

DOI: <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2022.11.13>

УДК: 535.343.4, 543.421/.422

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА МЕТАБОЛИТОВ ТКАНЕЙ ЛОР-ОРГАНОВ МЕТОДОМ ТГЦ СПЕКТРОСКОПИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

В. Вакс^{1,2}, В. Анфертьев^{1,2}, Е. Домрачева^{1,2}, М. Черняева^{1,2}, А. Айзенштадт^{1,3},
К. Глушкова^{1,3}, М. Родионов^{1,2}

¹ ИФМ РАН, ГСП-105, г. Нижний Новгород, Россия, 603950

² ННГУ им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, г. Нижний Новгород, Россия, 603022

³ ГБУЗ НО «ДГКБ № 1», пр. Гагарина, 76, г. Нижний Новгород, Россия, 603081

Статья поступила в редакцию 28 ноября 2022 г.

Аннотация. В последнее время в медицинской диагностике все чаще применяются физические и физико-химические методы анализа, такие как газовая хроматография, масс-спектрометрия, ИК и ТГц спектроскопия. С их помощью можно выявить вещества, характерные для того или иного заболевания – метаболиты. Составление метаболического профиля позволит ускорить и облегчить процесс диагностики заболевания, оценить стадию и этиологию, а также спрогнозировать терапию. Актуальным является изучение состояния органов уха-горла-носа (ЛОР), как одного из основных путей проникновения в организм человека инфекций, вирусов и др. Но в литературе и базе данных метаболомов человека данных о метаболитах при заболеваниях ЛОР-органов нет. Работа посвящена анализу состава метаболитов тканей ЛОР-органов методом ТГц спектроскопии высокого разрешения и сопоставлению состава метаболитов, образующихся при термическом разложении относительно здоровой слизистой оболочки, полипа клиновидной пазухи и кисты верхнечелюстной пазухи. Исследования проводились с использованием разработанных авторами ТГц спектрометров высокого разрешения, работающих

в диапазоне 118–178 ГГц. Идентификацию веществ по линиям поглощения проводили с использованием электронных баз данных. Для оценки метаболитов проводили качественный анализ химического состава продуктов термического разложения и сравнение полученных спектров веществ и количества линий поглощения в образцах. Анализ результатов показал, что во всех образцах присутствуют такие вещества, как спирты, ряд нитрилов, серные соединения. Однако в спектре относительно здоровой слизистой количество линий поглощения этих веществ значительно меньше, чем в спектрах полипа и кисты, что свидетельствует об их меньшей концентрации. Кроме того, в спектрах полипа и кисты появляются линии поглощения, соответствующие таким веществам, как кетоны, нитрилы, альдегиды, кислоты, при этом их концентрации существенно различаются. Таким образом, показана потенциальная возможность использования ТГц спектроскопии высокого разрешения для анализа состава метаболитов тканей ЛОР-органов.

Ключевые слова: ТГц спектроскопия, метаболиты, относительно здоровая слизистая, полип клиновидной пазухи, киста верхнечелюстной пазухи, спектр поглощения, химический состав, продукты термического разложения

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 21-19-00357, <https://rscf.ru/project/21-19-00357/>

Автор для переписки: Домрачева Елена Георгиевна, elena@ipmras.ru

Введение

В последнее время в медицинской диагностике все чаще используются физические и физико-химические методы анализа, такие как газовая хроматография, масс-спектрометрия, инфракрасная (ИК) и терагерцовая (ТГц) спектроскопия. С их помощью можно выявить вещества, так называемые метаболиты, характерные для того или иного заболевания. Составление метаболического профиля позволит ускорить и облегчить процесс диагностики заболевания, оценить стадию и этиологию, а также спрогнозировать терапию. Особенно актуальным представляется изучение состояния органов уха-горла-

