

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ И СРЕДСТВ НЕСТАЦИОНАРНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ СУБТЕРАГЕРЦОВЫХ И ТЕРАГЕРЦОВЫХ ДИАПАЗОНОВ ЧАСТОТ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

© 2012 г. В. Л. Вакс*, канд. физ.-мат. наук; Е. Г. Домрачева*, канд. хим. наук;
А. В. Масленникова**, доктор мед. наук; Е. А. Собакинская*;
М. Б. Черняева*, канд. физ.-мат. наук

* Институт физики микроструктур РАН, г. Нижний Новгород

** Государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, г. Нижний Новгород

E-mail: elena@ipm.sci-nnov.ru

Рассмотрены варианты реализации спектрометров терагерцового диапазона, работающих на эффектах свободно затухающей поляризации и быстрого прохождения диапазона частот. Представлены результаты применения разработанных спектрометров для регистрации присутствия аммиака, ацетона и оксида азота в выдыхаемом воздухе, а также для анализа промывочной жидкости (кустодиола) трансплантируемых паренхиматозных органов.

Ключевые слова: неинвазивная медицинская диагностика, нестационарная спектроскопия терагерцового диапазона, спектрометр с фазовой модуляцией воздействующего на газ излучения, выдыхаемый воздух, молекула-маркер, кустодиол.

Коды OCIS: 300.6495, 300.6390, 170.6510

Поступила в редакцию 10.06.2011

Одним из объективных показателей, которые характеризуют физиологический ресурс организма, является состав выдыхаемого воздуха. Он всегда был предметом интереса медиков, так как еще со времен Гипократа берет свое начало диагностика заболеваний по запаху. Установлено, что выдох человека представляет собой многокомпонентную газовую смесь, в которой содержится до 600 различных соединений [1], которые являются продуктами физиологических и биохимических процессов, происходящих в организме [2]. На основе измерения концентрации веществ-маркеров в выдыхаемом воздухе можно диагностировать ряд серьезных заболеваний. К веществам-маркерам относят: аммиак (диагностика хеликобактериоза) [3], оксид азота (диагностика и мониторинг воспалительных процессов легочной ткани, мониторинг состояния легочной ткани при проведении лучевой терапии) [4–6], ацетон (диагностика сахарного диабета второго типа) [7–9].

К современным методам исследования состава выдыхаемого воздуха относятся газовая

хроматография [10–12], масс-спектрометрия, совмещенная с газохроматографическим разделением [13, 14], электрохимические сенсоры, УФ-хемоллюминесценция, которые, в основном, являются инвазивными. Среди многообразия аппаратных методов анализа выдыхаемого воздуха наиболее перспективными оказываются спектроскопические методы, например, спектроскопия комбинационного рассеяния [15], фотоакустическая спектроскопия [16, 17], диодно-лазерная спектроскопия поглощения [18, 19]. Наибольший интерес вызывает спектроскопия терагерцового (ТГц) и субтерагерцового (субТГц) диапазонов частот [20–22].

Несомненными достоинствами методов газовой нестационарной спектроскопии ТГц частотного диапазона, развиваемых в ИФМ РАН, являются высокая чувствительность и разрешающая способность одновременно. К достоинствам также относятся высокая информативность спектроскопического сигнала и возможность дистанционного неинвазивного контроля многокомпонентных газовых смесей, дающего информацию о реальном содержании

примесей в исследуемом газе. Процесс подготовки образца к измерениям не имеет особых технологических трудностей и представляет собой откачку исследуемого объема до рабочего давления порядка 0,05 Торр и напуск газов. Для высокочувствительного анализа, который можно проводить в режиме реального времени, достаточно малого количества исследуемого вещества. Аналитические спектральные линии известных молекул не перекрываются между собой, что позволяет проводить измерения практически при любых возможных сочетаниях компонентов в газовых смесях [20, 23].

