



DOI: <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2024.11.27>

УДК: 535.343.4, 543.421/.422

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА МЕТАБОЛИТОВ ТКАНЕЙ КИСТ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМ ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЯ МЕТОДОМ ТГЦ СПЕКТРОСКОПИИ ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

**В.Л. Вакс^{1,2}, В.А. Анфертьев^{1,2}, Е.Г. Домрачева^{1,2}, М.Б. Черняева^{1,2},
А.А. Айзенштадт^{1,3}, К.А. Глушкова^{1,3}, А.С. Черняева¹**

**¹Институт физики микроструктур РАН
603950, Нижний Новгород, ГСП-105**

**²Нижегородский госуниверситет им. Н.И.Лобачевского
603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23**

**³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Нижегородской области
«Детская городская клиническая больница № 1»
603081, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 76**

Статья поступила в редакцию 5 декабря 2024 г

Аннотация. Работа посвящена изучению химического состава тканевых метаболитов для органов уха, горла и носа и различных систем жизнеобеспечения с помощью ТГц-спектроскопии высокого разрешения на примере образцов относительно здоровых слизистых оболочек и кист околоносовых пазух, а также оболочки почечной кисты и срединной кисты шеи. Был использован разработанный авторами ТГц-спектрометр высокого разрешения с фазовой манипуляцией, работающий в диапазоне 115-178 ГГц. Вещества были идентифицированы по линиям поглощения с использованием электронных баз данных. Как в спектрах образцов относительно здоровой слизистой оболочки, так и в спектрах кистозных тканей идентифицируются линии поглощения ряда спиртов, нитрилов и сероорганических соединений. Однако в спектрах относительно здоровой слизистой оболочки количество

линий поглощения этих веществ значительно меньше, чем в спектрах кист, что свидетельствует об их меньшей концентрации. Кроме того, при термоллизе образцов тканей кист образуются такие вещества, как кетоны, органические кислоты, альдегиды, нитрилы, которые можно рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров патологического состояния ткани. Сравнительный анализ спектров кисты верхнечелюстной пазухи, оболочки кисты почки и срединной кисты шеи показал, что они схожи с незначительными различиями. Идентификация сходных веществ в тканях при одной и той же патологии, но в разных системах жизнеобеспечения организма, может стать первым шагом к определению метаболического профиля этой патологии в целом. Таким образом, показана потенциальная возможность использования ТГц-спектроскопии высокого разрешения для анализа метаболического состава тканей различных систем жизнеобеспечения.

Ключевые слова: ТГц спектроскопия высокого разрешения, тканевый метаболит, киста, органы ухо-горла-носа, система жизнеобеспечения организма, химический состав, продукты термического разложения.

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 24-19-00623, <https://rscf.ru/project/24-19-00623/>

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

Введение

Социально-значимые заболевания (диабет, онкологические заболевания и др.), положительные прогнозы, своевременное назначение и начало лечения которых напрямую зависят от диагностики на ранних стадиях, в современном обществе являются одной из серьезнейших проблем. Например, от онкологических заболеваний, которые в 60% случаев диагностируются на поздних стадиях, когда болезнь уже затронула функции одного или нескольких жизненных органов, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), каждый год в мире умирают более 7,5 млн. человек. Перспективным современным подходом к диагностике заболеваний (на ранних стадиях

процесса, в частности) является подход на основе исследования изменений в метаболоме организма. Такими объектами, содержащими конечные и промежуточные продукты обмена веществ (метаболиты) в человеческом организме и используемыми для выявления специфичных веществ – маркеров, появляющихся при заболеваниях и патологиях, являются кровь, моча, слюна, а также выдыхаемый воздух и компоненты содержимого желудочно-кишечного тракта (газовая, жидкостная, твердая). Патологическое состояние характеризуется появлением или исчезновением отдельных веществ или изменением их концентрации в разных фракциях живого организма. Поиск наборов метаболитов, позволяющих проводить диагностику заболевания или патологии, а также контролировать ход лечения, является в настоящее время актуальной задачей. К настоящему моменту создана и постоянно пополняется база данных («Human Metabolome Database»), содержащих метаболиты, выявленные при тех или иных заболеваниях и патологиях [1], которая непрерывно пополняется.