носа (ЛОР), как одного из основных путей проникновения инфекций, вирусов, грибков и др. в организм человека. Но в литературе и базе данных Human Metabolome Database (HMDB) [1] отсутствуют данные о метаболитах при заболеваниях ЛОР-органов. Эффективным подходом к изучению многокомпонентных газовых смесей является молекулярная спектроскопия поглощения, в частности спектроскопия, основанная на нестационарных эффектах. Спектрометры на нестационарных эффектах имеют наилучшее приближение к теоретическому пределу чувствительности (при значительном снижении давления газа (до сотых долей мбар) в режиме сканирования чувствительность для некоторых газов составляет около 0,2 ppb) при разрешении, ограниченном в предельном случае только эффектом Доплера [2]. Использование ТГц диапазона частот, где лежат наиболее интенсивные линии поглощения вращательного спектра молекул, в том числе органических, позволяет использовать этот подход для исследования многокомпонентных газовых смесей различного происхождения, в том числе биологического [3,4]. Идентифицируя линии поглощения в спектрах, полученных при прохождении излучения через образец, представляющий собой многокомпонентную газовую смесь, можно выявить различия в составе образцов, соответствующих разным патологиям, а, следовательно, потенциальные маркеры патологий и заболеваний.

1. Методы

1.1. ТГц спектроскопия высокого разрешения на нестационарных эффектах

Работа посвящена изучению состава метаболитов тканей ЛОР-органов методом ТГц спектроскопии высокого разрешения и сравнению состава метаболитов, образующихся при термическом разложении относительно здоровой слизистой оболочки, полипа клиновидной пазухи и кисты верхнечелюстной пазухи. Несомненными достоинствами методов газовой нестационарной спектроскопии терагерцовой (ТГц) частотного диапазона, развиваемых в ИФМ РАН, являются высокие чувствительность и разрешающая способность одновременно. К достоинствам также относятся высокая

информативность спектроскопического сигнала, возможность дистанционного неинвазивного контроля многокомпонентных газовых смесей, дающего информацию о реальном содержании примесей в исследуемом газе. Процесс подготовки к измерениям не представляет 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 – это позволяет проводить измерения практически при любых возможных сочетаниях компонентов в газовых смесях [2]. Реализованы приборы двух типов: спектрометр с фазовой манипуляцией излучения и спектрометр с быстрым свипированием по частоте [2,5] (рис. 1). Полный рабочий диапазон частот составляет 118–178 ГГц. Спектрометр с фазовой манипуляцией позволяет проводить измерения на определенной частоте и необходим для наблюдения за динамикой концентрации выбранного вещества. Зарегистрировать линию поглощения можно в двух режимах: первый – выбрать центральную частоту линии поглощения и зарегистрировать амплитуду линии поглощения и ее динамику, второй – перестраивать частоту в выбранном диапазоне частот и регистрировать все линии поглощения веществ смеси, лежащие в этом диапазоне частот. Чувствительность спектрометра с фазовой манипуляцией составляет около $5 \cdot 10^{-10} \text{ см}^{-1}$ в первом режиме и около $3 \cdot 10^{-9} \text{ см}^{-1}$ во втором режиме при доплеровском разрешении. Спектрометр с быстрым свипированием по частоте позволяет регистрировать все линии поглощения, лежащие в рабочем диапазоне частот, и одновременно детектировать соответствующие им вещества в смеси. Диапазон частот 118–178 ГГц свипируется за 30 с, при этом чувствительность спектрометра с длиной ячейки 1 м составляет от 10^{-7} см^{-1} до $1,5 \cdot 10^{-8} \text{ см}^{-1}$ [2].