Спектрометры, работающие на нестационарных эффектах – свободно затухающей поляризации, быстрого прохождения [20–22], обладают наилучшим приближением к теоретическому пределу чувствительности при разрешающей способности, ограниченной лишь доплер-эффектом, и могут регистрировать быстротекающие (порядка нескольких микросекунд) процессы. Наибольшей чувствительностью обладает спектрометр с фазовой модуляцией воздействующего на газ излучения [20]. В ИФМ РАН разработано и реализовано семейство газовых спектрометров субТГц и ТГц диапазонов, в качестве источника излучения в которых использованы лампы обратной волны (ЛОВ) или частотно- (фазово-) стабилизированный твердотельный генератор миллиметрового диапазона длин волн с множителем частоты на полупроводниковых сверхрешетках (ПСР) [20–24].

В качестве источника излучения спектрометра субТГц диапазона [23] использовалась ЛОВ. В результате взаимодействия фазоманипулированного (ФМ) излучения с резонансно поглощающими молекулами газа происходит

периодический процесс наведения и распада макроскопической поляризации молекул. Возникающие в результате этого переходные сигналы регистрируют и накапливают в приемной части спектрометра. По величине и форме этих сигналов с высокой точностью производится определение концентрации исследуемых компонент газовой смеси. В спектрометре используется система фазовой автоподстройки частоты (ФАПЧ) для автоматического контроля частоты ЛОВ и фазового сдвига, регистрации во временной области, усреднения и компьютерной обработки спектроскопического переходного сигнала. Прибор работает на принципах нестационарной микроволновой спектроскопии с регистрацией сигнала во времени. При этом могут быть реализованы два режима работы: измерения на фиксированной частоте и сканирующий режим. Анализ регистрируемых сигналов может проводиться не только во временной, но и в частотной области после применения преобразования Фурье к исходному сигналу.

Важным преимуществом ФМ-спектрометра является возможность выполнения кратковременных измерений (минимальное время измерений – 1 мкс). Экспериментальные исследования, проведенные с использованием ФМ-спектрометра, демонстрируют наилучшее приближение к теоретическому пределу чувствительности (при длине ячейки $l = 1$ м чувствительность составляет 5×10^{-10} см⁻¹), высокое частотное и временное разрешения. Точность измерения интенсивности линии поглощения (без предварительной калибровки) составляла менее 5%. Точность установки частоты составляет 10^{-9} от несущей. Принципиальная схема экспериментальной установки, использованной в работе, приведена на рис. 1.

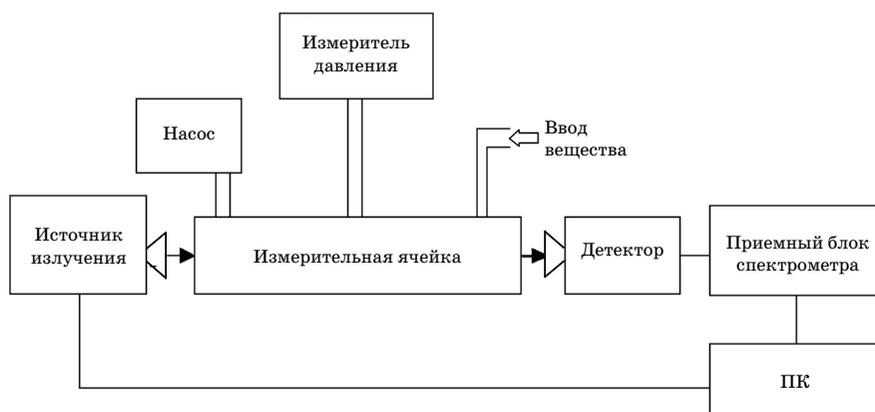


Рис. 1. Схема экспериментальной установки для анализа выдыхаемого воздуха.

