

УДК 53.01, 533.583.2

ДЕТЕКТИРОВАНИЕ МАЛОЙ ПРИМЕСИ АЦЕТОНА В ВЫДЫХАЕМОМ ВОЗДУХЕ В ЦЕЛЯХ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ ДИАБЕТА I ТИПА*

С. Н. Агутов¹, Н. А. Данилина¹, С. Л. Микерин¹, А. И. Плеханов¹,
М. М. Андрушкевич², Е. Н. Сурков³

¹Институт автоматики и электрометрии СО РАН,
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Коптюга, 1

²Президиум СО РАМН,

630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

³Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН,
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4
E-mail: Natalia.d@russia.ru

Предложен метод измерения концентрации биомаркера — ацетона в дыхании человека, — основанный на использовании эмиссионной спектроскопии тлеющего разряда в воздухе, в целях неинвазивного контроля уровня глюкозы в крови больных диабетом. Приводятся описания схемы экспериментальной установки, методики измерений и представлены предварительные результаты клинических испытаний разработанной системы в амбулаторных условиях.

Ключевые слова: газоанализатор, тлеющий разряд, спектроскопия, неинвазивная медицинская диагностика.

Введение. Хорошо известно, что сахарный диабет представляет собой комплекс метаболических нарушений, сопровождающихся повышением уровня глюкозы в крови. Это может привести к тяжёлым медицинским осложнениям, таким как слепота, почечная недостаточность, болезнь сердца, гангрена. Сахарный диабет I типа, который возникает в результате отсутствия инсулина, вызванного аутоиммунным разрушением продуцирующих инсулин β -клеток поджелудочной железы, требует дорогой пожизненной терапии инсулином. Многим пациентам необходимы ежедневные многократные и болезненные заборы проб капиллярной крови для контроля уровня глюкозы, что приводит к частым отклонениям больных от этой жизненно важной процедуры. Особенно проблематично проведение такой манипуляции больным детям. Отметим также довольно низкую точность измерения уровня глюкозы в крови в домашних условиях, которая согласно стандарту ISO 15197 для доступных глюкометров не превышает $\pm 20\%$ [1]. Разработка метода неинвазивного контроля уровня глюкозы в крови позволит пациентам точнее и эффективнее осуществлять его контроль и инсулиновую терапию без большого психологического напряжения, кроме того, при достаточной чувствительности выявлять заболевание на ранней стадии.

Имеется множество публикаций, посвящённых исследованиям взаимосвязи ряда газообразных соединений с разного рода патологическими процессами в организме человека и возможности их использования для диагностики, контроля и лечения различных заболеваний [2]. Например, установлено, что на основе измерения концентрации веществ (биомаркеров в выдыхаемом воздухе) можно диагностировать ряд серьёзных заболеваний.

*Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 14-02-31099 мол.а).

В работах [3–5] описано несколько успешных попыток контроля уровня глюкозы в крови по измерению концентрации ацетона в выдыхаемом воздухе. В частности, в [6] была обнаружена линейная зависимость концентрации ацетона от уровня глюкозы в крови, что демонстрирует возможность реализации метода неинвазивной диагностики диабета I типа. Но следует отметить, что все эти эксперименты проведены с использованием хроматографических и ион-дрейфовых масс-спектрометров, сложность, громоздкость и дороговизна которых существенно сдерживают широкое практическое применение данной методики. Анализ рынка аппаратов для медицинской диагностики состояния больных диабетом также показывает отсутствие коммерчески доступных недорогих устройств, использующих этот перспективный неинвазивный способ контроля уровня глюкозы.

