

## ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ И СРЕДСТВ НЕСТАЦИОНАРНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ СУБТГЦ И ТГЦ ДИАПАЗОНОВ ЧАСТОТ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

В. Л. Вакс<sup>1</sup>, Е. Г. Домрачева<sup>1</sup>, Е. А. Собакинская<sup>1</sup>, М. Б. Черняева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Учреждение Российской академии наук Институт физики микроструктур РАН,  
Нижний Новгород, Россия

vax@ipm.sci-nnov.ru, elena@ipm.sci-nnov.ru, katja@ipm.sci-nnov.ru, masha@ipm.sci-nnov.ru

PACS 07.57.Pt

Рассмотрены несколько вариантов реализации спектрометров терагерцового частотного диапазона, работающих на эффектах свободно затухающей поляризации и быстрого прохождения частоты. Представлены результаты применения разработанных спектрометров для регистрации аммиака, ацетона и оксида азота в выдыхаемом воздухе, а также анализа промывочной жидкости трансплантируемых паренхиматозных органов — кустодиола.

**Ключевые слова:** неинвазивная медицинская диагностика, нестационарная спектроскопия ТГц и субТГц частотного диапазонов, спектрометр с фазовой манипуляцией воздействующего на газ излучения, выдыхаемый воздух, молекула-маркер, кустодиол.

### 1. Введение

Одним из объективных показателей, которые характеризуют физиологический ресурс организма, является состав выдыхаемого воздуха. В течение сотен лет он был предметом интереса медиков, так как еще со времен Гиппократов берет свое начало диагностика различных заболеваний по запаху. Установлено, что выдох человека представляет собой многокомпонентную газовую смесь, в которой содержится до 600 различных соединений [1]. Данные вещества являются продуктами физиологических и биохимических процессов, происходящих в организме [2]. На основе измерения концентрации веществ-маркеров в выдыхаемом воздухе можно диагностировать целый ряд серьезных заболеваний. К таким веществам-маркерам относятся, например, аммиак (диагностика хеликобактериоза) [3], оксид азота NO (проведение лучевой терапии, диагностика и мониторинг воспалительных процессов, а также онкологических заболеваний) [4-6], ацетон (диагностика сахарного диабета второго типа) [7-9].

К современным методам исследования состава выдыхаемого воздуха [1] относятся газовая хроматография [10-12], масс-спектрометрия, совмещенная с газохроматографическим разделением [13,14], электрохимические сенсоры, УФ-хемолуминесценция, 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 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 приготовления 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 – это позволяет проводить измерения практически при любых возможных сочетаниях компонентов в газовых смесях [20, 23].

## 2. Спектрометры на нестационарных эффектах субТГц и ТГц частотных диапазонов

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 быстропротекающие (порядка нескольких микросекунд) процессы. Наибольшей чувствительностью обладает спектрометр с фазовой манипуляцией воздействующего на газ излучения [20]. В ИФМ РАН разработано и реализовано семейство газовых спектрометров субТГц и ТГц диапазонов, в качестве источника излучения которых использованы лампы обратной волны (ЛОВ) или частотно- (или фазово-) стабилизированный твердотельный генератор миллиметрового диапазона длин волн с множителем частоты на наноструктурированных элементах – 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 регистрируются и накапливаются в приемной части спектрометра. По величине и форме этих сигналов с высокой точностью и 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 как в сканирующем режиме, так и в качестве Фурье-спектрометра. Одним из наиболее важных преимуществ ФМ спектрометра является возможность 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,  $T_{meas}/N_{points}=1$  с чувствительность составляет  $5 \cdot 10^{-10}$  см<sup>-1</sup>), высокие частотное и временное разрешение, точность измерений спектроскопических параметров. Точность измерения интенсивности линии поглощения (без предварительной калибровки)  $\leq 5$  %. Точность установки частоты составляет  $10^{-9}$  от несущей.

Источником ТГц излучения твердотельного спектрометра диапазона частот 0,1-2,5 ТГц [25,27] являются гармоники, получаемые умножением частоты синтезатора на генераторе Ганна, работающего в диапазоне частот 89-117 ГГц, с применением умножителя на основе ПСР. Для получения фазовой манипуляции (0,  $\pi$ ) при произвольном номере

гармоник, являющейся ключевой проблемой генерации, используется система фазовой стабилизации частоты генератора. Точность установки частоты составляет  $10^{-9}$  от несущей. Приемная система спектрометра на основе нестационарных эффектов работает в таком 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, связанное с необходимостью регистрировать процессы молекулярной релаксации, следующие с высокой частотой повторения. В качестве детектора нами 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, собранном на одном кристалле фирмы ALTERA EPF10K130EQC240-1. Экспериментальные исследования показали, что твердотельный ТГц спектрометр не уступает по своим характеристикам (чувствительность –  $5 \times 10^{-10}$  см<sup>-1</sup> для  $l=1$  м,  $T_{\text{измер}}/N_{\text{точек}}=1$  с, минимальное время измерения –  $1 \times 10^{-6}$  с) ФМ спектрометру.

