mail: arina\_ch@list.ru

Поступила в редакцию 25.06.2022 г.

После доработки 08.07.2022 г.

Принята к публикации 19.08.2022 г.

Предложена экспресс-методика оценки и классификации на основе методов многомерного статистического анализа масс-спектрометрических данных газового состава выдыхаемого воздуха. Применение разработанной методики для исследования результатов анализа газового состава проб выдыхаемого воздуха у двух групп испытуемых: здоровых добровольцев и людей, перенесших острую респираторную вирусную инфекцию, выявило явные различия. Математический анализ результатов экспериментальных исследований методом главных компонент позволил разделить испытуемых по газовому составу выдыхаемого ими воздуха на две группы по принципу здоровые-восстанавливающиеся. Предлагаемая экспресс-методика позволит в режиме реального времени определять наличие последствий заболевания и, в перспективе, выявить широкий спектр физиологически значимых компонентов, формирующих визуальный цифровой “отпечаток” респираторной вирусной инфекции.

**Ключевые слова:** масс-спектрометрия, клиническая диагностика, острые респираторные вирусные инфекции, математический анализ медицинских данных

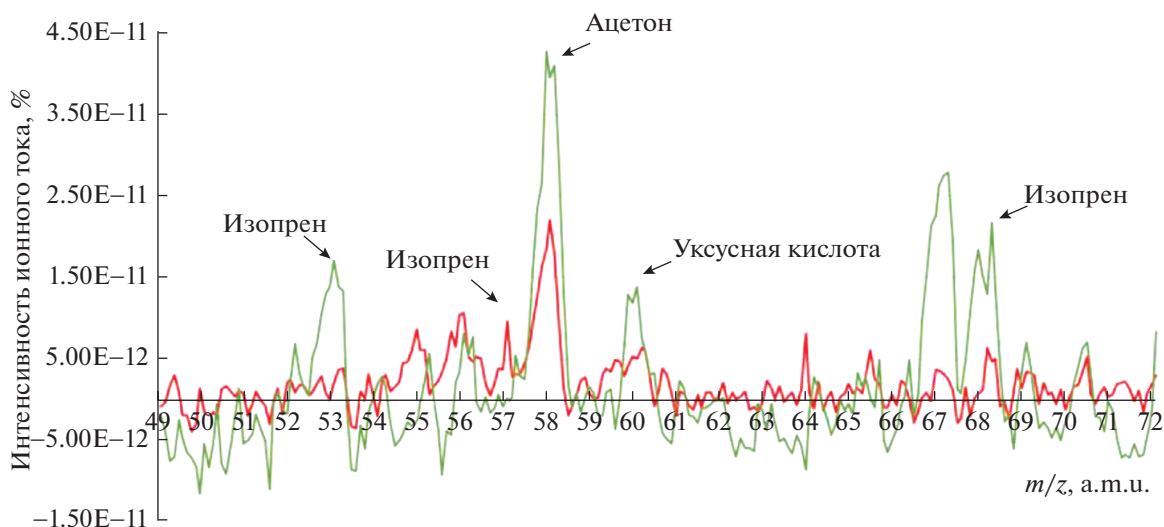
DOI: 10.56304/S0234275822050039

Газовый состав выдыхаемого воздуха содержит широкий набор низко- и высокомолекулярных соединений, которые при наличии патологии изменяют свою концентрацию. Все компоненты, содержащиеся в выдыхаемом воздухе, в совокупности образуют его индивидуальный цифровой “отпечаток”. Исследование такого “отпечатка” позволяет оценить функциональное состояние испытуемого, в том числе выявить патологические изменения в организме. Наличие в составе газовой пробы диагностических значимых компонентов позволяет оценить физиологическое состояние испытуемого и обнаружить маркеры заболевания, уже перенесенного или протекающего в острой фазе.

