

DOI: 10.17586/1023-5086-2022-89-04-80-90

УДК 535.343.4+616-006.04

Применение метода терагерцовой газовой спектроскопии высокого разрешения для анализа состава продуктов термического разложения биологических жидкостей (урины) человека

В. Л. ВАКС¹, Е. Г. ДОМРАЧЕВА², М. Б. ЧЕРНЯЕВА³,
В. А. АНФЕРТЬЕВ⁴, А. В. МАСЛЕННИКОВА⁵, А. В. ЖЕЛЕЗНЯК⁶,
Т. Д. КНЯЗЕВА⁷, М. А. РОДИОНОВ⁸, А. И. МАЙОРОВ⁹

^{1, 2, 3, 4}Институт физики микроструктур РАН, Нижний Новгород, Россия

^{3, 5, 7, 8, 9}Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

⁵Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

⁶Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, Нижний Новгород, Россия

Адрес для переписки: Мария Борисовна Черняева masha@ipmras.ru

Аннотация

Предмет исследования. В работе исследован состав продуктов термического разложения образцов биологических жидкостей урины, взятых до и после проведения химиотерапии у пациентов с онкологическими заболеваниями, с целью выявления маркеров, отражающих воздействие платиносодержащей химиотерапии, в том числе нефротоксическое, на организм человека. **Метод.** Перспективным подходом для исследования многокомпонентных газовых смесей различного происхождения, в том числе биологического, является молекулярная спектроскопия поглощения, в частности нестационарная спектроскопия терагерцового частотного диапазона. В терагерцовом частотном диапазоне (0,100–10 ТГц) лежат линии вращательного спектра, а также низкочастотные колебательные спектры молекул. При детектировании излучения, прошедшего через газообразный образец, в спектре регистрируются линии поглощения, являющиеся однозначной характеристикой конкретных веществ. По наличию этих линий поглощения можно говорить о присутствии данных веществ в исследуемой многокомпонентной газовой смеси, а, следовательно, выявить потенциальные маркеры патологий, заболеваний и маркеры, характеризующие эффекты различного воздействия на организм человека, включая медикаментозное. **Основные результаты.** Выявлена совокупность метаболитов, появляющихся при термическом разложении образцов, проведено сравнение состава газообразных продуктов терморазложения урины больных и условно здоровых добровольцев, а также состава продуктов терморазложения образцов урины, взятых у пациентов с онкологическими заболеваниями до и после проведения химиотерапии. **Практическая значимость.** Представленный подход является перспективным для разработки метода неинвазивного исследования, позволяющего оценить воздействие химиотерапии на организм человека.

Ключевые слова: спектроскопия высокого разрешения, терагерцовый частотный диапазон, метаболиты, урина, платиносодержащая химиотерапия

Благодарность: работы по разработке и реализации спектрометра с быстрым прохождением частоты выполнены за счёт гранта Российского научного фонда № 21-19-00357, <https://rscf.ru/project/21-19-00357/>; исследования состава продуктов термического разложения образцов урины условно здоровых добровольцев и онкологических пациентов до и после химиотерапии выполнены за счёт гранта Российского научного фонда № 21-72-30020, <https://rscf.ru/project/21-72-30020/>.

Ссылка для цитирования: Вакс В.Л., Домрачева Е.Г., Черняева М.Б., Анфертьев В.А., Масленникова А.В., Железняк А.В., Князева Т.Д., Родионов М.А., Майоров А.И. Применение метода терагерцовой газовой спектроскопии высокого разрешения для анализа состава продуктов термического разложения биологических жидкостей (урины) человека // Оптический журнал. 2022. Т. 89. № 4. С. 80–90. DOI: 10.17586/1023-5086-2022-89-04-80-90

Коды OCIS: 300.6495, 300.6390, 300.6320, 170.1470.

ВВЕДЕНИЕ

В современных медицинских исследованиях наблюдается тенденция к диагностике заболеваний и патологий, а также воздействия проводимой терапии на организм человека на основе выявления метаболического профиля заболевания, т.е. набора метаболитов — конечных или промежуточных продуктов обмена веществ в организме человека, специфичных для данного заболевания. Поиск биомаркеров возможен в выдыхаемом воздухе, а также в биологических жидкостях (крови, урине, слюне и др.), и зачастую это более информативно, т.к. вещества могут содержаться в них в больших концентрациях [1, 2]. Биологические жидкости наиболее быстро реагируют на изменение состояния человека. Это используется и в медицинских клинических анализах (первичными анализами при постановке диагноза и контроле лечения являются общие анализы мочи и крови), а также при метаболическом подходе (при применении в исследованиях различных физико-химических методов: газовой хроматографии, масс-спектрометрии, спектроскопических методов). Например, при исследовании образцов крови (как жидкой — капиллярной и плазмы, так и высушенной в виде таблеток) людей и грызунов (условно здоровых и больных диабетом) с помощью нескольких спектроскопических методов было выявлено и отличие в спектрах диэлектрических характеристик образцов больных и здоровых биологических объектов, и отличие образцов крови в составе продуктов терморазложения [3–5]. В последнее время для выявления биомаркеров наблюдается тренд к переходу от анализа состава крови к анализу состава урины, поскольку в последнем случае проще пробоотбор и пробоподготовка образца биологической жидкости, кроме того, биомаркеры подвержены меньшей трансформации [6]. Кроме того, подтверждена более высокая информативность урины по сравнению с выдыхаемым возду-

хом, где вещества находятся в следовых концентрациях, для такого биомаркера диабета, как ацетон [7]. В мировой литературе появились публикации по выявлению биомаркеров различных онкологических заболеваний путём исследования образцов урины методами газовой хроматографии, совмещённой с масс-спектрометрией [8, 9].