Метаболический анализ образцов, взятых при широко распространенных заболеваниях, связанных с инфекциями ЛОР-органов, в том числе вызывающих такие осложнения, как синуситы и др., а также при патологиях ЛОР-органов (кисты, полипы и др.), в том числе с учетом бактериальной инфицированности, должен позволить выявить этиологический фактор возникновения патологического процесса и по характеру изменения метаболитического профиля объяснить патогенетический аспект развития заболевания. Однако выявление тканевых метаболитов является сложной задачей, в частности, в связи с пробоподготовкой образцов тканей для исследования, поэтому в [1] и в литературе встречаются только отдельные работы, посвященные тканевым исследованиям. Предлагаемый подход на основе метода нестационарной газовой спектроскопии терагерцового (ТГц) диапазона является одним из наиболее перспективных для выявления метаболитов, специфичных для патологии. Кроме того, расширение разрабатываемого подхода к анализу образцов тканей на образцы тканей схожих патологий других органов и систем в человеческом организме, проведение аналитических сравнительных

исследований с привлечением образцов тканей схожих патологий разных органов является принципиально новым подходом, который к настоящему времени в литературе не встречался.

Работа посвящена исследованию и сравнению химического состава метаболитов образцов относительно здоровых слизистых оболочек и тканей кист околоносовых пазух, а также тканей кист разных систем жизнеобеспечения организма.

1. Методы

Эффективным подходом для исследования многокомпонентных газовых смесей является молекулярная спектроскопия поглощения, в частности спектроскопия на основе нестационарных эффектов (возникновения и распада макроскопической поляризации). Спектрометры на нестационарных эффектах обладают наилучшим приближением к теоретическому пределу чувствительности (при существенном понижении давления газа (до сотых и тысячных долей тора) в сканирующем режиме чувствительность для некоторых газов составляет порядка 0.2 ppb) при разрешающей способности, ограниченной лишь доплер-эффектом [2]. Использование ТГц частотного диапазона, где лежат наиболее интенсивные линии поглощения вращательного спектра молекул, включая органические, позволяет применять этот подход для исследования многокомпонентных газовых смесей различного происхождения, в том числе и биологического [3,4]. По выявлению линий поглощения в спектрах, полученных при прохождении излучения через образец, представляющий многокомпонентную газовую смесь, можно выявить различие в составе образцов, соответствующих разным патологиям, а, следовательно, потенциальные маркеры патологий и заболеваний.

В проводимых исследованиях был использован спектрометр с фазовой манипуляцией воздействующего на газ излучения с рабочим диапазоном частот 115-178 ГГц. Принцип действия данного спектрометра описан в [2].

Для анализа были выбраны образцы тканей относительно здоровых слизистых оболочек околоносовых пазух и оболочки и жидкостное содержимое кист различных органов, таких как околоносовые пазухи, почка, шея. Такая патология, как кисты, была выбрана как наиболее распространенная и часто встречающаяся в различных органах, способная приводить к развитию заболеваний разной степени тяжести. Фрагменты относительно здоровых слизистых оболочек были получены в результате стандартного доступа при сфенотомии. Ткани кист верхнечелюстных пазух с жидкостным содержимым взяты у больных во время оперативных вмешательств с использованием принципов FESS (Functional Endoscopic Sinus Surgery), срединная киста шеи и оболочка кисты почки получены во время оперативного вмешательства на передней поверхности шеи и стандартной процедуры почечной лапароскопии, соответственно.

Пробоподготовка образцов тканей и жидкостного содержимого кист (рис. 1) к спектроскопическому исследованию подробно описана в [5].