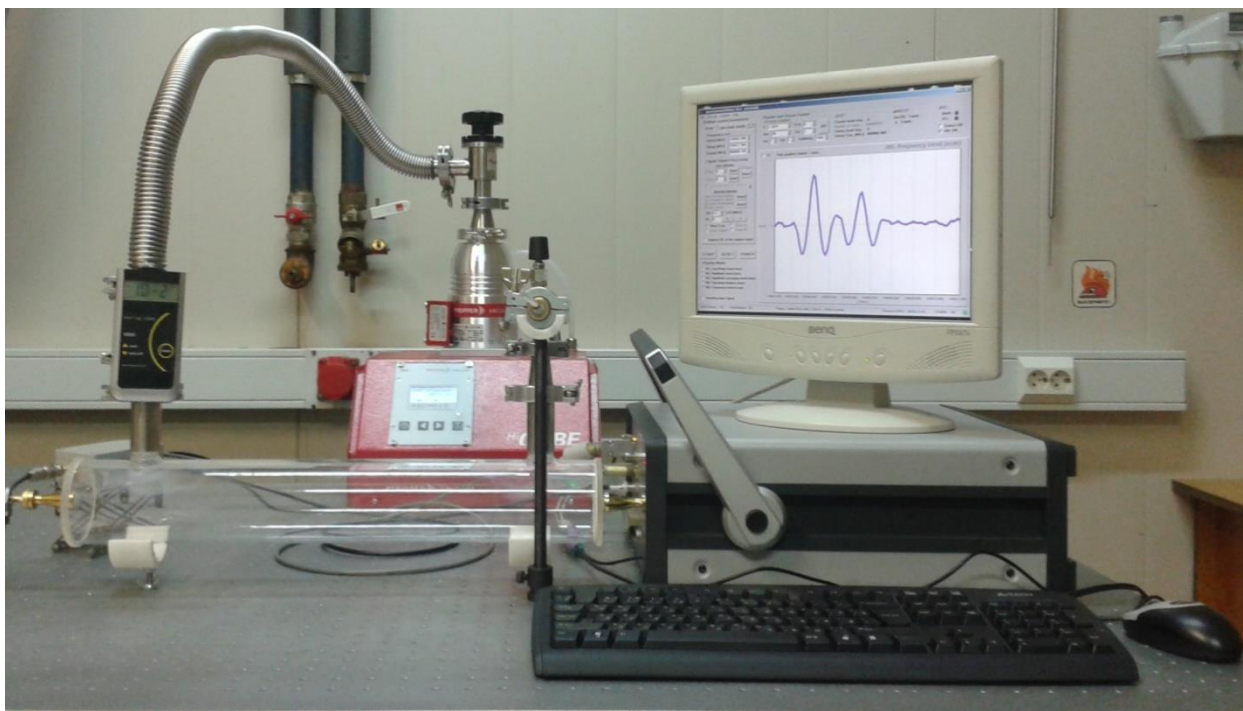


Рис. 1. Спектрометр с фазовой манипуляцией излучения

1.2. Пробоподготовка

Изучение состава паров и продуктов термического разложения тканей ЛОР-органов с целью выявления метаболитов и потенциальных маркеров патологий проводилось на примере относительно здоровой слизистой оболочки полости носа и полипа клиновидной пазухи, а также кисты верхнечелюстной пазухи. Часть материала (3–5 мг) помещали в емкость с дистиллированной водой и доставляли в лабораторию для анализа с помощью описанных выше спектрометров. Затем образец помещали в колбу, соединенную с предварительно вакуумированной измерительной ячейкой, после чего ее нагревали до температуры 200–250°C и напускали смесь паров и продуктов термического разложения в ячейку. Идентификацию веществ проводили с использованием электронных баз данных [6,7].

2. Результаты

Был проведен качественный анализ химического состава продуктов термического разложения и проведено сравнение количества линий поглощения, соответствующих им в спектрах образцов относительно здоровой слизистой

оболочки, полипа клиновидной пазухи и кисты верхнечелюстной пазухи (рис. 2, Таблица 1).

