

Диагностика диабета на основе анализа выдыхаемого воздуха методом терагерцовой спектроскопии и машинного обучения

© Ю.В. Кистенев^{1,2}, А.В. Тетенева², Т.В. Сорокина², А.И. Князькова^{1,3}, О.А. Захарова^{1,3},
А. Кюссе⁴, В.Л. Вакс⁵, Е.Г. Домрачева⁵, М.Б. Черняева⁵, В.А. Анфертьев⁵, Е.С. Сим^{1,2},
И.Ю. Янина^{1,6}, В.В. Тучин^{1,6,7}, А.В. Борисов^{1,2}

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет,
634050 Томск, Россия

² Сибирский государственный медицинский университет,
634050 Томск, Россия

³ Институт физики прочности и материаловедения Сибирского отделения РАН,
634055 Томск, Россия

⁴ Université du Littoral-Côte d'Opale,
59140 Dunkerque, France

⁵ Институт физики микроструктур РАН,
603087 Нижний Новгород, Россия

⁶ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского,
410012 Саратов, Россия

⁷ Университет ИТМО,
197101 Санкт-Петербург, Россия

e-mail: yuk@iao.ru

Поступила в редакцию 10.12.2019 г.

В окончательной редакции 07.02.2020 г.

Принята к публикации 28.02.2020 г.

Представлены результаты исследования выдыхаемого воздуха пациентов с сахарным диабетом в сравнении со здоровыми добровольцами с использованием широкополосной ТГц спектроскопии во временной области. Выявлены характерные спектральные поддиапазоны, в которых профили спектров поглощения проб выдыхаемого воздуха целевой и контрольной групп отличаются наиболее существенно: 0.560, 0.738, 0.970, 1.070, 1.140, 1.180, 1.400 ТГц. С помощью метода главных компонент показано, что совокупность коэффициентов поглощения в этих областях позволяет надежно разделить целевую и контрольную группы. Проведено сравнение полученных результатов с измерениями паров ацетона в воздухе пациентов с сахарным диабетом и здоровых добровольцев.

Ключевые слова: диабет, выдыхаемый воздух, терагерцовая спектроскопия, машинное обучение.

DOI: 10.21883/OS.2020.06.49414.46-20

Введение

Среди заболеваний, связанных с нарушением метаболизма, наиболее тяжелые социально-экономические потери общество несет от сахарного диабета (СД) и его осложнений. В 2016 г. 415 миллионов человек болели СД, прогноз на 2040 г. — 642 миллиона человек [1,2]. Официально в России зарегистрировано более 3 млн больных СД, однако по оценкам эпидемиологических исследований их реальное число около 9–10 миллионов человек [3]. Ежегодные прямые расходы на СД приближаются к 1 трлн долларов.

Диагностика СД осуществляется путем исследования клиничко-лабораторных маркеров заболевания, включая контроль уровня глюкозы, гликированного гемоглобина, С-пептида, инсулина и др. Непрерывный мониторинг уровня глюкозы в крови также играет важную роль в оценке эффективности и безопасности лечения в некоторых подгруппах пациентов с сахарным диабетом 1-го

типа и у отдельных пациентов с сахарным диабетом 2-го типа [4]. Контроль за уровнем гликемии требуется и для динамического наблюдения за пациентами и коррекции их состояния. Все эти тесты инвазивны, требуют времени и расходных материалов. Поэтому методы быстрой неинвазивной диагностики СД и оценки состояния таких пациентов представляют большой практический интерес.

Регистрация летучих молекул в выдыхаемом воздухе является перспективным подходом для оперативного неинвазивного анализа метаболических процессов в организме [5–7]. В работе [8] были проанализированы летучие органические вещества (ЛОВ) в выдыхаемом воздухе у пациентов с диабетом 1-го и 2-го типов и здоровых добровольцев. ЛОВ включали метилированные алканы, C₄–C₂₀ алканы и монометилированные алканы. Показано, что при гипергликемии в выдыхаемом воздухе наблюдается повышенное содержание метилнитрата [9]. Ключевым фактором в развитии осложнений