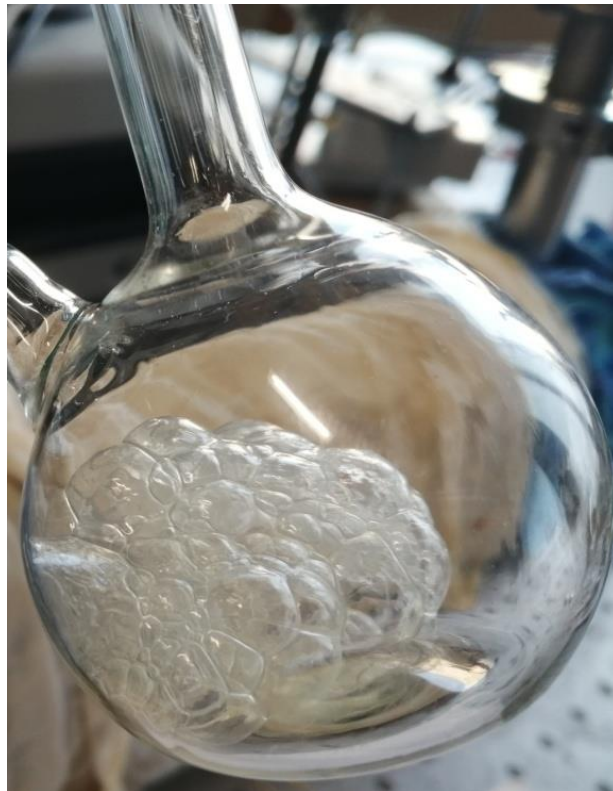


Рис. 1. Киста верхнечелюстной пазухи в процессе вакуумной сушки.

Идентификация веществ по линиям поглощения осуществлялась с использованием электронных баз данных [6,7].

Рабочий диапазон частот спектрометра содержит специфические линии поглощения для конкретных химических веществ, которые являются "отпечатками пальцев" присутствия этого вещества в исследуемой газовой смеси. Коэффициент поглощения любой линии поглощения пропорционален концентрации соответствующего вещества, взаимодействующего с излучением и содержащегося в исследуемой смеси [8]. Следовательно, по количеству линий поглощения, зарегистрированных в спектре при одних и тех же рабочих условиях эксперимента (одинаковом рабочем давлении в измерительной ячейке и одной и той же стадии нагрева образца), можно судить об увеличении или уменьшении концентрации вещества от образца к образцу.

2. Результаты

Для оценки набора химических соединений, характерных для различных тканей, был проведен качественный анализ состава вторичных метаболитов и проведено сравнение зарегистрированных спектров веществ образцов относительно здоровых слизистых оболочек и тканей и жидкостного содержимого кист, полученных из верхнечелюстной пазухи (таблица 1). Примечательно, что линии поглощения метанола, пропандиола, метилмеркаптана, ацетальдегида, бутиронитрила, бензонитрила, пиррола, сульфида этилена, сероокиси углерода, аммиака выявляются как в спектрах относительно здоровых слизистых оболочек, так и в кистозных тканях (рис. 2, 3). Таким образом, мы можем сделать вывод, что эти химические соединения можно рассматривать как маркеры, создающие так называемый метаболический профиль здоровых тканей слизистой оболочки носа и придаточных пазух носа. При анализе спектров поглощения кистозных образцов было обнаружено, что содержание этих химических веществ значительно повышается по сравнению со здоровой слизистой. Более того, после термолиза кист появляются ацетон, гидроксиацетон, дигидроксиацетон, уксусная кислота, акриловая кислота,

фенол, альдегиды, нитрилы, которые могут служить возможными маркерами кист.

