

УДК 538.955+577.322.23

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВРЕМЕН СПИН-РЕШЕТОЧНОЙ РЕЛАКСАЦИИ ПРОТОНОВ ПЛАЗМЫ С НЕКОТОРЫМИ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ И БИОХИМИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ КРОВИ

*Т.Н. Николаева, Ю.А. Фатрахманова, А.Ш. Гиззатуллина,
М.А. Рудакова, С.И. Никитин, В.Д. Скирда*

Аннотация

В работе на примере исследования группы здоровых доноров проанализированы корреляции между значениями времени спин-решеточной релаксации протонов плазмы крови и основных гематологических и биохимических параметров крови. Установлено наличие корреляции значений времени спин-решеточной релаксации протонов плазмы T_1 с уровнем билирубина и железа плазмы крови. Основанный на этом факте способ нормировки экспериментальных данных позволяет уменьшить разброс значений времени T_1 релаксации больше, чем в 1.5 раза.

Ключевые слова: ЯМР, спин-решеточная релаксация, гематологические и биохимические анализы крови, плазма крови, онкология.

Введение

Известно, что развитие онкологического процесса в организме приводит к увеличению времен спин-решеточной релаксации протонов плазмы (сыворотки) крови [1–4]. Это явление названо «системным эффектом», и было предложено к использованию в диагностике онкологических заболеваний [5, 6]. Однако по сравнению с величиной «системного эффекта» измеряемые значения времен спин-решеточной релаксации характеризуются слишком большим разбросом, чтобы использовать его в качестве базы для диагностики онкозаболеваний.

Существует по меньшей мере три фактора, приводящие к дисперсии значений времени спин-решеточной релаксации плазмы крови. Первый из них связан с ошибками, возникающими непосредственно в процессе измерения как на этапе оцифровки сигнала ЯМР, так и вследствие ошибок в настройке аппаратуры. Второй может быть обусловлен непостоянством условий на этапах приготовления образца. Наконец, третий фактор, очевидно, связан с индивидуальной изменчивостью характеристик самой крови – чрезвычайно сложной молекулярной системы, состав и свойства которой зависят, например, от наличия других, неонкологических заболеваний в хронической и острой формах. В то же время разумно допустить, что упомянутая изменчивость характеристик крови, в принципе, может быть проконтролирована независимо, путем проведения соответствующих анализов крови по стандартным методикам. В случае если между значениями измеряемых величин T_1 и какого-либо из параметров крови будет установлено наличие корреляции, то этот параметр можно будет использовать для уменьшения дисперсии измеряемых значений T_1 путем соответствующей нормировки.

В настоящей работе анализируются результаты исследования основных гематологических и биохимических характеристик крови с целью нахождения корреляции между ними и временем продольной релаксации T_1 плазмы крови.

1. Объекты и методы исследования

Были исследованы образцы крови и плазмы пяти здоровых доноров. При этом для каждого из доноров забор крови осуществлялся в течение трех месяцев несколько раз (от 4 до 9). Забор образцов крови осуществляли в лаборатории «СИТИ-Лаб» из локтевой вены человека непосредственно в две стандартные вакуумные пробирки с антикоагулянтом (этилендиаминтетрауксусная кислота – ЭДТА). Одна из пробирок направлялась на стандартные гематологические и биохимические анализы, а из другой путем центрифугирования в течение 15 мин с частотой 1500 g , где $g = 9.81 \text{ м/с}^2$ – ускорение свободного падения, отделяли плазму для измерения времени спин-решеточной релаксации T_1 .

В качестве исследуемых характеристик крови были выбраны: СОЭ, эритроциты, тромбоциты, лейкоциты, гемоглобин, среднее отношение гемоглобина в эритроците, гематокрит, средний объем эритроцита, ширина распределения эритроцитов, ширина распределения эритроцитов, тромбоцит, отношение тромбоцитов, ширина распределения тромбоцитов, средний объем тромбоцитов, альбумин, общий белок, глюкоза сыворотки, триглицериды, холестерин, липопротеины высокой плотности, липопротеины низкой плотности, билирубин общий, билирубин прямой, калий, железо, коэффициент атерогенности, бета-липопротеиды, натрий, хлор. Всего 29 параметров.