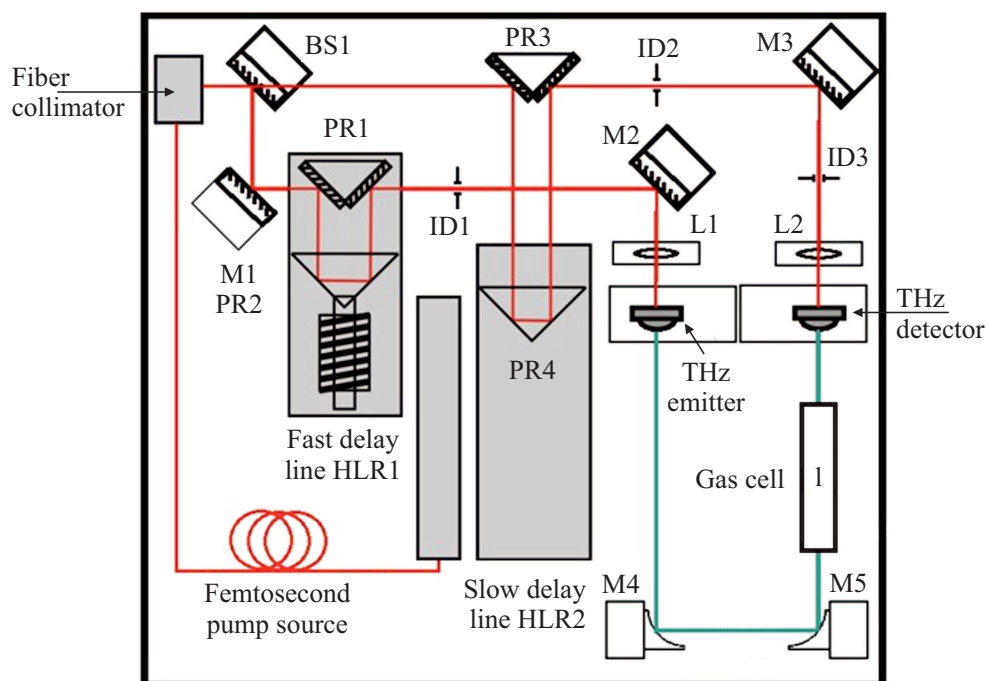


Рис. 1. Оптическая схема спектрометра „T-Spec“ с дополнительной газовой кюветой.

при СД является окислительный стресс. Окислительный стресс вовлечен в развитие основных осложнений СД, включая ретинопатию, нефропатию, невропатию и ускоренное развитие ишемической болезни сердца. Среди маркеров окислительного стресса можно выделить перекисное окисление липидов и рост NO в выдыхаемом воздухе [10]. Большинство исследований по перекисному окислению липидов связано с исследованием малондиальдегида и подобных ему компонент. Продукты окисления белков более стабильны и легко контролируемы при окислительном стрессе [11]. СД влияет на содержание CO, CO₂, этанола, алканов [12].

Ацетон является одним из основных ЛОВ в организме человека [13]. Существует корреляция между содержанием ацетона в выдыхаемом воздухе и уровнем гипергликемии [14–18]. Контроль ацетона в выдыхаемом воздухе обеспечивает 76% чувствительности и 81% специфичности при разделении пациентов с диабетом и здоровых лиц, контроль 8 метаболитов, включая изопрен, бутанол, обеспечивает чувствительность 90% и специфичность 92% [12]. Таким образом, для надежного обнаружения определенной стадии заболевания необходим контроль достаточно большого числа ЛОВ.

Среди многообразия аппаратных методов анализа выдыхаемого воздуха достаточно привлекательны по совокупности характеристик методы лазерной спектроскопии [18].

Исследования выдыхаемого воздуха методами лазерной спектроскопии проводились в основном в ИК диапазоне [6,18–23]. Область терагерцовых (THz) длин волн интересна тем, что здесь присутствуют вращательные

переходы ряда легких молекул, представляющих диагностический интерес [24,25]. Для регистрации спектров поглощения газовых образцов могут применяться методы THz спектроскопии высокого разрешения [26]. Наряду с очевидными преимуществами они имеют небольшой диапазон сканирования, что ограничивает число одновременно детектируемых ЛОВ в выдыхаемом воздухе. Техника THz спектроскопии во временной области (time-domain, TD) не обладает высоким спектральным разрешением, но обеспечивает быструю регистрацию спектров поглощения газовых образцов в широком диапазоне частот (типичное значение 0.1–3.5 THz).