Перспективным подходом для исследования многокомпонентных газовых смесей различного происхождения, в том числе биологического, является молекулярная спектроскопия поглощения, в частности нестационарная спектроскопия терагерцового (ТГц) частотного диапазона. В ТГц частотном диапазоне (0,100–10 ТГц) лежат линии вращательного спектра, а также низкочастотные колебательные спектры молекул. При детектировании излучения, прошедшего через газообразный образец, в спектре регистрируются линии поглощения, являющиеся однозначной характеристикой конкретных веществ. По наличию этих линий поглощения можно говорить о присутствии данных веществ в исследуемой многокомпонентной газовой смеси, а, следовательно, выявить потенциальные маркеры патологий, заболеваний и маркеры, характеризующие эффекты различного воздействия на организм человека, включая медикаментозное.

Любое патологическое состояние организма, в том числе экзогенная или эндогенная интоксикация, приводит к повышению содержания различных химических веществ. К ним относятся такие соединения как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), триеновые конъюгаты, альдегидные и кетонные группы карбонильных производных белков, дитиозин, триптофан, тиоловые группы белков и другие соединения [10]. Одним из наиболее востребованных медицинских приложений метода терагерцовой спектроскопии может стать мониторинг функции почек у пациентов, получающих нефроток-

сичную химиотерапию по поводу онкологических заболеваний. Современная клиническая оценка изменений функции почек ограничена проведением стандартных лабораторных анализов (биохимический анализ крови, общий анализ мочи), требует процедуры забора крови и отражает ситуацию уже сформировавшейся недостаточности функции соответствующего органа. При этом отсутствуют методы, позволяющие предсказать тяжесть побочных эффектов лечения у конкретного пациента в короткие сроки после начала лечения до появления клинически значимых изменений лабораторных показателей.

Предполагается, что определение продуктов интоксикации в ранние сроки после начала проведения химиотерапии позволит выявить «тонкие» нарушения метаболизма, которые не найдут ещё отражения в стандартных клинических анализах. Сопоставление динамики изменений концентрации соответствующих метаболитов и степени тяжести возникших побочных эффектов позволят выделить группы пациентов с тем или иным риском развития осложнений лечения тяжелой степени. Это позволит проводить раннюю и более интенсивную коррекцию именно у больных с высоким риском побочных эффектов. Однако в современной литературе публикаций, посвященных поиску метаболитов, отражающих

влияние химиотерапии на организм пациента, к настоящему времени не найдено.

Целью исследования было применение метода ТГц нестационарной спектроскопии высокого разрешения для изучения характерной совокупности метаболитов продуктов термозлаживания урины условно здоровых добровольцев и онкологических пациентов для выявления маркеров, отражающих воздействие платиносодержащей химиотерапии, в том числе нефротоксическое, на организм человека.

МЕТОД ТГЦ СПЕКТРОСКОПИИ НА ЭФФЕКТЕ СВОБОДНО ЗАТУХАЮЩЕЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ

Метод ТГц спектроскопии на эффекте свободно затухающей поляризации заключается в следующем: если в образце газа создаётся поляризация в резонансных условиях, то после вывода генератора из резонанса волна поляризации будет излучать ту же самую моду поля, которая её возбудила. Это реализуется с помощью периодического переключения фазы или частоты зондирующего излучения, резонансно взаимодействующего со средой, и приводит к процессам нестационарного излучения и поглощения, то есть к периодическому появлению и распаду наведённой макроскопической поляризации. Приборы реализованы

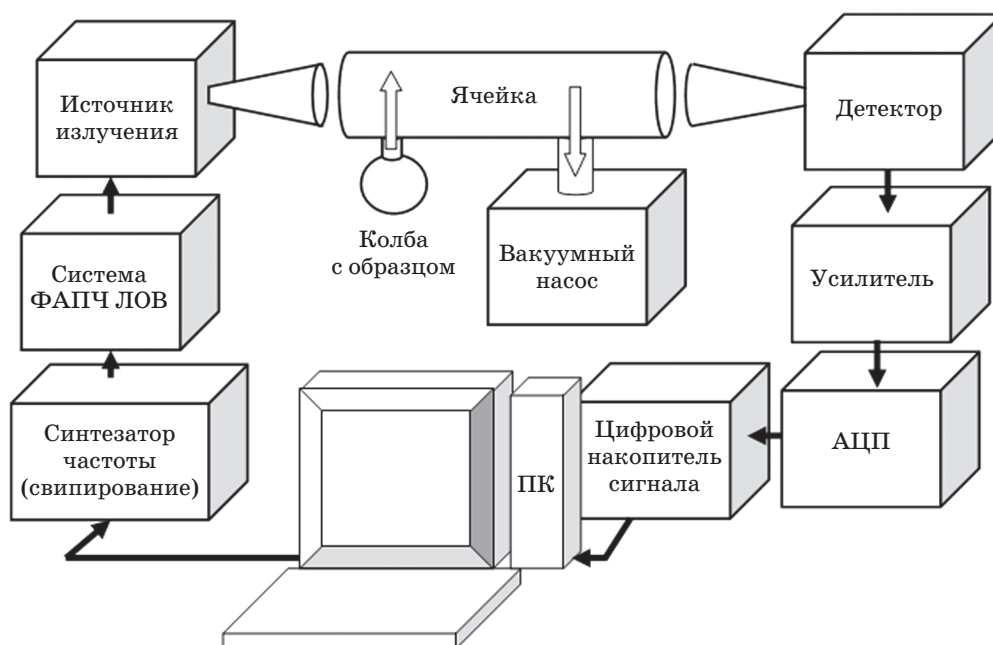


Рис. 1. Спектрометр с быстрым прохождением частоты.