Тема изучения состава выдыхаемого воздуха в медицинской практике широко освещается в литературе на протяжении последних трех десятилетий. Этому вопросу посвящены многочисленные обзоры [1–4]. Основными физическими методами анализа состава выдыхаемого воздуха являются:

хроматография [5, 6], хроматомасс-спектрометрия, основанная на различном распределении компонентов между движущейся газовой фазой и неподвижной фазой, которая может быть твердой и жидкой [7], электрохимические сенсоры [8], лазерная оптическая спектроскопия [9] и диодная лазерная спектроскопия [10]. Однако, все перечисленные методы имеют свои недостатки, которые до сих пор не позволили разработать и вывести на медицинский рынок ни одного серийного инструмента, отвечающего всем требованиям медицинской диагностики.

Для этой цели ранее был разработан метод диагностики состояния пациентов на основе прямого неинвазивного масс-спектрометрического анализа состава выдыхаемого воздуха (ароматодиагностика) [11–14]. Диагностика производится с использованием квадрупольного масс-спектрометра, в основе работы которого лежит разделение ионизированных компонентов состава газовой смеси переменным электрическим полем. Примене-



**Рис. 1.** Масс-спектр компонентов выдыхаемого воздуха типичных представителей обеих групп испытуемых. Красная линия – пациенты при восстановлении после болезни, зеленая линия – группа здоровых добровольцев.

**Fig. 1.** Mass spectrum of exhaled air components of typical representatives of both groups of subjects. Red line—patients in recovery from illness, green line – group of healthy volunteers.

ние этого метода позволяет обеспечивать высокую точность анализа и быстрый результат в режиме реального времени. Основные достоинства метода – это простота забора пробы и отсутствие необходимости ее предварительной подготовки.

Целью настоящей работы является разработка предварительной экспресс-методики оценки и классификации на основе методов многомерного статистического анализа масс-спектрометрических данных газового состава выдыхаемого воздуха пациентов, находящихся на стадии восстановления после перенесенных респираторных заболеваний.

#### УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Анализ состава проб выдыхаемого воздуха производили на разработанном в ИАП РАН малогабаритном квадрупольном масс-спектрометре MS7-200 с прямым вводом пробы при атмосферном давлении [11]. Прогреваемая капиллярная система ввода пробы в масс-спектрометр позволяет проводить анализ на расстоянии до 5 м от прибора. Расход пробы составляет 2 мкл/с.

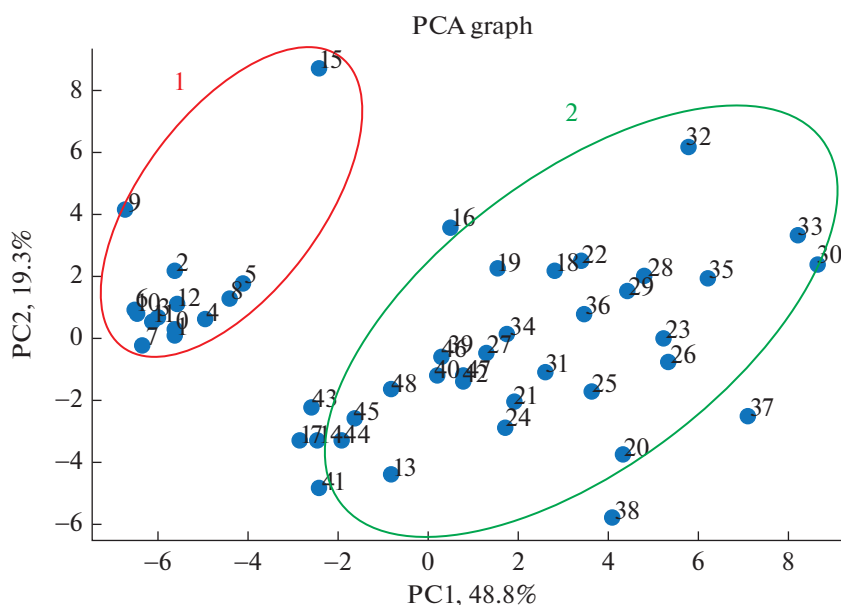
Для забора пробы были выбраны двухкомпонентные медицинские шприцы объемом 20 мл. Пробозаборные устройства подготавливали следующим образом: предварительно продували в течение 3 сут, затем заполняли атмосферным воздухом и предварительно проверяли на отсутствие фоновых примесей. Эта методика подготовки

позволяет получить точный неискаженный масс-спектр газового состава исследуемого образца.

