

基于太赫兹谱检测血液卟啉的可行性研究

刘夏铭¹, 李娜¹, 刘红利², 王可嘉² (1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院第二临床学院, 武汉 430030; 2. 华中科技大学光电子科学与工程学院, 武汉 430074)

【摘要】 目的 探讨基于太赫兹谱测定人体血液中卟啉含量的可行性。方法 合成了 3 种卟啉化合物, 用太赫兹时域频谱系统测量了它们的太赫兹透射谱。结果 卟啉化合物在 0.1~1 THz 频率范围内有较为丰富的吸收峰。结论 基于太赫兹谱检测卟啉从原理上讲是可行的。

【关键词】 血卟啉; 太赫兹波; 太赫兹谱

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.05.007 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)05-0528-02

Feasibility study on detection of porphyrin's amount in human blood based on THz spectrum LIU Xia-ming¹, LI Na¹, LIU Hong-li², WANG Ke-jia² (1. Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China; 2. College of Opto-Electronic Science and Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430074, China)

【Abstract】 **Objective** To study the feasibility of detecting porphyrin's amount in human blood based on THz spectrum. **Methods** Three kinds of porphyrin compounds were synthesized and their THz transmission spectra were measured via a standard system of THz time-domain spectroscopy. **Results** Porphyrin compound had rich absorbing peaks in the frequency range of 0.1-1THz. **Conclusion** It is feasible in principle to detect porphyrin via the THz spectrum.

【Key words】 hematoporphyrin; THz wave; THz spectrum

原卟啉、粪卟啉、尿卟啉、血红蛋白等卟啉化合物广泛存在于人体中。人体患病(如肿瘤^[1])和环境污染(如砷中毒^[2])等会影响卟啉代谢水平。例如,对于铅中毒或者缺铁性贫血患者,血液中锌原卟啉的浓度会大大升高。对红细胞原卟啉症患者,血液中原卟啉浓度会升高。因此,测定人体血液中卟啉含量对于卟啉症以及其他卟啉相关病症的诊断、环境污染的监测等具有重要意义。目前的测量方法有荧光法^[3]、分光光度法^[4]、高效液相色谱法^[5]、质谱法^[6]等,其中荧光法具有简捷、仪器设备简单等特点,并可望实现人体皮肤浅表组织内血液卟啉的无创检测^[7],具有重要的临床价值。荧光法的基本原理是用 400 nm 附近的紫外光(来自氙灯等非相干光源或来自激光器等相干光源)作为激励光,激发出卟啉化合物 550~750 nm 附近的荧光,通过检测荧光光谱并识别荧光峰来识别卟啉化合物。一方面,虽然通过皮肤的无创荧光检测实用性很强,但紫外光尤其是紫外激光对人体组织有一定的伤害;另一方面,由于血液中的几种卟啉化合物的结构相似,荧光光谱往往会重叠,难以同时测定多种卟啉化合物。所以,追踪最新科技发展,探索其他检测方法是十分必要的。

太赫兹(Terahertz)波是频率在 0.1~10 THz(1 THz=1 012 Hz)范围内的电磁波,介于远红外和微波之间,是近十几年才为人类掌握的电磁波,具有量子能量低、能透过陶瓷和石头等光波无法透过的材料、对大分子材料的吸收峰丰富等特点,近年来被广泛应用于药品与毒品、食物、炸药等的真假甄别与含量测量上,取得良好效果^[8]。太赫兹波与生物组织的相互作用^[9-10]以及人体组织太赫兹成像^[11-12]的研究结果表明,太赫兹技术在医疗领域具有广泛的应用前景^[13],例如,可望用于乳腺肿瘤诊断^[14]与皮肤癌诊断^[15]。能否将太赫兹频谱技术应用用于卟啉化合物的检测,是一个十分值得研究的问题。一方面,由于太赫兹波能透射人体皮肤以内几毫米,使得通过皮肤