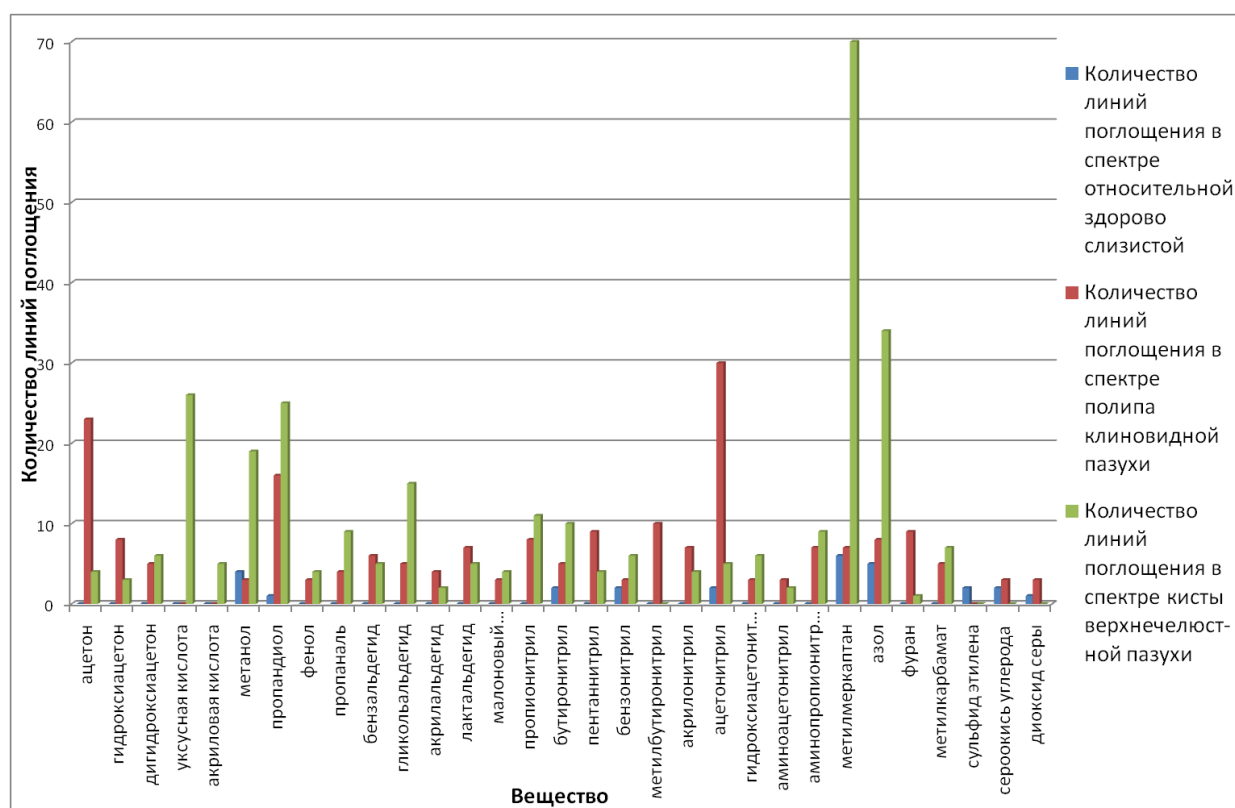


Рис. 2. Химический состав продуктов термического разложения относительно здоровой слизистой, полипа клиновидной пазухи и кисты верхнечелюстной пазухи

Анализ результатов показал, что все образцы содержали такие вещества, как метанол, пропандиол, ацетонитрил, бутиронитрил, бензонитрил, метилмеркаптан, азол, этиленсульфид, сероуглерод, диоксид серы. Однако в спектре относительно здоровой слизистой количество линий поглощения этих веществ значительно меньше, чем в спектрах полипа и кисты, что свидетельствует об их меньшей концентрации. Кроме того, в спектрах полипа и кисты появляются линии поглощения, соответствующие таким веществам, как ацетон, гидроксиацетон, дигидроксиацетон, пропионитрил, акрилонитрил, аминопропионитрил, гидроксиацетонитрил, аминоацетонитрил, метилбутиронитрил, пропаналь, бензальдегид, гликолевый альдегид, лактальдегид, малоновый диальдегид, моноэтаноламин, аланин, пиридин, фуран (рис. 3), при этом их концентрации существенно различаются. Продукты

термического разложения кисты также содержат уксусную и акриловую кислоты, отсутствующие в образцах двух других типов.