в двух видах: спектрометр с фазовой манипуляцией воздействующего излучения и спектрометр с быстрым свипированием частоты [11]. Подход на основе быстрого прохождения частоты (свипирования) через линию поглощения [12] реализован в спектрометре 2-миллиметрового диапазона с источником излучения на лампе обратной волны 118–178 ГГц (0,118–0,178 ТГц). Быстрое свипирование позволяет осуществлять регистрацию всех линий поглощения во всем диапазоне частот спектрометра и определять наличие сразу нескольких веществ. Блок-схема спектрометра с быстрым свипированием частоты представлена на рис. 1.

Сигнал источника, частота которого быстро свипируется, переносится в диапазон частот источника излучения при помощи широкополосной системы фазовой автоподстройки частоты (ФАПЧ). С помощью компьютера (ПК) осуществляется управление диапазонами частот. Излучение проходит через ячейку с образцом исследуемого газа, взаимодействует с ним и поступает на детектор. Сигнал с детектора усиливается усилителем и оцифровывается с помощью аналого-цифрового преобразователя (АЦП). Этот сигнал содержит информацию о линиях поглощения веществ образца исследуемой газовой смеси, присутствующих в диапазоне частотного свипирования. Далее цифровой сигнал накапливается в накопителе, чтобы уменьшить шумы приёмника и тем самым повысить чувствительность спектрометра. С накопителя сигнал поступает в компьютер, где происходит его обработка и дальнейшее накопление.

Диапазон частот от 118 до 178 ГГц (0,118–0,178 ТГц) шириной в 60 ГГц проходит спектрометром за 30 с. Чувствительность по регистрируемому коэффициенту поглощения при длине ячейки 1 м составляет от 10^{-7} см до $1,5 \times 10^{-8}$ см $^{-1}$.

ПРЕДМЕТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служили образцы урины четырёх пациентов, которые получали химиотерапевтическое лечение по поводу злокачественных новообразований в Нижегородском областном онкологическом диспансере. Сведения о пациентах представлены в табл. 1. Включались пациенты, которые ранее не получали химиотерапии, не имеющие нарушения функции почек по результатам рутинных клинических анализов (анализ мочи, общий анализ крови, уровень креатинина плазмы). Все пациенты получали платиносодержащую терапию (вид указан в табл. 1). Особенностью профиля токсичности данной группы цитостатических препаратов является высокий риск развития повреждения почек и развития почечной недостаточности (нефротоксичность). Образцы урины забирались накануне проведения химиотерапии и на следующий день после процедуры. Пациенты были предупреждены о необходимости соблюдения диеты и недопустимости приема алкоголя в течение всего курса химиотерапии. До начала химиотерапии и на следующий день после её окончания пациентам проводили общий анализ крови, биохимическое исследование крови и общий анализ мочи.

Таблица 1. Характеристики пациентов и уровень креатинина в крови до/после химиотерапии

№	Пол, возраст	Диагноз, стадия	Тип химиотерапии	Клиренс креатинина mL/min/BSA*
1	Ж, 71 г	Рак яичников T2bN0M0, II	PaC	60
2	М, 68 л	Рак гортаноглотки справа cT2-3N2bM0 G3 IVст	PaC	92
3	Ж, 31 г	Опухоль шишковидной железы промежуточной степени дифференцировки (GradeIII)	Этопозид + цисплатин	98
4	Ж, 61 г	Рак тела матки с T 3aN1 M0 IIIст	PaC	79

*BSA = BodySurfaceArea.

Кроме этого, проводилось сравнение состава продуктов терморазложения образцов урины пациентов с онкологией с составом образцов урины двух условно здоровых добровольцев.

Пробоподготовка образца осуществлялась следующим образом: образец объёмом 1–2 мл наливался в колбу, затем проводилось обезвоживание образца, поскольку имеющаяся в образце в больших количествах вода, несмотря на отсутствие линий поглощения в рабочем диапазоне спектрометра, мешает проведению спектроскопических измерений с целью выявления веществ, находящихся в образце в следовых концентрациях. Для обезвоживания жидкого образца использовалась криогенная ловушка с жидким азотом. При этом образец вымораживался, большая часть воды удалялась, в колбе с образцом образовывалась тонкая плёнка или кристаллизованный остаток. Летучие вещества из образовавшегося остатка сначала без нагрева, а потом и с нагревом, напускались в измерительную ячейку, которая предварительно откачивалась до давления 10^{-3} мбар. Рабочее давление в ячейке составляло 5×10^{-2} – 1×10^{-1} мбар. Перед напуском смеси продуктов термораспада в ячейку прописывался весь диапазон спектрометра без напуска, запись которого использовалась для выявления линий поглощения как фоновая.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Проводились измерения спектров поглощения продуктов терморазложения урины, взятой у одного и того же пациента до проведения химиотерапии и после. Затем выявлялись линии поглощения, идентифицировались с помощью электронных каталогов [13, 14] и проводился анализ данных полученного состава для выявления изменений. Коэффициент поглощения (в см^{-1}) пропорционален концентрации вещества при условии одной и той же ширины линии (что определяется доплеровским и в большей мере столкновительным уширением), для которой теоретически оценивается коэффициент поглощения для 100%-й концентрации (когда всё рабочее давление в ячейке создаётся именно данным веществом). В определённом диапазоне (выбираемом для проведения измерений, или во всём рабочем диапазоне спектрометра) лежат строго фиксированные