Эксперименты по измерению времен ядерной магнитной релаксации проводились на ЯМР-анализаторе «Хроматэк-Протон 20М», произведенном ЗАО СКБ «Хроматэк» (г. Йошкар-Ола, Россия) с резонансной частотой для протонов 20 МГц.

Для измерения времен T_1 спин-решеточной релаксации использовалась многоимпульсная последовательность, позволяющая получить кривую восстановления продольной намагниченности за одно прохождение, что давало возможность за ограниченное время исследования (≈ 15 мин) провести усреднение по нескольким измерениям (≈ 20), тем самым существенно уменьшить ошибку измерения. Диапазон задержек (τ_i) между 90° -импульсами составлял $2 \div 350$ мс. Полученные кривые восстановления продольной намагниченности удовлетворительно описывались простой моноэкспоненциальной функцией, что обеспечивало возможность достаточно точного (ошибка менее 5%) определения значений времени спин-решеточной релаксации. Температура измерения составила 310 ± 0.1 К.

2. Результаты и их обсуждения

Зависимости параметров крови от значений T_1 представлены в виде распределений («диаграмм рассеяния»), на которых по оси абсцисс для каждого из заборов крови отложены измеренные значения времени спин-решеточной релаксации T_1 протонов плазмы, а по оси ординат – одна из характеристик параллельно проведенного гематологического или биохимического анализа крови. Некоторые наиболее характерные экспериментальные распределения представлены на рис. 1–11. На всех графиках значения параметров, относящихся к одному донору, обозначены отдельным символом (В, D, F или H) и объединены соединительными линиями.

Анализ представленных данных позволяет утверждать, что большинство рассматриваемых гематологических и биохимических характеристик крови существенно различается для разных доноров, но не имеет корреляции с измеренными значениями T_1 . Необходимо также отметить, что отсутствует корреляция значения СОЭ со значениями T_1 плазмы крови, хотя превышение референтных значений этой характеристики часто используется на практике в качестве одного из признаков развития онкозаболеваний [9, 10].

В то же время полученные диаграммы рассеяния таких характеристик, как содержание железа (рис. 1), содержание общего и прямого билирубина (рис. 9, 10)

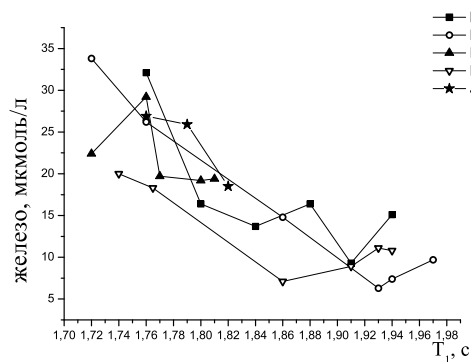


Рис. 1. Распределение количества железа (мкмоль/л) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

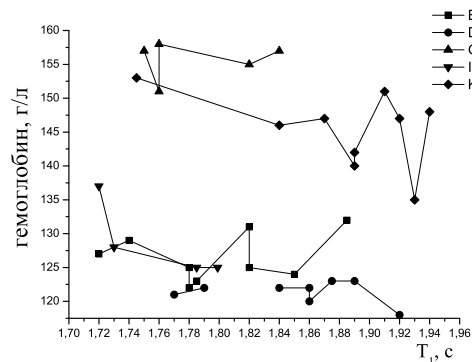


Рис. 2. Распределение значений содержания гемоглобина (г/л) в эритроците и значений времени T_1 (с) плазмы крови

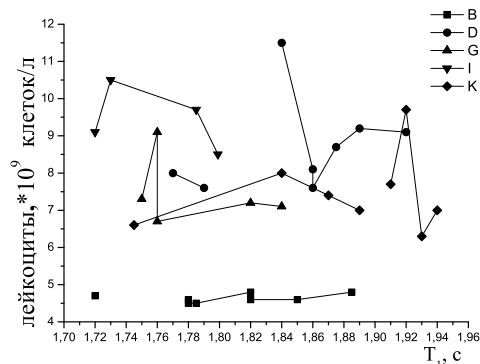


Рис. 3. Распределение количества лейкоцитов (10^9 клеток/л) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