В качестве излучения нестационарного спектрометра диапазона частот 0,1–2,5 ТГц [25–27] используются гармоники, получаемые при умножении частоты синтезатора на генераторе Ганна, работающего в диапазоне частот 89–117 ГГц, с применением умножителя на основе ПСР. Для получения фазовой модуляции (0, π) при произвольном номере гармоник, являющейся ключевой проблемой генерации, используется система фазовой стабилизации частоты генератора. Приемная система спектрометра на основе нестационарных эффектов работает в режиме, когда на вход детектора (смесителя) приходят одновременно два сигнала: сигнал свободно затухающей поляризации от исследуемых молекул и излучение от генератора, которое на резонансной частоте молекулярного поглощения взаимодействовало с молекулами [21]. При этом от детектора (смесителя) требуется высокое быстродействие, вызванное необходимостью регистрировать процессы молекулярной релаксации, следующие с высокой частотой повторения. В качестве детектора был выбран гармонический смеситель на ПСР. Показано [24], что оптимальным режимом работы (по шумам на выходе) ПСР в качестве смесителей в гетеродинном приемнике будет использование опорной частоты в диапазоне выше 120 ГГц. Приемный блок спектрометра реализован на основе цифрового рекурсивного фильтра первого порядка, собранного на одном кристалле фирмы ALTERA EPF10K130EQC240-1. Экспериментальные исследования показали, что твердотельный ТГц-спектрометр не уступает по своим характеристикам ФМ-спектрометру (чувствительность 5×10^{-10} см⁻¹ для $l = 1$ м, $T_{\text{измер}}/N_{\text{точек}} = 1$ с, минимальное время измерения 1×10^{-6} с).

В данной работе представлены результаты применения нестационарных спектрометров субТГц и ТГц диапазонов для решения задач неинвазивной медицинской диагностики.

1) Изучение динамики концентрации NO при проведении сеанса лучевой терапии у пациентов с онкологическим заболеванием. Было проведено моделирование многокомпонентной газовой смеси – аналога выдыхаемого воздуха для выбора аналитических линий. Из-за присутствия в выдыхаемом воздухе молекул кислорода, обладающих сильной реакционной способностью, возникает необходимость изучения возможных реакций молекул-маркеров (NO, NH₃) с кислородом. Используя метод ТГц

спектроскопии проведен эксперимент по определению времени протекания реакции окисления NO [27]. В клинических условиях были проведены исследования выдыхаемого воздуха у трех условно здоровых некурящих добровольцев и пяти пациентов, которым проводилась лучевая терапия по поводу онкологических заболеваний (рак легкого, лимфома Ходжкина). Отмечено полное отсутствие NO в выдыхаемом воздухе у здоровых лиц и появление данного вещества в выдохе пациентов, которым проводилась лучевая терапия. Отмечен существенный рост (в 2–5 раз) концентрации NO в выдыхаемом воздухе при ее измерении непосредственно (в течение 1 минуты) после сеанса облучения, что подтвердило гипотезу о роли данного соединения в развитии радиационно-индуцированного повреждения биологических тканей [28]. Результаты исследований выдыхаемого воздуха приведены в табл. 1. Проведенные предварительные измерения продемонстрировали возможности метода определения концентрации NO, играющего важную роль в метаболизме, в выдыхаемом воздухе. В дальнейшем предполагается поиск не только определенных маркеров, но и их комбинаций, что позволит более точно характеризовать конкретное патологическое состояние.

2) Неинвазивная диагностика и контроль эффективности лечения гастродуоденальной патологии, обусловленной Helicobacter pylori, по уреазному дыхательному тесту.