Цель данной работы заключается в сравнении двух методов THz спектроскопии, использующих сигналы во временной и спектральных областях, и оценке их чувствительности, необходимой для проведения диагностики и мониторинга состояния пациентов, больных сахарным диабетом, на основе спектрального анализа выдыхаемого воздуха.

Материалы и методы

В исследовании участвовало 11 пациентов с СД и 11 здоровых добровольцев. Забор проб выдыхаемого воздуха осуществлялся в специальный контейнер объемом 11. Начальная часть выдоха объемом около 0.51 выдыхалась в окружающее пространство, поскольку она не несет полезной информации. Перед измерениями состояние пациентов с СД контролировалось клиническими методами, включая контроль уровня гликирован-

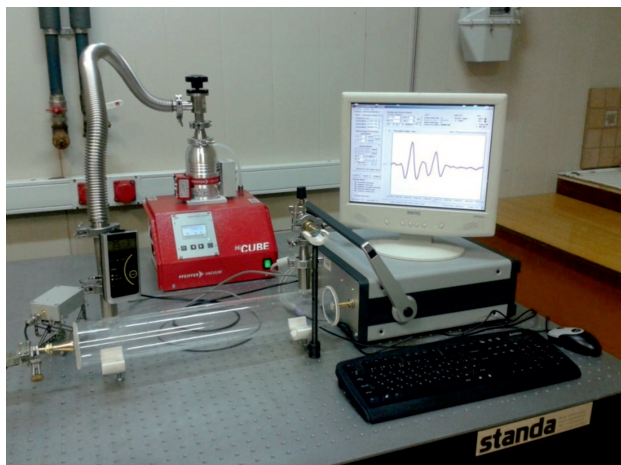


Рис. 2. Спектрометр THz диапазона с фазовой манипуляцией воздействующего излучения с источником излучения на основе лампы обратной волны.

ного гемоглобина и С-пептида, биохимический анализ крови, общий анализ крови, общий анализ мочи [27]. Для здоровых добровольцев предварительно измерялся уровень глюкозы глюкометром Accu-Chek Active. Условия измерения: утром до приема пищи.

Спектральное исследование выдыхаемого воздуха проводилось THz–TD-спектрометром T-Spec фирмы EXPLA (рис. 1). Для этого использовалась дополнительная кювета с окнами из оптически прозрачного в THz области материала длиной 19.5 см, которая размещалась в оптическом тракте на пути THz волны (рис. 1). Продувка кюветы осуществлялась мембранным вакуумным насосом-компрессором NMP 05 S KNDC-DC-5V фирмы CZL (расход 0.4l/min) в течение 5 min. Перед каждым измерением снимался референтный сигнал спектрометра с кюветой, заполненной воздухом.

Спектры интенсивности THz сигнала проб выдыхаемого воздуха I_{air} и референтного сигнала I_{ref} получали путем преобразования Фурье временной формы коротких импульсов, регистрируемых приемником [28]. Эти сигналы можно представить в виде

$$I_{air} = I_0 \exp(-(k_{air}l_1 + k_{air}l_2 + k_w l_3)),$$

$$I_{EAS} = I_0 \exp(-(k_{EAS}l_1 + k_{air}l_2 + k_w l_3)).$$

Здесь I_0 — интенсивность сигнала, генерируемого THz эмиттером (рис. 1), k_{air} — коэффициент поглощения атмосферного воздуха, k_w — коэффициент поглощения окон кюветы, k_{EAS} — коэффициент поглощения пробы выдыхаемого воздуха в кювете. При этом коэффициент поглощения пробы в условных единицах можно представить в виде

$$A = (k_{EAS} - k_{air})l_1 = -\log\left(\frac{I_{air}}{I_{ref}}\right). \quad (1)$$

Сравнительный анализ профилей спектров поглощения выдыхаемого воздуха пациентов с СД и здоровых добровольцев в диапазоне 0.3–1.5 THz осуществлялся с помощью метода главных компонент [19,29]. Достоинство метода заключается в возможности выделения наиболее информативных спектральных областей (информативные признаки), а также возможности визуализации взаимного расположения различных групп в пространстве признаков, которые связаны с информативными спектральными областями [30].