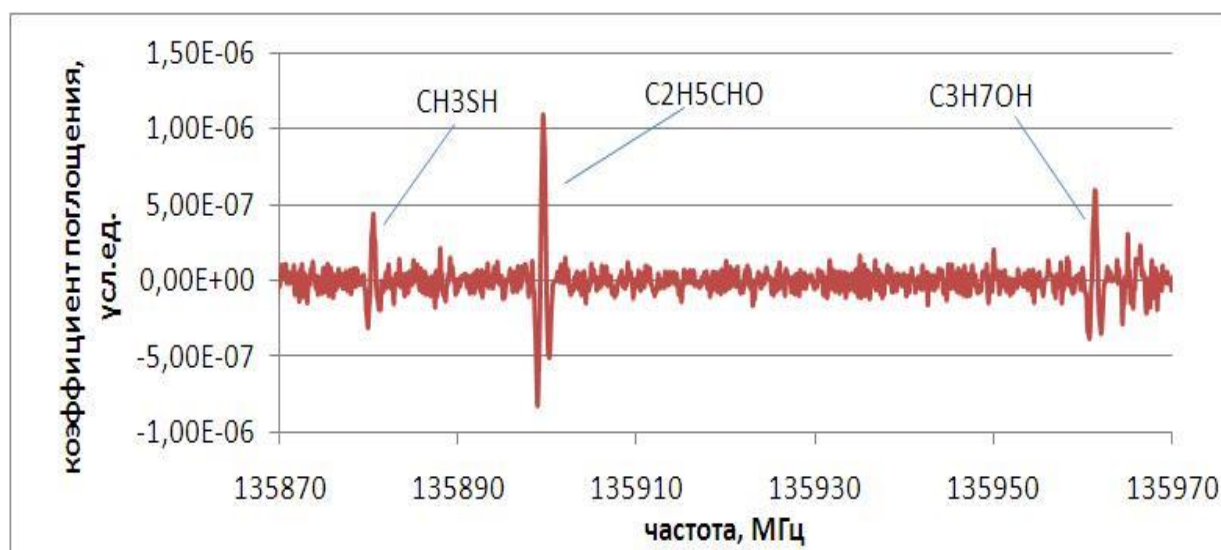


Рис. 3. Запись участка спектра поглощения продуктов термического разложения кисты верхнечелюстной пазухи с линиями поглощения метилмеркаптана, пропаналь и пропанола

Таблица 1. Сравнительный анализ содержания химических веществ в спектрах тканей ЛОР-органов.

Вещество	Количество линий поглощения в спектре относительной здоровой слизистой	Количество линий поглощения в спектре полипа клиновидной пазухи	Количество линий поглощения в спектре кисты верхнечелюстной пазухи
Ацетон	0	23	4
Гидроксиацетон	0	8	3
Дигидроксиацетон	0	5	6
Уксусная кислота	0	0	26
Акриловая кислота	0	0	5
Метанол	4	3	19
Пропандиол	1	16	25
Фенол	0	3	4
Пропаналь	0	4	9
Бензальдегид	0	6	5
Гликольальдегид	0	5	15
Акрилальдегид	0	4	2
Лактальдегид	0	7	5

Малоновый диальдегид	0	3	4
Пропионитрил	0	8	11
Бутиронитрил	2	5	10
Пентаннитрил	0	9	4
Бензонитрил	2	3	6
Метилбутиронитрил	0	10	0
Акрилонитрил	0	7	4
Ацетонитрил	2	30	5
Гидроксиацетонитрил	0	3	6
Аминопропионитрил	0	7	9
Метилмеркаптан	6	7	70
Азол	5	8	34
Фуран	0	9	1
Метилкарбамат	0	5	7

При систематизации полученных результатов были определены вещества, которые можно считать потенциальными маркерами той или иной патологии.

Так, для полипозной ткани клиновидной пазухи этим веществам соответствует в разы большее количество линий поглощения, чем для относительно здоровой слизистой и кисты верхнечелюстной пазухи (см. таблицу 2).

Таблица 2. Потенциальные маркеры полипозной ткани.