В рамках этой работы проводили измерения концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе (скрининговый тест), а также в пробе воздуха, забираемой с помощью специального эндоскопического оборудования непосредственно из желудка. Последняя процедура ставит своей целью не просто подтверждение наличия в желудке микроорганизма, но и высокоточную

Таблица 1. Результаты исследования выдыхаемого воздуха (NO) у условно здоровых некурящих добровольцев и пациентов больных раком легкого до и после лучевой терапии (ЛТ)

Пациенты	Коэффициент поглощения NO, см ⁻¹	Средняя концентрация NO, мол. %
Здоровые	$1,57 \times 10^{-8}$	0,0047
Больной до ЛТ	$4,0 \times 10^{-7}$	0,12
Больной после ЛТ	$7,5 \times 10^{-7}$	0,22

Таблица 2. Результаты исследования выдыхаемого воздуха (NH_3 , CH_3COCH_3) в образцах выдоха условно здоровых людей на частотах 140140,982 МГц и 132010,596 МГц, соответственно

№ образца	Коэффициент поглощения, см^{-1}	Концентрация, мол. %
NH_3		
№ 1	$1,3 \times 10^{-8}$	$2,1 \times 10^{-3}$
№ 2	$2,2 \times 10^{-8}$	$3,5 \times 10^{-3}$
№ 3	$2,0 \times 10^{-8}$	$3,1 \times 10^{-3}$
CH_3COCH_3		
№ 1	$1,0 \times 10^{-8}$	$8,47 \times 10^{-4}$
№ 2	$5,4 \times 10^{-9}$	$4,58 \times 10^{-4}$
№ 3	$2,6 \times 10^{-8}$	$2,20 \times 10^{-3}$

диагностику локализации *Helicobacter*, что весьма важно для назначения лечения и прогноза заболевания. Измерения концентраций аммиака проводились в диапазонах 115–185 ГГц и 500–1200 ГГц, в том числе и в модельной многокомпонентной смеси воздух + NH_3 с разными соотношениями концентраций компонентов. В клинических условиях были проведены исследования выдыхаемого воздуха у трех условно здоровых некурящих добровольцев с целью определения уровня концентрации аммиака. Результаты исследований выдыхаемого воздуха на аммиак приведены в табл. 2.

3) Диагностика диабета по наличию в выдохе человека ацетона. Проведены измерения линий поглощения ацетона (на частотах 132010,5 МГц, 614620,3 МГц) в многокомпонентной газовой смеси воздух – ацетон с разными концентрациями компонентов. Определен уровень концентрации ацетона на основе исследований выдыхаемого воздуха. Результаты исследований выдыхаемого воздуха на ацетон приведены в табл. 2.

4) Изучение возможности неинвазивной диагностики жизнеспособности трансплантантов (паренхиматозных органов) по спектру промывочной жидкости кустодиола. Исследования проводились с помощью ИК Фурье-спектроскопии и нестационарной спектроскопии субТГц диапазона.

Для анализа образцов в ИК области использовали Фурье-спектрометр Bruker TENSOR-27. Он представляет собой спектрометр среднего

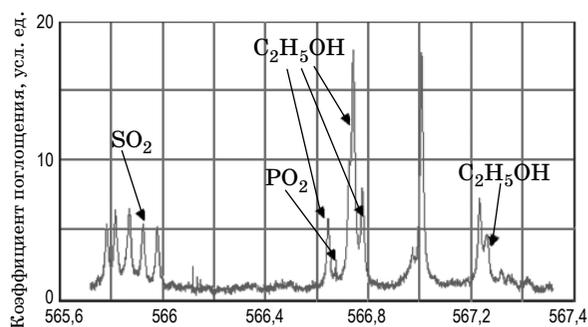


Рис. 2. Спектр поглощения кустодиола в диапазоне частот 565–568 ГГц.

ИК диапазона с осушаемой и герметичной оптикой, работающий в спектральном диапазоне 4,000–550 см^{-1} и оснащенный приставкой НПВО. Исследования проводились со спектральным разрешением 4 см^{-1} .