Цель данной работы — создание метода неинвазивной медицинской диагностики диабета I типа на основе детектирования следов биомаркера — ацетона в дыхании человека — с помощью спектроскопии высокого разрешения разряда в воздухе в видимом диапазоне волн. Преимущество эмиссионной спектроскопии перед другими хорошо известными методами заключается в том, что не требуется применения сверхвысокого вакуума и криогенных температур. Эмиссионная спектроскопия в видимом диапазоне длин волн мало чувствительна к наличию паров воды в выдыхаемом воздухе в силу отсутствия сильных линий воды в указанном диапазоне и имеет высокую спектральную селективность, ограниченную лишь уширением эмиссионных линий вследствие доплер-эффекта. Кроме того, высокая селективность этого метода сочетается с широким спектральным диапазоном, охватывающим практически все биомаркеры, интересные для медицинских приложений. Метод прост в реализации, не нуждается в использовании газа-носителя, не требует дорогих расходных материалов и допускает создание компактных устройств, пригодных в том числе для применения в домашних условиях.

Экспериментальные результаты и их обсуждение. Экспериментальная установка, представленная на рис. 1, состоит из вакуумного насоса 1, стеклянной ячейки 2, регулируемого клапана для напуска газа 3, камеры для предварительной подготовки пробы 4, источника высокого напряжения 5, спектрометра 6 и компьютера 7.

Установка работала следующим образом: образец воздуха в смеси с калиброванной порцией ацетона готовился в камере, а затем с помощью регулируемого клапана вводился в ячейку. В амбулаторных условиях пациенты или добровольцы дышали в камеру до достижения нужного потока исследуемого воздуха в приёмном устройстве прибора. Во время работы в ячейке поддерживалось давление на уровне 10 торр с помощью регулируемого клапана. При достижении рабочего давления в ячейке зажигался тлеющий разряд с постоянным током 8 мА. Эмиссионное излучение разряда направлялось по оптоволоконному кабелю в спектрометр, сигнал с которого регистрировался и обрабатывался компьютером. В данной работе использовался оптоволоконный спектрометр "AvaSpec-2048TEC" (фирма