的无创太赫兹波卟啉检测成为可能,同时由于太赫兹波的量子能量低,不会对人体组织造成损害;另一方面,大分子材料在太赫兹波段的吸收峰丰富,不同的卟啉化合物可能具有不同的吸收频谱,为同时测定血液中的多种卟啉化合物提供了可能。所以,基于太赫兹频谱的卟啉化合物检测技术,具有许多潜在的优点,是一项十分值得开发的技术。

作为问题的第一步,首先需要观测和了解卟啉化合物的太赫兹谱,观察其中是否存在用以辨别物质的特征峰,借以判断卟啉化合物的太赫兹检测是否可行。为此,作者合成了 3 种结构的卟啉化合物,制备成样品,利用太赫兹时域频谱技术(THz-TDS),测量了样品太赫兹透射谱。结果显示卟啉化合物在太赫兹波段具有丰富的吸收峰,表明基于太赫兹透射谱测量卟啉在物理原理上是可行的。

1 材料与方 法

血液中主要含有尿卟啉、原卟啉、亚铁原卟啉和锌原卟啉等卟啉化合物,应该首先测量出它们的太赫兹谱作为特征谱或指纹谱。为此,应该合成它们并分别进行测量。然而,这些卟啉化合物不够稳定。因此,作者通过化学方法合成了四苯基卟啉(TPP)、四苯基卟啉乙酸合锰(TPPMn)和四对羟基苯基卟啉(TPPH)3 种结构的卟啉化合物,其性质非常稳定。合成原理如图 1 所示。将以上 3 种卟啉按相同比例均匀混入辅料溴化钾中压制成片,放入到 THz-TDS 系统测量时域太赫兹透射谱,再经傅立叶变换得到频域谱。测量系统如图 2 所示,THz-TDS 由 Coherent 公司的 Micra-5 飞秒激光作激励源, EKSPILA 公司的 THz-TDS Kit 为太赫兹发射、探测和数据处理系统。

2 结 果

测量结果如图 3 所示。从中可以看出, TPP 与 TPPMn 都有 4 个吸收峰,且峰的位置基本相同。从幅度上看,在 0.205~0.264、0.381~0.542、0.571~1.101 THz, TPPMn 的吸收比

TPP 强。从图 3 中可以看出,TPPH 比 TPP 多了一个吸收峰,除 0.555 THz 处的吸收峰外,TPPH 的吸收峰与 TPP 的均不相同。由于测量是在空气中进行的,0.555 THz 处的吸收峰是空气的。特别需要强调的是,图 3 给出的是这 3 种卟啉同辅料溴化钾和环境空气的共同太赫兹透射谱,没有扣除溴化钾和空气的本底谱,不是这 3 种卟啉的指纹谱。虽然进行扣除在数据处理上没有困难,但作者关心的是这 3 种卟啉太赫兹谱的异同,图 3 显示的结果已足以说明这种异同。