Дополнительно были проведены измерения содержания ацетона в образцах выдыхаемого воздуха в области 150.537 и 151.647 GHz у условно здоровых добровольцев и пациентов с диабетом с использованием оригинального спектрометра высокого разрешения с

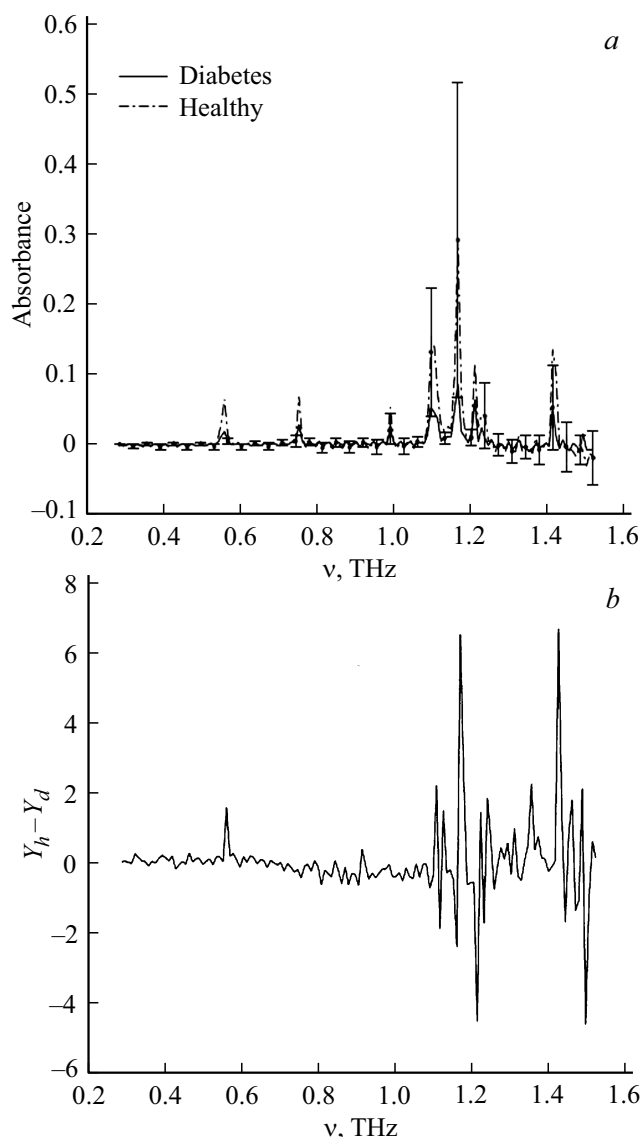


Рис. 3. Усредненные по группам спектры поглощения выдыхаемого воздуха (a) и разность между средними значениями нормированных профилей спектров поглощения выдыхаемого воздуха контрольной и целевой групп (b).