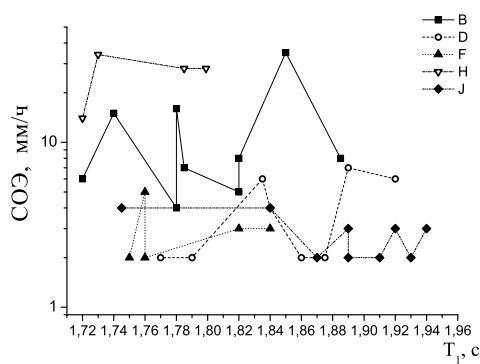


Рис. 4. Распределение значений СОЭ (по Вестергрену, мм/ч) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

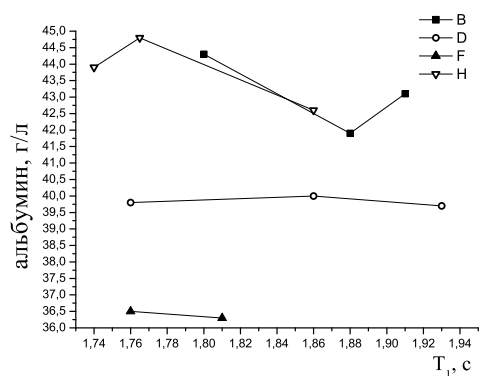


Рис. 5. Распределение концентрации альбумина (г/л) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

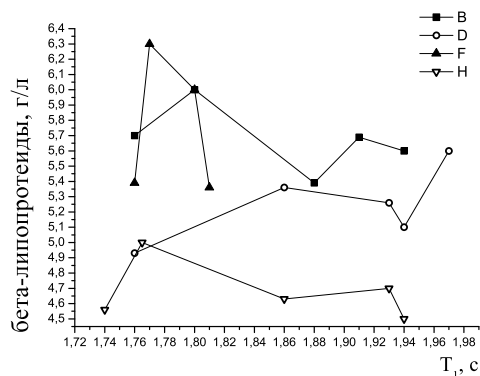


Рис. 6. Распределение значений бета-липопротеидов (г/л) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

в плазме крови, свидетельствуют о наличии корреляции с измеряемыми временами T_1 протонов плазмы крови.

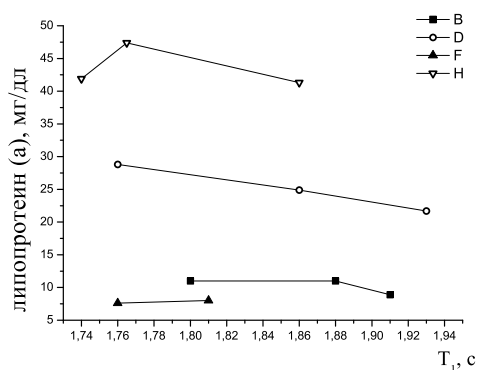


Рис. 7. Распределение значений липопротеина (а) (мг/дл) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

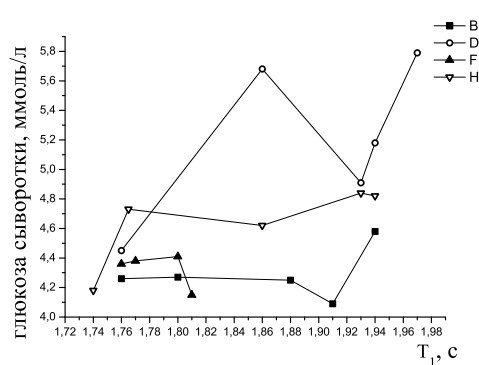


Рис. 8. Распределение значений глюкозы сыворотки (ммоль/л) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

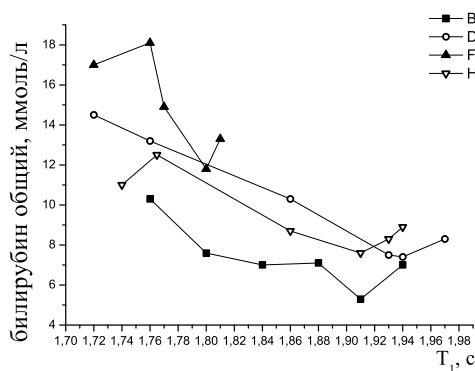


Рис. 9. Распределение значений общего билирубина (ммоль/л) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