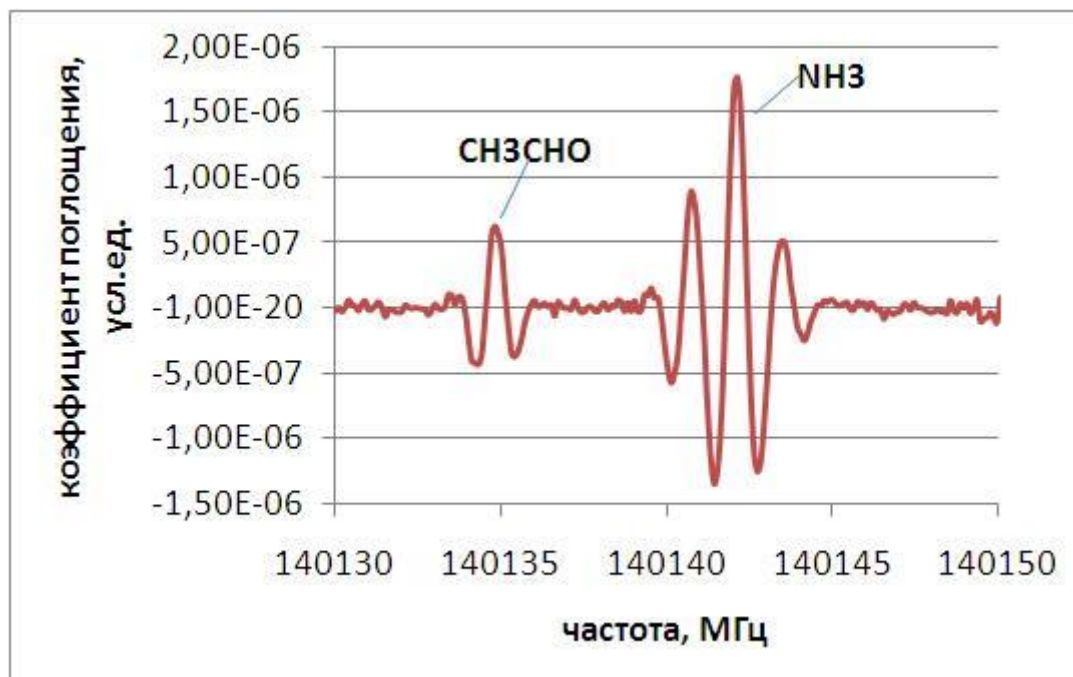


Рис. 2. Участок записи спектра поглощения паров и продуктов терморазложения относительно здоровой слизистой оболочки околоносовых пазух.

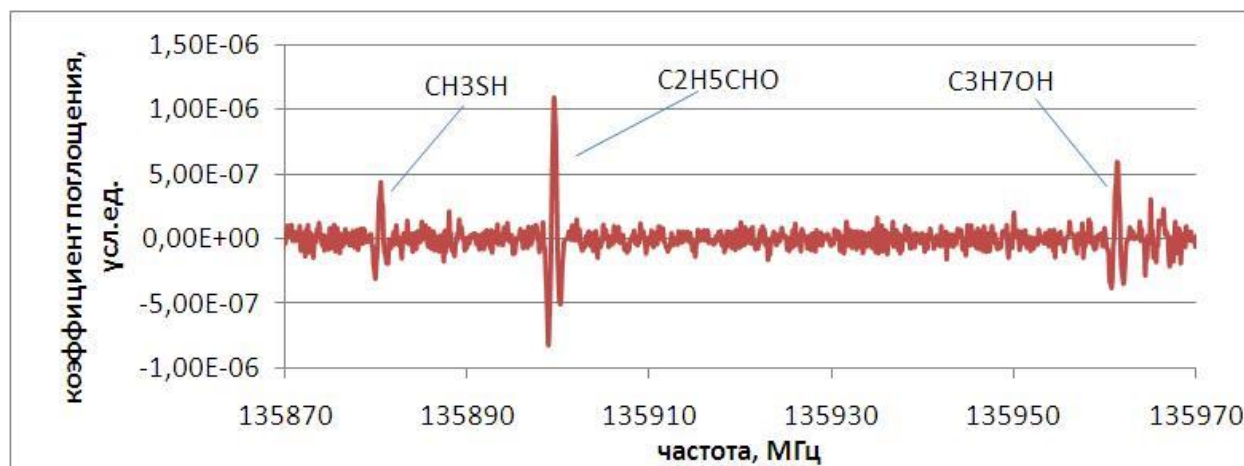


Рис. 3. Участок записи спектра поглощения паров и продуктов термолиза кисты верхнечелюстной пазухи.

Таблица 1. Различие в химическом составе паров и продуктов термоллиза образцов здоровой слизистой оболочки носа и кист околоносовых пазух.