линии поглощения для конкретных веществ, которые служат однозначными признаками присутствия данного вещества в исследуемой многокомпонентной газовой смеси. Поэтому для качественного анализа изменений состава (возрастания или убывания относительной концентрации веществ от образца к образцу) можно подсчитывать количество линий, зарегистрированных в измерениях спектра многокомпонентной газовой смеси продуктов терморазложения урины для конкретного образца при проведении измерений в одних и тех же условиях (одинаковое количество жидкого образца в колбе до обезвоживания, поддержание рабочего давления в ячейке на определённом уровне, один и тот же этап нагрева обезвоженного образца). При большем значении относительной концентрации определённого вещества в смеси продуктов термораспада исследуемого образца относительно другого образца будут регистрироваться более слабые линии поглощения (имеющие меньшую интегральную интенсивность), а значение максимума у сильных линий возрастёт. Значит, увеличение или уменьшение количества линий поглощения позволяет сделать вывод об увеличении или уменьшении концентрации данного вещества от образца к образцу. Часть веществ присутствует в продуктах терморазложения урины всегда, независимо от состояния здоровья добровольца. Некоторые вещества (аммиак, сероводород) имеют в рабочем диапазоне спектрометра только одну линию поглощения, которые всегда регистрируются при сканировании диапазона при напуске смеси. Изоциановая кислота (HNCO) имеет около 70 линий поглощения с интегральной интенсивностью больше, чем $10^5 \text{ нм}^2 \text{ МГц}$ (или 106 линий поглощения с интегральной интенсивностью больше, чем $10^6 \text{ нм}^2 \text{ МГц}$) в диапазоне 118–175 ГГц, часть из которых расположены ближе, чем позволяет разрешение спектрометра (ограниченное уширением линий, имеющей фойгтовский профиль поглощения, учитывающий как уширение вследствие давления, так и доплеровское уширение), поэтому в рабочем диапазоне обычно регистрируется 17 линий поглощения (или 18 линий, если концентрация при распаде HNCO увеличилась и можно зарегистрировать совокупность близлежащих линий вблизи 153,579 ГГц, имеющих интегральную интен-

Таблица 2. Вещества, выявленные в образцах урины онкопациентов и условно здоровых добровольцев

Вещество	Название	Образцы пациентов с онкологией								Образцы условно здоровых добровольцев	
		1		2		3		4			
		До ХТ	После ХТ	До ХТ	После ХТ	До ХТ	После ХТ	До ХТ	После ХТ	1	2
H ₂ S, ν = 0	сероводород	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
NH ₃ , ν ₂ = 1	аммиак	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
HNCO, ν = 0	изоциановая кислота	17	17	12	14	17	16	18	17	17	17