Процедура измерения заключалась в следующем. Измерительная ячейка очищалась спиртом, после чего регистрировался фоновый спектр. Капля исследуемого образца помещалась в измерительную ячейку и записывался спектр образца в жидкой фазе. Через несколько часов, когда капля полностью высыхала с образованием пленки снова производилась запись ИК-спектра. В качестве исследуемых образцов были взяты: чистый кустодиол, кустодиол после промывания органа (почки) спустя 5 мин, 2 и 4 часов. В результате исследований в ИК-спектрах кустодиола после промывания почки обнаружены две линии поглощения, отсутствующие в спектре чистого кустодиола. Предположительно, эти линии могут соответствовать колебаниям группировок, включающих атомы серы и фосфора.

Для повышения достоверности анализа измерения проводили в трех частотных диапазонах: 565–568, 571–572 и 573–574 ГГц. Целью этих работ было выявление роли воды в спектрах, а также обнаружение линий поглощения веществ, которые могли бы служить маркерами состояния исследуемого органа. Во всех пробах кустодиола были идентифицированы $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, SO_2 , PO_2 (рис. 2). В результате исследований была выявлена динамика изменения интенсивности спектральных линий в зависимости от времени промыва. Проведенные измерения продемонстрировали возможности спектроскопических методов для определения жизнеспособности трансплантантов.

Проведенные исследования показали преимущество метода нестационарной газовой спектроскопии субТГц и ТГц диапазонов частот и возможности его применения для медицинской диагностики на примере анализов выдыхаемого воздуха (измерения концентрации NO, аммиака, ацетона) и кустодиола, использованного при промывании почек.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 10-08-01124-а, проекта TeraDec, Программы Президиума РАН “Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов” и проекта “Квантовые когерентные наноструктуры для приема и генерации электромагнитного излучения терагерцового диапазона”.

* * * * *

ЛИТЕРАТУРА

1. Степанов Е.В. Методы высокочувствительного газового анализа молекул-биомаркеров в исследованиях выдыхаемого воздуха // Труды Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН. 2005. Т. 61. С. 5–47.
2. Скрупский В.А. Эндогенные летучие соединения – биологические маркеры в физиологии и патологии человека и методы их определения // Научно-технический отчет. Институт Океанологии РАН. 1994. 75 с.
3. Phillips M. Breath Tests in Medicine // Sci. Amer. 1992. July. P. 74–79.
4. Higenbottam T. Lung disease and pulmonary endothelial nitric oxide // Exp. Physiol. 1995. V. 80. P. 855–864.
5. Alving K., Weitzberg E., Lundberg J.M. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics // Eur. Respir. J. 1993. V. 6. P. 1368–1370.
6. Taylor D.R., Pijnenburg M.W., Smith A.D., Jongste J.C.D. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation // Thorax. 2006. V. 61. P. 817–827.
7. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет // М.: Универсум паблишинг, 2003. 456 с.
8. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. Сахарный диабет: патогенез, классификация, диагностика и лечение: Пособие для врачей // М., 2003. 170 с.
9. Joslin’s Diabetes Mellitus / Fourteenth Edition by C. Ronald Kahn. Lippincott Williams & Wilkins. 2005. 1209 p.
10. Березкин В.Г. Газо-жидко-твердофазная хроматография. М.: Химия, 1986. 112 с.
11. Kage S., Kudo K., Ikeda N. Determination of nitrate in blood by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry // Journal of Chromatography – Biomedical Applications. 2000. V. 742. № 2. P. 363–368.
12. Larstad M., Loh C., Ljungkvist G., Olin A.C., Toren K. Determination of ethane, pentane and isoprene in exhaled air using a multi-bed adsorbent and end-cut gas-solid chromatography // The Analyst. 2002. V. 127. № 11. P. 1440–1445.
13. Mamyrin B.A. Time-of-flight mass spectrometry (concepts, achievements, and prospects) // International Journal of Mass Spectrometry. 2001. V. 206. № 3. P. 251–266.
14. Carrick W.A., Cooper D.B., Muir B. Retrospective identification of chemical warfare agents by high-temperature automatic thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry // Journal of Chromatography A. 2001. V. 925. P. 241–249.
15. Kharintsev S.S., Hoffmann G.G., Loos J., De With G., Dorozhkin P.S., Salakhov M.Kh. Subwavelength-resolution near-field Raman spectroscopy // Journal of Experimental and Theoretical Physics. 2007 V. 105. № 5. P. 909–915.
16. Zheng J., Tang Zh., He Y., Guo L. Sensitive detection of weak absorption signals in photoacoustic spectroscopy by using derivative spectroscopy and wavelet transform // Journal of Applied Physics. 2008. V. 103. № 9. P. 093116-(1-4).
17. Pushkarsky M.B., Webber M.E., Patel C.K.N. Ultra-sensitive ambient ammonia detection using CO₂-laser-based photoacoustic spectroscopy // Applied Physics B: Lasers and Optics. 2003. V. 77. № 4. P. 381–385.
18. Yan W.-B. Trace gas analysis by diode laser cavity ring-down spectroscopy // Test and Measurement Applications of Optoelectronic Devices, Proc. SPIE. 2002. V. 4648. P. 156–164.