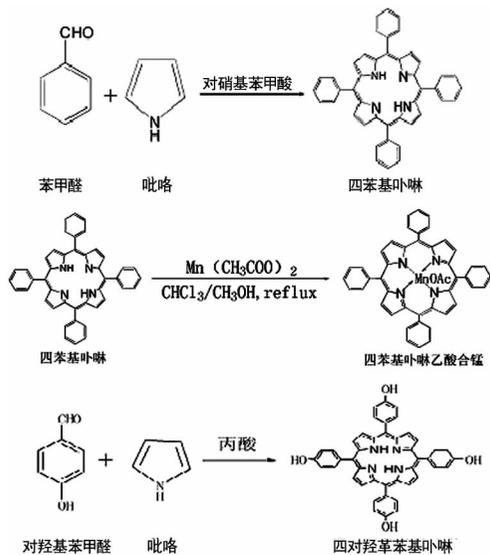


图 1 TPP、TPPMn 和 TPPH 3 种结构的卟啉化合物的合成原理图

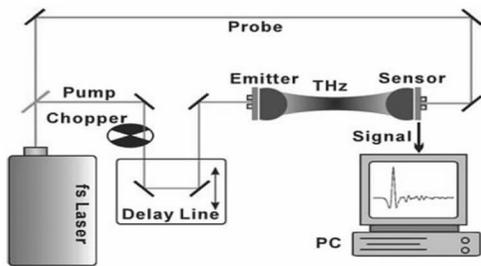


图 2 太赫兹时域频谱系统

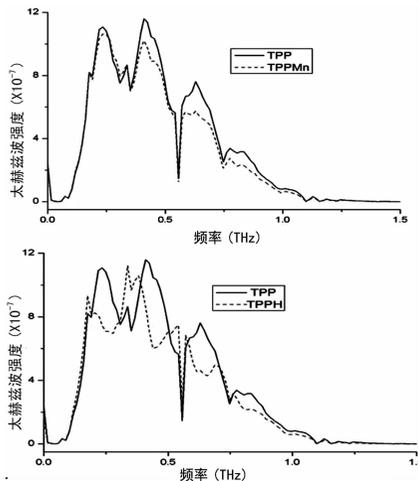


图 3 TPP、TPPMn 和 TPPH 样品的太赫兹透射谱

1THz 频段具有较为丰富的吸收峰,这就为基于太赫兹透射或反射谱的卟啉检测提供了物理基础。其次,TPP 和 TPPMn 的太赫兹透射谱具有非常类似的谱线结构,吸收峰位置重叠,但某些吸收峰的幅值有一定的差别,可望用于甄别这两种不同结构的卟啉。第三,TPP 和 TPPH 的太赫兹透射谱的结构有较大的差异,二者的吸收峰出现在不同的位置,易于实现对二者的甄别。

3 讨论

人体血液中主要含有尿卟啉、原卟啉、亚铁原卟啉和锌原卟啉等卟啉化合物,其分子结构如图 4 所示。卟啉的母体结构是卟吩环,由 4 个吡咯环经 4 个亚甲基连接而成。当卟吩环上的 8 个氢被不同基团取代时,得到各种不同的卟啉。当某些金属离子的尺寸与卟吩环的空腔相匹配时,可以形成不同的金属卟啉螯合物,如亚铁原卟啉和锌原卟啉。从上述实验结果可以看出,TPP 与 TPPMn 的吸收峰位置基本相同,它们的 4 个吡咯环相同,但卟吩环结构不同;TPP 与 TPPMn 的吸收峰位置均不相同,它们的 4 个吡咯环不同,但卟吩环结构相同。因此,可以推测出太赫兹吸收峰位置主要由卟吩大环结构决定。如果是这样的话,基于太赫兹吸收峰区别尿卟啉和其他 3 种可能相对容易。

以上推测主要基于现有的非常有限的实验数据,尚有大量的工作有待开展。首先,应该按照图 4 所示的分子结构合成尿卟啉、原卟啉、亚铁原卟啉和锌原卟啉等卟啉。将每种卟啉制备成样品,测量其太赫兹透射谱,作为这种卟啉的太赫兹指纹谱。其次,将多种卟啉按不同的方式组合,制备成多卟啉样品,测量其太赫兹透射谱,探索在同一谱线中甄别不同卟啉的方法。第三,对血样进行抗凝处理,加入一定的混合液,放入离心管中,用离心机旋转分离,取出上层清液,均匀混入辅料中,制成压片样品,测量其太赫兹透射谱。最后,对上述样品进行太赫兹反射谱的测量,探索无创人皮浅表组织基于太赫兹反射谱检测卟啉的方法。