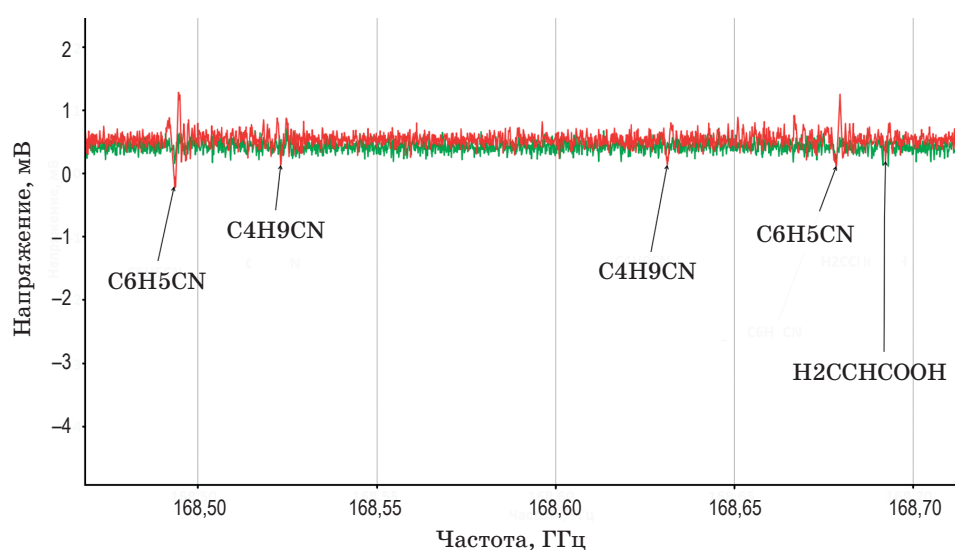


Рис. 2. Запись участка спектра газовой смеси продуктов термического разложения урины пациента до химиотерапии (зелёный) и после химиотерапии (красный) с линиями поглощения акриловой кислоты ($\text{H}_2\text{CCHCOOH}$) $f_{\text{exp}} = 168,6923$ ГГц ($f_{\text{cat}} = 168,6926181$ ГГц $\lg I = -4,6013\ 20\ 12\ 8 \leftarrow 20\ 11\ 9$ [13, 14]) и нитрилов: бензонитрила ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CN}$) с центральными частотами $f_{\text{exp}} = 168,4934$ ГГц ($f_{\text{cat}} = 168,4939350$ ГГц $\lg I = -4,8488\ 61\ 54\ 7 \leftarrow 60\ 54\ 6$ [13, 14]) и $f_{\text{exp}} = 168,6786$ ГГц ($f_{\text{cat}} = 168,6780555$ ГГц $\lg I = -3,4242, 60\ 16\ 45 \leftarrow 59\ 16\ 44$ [13, 14]); пентаннитрила ($\text{C}_4\text{H}_9\text{CN}$) с центральными частотами $f_{\text{exp}} = 168,6313$ ГГц ($f_{\text{cat}} = 168,6313272$ ГГц $\lg I = -5,2088\ 23\ 17\ 7 \leftarrow 22\ 16\ 7$ [13, 14]) и $f_{\text{exp}} = 168,5232$ ГГц ($f_{\text{cat}} = 168,5233042$ ГГц $\lg I = -5,7815\ 107\ 68\ 39 \leftarrow 107\ 67\ 40$ [4, 5]) и $f_{\text{cat}} = 168,5233052$ ГГц $\lg I = -5,7815\ 107\ 68\ 40 \leftarrow 107\ 67\ 41$ [13, 14]).

сивность порядка $10^{-5,3}$ нм²МГц). Пример таких веществ по образцам до и после химиотерапии представлен в табл. 2.

Часть веществ имеют разное число линий, т.е. их концентрация меняется в образцах до и после химиотерапии.

Пример записи участка спектра многокомпонентной газовой смеси продуктов термического разложения урины пациента (2) до химиотерапии (зелёный) и после химиотерапии (красный) вблизи 168 ГГц с линиями поглоще-

ния акриловой кислоты, бензонитрила и пентаннитрила, появляющимися после химиотерапии, приведён на рис. 2.

Примеры веществ, концентрация которых в образцах до и после химиотерапии меняется, приведены в табл. 3. Жёлтым выделены вещества, концентрация которых для конкретного пациента возрастает после химиотерапии, а голубым — уменьшается.

Графики, иллюстрирующие относительное изменение содержания веществ в образцах

Таблица 3. Вещества, концентрация которых в образцах до и после химиотерапии меняется

Вещество Название	Образец 1		Образец 2		Образец 3		Образец 4	
	До ХТ	После ХТ	До ХТ	После ХТ	До ХТ	После ХТ	До ХТ	После ХТ
$\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$, $\nu = 0$ гидроксиацетон	2	11	0	3	0	0	2	0
$\text{C}_3\text{O}_3\text{H}_6$, $\nu = 0$ дигидроксиацетон	4	6	2	2	4	1	5	1
<i>s-cis</i> - $\text{H}_2\text{CCHCOOH}$, $\nu = 0$ акриловая кислота	3	3	0	3	0	2	0	1
<i>g-i</i> - $\text{C}_3\text{H}_7\text{OH}$, $\nu = 0$ пропанол	3	2	0	0	1	2	5	1
<i>aG'g</i> - $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{OH}$, $\nu = 0$ пропандиол	8	29	5	7	4	12	6	15
<i>c</i> - $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, $\nu = 0$ фенол	0	4	0	2	3	3	2	0
CH_3OCHO , $\nu_t = 0, 1$ метилформиат	1	4	0	0	0	1	3	2
<i>s</i> - $\text{C}_2\text{H}_5\text{CHO}$, $\nu = 0$ пропаналь	3	6	2	0	0	3	1	3
<i>n</i> - $\text{C}_3\text{H}_7\text{CN}$, $\nu = 0$ бутиронитрил	1	4	0	0	2	1	0	1
<i>i</i> - $\text{C}_3\text{H}_7\text{CN}$, $\nu = 0$ изобутиронитрил	1	4	0	0	1	2	1	1
<i>GA-n</i> - $\text{C}_4\text{H}_9\text{CN}$, $\nu = 0$ пентаннитрил	9	10	4	6	4	7	3	5
<i>c</i> - $\text{C}_6\text{H}_5\text{CN}$, $\nu = 0$ бензонитрил	4	6	1	7	4	5	7	7
$\text{C}_2\text{H}_5\text{CHCNCH}_3$, $\nu = 0$ метилбутиронитрил	5	13	4	6	2	7	9	4
CH_3CN , $\nu = 0$ ацетонитрил	0	6	0	1	0	0	4	0
HSCH_2CN , $\nu = 0$ меркаптоацетонитрил	0	2	0	0	1	0	0	3
$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $\nu = 0$ аминопропионитрил	0	8	0	5	2	1	0	1
$\text{H}_2\text{C}(\text{CN})_2$, $\nu = 0$ малоновый нитрил	0	3	0	0	0	0	0	0
CH_3SH , $\nu = 0, 1, 2$ метилмеркаптан	2	1	0	4	0	0	0	0
$\text{CH}_3\text{CHNH}_2\text{COOH}$, $\nu = 0$ аланин	3	10	0	1	2	5	8	5
$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $\nu = 0$ моноэтаноламин	2	7	0	1	1	0	4	1
$\text{H}_2\text{NCO}_2\text{CH}_3$, $\nu = 0$ метилкарбамат	1	3	2	1	0	3	2	2
<i>gG'g'</i> -(CH_2OH) ₂ , $\nu = 0$ этиленгликоль	2	5	3	4	2	3	3	5
(<i>Z</i>)- HC_2CHCHCN , $\nu = 0$ циановинилацетилен	3	6	0	2	0	1	0	0
SO_2 , $\nu = 0$ оксид серы	0	4	0	14	0	0	11	0
OCS , $\nu = 0$ сероокись углерода	4	4	0	3	4	3	4	4

урины пациентов с онкологией до и после химиотерапии, а также сравнение содержания веществ в образцах с составом образца условно здорового добровольца представлены на рис. 3. Для всех образцов (а для трёх особенно заметно) возрастает концентрация пропандиола, для ряда образцов возрастает концентрация нитрилов (пентаннитрила, метилбутиронитрила), для двух образцов существенно возрастает концентрация оксида серы.