В экспериментальном исследовании принимало участие 49 человек, которые были разделены на 2 группы. Первая группа – 18 пациентов в возрасте от 20 до 50 лет в период начала восстановления после перенесенной респираторной вирусной инфекции. Критерием начала восстановления было отсутствие клинических симптомов заболевания. Вторая – 31 человек, состоящая из мужчин в возрасте от 18 до 21 года в хорошей физической форме. У каждого испытуемого в состоянии физического покоя был произведен забор пробы выдыхаемого воздуха.

Испытуемым была предложена специальная техника выдоха: глубокий вдох, задержка дыхания на 10 с медленный выдох в пробозаборное устройство, с задействованием нижних отделов дыхательных путей. Данная техника позволяет получить точную информацию о функциональном состоянии обследуемого, так как в ней участвуют все отделы дыхательной системы: нос, глотка, гортань, трахея и легкие с бронхами. Газообмен происходит в альвеолах легких и направлен на захват кислорода из выдыхаемого воздуха и выделение во внешнюю среду углекислого газа и других веществ, образующихся в организме.

Процедура измерений позволила определить концентрацию компонентов выдыхаемого воздуха и сформировать индивидуальный цифровой



**Рис. 2.** Индивидуальные “отпечатки” выдыхаемого воздуха испытуемых, представленные в виде проекций на оси главных компонент. Представлены две группы: 0–17 – группа 1 (пациенты при восстановлении), 18–48 – группа 2 (здоровые добровольцы).

**Fig. 2.** Individual “fingerprints” of exhaled air of the subjects, presented as projections on the principal component axes. Two groups are presented: 0–17—group 1 (recovery patients), 18–48—group 2 (healthy volunteers).

отпечаток каждого испытуемого с последующей визуализацией. Было выявлено, что в выдохе здорового человека содержатся следующие вещества в определенном соотношении концентраций: ацетон, уксусная кислота и изопрен [11].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате измерений были получены масс-спектры компонентов выдыхаемого воздуха каждого испытуемого. На рис. 1 приведен масс-спектр двух типичных представителей каждой группы.

С целью ранжирования испытуемых на группы различного функционального состояния в настоящей работе был выбран статистический метод обработки больших массивов многомерной информации – метод главных компонент [15]. Предложенный метод позволяет уменьшить размерность данных путем преобразования  $k$ -мерной системы в  $m$ -мерную, где  $m < k$ .

Для анализа в качестве признаков были выбраны 8 массовых пиков в масс-спектрах (53, 55, 56, 57, 58, 60, 67, 68 а.е.м.) и ближайшие к ним значения. Факторы были выбраны путем вычисления максимальных значений интенсивностей ионного тока для всех проведенных исследований. Общее количество факторов составило 24 для 49 ис-

пытуемых. Уменьшения размерности информации удалось добиться путем преобразования данных в набор главных компонент – нормировано-центрированную линейную комбинацию имеющихся показателей, обладающих наибольшей дисперсией.

Выделенные признаки были преобразованы в главные компоненты следующим образом: была составлена ковариационная матрица, в дальнейшем из нее были получены общая дисперсия по всем признакам, собственные векторы и собственные числа ковариационной матрицы, определяющие направления главных компонент и величину связанной с ними дисперсии.