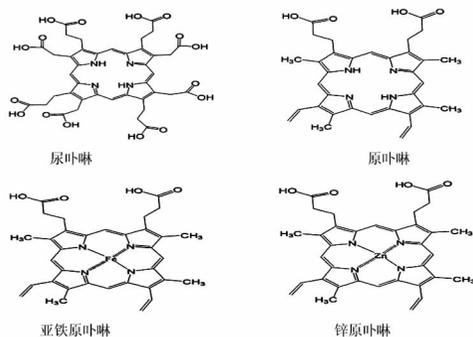


图 4 尿卟啉、原卟啉、亚铁原卟啉和锌原卟啉的分子结构

临床上有急性间歇性卟啉症、先天性红细胞生成性卟啉症及红细胞生成性原卟啉症等多种卟啉症,都与血红蛋白生物合成过程中特定酶的活性或含量的变化有关,卟啉的种类和含量可用于卟啉症的分类诊断,具有重要的临床意义。已有的检测方法各自存在不同的缺点,十分需要探索新的检测方法。本文合成了 3 种卟啉化合物,制备成片状样品。用通用的太赫兹时域频谱系统测量了样品的太赫兹透射谱,结果显示卟啉在 0.1~1 THz 范围内有较为丰富的吸收峰,表明基于太赫兹频谱来识别卟啉材料具有坚实的物理基础。

参考文献

[1] 孟继武,西坂刚. 肿瘤发展过程中卟啉代(下转第 532 页)

以上结果揭示了以下信息:首先,卟啉化合物在 0.1~

肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌等。近年来革兰阴性菌耐药性的增高,主要与这些年抗菌药物大量使用诱导产生 ESBLs 有关。对于产 ESBLs 的病原菌,碳青霉烯类是最稳定的 β-内酰胺类药物,本文结果显示大肠埃希菌对亚胺培南敏感,与文献报道一致^[9]。铜绿假单胞菌在临床送检标本中检出率较高^[10-11],它不仅是血培养中重要致病菌,也是院内感染常见病原菌,由该菌引起的院内感染较为普遍,且治疗困难,常形成多重耐药株,特别是对于介入性治疗、重症监护病房及老年免疫功能低下患者的多重耐药性较高,应引起临床高度警惕。铜绿假单胞菌之所以对多种抗菌药物产生耐药,是由于它在天然环境中多以生物膜形式存在,抗菌药难以穿过生物膜对深层的细菌发挥作用,加之铜绿假单胞菌细胞膜通透性较低,具有主动外排系统等多种耐药机制,故表现出多重耐药。因此葡萄球菌属和肠杆菌科及铜绿假单胞菌依然是当前医院菌血症和(或)败血症的主要病原菌^[12-13]。

综上所述,由于各类抗菌药物的广泛应用导致细菌的耐药率不断增高,应引起高度重视,掌握医院菌血症和(或)败血症主要病原菌的耐药性对指导临床用药有重要意义。

参考文献

[1] Krcmery V, Goghva M, Ondrusova A, et al. Etiology and risk factors 339 cases of infective endocarditis; report from a 102 year national prospective survey in the Slovak Republic [J]. J Chemother, 2003, 15(6): 579-583.
 [2] 廖宏, 刘双全. 2 308 份血培养的病原菌谱及耐药性分析 [J]. 南华大学学报: 医学版, 2007, 35(2): 219-221.
 [3] 姜友珍. 208 例血培养病原菌分布及耐药性分析 [J]. 南华

大学学报: 医学版, 2006, 34(3): 414-416.