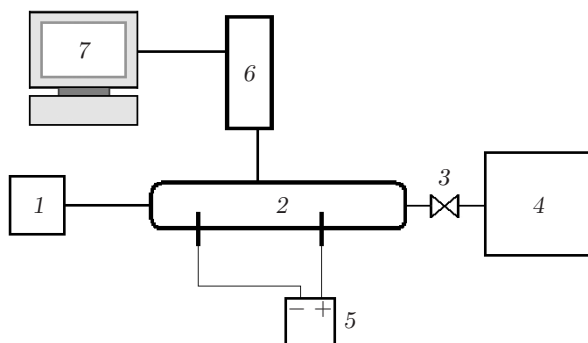


Рис. 1

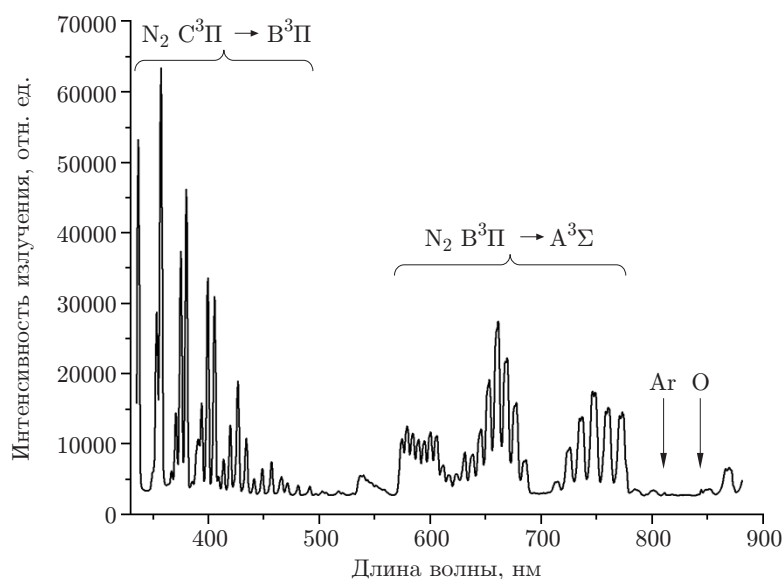


Рис. 2

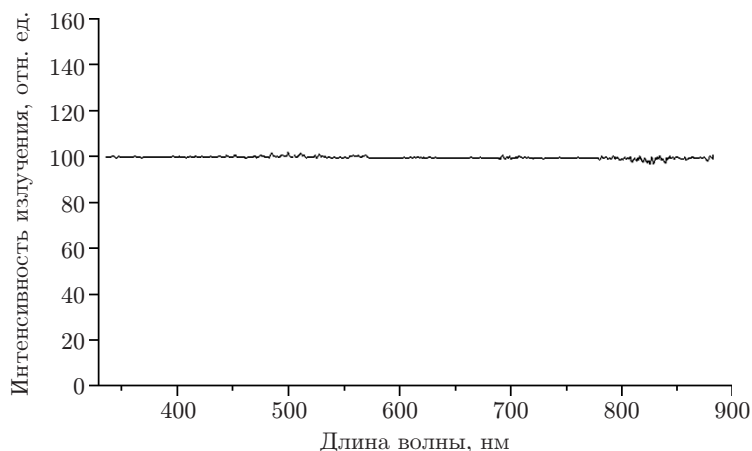
”Avantes”) с высокой фотометрической чувствительностью в видимом спектральном диапазоне. Входная щель спектрометра шириной 50 мкм и дифракционная решётка с 600 штрихами на 1 мм обеспечивали спектральное разрешение равное 1,2 нм.

Обработка сигнала спектрометра производилась по следующей методике: записывался спектр лабораторного воздуха без внесения исследуемого вещества, который далее использовался как опорный; затем записывался последующий исследуемый спектр разряда; потом рассчитывался относительный спектр свечения путём деления исследуемого спектра на опорный спектр.

Опорный спектр лабораторного воздуха, зарегистрированный в спектральном диапазоне 335–882 нм, показан на рис. 2. Доминирующие линии этого спектра обусловлены системами полос азота N_2 : первая положительная система в области 600–882 нм и вторая положительная система в области 335–500 нм [7]. Линия атомарного кислорода в области 845 нм связана с диссоциацией O_2 в воздухе. Линия в области 811,5 нм соответствует Ar, доля которого в воздухе порядка 1 % [8]. Необходимо отметить, что в зарегистрированном спектре в указанном спектральном диапазоне отсутствуют линии воды, которые, как известно, в основном сконцентрированы в инфракрасной, терагерцовой и миллиметровой областях электромагнитного спектра. Эти линии зачастую создают серьёзные помехи точным спектроскопическим измерениям, проводимым в определённых спектральных областях.

Относительный спектр, полученный без внесения ацетона в исследуемый воздух, приведён на рис. 3. Спектр фактически является результатом деления опорного спектра лабораторного воздуха на самого себя и поэтому имеет вид прямой горизонтальной линии с шумами, которые в зависимости от области спектра составляют величину от 1 до 5 %.

Было обнаружено, что относительный спектр при добавлении в анализируемый воздух паров ацетона (концентрация ацетона 30 ppm) существенно модифицировался (рис. 4). Эта модификация была обусловлена изменением разрядных условий. Понижение светимости разряда из-за появления паров ацетона вызывало понижение общего уровня сигнала от 100 % (см. рис. 3) до 70 % (см. рис. 4), а перераспределение интенсивностей между азотными линиями проявлялось в наличии двух узких провалов в областях 777 и 845 нм. Ацетон же в регистрируемом спектре представлен десятью близко расположенными ли-