Возможным объяснением присутствия нитрилов в образцах урины после проведения химиотерапии является появление в ней продуктов разложения белка, который в норме

в урине отсутствует. Анализ литературных данных показал, что нагрев отдельных аминокислот, входящих в состав белков, может сопровождаться появлением нитрилов в продуктах терморазложения. Например, распад *L*-Cystine $[\text{HOOCCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{S}]_2$ при нагреве до величин в диапазоне 200–240 °С сопровождается появлением ацетонитрила [15]. А одним из белков, которые появляются в урине при протеинурии является, например, белок Тамма–Хорсфалла (ТХП) или уромудулин, который состоит из 616 аминокислотных остатков, среди которых 48 цистеинов, образующих 24 сульфидных мостика [16].

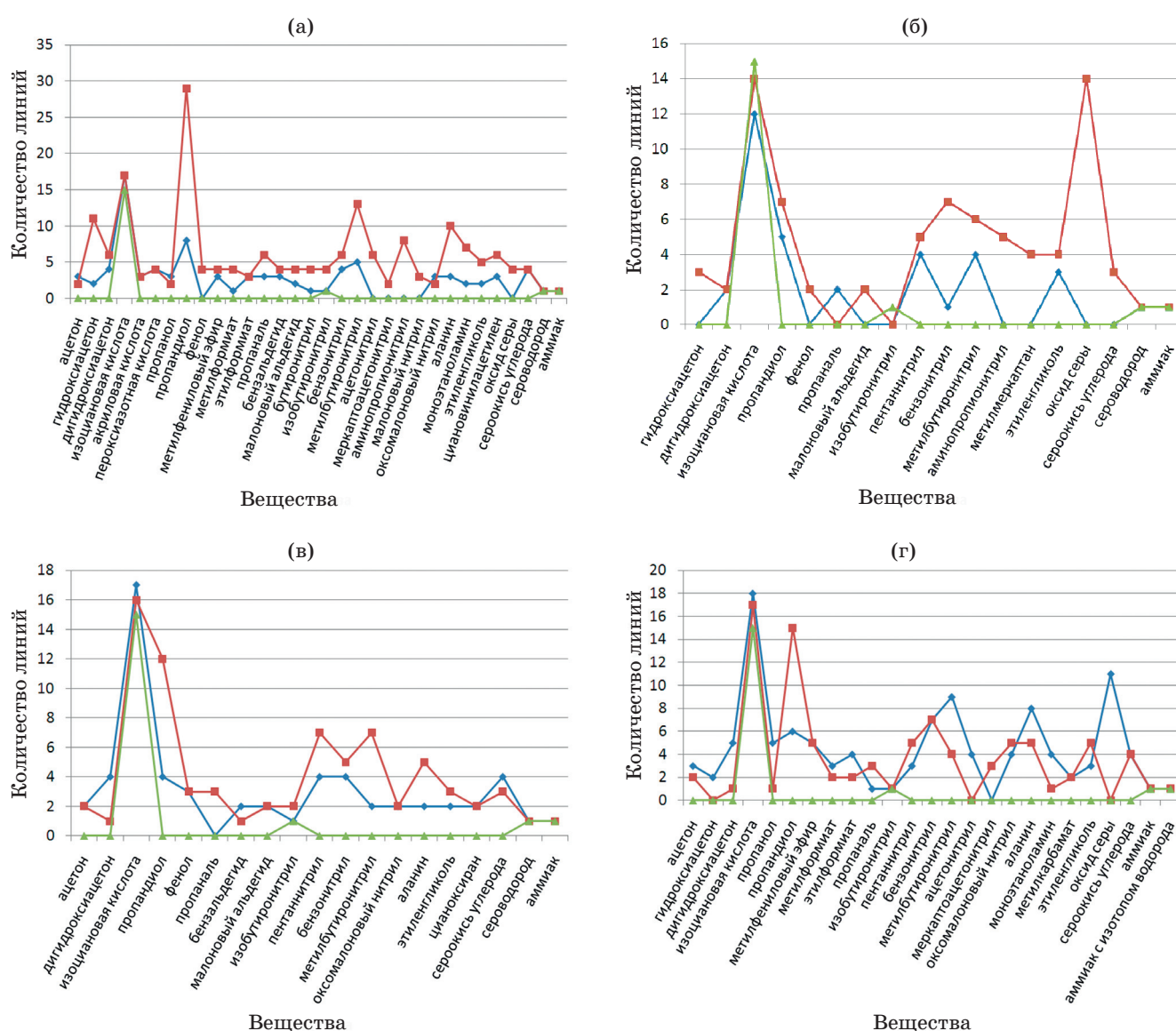


Рис. 3. Сравнение количества линий в образцах 1 (а), 2 (б), 3 (в), 4 (г) урины пациентов с онкологией до химиотерапии (синий), после химиотерапии (красный) и условно здорового добровольца (зелёный).