[4] 曾云祥, 吴娅娅, 黄友泽, 等. 229 例血培养阳性结果分析 [J]. 中国微生态学杂志, 2006, 4(2): 171-174.
 [5] 闫利娟. 236 例血培养阳性结果分析和病原菌分布 [J]. 河南科技大学学报: 医学版, 2006, 24(4): 265-268.
 [6] 吴均竹, 侯伶俐, 周作华, 等. 血培养中病原菌的分布及耐药性分析 [J]. 实用诊断与治疗杂志, 2007, 21(3): 178-180.
 [7] 李素英, 周树丽, 王玫. 临床细菌耐药监测及干预策略探讨 [J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 14(1): 77-79.
 [8] Appelbaum PC. The emergence of vancomycin-sintermediate and vancomycin-resistant Staphylococcus aureus [J]. Clin Microbiol Infect, 2006, 12(1): 16-23.
 [9] 廖杨, 张晓兵, 龚雅利, 等. 血培养中病原菌的分布及耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(4): 451-453.
 [10] 郝秀红, 马骢, 蒋学兵, 等. 肝移植患者细菌感染的初步观察 [J]. 军医进修学院学报, 2006, 27(5): 379-380.
 [11] 朱永华, 史伟峰. 三种非发酵菌耐药性分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(12): 1083-1084.
 [12] 陈文思, 卢建溪, 黄建华, 等. 1 368 例血培养的病原菌分布及耐药性分析 [J]. 国际内科学杂志, 2007, 12(2): 695-699.
 [13] 解晓珍, 张中奎, 张克斌, 等. 2 420 份血培养结果及菌株耐药状况分析 [J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(8): 137-140.

(收稿日期: 2010-09-13)

(上接第 529 页)

谢的特点及其在肿瘤诊断上的意义 [J]. 科学通报, 1995, 40(12): 1144-1147.
 [2] Krishnamohan M, Huang SH, Maddalena R. Use of urinary porphyrin profiles as an early warning biomarker for monomethylarsonous acid (MMAIII) exposure [J]. WIT Transact Biomed Health, 2006, 10: 193-201.
 [3] Piomelli S. A micromethod for free erythrocyte porphyrins; the FEP test [J]. J Lab Clin Med, 1973, 81(6): 932-940.
 [4] Jones KG, Sweeney GD. Measurement of urine porphyrins and porphyrinogens [J]. Biochem Med, 1976, 15: 223-227.
 [5] Lim CK, Peters TJ. Urine and faecal porphyrin profiles by reversed-phase high-performance liquid chromatography in the porphyrias [J]. Clin Chim Acta, 1984, 139: 55-63.
 [6] Luo J, Lamb HJ, Lim CK. Analysis of urinary and faecal porphyrin excretion patterns in human porphyrias by fast atom bombardment mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 1997, 15: 1289-1294.
 [7] 孟继武, 谷怀民, 郑荣儿, 等. 无创人皮肤浅表组织血液中卟啉的荧光光谱分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(2): 325-327.
 [8] Zhang XC, Xu JZ. Introduction to THz Wave Photonics [M]. Berlin: Springer, 2010: 175-235.

[9] Han PY, Cho GC, Zhang XC. Time-domain transillumination of biological tissues with terahertz pulses [J]. Opt Lett, 2000, 25: 242-244.
 [10] Smge SW, Chamberlain JM, Fitzgerald AJ, et al. The interaction between terahertz radiation and biological tissue [J]. Phys Med Biol, 2001, 46: R101-R112.
 [11] Wallace VP, Fitzgerald AJ, Pickwell E, et al. Terahertz pulsed spectroscopy of human Basal cell carcinoma [J]. Appl Spectrosc, 2006, 60: 1127-1133.
 [12] Fitzgerald AJ, Wallace VP, Jimenez-Linan M, et al. Terahertz pulsed imaging of human breast tumors [J]. Radiology, 2006, 239: 533-540.
 [13] 汪力, 徐新龙, 王秀敏, 等. 一种新型相干辐射——THz 辐射在生物学中的应用 [J]. 生命科学, 2003, 15(2): 108-112.
 [14] Ashworth PC, Pickwell-MacPherson E, Provenzano E, et al. Terahertz pulsed spectroscopy of freshly excised human breast cancer [J]. Opt Express, 2009, 17: 1244-1254.
 [15] Woodward RM, Wallace VP, Arnone DD, et al. Terahertz pulsed imaging of skin cancer in the time and frequency domain [J]. J Biol Phys, 2003, 29: 257-261.

(收稿日期: 2010-08-22)