Вещество	Среднее число линий поглощения в спектрах относительно здоровой слизистой носа	Среднее число линий поглощения в спектрах кист околоносовых пазух
ацетон	0	5
гидроксиацетон	0	11
дигидроксиацетон	0	10
уксусная кислота	0	39
акриловая кислота	0	4
метанол	6	7
пропандиол	2	22
фенол	0	4
пропанол	0	4
ацетальдегид	15	28
пропаналь	0	6
бензальдегид	0	7
гликольальдегид	1	40
акриальдегид	1	1
лактальдегид	0	4
малоновый диальдегид	0	4
пропионитрил	0	13
бутиронитрил	2	10
пентаннитрил	1	6
бензонитрил	2	5
метилбутиронитрил	0	9
акрилонитрил	0	6
ацетонитрил	1	6
гидроксиацетонитрил	0	4
аминоацетонитрил	0	1
аминопропионитрил	0	10
метилмеркаптан	6	32
пиррол	7	24
фуран	0	2
метилкарбамат	0	4
сульфид этилена	2	3
сероокись углерода	2	6
диоксид серы	1	7

Начаты пилотные исследования образцов тканей при патологии одного вида (кисты), но сформировавшихся в разных системах жизнеобеспечения, что позволило выявить ряд схожих веществ в составе тканей одной патологии. В исследованиях рассматривались ткани кист: киста верхнечелюстной пазухи, оболочка кисты почки, срединная киста шеи.

В спектрах поглощения был выявлен ряд линий поглощения веществ, встречающихся во всех трех кистах (рис.4).

К веществам, встречающимся в концентрациях, дающих схожее количество линий поглощения во всех трех видах образцов, относятся акриловая кислота, фенол, диэтиловый эфир, метилфениловый эфир, ацетальдегид, пропаналь, метилмеркаптан, пиррол. В ткани кисты верхнечелюстной пазухи количество линий уксусной кислоты значительно превышает количество линий двух других образцов, следовательно концентрация уксусной кислоты в продуктах терморазложения в этом образце выше, чем в двух других. В продуктах срединной кисты шеи значительно возрастает количество линий пропандиола, а также ряда нитрилов (пропионитрила, бутиронитрила, метилбутиронитрила).