### 3. Применение нестационарных спектрометров субТГц и ТГц диапазонов для решения задач неинвазивной медицинской диагностики

#### 3.1. 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, NH<sub>3</sub>) с O<sub>2</sub>. С применением метода ТГц спектроскопии проведен эксперимент по определению времени протекания реакции окисления NO [27]. На следующем этапе в клинических условиях были проведены исследования выдыхаемого воздуха у трех условно здоровых некурящих добровольцев и пациентов больных раком легкого до и после лучевой терапии. Отмечено практически полное отсутствие NO в выдыхаемом воздухе у здоровых лиц и появление данного вещества у онкологических больных. Кроме того, отмечен рост концентрации NO после проведения лучевой терапии. Результаты исследований выдыхаемого воздуха приведены в Таблице 1.

Пациенты	Коэффициент поглощения NO, см <sup>-1</sup>	Средняя концентрация NO, мол.%	Средняя концентрация NO, мг/м <sup>3</sup> (P=1,33Па T=300 K)
Здоровые	$1,57 \times 10^{-8}$	0,0047	$9,30 \times 10^{-4}$
Больной до ЛТ	$4,0 \times 10^{-7}$	0,12	0,0239
Больной после ЛТ	$7,5 \times 10^{-7}$	0,22	0,0438

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

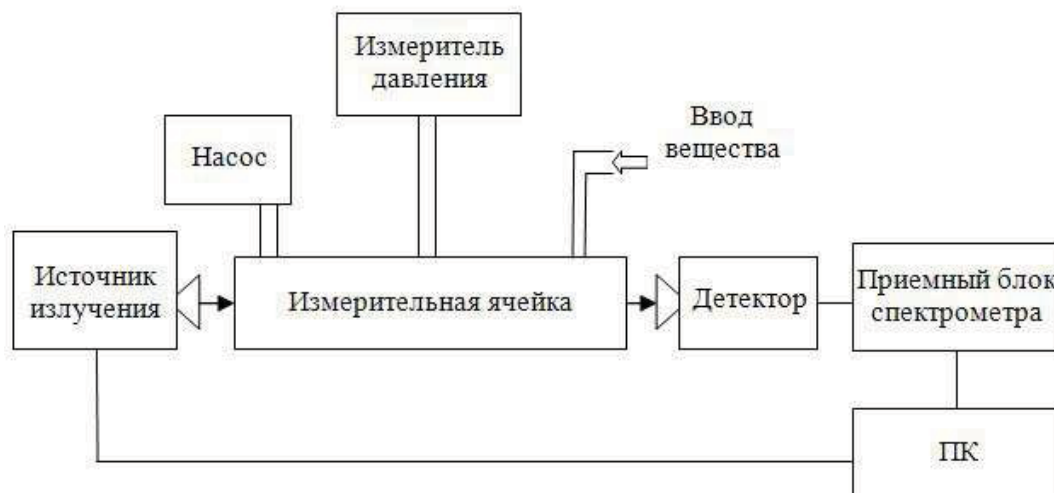


Рис. 1. Функциональная схема экспериментальной установки для анализа выдыхаемого воздуха

Проведенные предварительные измерения продемонстрировали возможности метода для определения концентрации NO, играющего важную роль в метаболизме, в выдыхаемом воздухе. В дальнейшем с целью повышения специфичности метода предполагается поиск не только определенных маркеров, но и их комбинаций, что позволит более точно характеризовать конкретное патологическое состояние.

### 3.2. Неинвазивная диагностика и контроль эффективности лечения гастродуоденальной патологии, обусловленной *Helicobacter pylori*, по уреазному дыхательному тесту

Производились 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 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<sub>3</sub> с разными соотношениями концентраций компонентов. Также в клинических условиях были проведены исследования выдыхаемого воздуха у трех условно здоровых некурящих добровольцев с целью определения уровня концентрации аммиака здорового человека. Результаты исследований выдыхаемого воздуха приведены в Таблице 2.

### 3.3. 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 у трех условно здоровых некурящих добровольцев. Результаты исследований выдыхаемого воздуха приведены в Таблице 2.

Образец	Коэффициент поглощения, см <sup>-1</sup>	Концентрация, мол.%
NH <sub>3</sub>		
№1	1,3 × 10 <sup>-8</sup>	2,1 × 10 <sup>-3</sup>
№2	2,2 × 10 <sup>-8</sup>	3,5 × 10 <sup>-3</sup>
№3	2,0 × 10 <sup>-8</sup>	3,1 × 10 <sup>-3</sup>
CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>		
№1	1,0 × 10 <sup>-8</sup>	8,47 × 10 <sup>-4</sup>
№2	5,4 × 10 <sup>-9</sup>	4,58 × 10 <sup>-4</sup>
№3	2,6 × 10 <sup>-8</sup>	2,20 × 10 <sup>-3</sup>

ТАБЛИЦА 2. Результаты исследования выдыхаемого воздуха (NH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) в образцах выдоха условно здоровых людей на частотах 140140,982 МГц и 132010,596 МГц, соответственно