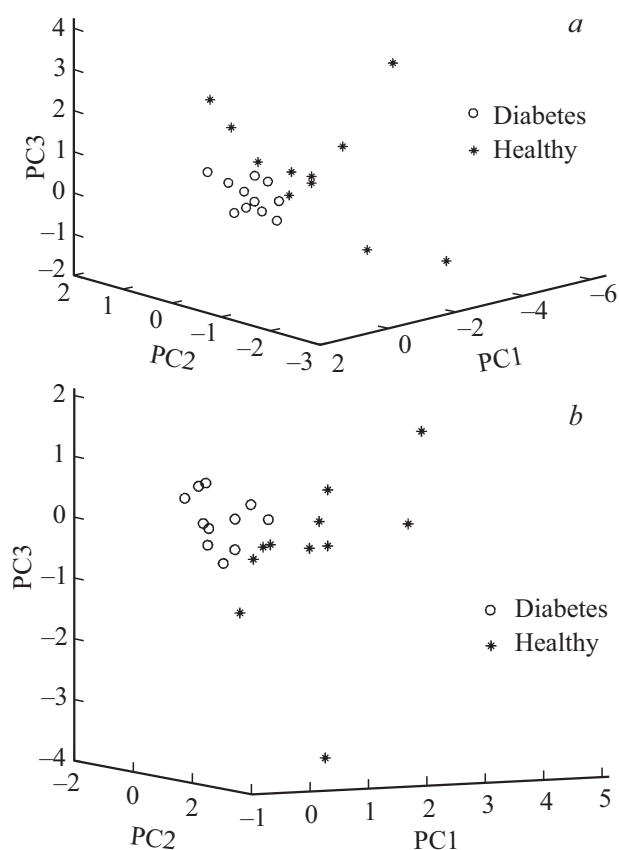


Рис. 4. Проекция профилей спектров поглощения выдыхаемого воздуха в широком спектральном диапазоне (0.3–1.5 THz) исследуемых групп на подпространство 1, 2 и 3 главных компонент (а), проекция узких спектральных подобластей с центрами, которые соответствовали характерным частотным областям (2), на подпространство 1, 2 и 3 главных компонент (б).

фазовой манипуляцией воздействующего на газ излучения с источником излучения на основе лампы обратной волны (рис. 2) [31], работающего в диапазоне 118–178 GHz. Спектрометр основан на нестационарных эффектах, включая затухание свободной поляризации или быстрое свипирование частоты. Возникающие в результате этого переходные сигналы регистрируются 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 лампы обратной волны и фазового сдвига. Длина измерительной кварцевой ячейки — 1 м. Рабочее давление в ней поддерживается на уровне $(1-5) \cdot 10^{-2}$ mbar. Чувствительность спектрометра составляет порядка $5 \cdot 10^{-10}$ cm⁻¹. Точность измерения интенсивности линии поглощения (без предварительной калибровки) не хуже 5%. Точность установки частоты составляет не хуже 10^{-9} от несущей.

Результаты

В таблице представлены результаты измерения концентрации ацетона на линиях поглощения 150.537 и 151.647 GHz в образцах воздуха, выдыхаемого условно здоровыми добровольцами и пациентами с диабетом. Видно, что перерыв в питании в течение ночи дает разнонаправленную динамику изменения уровня паров

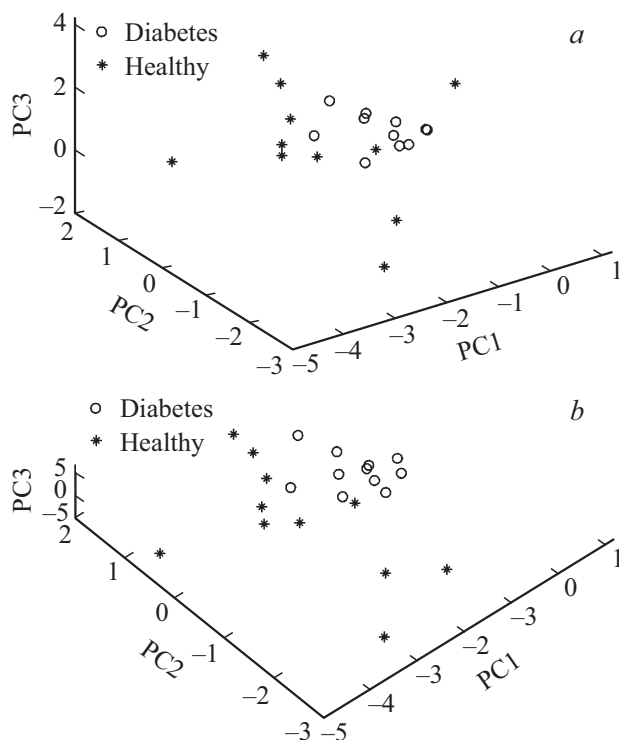


Рис. 5. Проекция профилей спектров поглощения выдыхаемого воздуха на подпространство 1, 2 и 3 главных компонент для поддиапазонов 0.52–0.60 (а) и 1.36–1.44 THz (б).