Каждая субъединица ТХП содержит приблизительно 50 остатков цистина, которые участвуют в образовании дисульфидных связей [17]. Недавние исследования показали иммуномодулирующее воздействие ТХП на иммунные клетки, а также что ТХП можно рассматривать в качестве биомаркера хронических и острых заболеваний почек [18].

Появление серосодержащих соединений таких, как сероводород и метилмеркаптан, может быть обусловлено термическим распадом серосодержащих аминокислот (метионин, цистеин, цистин), что может быть также связано с термораспадом белков в составе урины. При нагреве серосодержащих аминокислот метионина, цистеина, цистина до температуры порядка 240 °C в масс-спектре этих веществ был зафиксирован сероводород, преимущественно у цистина и цистеина, у метионина — в гораздо меньших количествах, кроме того, метионин при термическом разложении является источником метилмеркаптана и аммиака, а цистин может быть источником ацетонитрила (CH_3CN) [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение можно сделать вывод, что выявление разницы в составе метаболитов, содержащихся в продуктах терморазложения урины, вероятно связанных с воздействием химиотерапии на организм пациента, является уникальным результатом. Развитие диагностических методов на основе анализа спектров продуктов терморазложения урины является перспективным подходом, поскольку позволяет отследить изменения, недоступные для обычного клинического анализа, в том числе на ранних стадиях проявлений патологических процессов, что, учитывая возможность нефротоксического воздействия проводимой химиотерапии, особенно важно для корректировки протокола лечения. Использование ТГц нестационарной спектроскопии высокого разрешения позволяет провести качественный анализ состава метаболитов биологического объекта, содержащихся в биологических жидкостях, а также выявить изменения состава при внешних воздействиях.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Amann A., de Lacy Costello B., Miekisch M., Schubert J. et al. The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva // *J. Breath Res.* 2014. V. 8. P. 034001 (17pp).
2. de Lacy Costello B., Amann A., Al-Kateb H., Flynn C. et al. A review of the volatiles from the healthy human body // *J. Breath Res.* 2014. V. 8. P. 014001 (29pp).
3. Vaks V., Domracheva E., Chernyaeva M., Maslennikova A. et al. Application of THz fast frequency sweep spectrometer for investigation of chemical composition of blood // *J. Infrared Milli Terahz Waves.* 2020. V. 41. P. 1114–1120.
4. Lykina A.A., Nazarov M.M., Konnikova M.R., Mustafin I.A. et al. Terahertz spectroscopy of diabetic and non-diabetic human blood plasma pellets // *J. Biomed. Opt.* 2021. V. 26. Iss. 4. P. 043006.
5. Lykina A.A., Anfertev V.A., Domracheva E.G., Chernyaeva M.B. et al. Terahertz high-resolution spectroscopy of thermal decomposition gas products of diabetic and non-diabetic blood plasma and kidney tissue pellets. // *J. Biomed. Opt.* 2021. V. 26. Iss. 4. P. 043008.
6. Gao Y. Roadmap to the urine biomarker era // *MOJ Proteomics Bioinform.* 2014. V. 1. Iss. 1 P. 00005.
7. Кистенев Ю.В., Тетенева А.В., Сорокина Т.В., Князькова А.И. и др. Диагностика диабета на основе анализа выдыхаемого воздуха методом терагерцовой спектроскопии и машинного обучения // *Оптика и спектроскопия.* 2020. № 6. С. 805–810.
8. Mochalski P., Unterkofler K. Quantification of selected volatile organic compounds in human urine by gas chromatography selective reagent ionization time of flight mass spectrometry (GC-SRI-TOF-MS) coupled with headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) // *Analyst.* 2016. V. 141. P. 4796.
9. Gao Q., Su X., Annabi M.H., Schreiter B.R. et al. Application of urinary volatile organic compounds (VOCs) for the diagnosis of prostate cancer // *Clinical Genitourinary Cancer.* 2019. V. 17. № 3. P. 183–190.
10. Wang Zh., Wang Ch. Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements // *J. Breath Res.* 2013. № 7. P. 037109 (18pp).
11. Вакс В.Л., Анфертьев В.А., Балакирев В.Ю., Басов С.А., Домрачева Е.Г., Иллюк А.В., Куприянов П.В., Приползин С.И., Черняева М.Б. Спектроскопия высокого разрешения терагерцового частотного диапазона для аналитических приложений // *УФН.* 2020. Т. 190. № 7. С. 765–776.

12. Khodos V.V., Ryndyk D.A., Vaks V.L. Fast passage microwave molecular spectroscopy with frequency sweeping // *Eur. Phys. J. Appl. Phys.* 2004. V. 25. P. 203–208.
13. Pickett H.M., Cohen E.A., Drouin B.J., Pearson J.C. et al. Submillimeter, millimeter, and microwave spectral line catalog. JPL molecular spectroscopy // California Institute of Technology. <http://spec.jpl.nasa.gov/ftp/pub/catalog/catform.html>.
14. Endres C.P., Schlemmer S., Schilke P., Stutzki J., Müller H.S.P. The cologne database for molecular spectroscopy, CDMS, in the virtual atomic and molecular data centre, VAMDC // *J. Mol. Spectrosc.* 2016. V. 327. P. 95–104.
15. Yablokov V.A., Vasina Ya.A., Zelyaev I.A., Mitrofanova S.V. Kinetics of thermal decomposition of sulfur-containing amino acids // *Russian Journal of General Chemistry.* 2009. V. 79. № 6. P. 1141–1145.
16. Аль-Шукри С.Х., Голощапов Е.Т., Эмануэль Ю.В., Горбачев М.И. Белок Тамма–Хорсфалла — потенциальный маркер ранних стадий мочекаменной болезни и рецидивного камнеобразования // *Урологические ведомости.* 2012. Т. II. № 1. С. 26–28.
17. Папаян А.В., Лысовая Н.А. Роль белка Тамма–Хорсфалла при заболеваниях почек // *Нефрология.* 2002. Т. 6. № 3. С. 28–36.
18. Wu Tsai-Hung, Li Ko-Jen, Yu Chia-Li, Tsai Chang-Youh. Tamm–Horsfall protein is a potent immunomodulatory molecule and a disease biomarker in the urinary system // *Molecules.* 2018. V. 23. P. 200 (1–14).