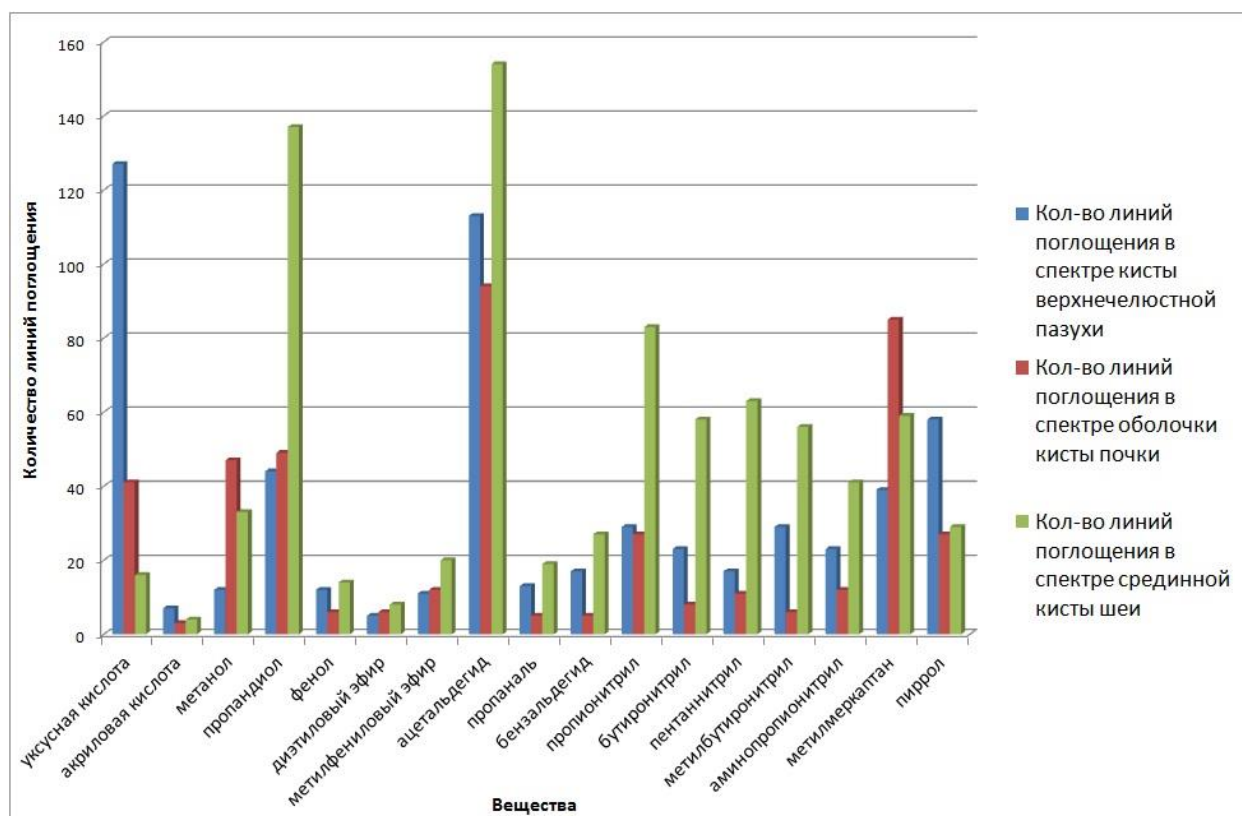


Рис. 4. Химический состав продуктов терморазложения кисты верхнечелюстной пазухи (синяя линия), кисты оболочки почки (красная линия) и срединной кисты шеи (зеленая линия).

Однако есть ряд веществ, присутствующих в продуктах терморазложения образцов кист (кисты верхнечелюстной пазухи и срединной кисты шеи), но отсутствующих в оболочке кисты почки (т.е. количество линий поглощения этих химических соединений в ее спектре нулевое) (рис. 5). К таким веществам относятся гидроксиацетон, дигидроксиацетон, гликольальдегид, малоновый диальдегид, лактальдегид, акрилонитрил, цианоформамид, цианооксиран. Можно предположить, что эти химические соединения принадлежат продуктам терморазложения внутреннего содержимого кист.