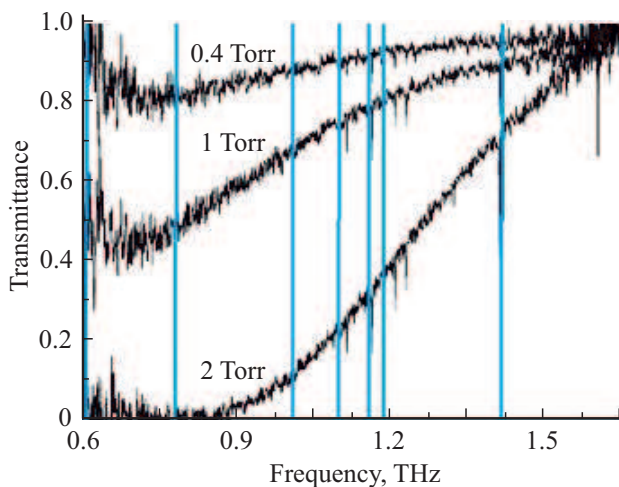


Рис. 6. Спектры пропускания паров ацетона при давлении в измерительной ячейке 0,4, 1, 2 Torr. Вертикальные линии соответствуют характерным частотам в спектрах поглощения выдыхаемого воздуха (2).

Содержание ацетона в образцах выдыхаемого воздуха

№ пациента	Условно здоровые добровольцы, ppm	Условно здоровые добровольцы натошак, ppm	Пациенты с диабетом, ppm	Пациенты с диабетом, натошак, ppm
1	0.904	6.512	35.235	10.396
2	1.909	9.349	24.654	9.334
3	2.212	7.202	27.356	8.276
4	1.413	7.672	15.657	8.571
5	1.356	9.613	26.458	8.385
6	1.172	13.405	32.651	8.384
7	31.415	10.663		
8	29.782	9.99		

ацетона в выдыхаемом воздухе у здоровых добровольцев и пациентов с диабетом.

На рис. 3, *a* показаны усредненные спектры поглощения выдыхаемого воздуха для целевой и контрольной групп, полученные с использованием THz–TD-спектрометра в соответствии с формулой (1). Наиболее сильные отличия между группами наблюдаются в области частот 0.56, 0.74, 0.97, 1.07, 1.14, 1.18, 1.41 THz. (2)

Отметим, что практически все указанные области содержат линии поглощения водяного пара [32].

Для оценки возможности разделения групп на основе сравнения профилей спектров поглощения выдыхаемого воздуха в диапазоне 0.3–1.5 THz был использован метод главных компонент (рис. 4, *a*). Видно хорошее разделение групп в пространстве главных компонент. Затем мы вырезали узкие спектральные подобласти (ширина каждой — 0.04 THz) с центрами, которые соответствовали характерным частотным областям (2), и затем использовали их совокупность в качестве характерных признаков групп. Представление этих признаков в пространстве главных компонент показано на рис. 4, *b*. Видно, что качество разделения групп в пространстве главных компонент остается достаточно высоким. Это свидетельствует о том, что данные характерные признаки являются определяющими для разделения групп.

На рис. 5 показаны проекции профилей спектров поглощения выдыхаемого воздуха для поддиапазонов 0.52–0.60 и 1.37–1.45 THz в отдельности на подпространство 1, 2 и 3 главных компонент. Видно, что использование отдельных поддиапазонов дает несколько худшее разделение групп в пространстве главных компонент. Данный результат, возможно, обусловлен более сильным влиянием других компонент, присутствующих в воздухе, в отдельном спектральном интервале.

На рис. 6 показаны спектры пропускания паров ацетона при различных давлениях, зарегистрированные с помощью фурье-спектрометра с разрешением 0.04 cm^{-1} [33]. Видно, что характерные для пациентов с СД спектральные признаки (2) частично совпадают с областями поглощения паров ацетона. Таким образом, увеличение содержания паров ацетона в выдыхаемом

воздухе характерно для пациентов с СД, однако присутствуют и другие маркеры, представленные во введении, в частности CO, CO₂, этанол, алканы [12].