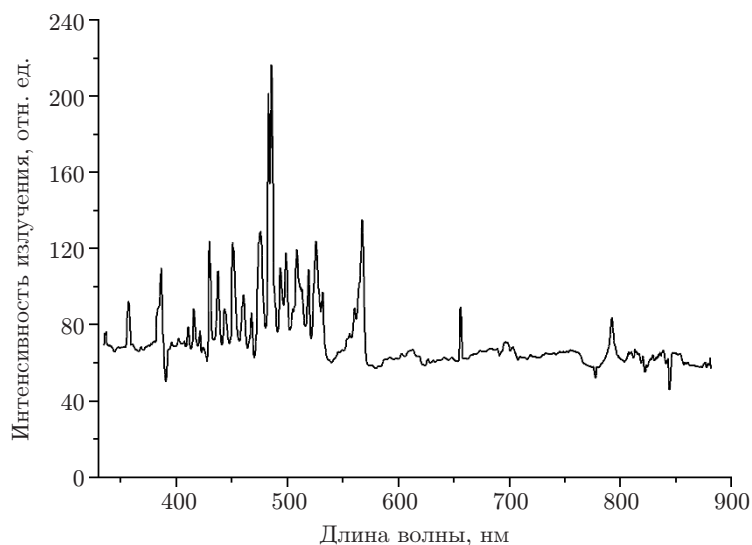
*Рис. 3*

ниями в спектральном диапазоне от 380 до 580 нм. Яркие линии с длинами волн 656 и 486 нм отвечают линиям водорода H_{α} и H_{β} серии Бальмера. В спектре имеется также ряд неидентифицированных слабых линий и спектральных полос.

Нами проведены эксперименты по регистрации спектров ацетона при отсутствии кислорода посредством использования чистого азота и аргона в качестве газа-носителя. Полученные спектры ацетона были неотличимы от спектров, зарегистрированных в воздушном разряде. Этот результат исключает гипотетическую возможность искажения эмиссионного спектра ацетона вследствие его окисления кислородом воздуха в тлеющем разряде.

На рис. 5 представлена зависимость интенсивности спектра ацетона от его концентрации в воздухе. Для предварительной подготовки пробы в камеру 4 (см. рис. 1) впрыскивались прецизионные порции жидкого ацетона, а после его испарения смесь вводилась в ячейку. При малых концентрациях ацетона эта зависимость с хорошей точностью является линейной, а при концентрации около 17,5 ppm кривая выходит на насыщение.

Насыщение связано с падением общей интенсивности эмиссии разряда из-за уменьшения температуры электронов при значительной концентрации легко ионизируемых ком-

*Рис. 4*

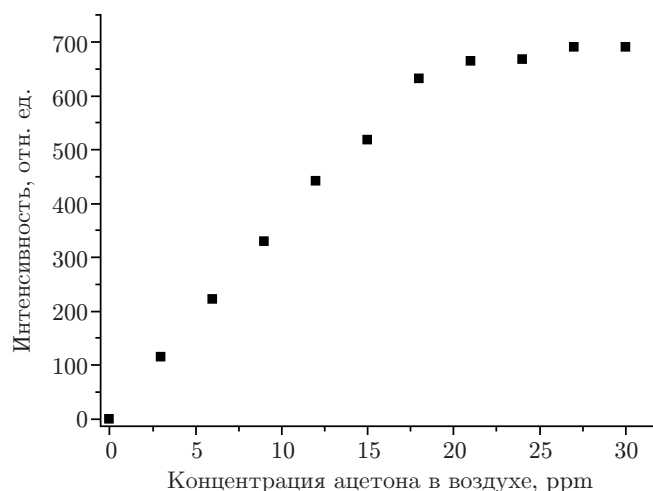


Рис. 5

понент, каковыми являются молекулы ацетона. Заметим, что ожидаемая максимальная концентрация ацетона в дыхании больных составляет величину порядка 10 ppm [9]. Это обстоятельство позволяет работать в линейном участке графика, что значительно облегчает процесс измерения уровня глюкозы в крови.