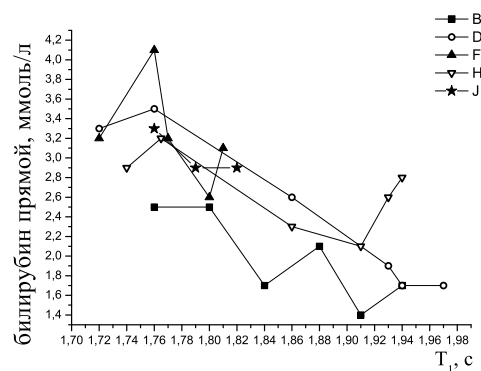


Рис. 10. Распределение значений прямого билирубина (ммоль/л) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

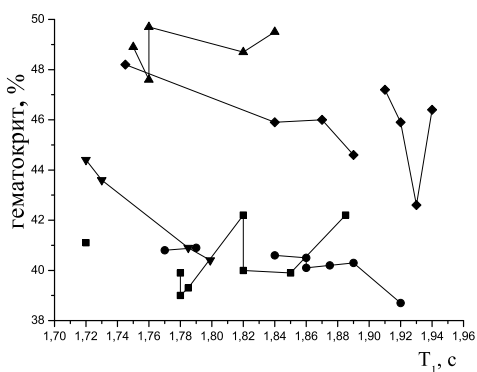


Рис. 11. Распределение значений гематокритического отношения (объемная доля эритроцитов в цельной крови, %) и значений времени T_1 (с) плазмы крови

Известно, что уровни содержания железа и билирубина физиологически связаны друг с другом [11], поэтому имеет смысл ввести некий обобщенный параметр p , который отражал бы концентрацию обоих этих веществ в образце, что

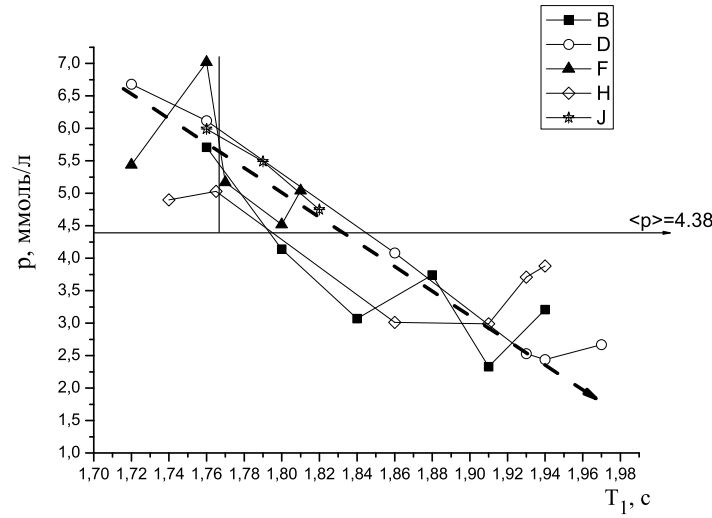


Рис. 12. Распределение значений параметра p , определяемого содержанием железа и билирубина и значением времени T_1 плазмы крови. Пунктирной линией показана корреляционная зависимость параметров p и T_1 . Значения T_1 , относящиеся к одному донору, обозначены отдельным символом (B, C, D, E и т. д.) и объединены соединительными линиями