АВТОРЫ

Владимир Лейбович Вакс — кандидат физ.-мат. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом, Институт физики микроструктур РАН, 603950, Нижний Новгород, Россия, Scopus ID: 7005400467, <http://orcid.org/0000-0003-2176-2728>, vax@ipm.sci-nnov.ru

Елена Георгиевна Домрачева — канд. хим. наук, научный сотрудник, Институт физики микроструктур РАН, 603950, Нижний Новгород, Россия, Scopus ID: 7003996334, <http://orcid.org/0000-0001-5789-4816>, elena@ipmras.ru

Мария Борисовна Черняева — канд. физ.-мат. наук, научный сотрудник, Институт физики микроструктур РАН, 603950, Нижний Новгород, Россия; доцент, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, Россия, Scopus ID: 8308388800, <http://orcid.org/0000-0002-9082-0162>, masha@ipmras.ru

Владимир Алексеевич Анфертьев — младший научный сотрудник, Институт физики микроструктур РАН, 603950, Нижний Новгород, Россия; Scopus ID: 56784351500, <http://orcid.org/0000-0002-5942-003X>, anferteve@ipmras.ru

Анна Владимировна Масленникова — доктор мед. наук, профессор, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, Россия; заведующая кафедрой, Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, 603005, Нижний Новгород, Россия, Scopus ID: 9841297600, <http://orcid.org/0000-0002-4655-491X>, maslennikova.anna@gmail.com

AUTHORS

Vladimir L. Vaks — PhD in Physics, Senior scientific researcher, Head of department, leading research fellow, Institute for Physics of Microstructures RAS, 603950, Nizhny Novgorod, Russia, Scopus ID: 7005400467, <http://orcid.org/0000-0003-2176-2728>, vax@ipm.sci-nnov.ru

Elena G. Domracheva — PhD in Chemistry, research fellow, Institute for Physics of Microstructures RAS, 603950, Nizhny Novgorod, Russia, Scopus ID: 7003996334, <http://orcid.org/0000-0001-5789-4816>, elena@ipmras.ru

Maria B. Chernyaeva — PhD in Physics, research fellow, Institute for Physics of Microstructures RAS, 603950, Nizhny Novgorod, Russia; associate professor, Lobachevsky State University, 603022, Nizhny Novgorod, Russia, Scopus ID: 8308388800, <http://orcid.org/0000-0002-9082-0162>, masha@ipmras.ru

Vladimir A. Anferteve — junior research fellow, Institute for Physics of Microstructures RAS, 603950, Nizhny Novgorod, Russia, Scopus ID: 56784351500, <http://orcid.org/0000-0002-5942-003X>, anferteve@ipmras.ru

Anna V. Maslennikova — Doctor of Science in Medicine, professor, Lobachevsky State University, 603022, Nizhny Novgorod, Russia; Head of chair, Privolzhsky Research Medical University, 603005, Nizhny Novgorod, Russia, Scopus ID: 9841297600, <http://orcid.org/0000-0002-4655-491X>, maslennikova.anna@gmail.com

Алла Викторовна Железняк — врач, Нижегородский областной клинический онкологический диспансер, 603000, Нижний Новгород, Россия, <http://orcid.org/0000-0003-2629-6287>, allazheleznyak@mail.ru

Татьяна Дмитриевна Князева — студентка, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, Россия, <http://orcid.org/0000-0002-7740-1692>, ktd2000@yandex.ru

Михаил Алексеевич Родионов — студент, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, Россия, <http://orcid.org/0000-0003-1020-4368>, misha-as98@mail.ru

Андрей Иванович Майоров — студент, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, 603022, Нижний Новгород, Россия, <http://orcid.org/0000-0002-1347-7460>, mayorov321@mail.ru

Alla V. Zheleznyak — Doctor, Nizhny Novgorod Regional Oncology Hospital, 603000, Nizhny Novgorod, Russia, <http://orcid.org/0000-0003-2629-6287>, allazheleznyak@mail.ru

Tatyana D. Knyazeva — student, Lobachevsky State University, 603022, Nizhny Novgorod, Russia, <http://orcid.org/0000-0002-7740-1692>, ktd2000@yandex.ru

Mikhail A. Rodionov — student, Lobachevsky State University, 603022, Nizhny Novgorod, Russia, <http://orcid.org/0000-0003-1020-4368>, misha-as98@mail.ru

Andrey I. Mayorov — student, Lobachevsky State University, 603022, Nizhny Novgorod, Russia, <http://orcid.org/0000-0002-1347-7460>, mayorov321@mail.ru

Статья поступила в редакцию 12.11.2021, одобрена после рецензирования 30.11.2021, принята к печати 07.02.2022