Предварительные результаты клинических испытаний. Перед проведением каждого измерения снимался эмиссионный спектр воздуха лаборатории, который брался в качестве опорного. Далее производился анализ крови в целях установления уровня глюкозы с использованием глюкометра компании "Yellow Springs Instruments". Затем пациенты дышали в камеру для предварительной подготовки пробы до достижения нужного потока исследуемого воздуха в приёмном устройстве прибора. Эти тесты были проведены для всех исследуемых пациентов натошак. На рис. 6 показан спектр выдоха одного из пациентов, болеющего диабетом в течение десяти лет. На рисунке хорошо видны характерные спектральные линии ацетона, подобные представленным на рис. 4. Линия в области 337 нм соответствует молекулярному газу NO, который является биомаркером таких заболеваний, как рак органов пищеварения, астма, гастрит и других [2]. В области

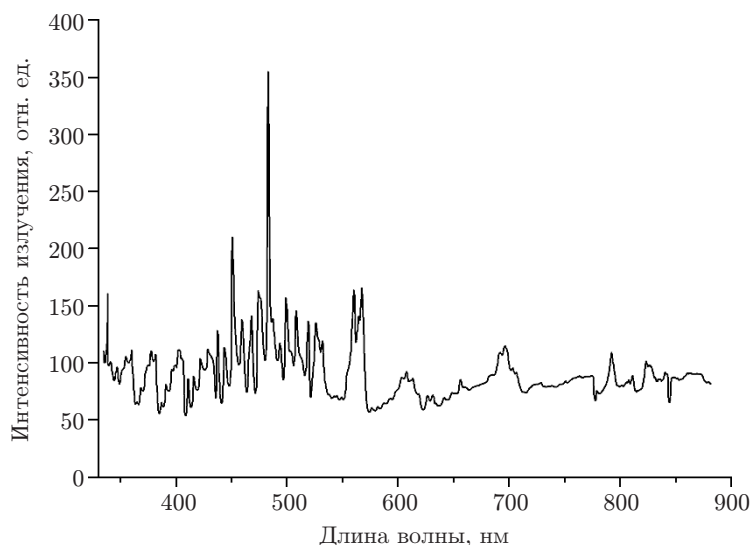


Рис. 6

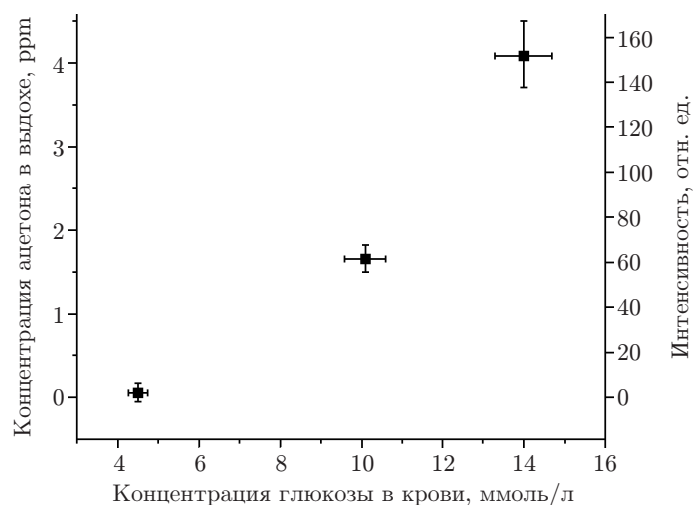


Рис. 7

от 350 до 430 нм находятся широкие спектральные полосы, отвечающие метану — индикатору расстройства желудочно-кишечного тракта. Отметим полное отсутствие линий воды, несмотря на то что водяные пары в дыхании составляют заметную долю. В спектре также имеется ряд неидентифицированных молекулярных полос и линий, требующих дальнейшего изучения.

Измеренная зависимость концентрации ацетона в выдыхаемом воздухе от концентрации глюкозы в крови для трёх пациентов приведена на рис. 7. Каждая точка этой зависимости представляет собой отдельное измерение для одного пациента. Крайняя левая точка является результатом измерения условно здорового человека. Погрешность измерения концентрации ацетона — это статистическая ошибка прибора, а погрешность измерения уровня глюкозы в крови взята из работы [10].