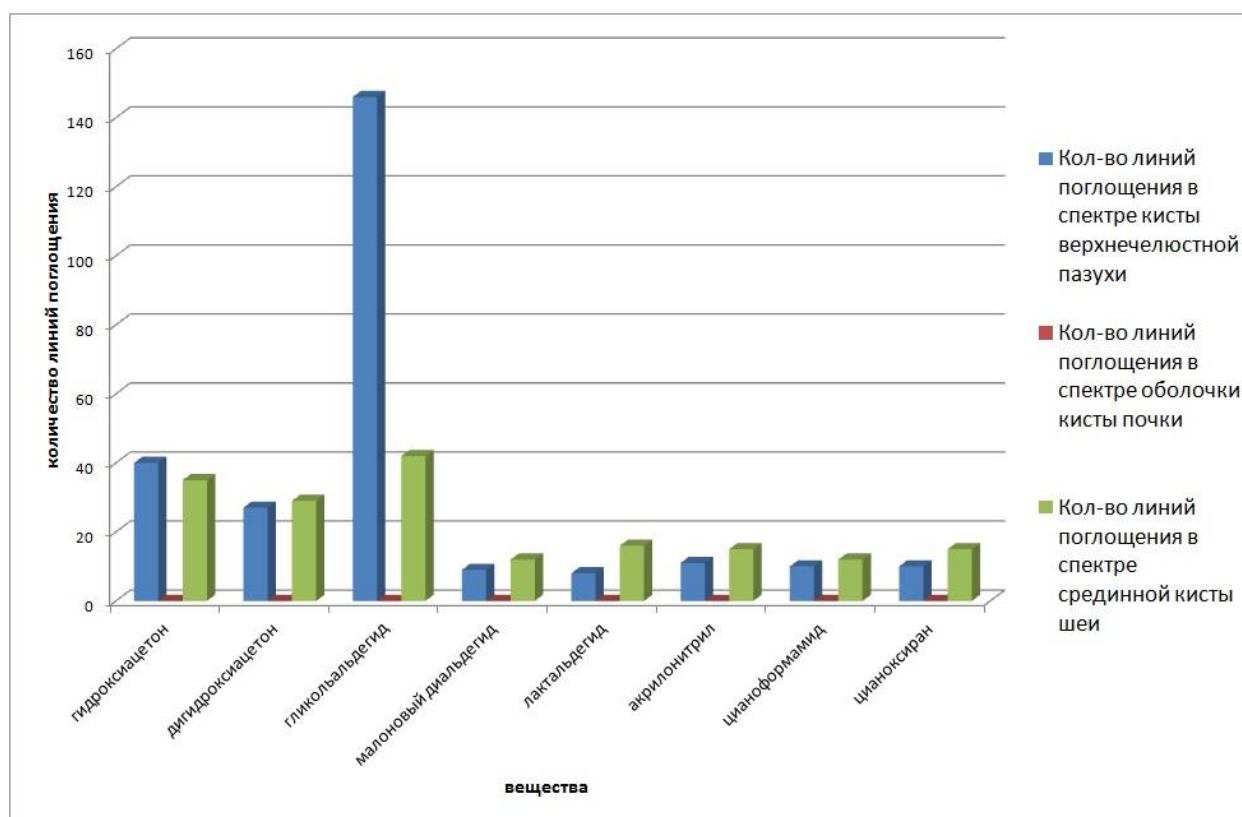


Рис. 5. Химические соединения, присутствующие в продуктах термолиза кисты верхнечелюстной пазухи (синяя линия) и срединной кисты шеи (зеленая линия), но отсутствующие в оболочке почки (красная линия показывает нулевой уровень).

В результате спектроскопического исследования тканей и жидкостного содержимого кист различных систем жизнеобеспечения показано, что продукты термолиза содержат целый ряд одинаковых химических соединений, которые могут рассматриваться как потенциальные маркеры такой патологии организма, как кисты.

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 возможном наличии продуктов распада, характеризующих определенную патологию. А выявление схожих веществ в составе тканей одной патологии, но в разных системах жизнеобеспечения организма, может стать первым этапом к выявлению метаболического профиля данной патологии в целом.

Финансирование: Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 24-19-00623, <https://rscf.ru/project/24-19-00623/>

Литература

1. Wishart D.S. et al. HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018 //Nucleic acids research. – 2018. – Т. 46. – №. D1. – С. D608-D617.
2. Вакс В.Л. и др. Спектроскопия высокого разрешения терагерцевого частотного диапазона для аналитических приложений //Успехи физических наук. – 2020. – Т. 190. – №. 7. – С. 765-776.
3. Вакс В.Л. и др. Анализ выдыхаемого воздуха: физические методы, приборы и медицинская диагностика //Успехи физических наук. – 2014. – Т. 184. – №. 7. – С. 739-758.
4. Lykina A.A. et al. Terahertz high-resolution spectroscopy of thermal decomposition gas products of diabetic and non-diabetic blood plasma and kidney tissue pellets //Journal of Biomedical Optics. – 2021. – Т. 26. – №. 4. – С. 043008-043008.
5. Vaks V. et al. Studying the metabolites composition for tissues of ENT organs with high-resolution THz spectroscopy //2022 IEEE 8th All-Russian Microwave Conference (RMC). – IEEE, 2022. – С. 27-30.

6. Pickett H.M. et al. Submillimeter, millimeter, and microwave spectral line catalog //Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer. – 1998. – Т. 60. – №. 5. – С. 883-890.
7. Endres C.P. et al. The cologne database for molecular spectroscopy, CDMS, in the virtual atomic and molecular data centre, VAMDC //Journal of Molecular Spectroscopy. – 2016. – Т. 327. – С. 95-104.
8. Таунс Ч. и др. Радиоспектроскопия: Пер. с англ. – Иностранная литература, 1959.

Для цитирования:

Вакс В.Л., Анфертъев В.А., Домрачева Е.Г., Черняева М.Б., Айзенштадт А.А., Глушкова К.А., Черняева А.С. Сравнительный анализ состава метаболитов тканей кист различных систем жизнеобеспечения методом ТГц спектроскопии высокого разрешения. // Журнал радиоэлектроники. – 2024. – №. 11. <https://doi.org/10.30898/1684-1719.2024.11.27>