Главные компоненты не коррелируют друг с другом и являются линейной комбинацией исходных  $X_i$  признаков с коэффициентами  $\alpha_{ij}$ :

$$Y_j = \sum_{i=1}^k \alpha_{ij} X_i, \quad j = 1, \dots, k.$$

При обработке масс-спектров были выделены следующие вещества, относительно которых происходила кластеризация: ацетон, уксусная кислота и изопрен, содержащиеся в выдохе здорового человека, а также другие компоненты масс линейчатого спектра, являющиеся классификаторами заболевания.

Индивидуальный “отпечаток” газового состава выдыхаемого воздуха каждого испытуемого представлен точкой в пространстве двух новых координат на рис. 2, называемых главными компонентами.

Результаты разделения по 2 группам позволили выявить у них явные различия. Согласно независимому анализу числа испытуемых, попавших в разные группы, в группе 1 здоровых испытуемых – 0, перенесших респираторную вирусную инфекцию – 15. В группе 2 число здоровых испытуемых – 31, перенесших респираторную вирусную инфекцию – 2. Следовательно, испытуемые оказались разделены на группы схожести, где группе 1 составляли испытуемые восстанавливающиеся после перенесения респираторной вирусной инфекции, а группу 2 – здоровые добровольцы.

Таким образом, использование предлагаемой экспресс-методики многомерного статистического анализа для классификации данных масс-спектрометрического анализа состава выдыхаемого воздуха пациентов на стадии восстановления после перенесенных респираторных заболеваний позволит в режиме реального времени определять наличие последствий заболевания и, в перспективе, выявить широкий спектр физиологически значимых компонентов, формирующих визуальный цифровой “отпечаток” респираторной вирусной инфекции.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в ИАП РАН в рамках государственного задания 075-00761-22-00.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Степанов Е.В. Методы высокочувствительного газового анализа молекул-биомаркеров в исследованиях выдыхаемого воздуха. *Труды института общей физики им. А.М. Прохорова*, 2005, 61, 5–47.
2. Di Francesco F., Fuocob R., Trivellaa M.G., Ceccarinib A. Breath analysis: trends in techniques and clinical applications. *Microchem. J.*, 2005, 79, 405–410. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.10.008>
3. Buszewski B., Keszy M., Ligor T., Amann A. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases. *Biomed. Chromatogr.*, 2007, 21, 553–566. <https://doi.org/10.1002/bmc.835>
4. Lourenco C., Turner C. Breath Analysis in Disease Diagnosis: Methodological Considerations and Applications. *Metabolites*, 2014, 4, 465–498. <https://doi.org/10.3390/metabo4020465>
5. Phillips M. Breath Tests in Medicine. *Sci. Amer.*, 1992, 74–79. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0792-74>
6. Phillips M., Herrera J., Krishnan S., Zain M., Greenberg J., Cataneo R.N. Variations in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J. Chromatograph. B. Biomed. Sci. Appl.*, 1999, 729(1–2), 75–88. [https://doi.org/10.1016/s0378-4347\(99\)00127-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4347(99)00127-9)
7. Leone A.M., Gustafsson L.E., Francis P.L., Persson M.G., Wiklund N.P., Moncada S. Nitric oxide is present in exhaled breath in humans: direct GC-MS confirmation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994, 201(2), 883–887. <https://doi.org/10.1006/BBRC.1994.1784>
8. Vreman H.J., Mahoney J.J., Stevenson D.K. Electrochemical measurement of carbon monoxide in breath: interference by hydrogen. *Atmos. Environ.*, 1993, 27A(14), 2193–2198. [https://doi.org/10.1016/0960-1686\(93\)90049-5](https://doi.org/10.1016/0960-1686(93)90049-5)
9. Chugunov A.V., Novoderezhkin V.I., Razumikhina T.V., Panchenko V.Ya. The analysis of expired lung air by laser spectroscopy methods for diagnostics of diseases. *Proc. SPIE. Laser Study of Macroscopic Biosystems.*, 1992, 1922, 18–185.
10. Степанов Е.В., Миляев В.А. Применение перестраиваемых диодных лазеров для высоко-чувствительного анализа газообразных биомаркеров в выдыхаемом воздухе. *Квантовая электроника*, 2002, 32(11), 987–992.
11. Кузьмин А.Г., Ткаченко Е.И., Орешко Л.С., Титов Ю.А., Балабанов А.С. Метод масс-спектрометрической экспресс-диагностики по составу выдыхаемого воздуха, *Медицинский академический журнал*, 2016, 16(4), 106–107.
12. Кузьмин А.Г. Квадрупольный масс-спектрометр. Патент RU 94763 U1. 15.12.09; опубл. 27.05.10. Бюл. № 15.
13. Manoilov V.V., Kuzmin A.G., Titov U.A. Extraction of information attributes from the massspectrometric signals of air. *J. Anal. Chem.*, 2016, 71(14), 1301–1308. <https://doi.org/10.1134/S1061934816140094>
14. Новиков Л.В., Манойлов В.В., Кузьмин А.Г., Титов Ю.А., Заруцкий И.В., Нефедов А.О., Нефедова А.В., Арсеньев А.И. Экспресс-диагностика заболеваний по выдыхаемому воздуху на основе квадрупольного масс-спектрометра. *Научное приборостроение*, 2020, 3(4), 94–105. <https://doi.org/10.18358/np-30-4-i94105>
15. Mazing M.S., Zaitceva A.Yu., Kislyakov Yu.Ya., Davidov V.V., Kondakov N.S., Avdyushenko S.A. Analytical complex for study of the oxygen status of tissues of the human organism. *J. Phys.: Conf. Ser.*, 2020, 1695, 012065. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1695/1/012065>