позволит в некоторой степени усреднить ошибки этих измерений. Но для этого необходимо, чтобы коррелирующие со значениями T_1 параметры были соразмерны. С учетом того, что диапазон изменения значений билирубина примерно в 100 раз больше диапазона изменения показателей железа, искомый параметр p можно оценить следующим образом:

$$p = C_{\text{iron}} \cdot 100 + C_{\text{bilirub}}.$$

Диаграмма рассеяния для найденного таким образом параметра p и времени релаксации плазмы крови T_1 представлена на рис. 12. Вычисленный коэффициент корреляции Пирсона $r = -0.87$, что говорит о наличии достаточно сильной связи между параметрами p и T_1 . В результате зависимость параметра p от значений времени релаксации T_1 плазмы крови может быть описана линейной функцией

$$p = aT_1 + b,$$

где a – наклон линейной функции, b – константа, определяемая усредненными по всем измеренным значениям p и T_1 . После несложных математических выкладок можно получить выражение, позволяющее по измеренным данным p_i и T_{1i} вычислить нормированные значения T_{1i}^{norm}

$$T_{1i}^{\text{norm}} = \frac{\langle p \rangle - (p_i - aT_{1i})}{a}.$$

Итак, пересчитав вышеописанным способом все экспериментально полученные значения времени спин-решеточной релаксации плазмы крови T_1 , получим новую совокупность данных T_{1i}^{norm} , нормированных на параметры крови, коррелирующие со значениями T_1 (рис. 13).

Эффективность произведенной нормировки может быть оценена по уменьшению степени разброса нормированных значений T_1 по отношению к исходным

$$\kappa_{\text{norm}} = \frac{T_{1i}^{\text{max}} - T_{1i}^{\text{min}}}{T_{1i}^{\text{max}} - T_{1i}^{\text{min}}}.$$

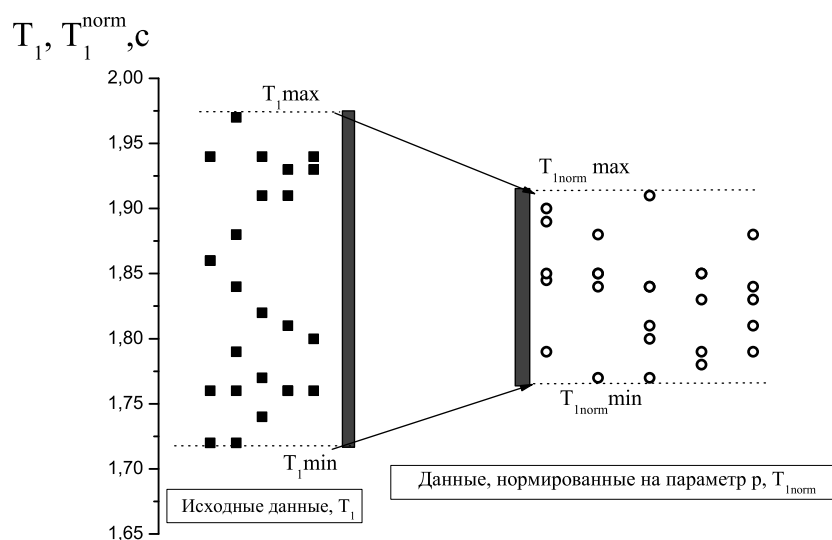


Рис. 13. В левой части рисунка представлены экспериментально полученные значения времени спин-решеточной релаксации T_1 протонов плазмы крови, а в правой – соответствующие значения T_1^{norm} протонов плазмы крови, нормированные на параметр p . Разброс исходных и нормированных значений представлен прямоугольниками

Если минимальное и максимальное значения T_1 -релаксации плазмы крови до нормировки $T_1^{\text{min}} = 1.72$ с и $T_1^{\text{max}} = 1.975$ с соответственно, то после нормировки мы имеем $T_1^{\text{min}} = 1.76$ с и $T_1^{\text{max}} = 1.915$ с и $\kappa_{\text{norm}} = 1.65$.

Таким образом, результатом нормировки значения времени T_1 плазмы крови на коррелирующую ему характеристику крови p является уменьшение разброса времен T_1 релаксации примерно в 1.5 раза.

При разработке ранней диагностики онкологических заболеваний, построенной на существовании «системного эффекта», важное значение имеют способы уменьшения дисперсии времен T_1 . В настоящей работе продемонстрирован один из эффективных способов уменьшения разброса значений T_1 плазмы крови, обусловленного вариациями характеристик крови по содержанию железа и билирубина.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования науки РФ (тема «Бюджет12-15», включенная в госзаказ КФУ 2012 г., шифр 2.2792.2011).