Заключение

В работе исследованы THz спектры поглощения выдыхаемого воздуха пациентов с СД и здоровых добровольцев. Выделены характерные спектральные области, в которых профили спектров поглощения проб выдыхаемого воздуха целевой и контрольной групп отличаются наиболее существенно: 0.560, 0.738, 0.970, 1.070, 1.140, 1.180, 1.400 THz. С помощью метода главных компонент показано, что совокупность коэффициентов поглощения в этих областях позволяет надежно разделить целевую и контрольную группы.

Таким образом, THz-TD-спектроскопия является полезным инструментом для оценки возможности использования выдыхаемого воздуха как диагностического агента.

Благодарности

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг. направление III.23.

Финансирование работы

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 18-52-16025, № 17-00-00275 (17-00-00272, 17-00-00184, 17-00-00186).

Соблюдение этических стандартов

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] Shestakova M.V., Galstyan G.R. // Problems of Endocrinology. 2017. V. 63. N 4. P. 257. doi 10.14341/probl2017634257-268
- [2] Asfandiyarova N.S. // Diabetes Mellitus. 2015. V. 18. N 4. P. 12. doi 10.14341/DM6846
- [3] Dedov I.I., Shestakova M.V., Galstyan G.G. // Diabetes Mellitus. 2016. V. 19. N 2. P. 104. doi 10.14341/DM2004116-17
- [4] Singh M., Pal R., Ranjan R., Sarkar G., Bharti R., Pal S. // JKIMSU. 2017. V. 6. N 4. P. 12.