## Potential of Mass Spectrometric Diagnostics of the Health State of Patients during the Recovery Period after Respiratory Diseases

A. A. Cherednikova<sup>a, b, #</sup>, A. G. Kuzmin<sup>a</sup>, Y. A. Titov<sup>a</sup>, and A. Y. Zaitseva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institute for Analytical Instrumentation (IAI), Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 198095 Russia

<sup>b</sup>Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, 195251 Russia

<sup>#</sup>e-mail: arina\_ch@list.ru

**Abstract**—Based on methods of multivariate statistical analysis, an express method for assessment and classification of the mass spectrometric data of the gas composition of air exhaled by patients after acute respiratory disease is proposed. The application of the developed technique to study the results of the analysis of the gas composition of exhaled air samples in two groups of subjects, healthy volunteers and patients who had had an acute respiratory viral infection, revealed clear differences. According to the gas composition of exhaled air, a mathematical analysis of the experimental results using the principal component method allowed us to divide the subjects into two groups, healthy and recovering. The proposed express method will make possible real time assessment of the disease consequences and, in the future, identification of a wide range of physiologically significant components that form a visual “digital image” of a respiratory viral infection.

**Keywords:** mass spectrometry, clinical diagnosis, acute respiratory viral infections, mathematical analysis of medical data

Свидетельство о регистрации средства массовой информации  
 ПИ № ФС77-75946 от 13 июня 2019 г., выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи,  
 информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Подписано к печати 08.09.2022 г.	Формат 60 × 88 <sup>1</sup> / <sub>8</sub>	Усл. печ. л. 14.76	Уч.-изд. л. 15.0
Тираж 117 экз.	Зак. 5523	Цена договорная	

Учредители: Федеральное государственное бюджетное учреждение  
 «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

Издатель: НИЦ "Курчатовский институт", 123182, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1  
 Изготовитель оригинал-макета ООО "ТЕМАТИЧЕСКАЯ РЕДАКЦИЯ",  
 125252, г. Москва, ул. Зорге, д. 19, этаж 3, помещ. VI, комн. 44  
 Отпечатано в типографии «Book Jet» (ИП Коняхин А.В.),  
 390005, г. Рязань, ул. Пушкина, 18, тел. (4912) 466-151

16+