Интересно отметить следующую особенность. В пределах погрешности клинического испытания изгиб графика, который наблюдается в области 10 ммоль/л, можно считать статистически достоверным. Это может свидетельствовать о наличии нелинейного возрастания концентрации ацетона в дыхании при крайне высоком уровне глюкозы в крови, что будет предметом последующих исследований.

Заключение. В данной работе продемонстрирована возможность измерения концентрации биомаркера — ацетона в дыхании человека — с помощью эмиссионной спектроскопии тлеющего разряда в воздухе в целях неинвазивного контроля уровня глюкозы в крови у больных диабетом. Минимальная чувствительность детектирования ацетона предложенным методом (на уровне шумов) составляет величину 20 ppb, что позволяет использовать этот метод для обнаружения заболевания диабетом на ранней стадии, когда ещё реально излечение больного. С применением эффекта фотодесорбции [11] мы ожидаем дальнейшего увеличения чувствительности предложенного метода. Данная работа демонстрирует потенциальную возможность создания портативного чувствительного анализатора дыхания, пригодного для контроля диабета, в том числе в домашних условиях. Благодаря широкому спектральному диапазону, охватывающему практически все биомаркеры, предложенный метод может быть использован для контроля ряда других социально важных заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Freckmann G., Baumstark A., Jendrike N. et al. System accuracy evaluation of 27 blood glucose monitoring systems according to DIN EN ISO 15197 // *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2010. **12**, Is. 3. P. 221–231.

2. **Степанов Е. В.** Методы высокочувствительного газового анализа молекул-биомаркеров в исследованиях выдыхаемого воздуха // Тр. Института общей физики им. А. М. Прохорова РАН. 2005. **61**. С. 5–47.
3. **Jones A. W., Sagarduy A., Ericsson E., Arnqvist H. J.** Concentrations of acetone in venous blood samples from drunk drivers, type I diabetic outpatients, and healthy blood donors // Journ. Analytical Toxicology. 1993. **17**, Is. 3. P. 182–185.
4. **Deng C., Zhang J., Yu X. et al.** Determination of acetone in human breath by gas chromatography-mass spectrometry and solid-phase microextraction with on-fiber derivatization // Journ. Chromatography. 2004. **810**, N 2. P. 269–275.
5. **Yamane N., Tsuda T., Nose K. et al.** Relationship between skin acetone and blood β -hydroxybutyrate concentrations in diabetes // Clinica Chimica Acta. 2006. **365**, Is. 1–2. P. 325–329.
6. **Turner C., Walton C., Hoashi S., Evans M.** Breath acetone concentration decreases with blood glucose concentration in type I diabetes mellitus patients during hypoglycaemic clamps // Journ. Breath Research. 2009. **3**, N 4. 046004.
7. **Пирс Р., Гейдон А.** Отождествление молекулярных спектров: Пер. с англ. М.: ИЛ, 1949. 248 с.
8. **Staack D., Farouk B., Gutsol A., Fridman A.** DC normal glow discharges in atmospheric pressure atomic and molecular gases // Plasma Sources Sci. Technol. 2008. **17**, N 2. 025013.
9. **Вакс В. Л., Дормачева Е. Г., Масленникова А. В. и др.** Применение методов и средств нестационарной спектроскопии субтерагерцовых и терагерцовых диапазонов частот для неинвазивной медицинской диагностики // Оптический журнал. 2012. **79**, № 2. С. 9–14.
10. **Twomey P. J.** Plasma glucose measurement with the Yellow Springs Glucose 2300 STAT and the Olympus AU640 // Journ. Clinical Pathology. 2004. **57**, Is. 7. P. 752–754.
11. **Атутов С. Н., Данилина Н. А., Микерин С. Л., Плеханов А. И.** Фотодесорбция молекулярного азота с поверхности стекла // Автометрия. 2013. **49**, № 6. С. 98–106.

Поступила в редакцию 7 июня 2013 г.