Summary

T.N. Nikolaeva, Yu.A. Fatrakhmanova, A.Sh. Gizzatullina, M.A. Rudakova, S.I. Nikitin, V.D. Skirda. A Comparative Analysis of the Blood Plasma Protons Spin-Lattice Relaxation Time Correlation with Some of the Basic Hematological and Biochemical Blood Parameters.

The aim of the experiment was to find out correlation between spin-lattice relaxation time of blood plasma protons and basic hematological and biochemical blood parameters using blood of healthy donors. It was established that the blood spin-lattice relaxation time T_1 correlates with the level of blood plasma bilirubin and iron. This makes it possible to reduce the dispersion of T_1 values more than 1.5 times by introducing a new way of rationing.

Key words: NMR, spin-lattice relaxation, hematological and biochemical blood tests, blood plasma, oncology.

Литература

1. Frey H.E., Knispel R.R., Kruuv J., Sharp A.R., Thompson R.T., Pintar M.M. Proton spin-lattice relaxation studies of nonmalignant tissues of tumorous mice // J. Natl. Cancer Inst. – 1972. – V. 49, No 3. – P. 903–906.
2. Floyd R.A., Leigh J.S. Jr., Chance B., Miko M. Time course of tissue water proton spin-lattice relaxation in mice developing ascites tumors // Cancer Res. – 1974. – V. 34, No 1. – P. 89–91.
3. U.S. Patent No. 5213101. Process for the detection of cancer using nuclear magnetic resonance / E.T. Fossel. – US005213101A; Pub. Date Apr. 27, 1990; Iss. Date May 25, 1993.
4. Байжиев Р.Ф., Хайруллина В.Р., Зиятдинов К.М. и др. Изменение времен ЯМР-1H-релаксации сыворотки крови как метод лабораторной диагностики // Лабораторное дело. – 1990. – № 12. – С. 17–19.
5. Beall P.T., Narayana P.A., Amtey S.R., Spiga L., Intra E., Ridella S., Mela G.S. The systemic effect of cancers on human sera proton NMR relaxation times // Magn. Reson. Imaging. – 1984. – V. 2, No 2. – P. 83–87.
6. Ревокатов О.П., Гангардт М.Г., Мурашко В.В., Журавлев А.К. ЯМР-релаксация в сыворотке крови человека и диагностика злокачественных новообразований // Биофизика. – 1982. – Т. 27. – С. 336–338.
7. Хауссерр К.Х., Кальбитцер Х.Р. ЯМР в медицине и биологии: структура молекул, томография, спектроскопия in-vivo. – Киев: Наукова думка, 1993. – 258 с.
8. Магнитный резонанс в медицине: Основной учебник Европейского Форума по магнитному резонансу / Под ред. П.А. Ринка; пер. с англ. – Oxford: Backwell Sci. Pub., 1995. – 247 с.
9. Гангардт М.Г., Карякина Н.Ф., Павлов А.С., Папиш Е.А. Сравнение уровня эндогенных парамагнетиков в сыворотке крови в норме и при патологии методом протонной магнитной релаксации // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. – № 11. – С. 557–560.
10. Гангардт М.Г. Протонная ЯМР-релаксация неводной компоненты сыворотки крови человека // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. – № 10. – С. 445–448.
11. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГОЭТАР-Медиа, 2007. – 798 с.
12. Гмурман В.Е. Теория вероятностей и математическая статистика. – М.: Высш. шк., 2004. – 479 с.

Поступила в редакцию
24.11.11

Николаева Татьяна Николаевна – аспирант кафедры физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: tattina@list.ru

Фатрахманова Юлия Анатольевна – студент кафедры физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: YuliaFatrakhmanova@yandex.ru

Гиззатуллина Асия Шамилевна – магистрант по направлению «Физика магнитных явлений» Казанского (Приволжского) федерального университета.

Рудакова Майя Анатольевна – кандидат физико-математических наук, ассистент кафедры физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

Никитин Сергей Иванович – кандидат физико-математических наук, доцент кафедры квантовой электроники и радиоспектроскопии Казанского (Приволжского) федерального университета.

Скирда Владимир Дмитриевич – доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой физики молекулярных систем Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *Vskirda@ksu.ru*