19. *Feng J., Raynor M., Chen Yu.* Spectroscopy exposes trace-water contamination in process gases // Technology Equipment Update. Compound Semiconductor. October. 2007. P. 31–33.
 20. *Vaks V.L., Brailovsky A.B., Khodos V.V.* Millimeter Range Spectrometer with Phase Switching – Novel Method for Reaching of the Top Sensitivity // Infrared & Millimeter Waves. 1999. V. 20. № 5. P. 883–896.
 21. *Vaks V.L., Khodos V.V., Spivak E.V.* A nonstationary microwave spectrometer // Review of Scientific Instruments. 1999. V. 70. № 8. P. 3447–3453.
 22. *Khodos V.V., Ryndyk D.A., Vaks V.L.* Fast passage microwave molecular spectroscopy with frequency sweeping // J. Appl. Phys. 2004. V. 25. P. 203.
 23. *Вакс В.Л., Домрачева Е.Г., Никифоров С.Д., Собакинская Е.А., Черняева М.Б.* Применение микроволновой нестационарной спектроскопии для неинвазивной медицинской диагностики // Изв. вузов. Радиофизика. 2008. Т. 51. № 6. С. 490–498.
 24. *Вакс В.Л., Панин А.Н., Басов С.А., Иллюк А.В., Приползин С.И., Павельев Д.Г., Кошуринов Ю.И.* Нестационарная спектроскопия диапазона частот 1–2,5 ТГц на твердотельных устройствах // Изв. вузов. Радиофизика. 2009. Т. 52. № 7. С. 569–575.
 25. *Вакс В.Л., Кошуринов Ю.И., Павельев Д.Г., Панин А.Н.* Разработка и создание системы фазовой синхронизации в субтерагерцовом и терагерцовом частотных диапазонах по гармонике сигнала синтезатора сантиметрового диапазона // Изв. вузов. Радиофизика. 2005. Т. 48. № 10–11. С. 933–938.
 26. *Vaks V.L., Panin A.N., Paveliev D.G., Koshurinov U.I.* Generation of high stable wide-range THz radiation for precise frequency measurements // Proceedings of 33rd International Conference on Infrared, Millimeter and Terahertz Waves, Pasadena, California, USA. 2008. M4B3. 1560.
 27. *Вакс В.Л., Домрачева Е.Г., Никифоров С.Д., Собакинская Е.А., Черняева М.Б.* Метод микроволновой нестационарной газовой спектроскопии для неинвазивной медицинской диагностики // Биомедицинские технологии и радиоэлектроника. 2008. Т. 5. С. 9–14.
 28. *Sagar M.S., Singh G., Hodson D.I., Whitton A.C.* Nitric oxide and anti-cancer therapy. Cancer Treatment Reviews. 1995. V. 21. P. 159–181.
-