- [5] *Boots A.W., Bos L.D., van der Schee M.P., van Schooten F.J., Sterk P.J.* // Trends Mol. Med. 2015. V. 10. N 21. P. 633. doi 10.1016/j.molmed.2015.08.001
- [6] *Kistenev Y.V., Borisov A.V., Kuzmin D.A., Bulanova A.A.* // AIP Conf. Proc. 2016. V. 1760. P. 020028. doi 10.1063/1.4960247
- [7] *Kistenev Y.V., Borisov A.V., Kuzmin D.A., Penkova O.V., Kostyukova N.Y., Karapuzikov A.A.* // JBO. 2017. V. 22. N 1. P. 017002. doi 10.1117/1.JBO.22.1.017002
- [8] *Phillips M., Cataneo R.N., Cheema T., Greenberg J.* // Clin. Chim. Acta. 2004. V. 344. P. 189. doi 10.1016/j.cccn.2004.02.025
- [9] *Novak B.J., Blake D.R., Meinardi S., Rowland F.S., Pontello A., Cooper D.M., Galassetti P.R.* // PNAS. 2007. V. 104. N 40. P. 15613. doi 10.1073/pnas.0706533104
- [10] *Stephens J.W., Khanolkar M.P., Bain S.C.* // Atherosclerosis. 2009. V. 202. N 2. P. 321. doi 10.1016/j.atherosclerosis.2008.06.006
- [11] *Krzystek-Korpaczka M., Salmonowicz B., Boehm D., Berdowska I., Zielinski B., Patryn E., Noczynska A., Gamin A.* // Clinical Biochemistry. 2008. V. 41. P. 48. doi 10.1016/j.clinbiochem.2007.10.003
- [12] *Greiter M.B., Keck L., Siegmund T., Hoeschen C., Oeh U., Paretzke H.G.* // Diabetes Technology & Therapeutics. 2010. V. 12. N 6. P. 455.
- [13] *Das S., Pal S., Mitra M.* // J. Med. Biol. Eng. 2016. V. 36. P. 605.
- [14] *Dedov I.I., Shestakova M.V., Mayorov A.Y.* // Diabetes Mellitus. 2019. V. 22. N 1S. P. 1. doi 10.14341/DM221S1
- [15] *Colwell J.A.* Diabetes — Hot Topics. New York: Hanley & Belfus, 2003. 255 p.; Колуэлл Дж.А. Сахарный диабет: новое в лечении и профилактике. М.: Бином. Лаб. знаний, 2007. 288 с.
- [16] *Watkins P.J.* // J. Breath Res. 2017. V. 11. P. 024002. doi 10.1088/1752-7163/aa66d3
- [17] *Ruzsanyi V., Kalapos M.* Peter, Breath acetone as a potential marker in clinical practice // J. Breath Res. 11 (2017) 024002. doi 10.1088/1752-7163/aa66d3.
- [18] *Turner C., Walton C., Hoashi S., Evans M.* // J. Breath Res. 2009. V. 3. N 4. P. 046004. doi 10.1088/1752-7155/3/4/046004
- [19] *Kistenev Y.V., Borisov A.V., Kuzmin D.A., Bulanova A.A., Boyko A.A., Kostyukova N.Y., Karapuzikov A.A.* // Proc. SPIE. 2016. V. 9707. P. 97070M. doi 10.1117/12.2214645
- [20] *Stepanov E.V., Glushko A.N., Kasoev S.G., Koval A.V., Lapshin D.A.* // Quant. Electron. 2011. V. 41. N 12. P. 1124. doi 10.1070/QE2011v041n12ABEH014698
- [21] *Stepanov E.V., Kasoev S.G.* // Opt. Spectrosc. 2019. V. 126. N 6. P. 736. doi 10.1134/S0030400X19060249
- [22] *Petrus M., Bratu A.-M., Popa C.* // Rev. Roum. Chim. 2016. V. 61. N 2. P. 89.
- [23] *Petrus M., Bratu A.-M., Popa C.* // Opt. and Quant. Electron. 2017. V. 49. N 1. doi 10.1007/s11082-016-0837-y
- [24] *Khodos V.V., Ryndyk D.A., Vaks V.L.* // Eur. Phys. J. Appl. Phys. 2004. V. 25. P. 203. doi 10.1051/epjap:2004008
- [25] *Smolyanskaya O.A., Chernomyrdin N.V., Konovko A.A., Zaitsev K.I., Ozheredov I.A., Cherkasova O.P., Nazarov M.M., Guillet J.-P., Kozlov S.A., Kistenev Y.V., Coutaz J.-L., Mounaix P., Vaks V.L., Son J.-H., Cheon C., Wallace V.P., Feldman Y., Popov I.B., Yaroslavsky A.N., Shkurinov A.P., Tuchin V.V.* // Progress in Quant. Electron. 2018. V. 62. P. 1. doi 10.1016/j.pquantelec.2018.10.001
- [26] *Vaks V.L., Domracheva E.G., Pripolzin S.I., Chernyaeva M.B.* // EPJ Web Conf. 2018. V. 195. P. 10014. doi 10.1051/epjconf/201819510014
- [27] *Demidova T.Yu., Selivanova A.V., Ametov A.S.* // Terapevticheskiy Arkhiv. 2006. V. 78. N 11. P. 64.
- [28] *Сувухин Д.В.* Общий курс физики: Термодинамика и молекулярная физика. / Учебное пособие. М.: Физматлит, 2006. 544 с.
- [29] *Jolliffe I.T.* Principal Component Analysis. N.Y.: Springer, 2002. 405 p.
- [30] *Scholz M., Fraunholz M., Selbig J.* // Principal Manifolds for Data Visualization and Dimension Reduction. / Ed. by Gorban A.N., Kégl B., Wunsch D.C., Zinovyev A.Y. Lecture Notes in Computational Science and Enginee, V. 58. 2008. Berlin, Heidelberg: Springer. P. 44.
- [31] *Vaks V.L., Domracheva E.G., Sobakinskaya E.A., Chernyaeva M.B.* // Phys. Usp. 2014. V. 57. N 7. P. 684. doi 10.3367/UFNe.0184.201407d.0739
- [32] *Exter M., Fattering Ch., Grischkowsky D.* // Opt. Lett. 1989. V. 14. N 20. P. 1128. doi 10.1364/OL.14.001128
- [33] *Peale R.E., Muravjov A.V., Fredricksen C.J., Boreman G.D., Saxena H., Braunstein G., Vaks V.L., Maslovsky A.V., Nikifirov S.D.* // International J. High Speed Electronics and Systems. 2008. V. 18. N 3. P. 627. doi 10.1142/S012915640800562X