### 3.4. Изучение возможности неинвазивной диагностики жизнеспособности трансплантатов (паренхиматозных органов) по спектру промывочной жидкости кустодиола

Исследования проводились с помощью нестационарной спектроскопии субТГц диапазона. Для удобства и повышения достоверности анализа измерения проводились в трех частотных диапазонах: 565-568 ГГц, 571- 572 ГГц 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 C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, SO<sub>2</sub>, PO<sub>2</sub> (рис. 2). В результате исследований была выявлена динамика изменения интенсивностей спектральных линий в зависимости от времени промыва. Проведенные предварительные измерения продемонстрировали возможности спектроскопических методов для определения жизнеспособности трансплантатов.

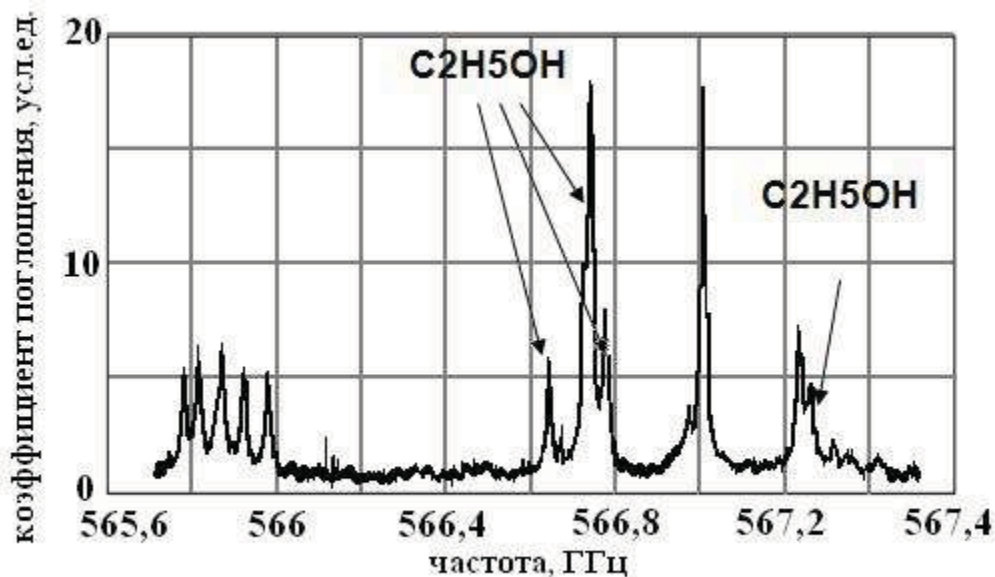


РИС. 2. Запись спектра поглощения кустодиола в диапазоне 565-568 ГГц

#### 4. Заключение

Проведенные исследования показали преимущества метода нестационарной газовой спектроскопии субТГц и ТГц диапазонов частот и возможности его применения для медицинской диагностики на примере анализа выдыхаемого воздуха (измерения концентрации окиси азота, аммиака, ацетона) и кустодиола.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 10-08-01124-а), проекта TeraDec, Программы Президиума РАН «Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов» (проект «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, 61, 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., July, 1992, 74-79.
- [4] Higenbottam T. Lung disease and pulmonary endothelial nitric oxide. Exp. Physiol., 1995, 80, 855-864.
- [5] Alving K., Weitzberg E., Lundberg J.M. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics // Eur. Respir. J., 1993, 6, 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, 61, 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, 742(2), 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, 127(11), 1440-1445.
- [13] Mamyrin B.A. Time-of-flight mass spectrometry (concepts, achievements, and prospects) // International Journal of Mass Spectrometry, 2001, 206(3), 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, 925, 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, 105(5), 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, 103(9), 093116-(1-4).
- [17] Pushkarsky M.B., Webber M.E., Patel C.K.N. Ultra-sensitive ambient ammonia detection using CO<sub>2</sub>-laser-based photoacoustic spectroscopy // Applied Physics B: Lasers and Optics, 2003, 77(4), 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, 4648, 156-164.
- [19] Feng J., Raynor M., Chen Yu. Spectroscopy exposes trace-water contamination in process gases. Technology Equipment Update. Compoud Semiconductor, October, 2007, 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, 20(5), 883-896.
- [21] Vaks V.L., Khodos V.V., Spivak E.V. A nonstationary microwave spectrometer // Review of Scientific Instruments, 1999, 70(8), 3447-3453.

- [22] Khodos V.V., Ryndyk D.A., Vaks V.L. Fast passage microwave molecular spectroscopy with frequency sweeping // *Eur. Phys. J. Appl. Phys.*, 2004, 25, 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 // *Известия вузов. Радиофизика*, 2008, 51(6), 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 // *Известия вузов. Радиофизика*, 2009, 52(7), 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 // *Известия вузов. Радиофизика*, 2005, 48(10-11), 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 33<sup>rd</sup> 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, 5, 9-14.