Вещество	Число линий поглощения в спектре полипа клиновидной пазухи	Число линий поглощения в спектре относительно здоровой слизистой	Число линий поглощения в спектре кисты верхнечелюстной пазухи
ацетон	23	0	4
гидроксиацетон	8	0	3
метилбутиронитрил	10	0	0
ацетонитрил	30	2	5
пентаннитрил	9	0	4

фуран	9	0	1
-------	---	---	---

Аналогичный анализ проведен для кистозной ткани и выявлены потенциальные маркеры патологии, которые не совпадают с маркерами полипа (см. таблицу 3).

Таблица 3. Потенциальные маркеры кистозной ткани.

Вещество	Число линий поглощения в спектре кисты верхнечелюстной пазухи	Число линий поглощения в спектре относительно здоровой слизистой	Число линий поглощения в спектре полипа клиновидной пазухи
Уксусная кислота	26	0	0
Акриловая кислота	5	0	0
Метанол	19	4	3
Пропандиол	25	1	16
Пропаналь	9	0	4
Гликольальдегид	15	5	0
Бутиронитрил	10	2	5
Метилмеркаптан	70	6	7
Азол	34	5	8

Заключение

Таким образом, выявление при спектроскопическом исследовании патологических тканей веществ, значительно отличающихся по концентрации от присутствующих в условно здоровой ткани или отсутствующих в ней, позволяет сделать вывод о наличии продуктов распада, характеризующих определенную патологию. Использование ТГц спектроскопии высокого разрешения для анализа состава метаболитов тканей ЛОР-органов может стать мощным

аппаратом метаболической диагностики и прогнозирования хода проводимой терапии.

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 21-19-00357, <https://rscf.ru/project/21-19-00357/>

Литература

1. Wishart D.S., Feunang Y.D, Marcu A., et al. HMDB 4.0 — The Human Metabolome Database for 2018. *Nucleic Acids Res.* 2018. V.46. №D1. P.D608-617.
2. Вакс В.Л., Анфертьев В.А., Балакирев В.Ю., и др. Спектроскопия высокого разрешения терагерцевого частотного диапазона для аналитических приложений. *Успехи физических наук.* 2020. Т.190. С.765-776. DOI: [10.3367/UFNr.2019.07.038613](https://doi.org/10.3367/UFNr.2019.07.038613)
3. Вакс В.Л., Домрачева Е.Г., Собакинская Е.А., Черняева М.Б. Анализ выдыхаемого воздуха: физические методы, приборы и медицинская диагностика. *Успехи физических наук.* 2014. Т.184. №7. С.739-758.
4. Lykina A.A., Anfertev V.A., Domracheva E.G., 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. №4. P.043008. DOI: [10.1117/1.JBO.26.4.043008](https://doi.org/10.1117/1.JBO.26.4.043008)
5. Vaks V., Aizenshtadt A., Anfertev V., Chernyaeva M., et al. Analysis of the Thermal Decomposition Products of Pathological and Healthy Tissues in Paranasal Sinuses: A High-Resolution Terahertz Gas Spectroscopy Study. *Appl. Sci.* 2021. V.11. P.7562. <https://doi.org/10.3390/app11167562>
6. Pickett H.M., Cohen E.A., Drouin B.J., et al. Submillimeter, Millimeter, and Microwave Spectral Line Catalog. [web]. *JPL Molecular Spectroscopy California Institute of Technology.* Date of access 10.10.2022. URL: <http://spec.jpl.nasa.gov/ftp/pub/catalog/catform.html>
7. Endres C.P., Schlemmer S., Schilke P., et al. Search and Conversion Form of the Cologne Database for Molecular Spectroscopy [web]. *The Cologne Database for*

Molecular Spectroscopy CDMS. Date of access 10.10.2022. URL:
<https://cdms.astro.uni-koeln.de/cgi-bin/cdmssearch>.

Для цитирования:

Вакс В.Л., Анфертьев В.А., Домрачева Е.Г., Черняева М.Б., Айзенштадт А.А., Глушкова К.А., Родионов М.А. Исследование состава метаболитов тканей ЛОР-органов методом ТГц спектроскопии высокого разрешения. *Журнал радиоэлектроники* [электронный журнал]. 2022. №11. <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2022.11.13>