

УДК 532:535.33/.34

АБСОРБЦИОННЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИХ КОМПОНЕНТОВ ЛИКВОРА ДЛЯ НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКИХ ЗАДАЧ

В.А. Семибратова, Ю.М. Титов

ABSORPTION METHOD FOR DETECTION OF FERRIFEROUS COMPONENTS IN CEREBROSPINAL FLUID FOR NEUROSURGICAL TASKS

V.A. Semibratova, Yu.M. Titov

Работа содержит результаты спектральных исследований ликвора человека с целью выявления особенностей его состава при нейрохирургических заболеваниях и в период выздоровления. Предложена методика на основе прецизионных измерений и последующего компьютерного анализа спектров поглощения ликвора в УФ и видимой области, позволяющая выявлять характерные полосы, связанные с патологией. Данная методика позволяет качественно и количественно определять железосодержащие компоненты в ликворе для решения нейрохирургических задач.

The work contains the results of spectral researches of human cerebrospinal fluid with the purpose of singling out its composition peculiarities during the neurosurgical diseases and period of recovering. The technique based on precision measurements of UV and visible absorption spectra of cerebrospinal fluid with the subsequent mathematical analysis is offered. It allows to reveal the characteristic bands related with pathology and qualitatively and quantitatively detect ferriferous components in cerebrospinal fluid for neurosurgical problems decision.

Спинальная жидкость (ликвор) - внутренняя среда центральной нервной системы, в состав которой входят различные белки, минеральные вещества и небольшое количество клеток (лейкоциты, лимфоциты). Вследствие наличия гематоэнцефалического барьера ликвор наиболее полно характеризует функциональную активность различных медиаторных систем головного и спинного мозга. При травматических и инсультных состояниях нарушается проницаемость гематоэнцефалического барьера, что приводит к появлению в ликворе железосодержащих белков крови, в частности гемоглобина.

Интерес представляют методы, позволяющие выявлять и дифференцировать малые повреждения центральной нервной системы. Прежде всего, это касается использования физических спектральных методов анализа. В связи с этим ранее нами проводились спектральные исследования ликвора различными методами в дополнение к УФ-спектроскопии [1]. Эта дополнительная информация о ликворе отражает нейропроцессы и не является доступной для стандартных биохимических методик. В итоге нами разработана методика, основанная на прецизионных измерениях с последующим математическим анализом. Для этого измерение спектров и их математическая обработка были произведены на изготовленном нами ранее спектрально-вычислительном комплексе. Данная методика позволяет качественно и количественно характеризовать малые повреждения центральной нервной системы. Следует подчеркнуть, что стандартные методы (например, Аленцева-Фока и др.) разделения спектров на составляющие полосы в данном случае не подходят.

Экспериментальная техника

Спектрально-вычислительный комплекс позволяет записывать спектры поглощения, отражения, люминесценции и фотовозбуждения в спектральном диапазоне 0.19÷4 мкм. Точность измерений определяется четырьмя десятичными знаками, и в случае измерения коэффициента поглощения k , точность составляет для разных участков спектра от 0.1 до 0.01 %. Математи-

ческая обработка производится по программе, включенной в состав спектрально-вычислительного комплекса. В большинстве случаев поглощение ликвора измерялось в области 190÷600 нм. Так как коэффициент поглощения ликвора в УФ-области находится в пределах от 0.1 см⁻¹ до ≥ 100 см⁻¹, то для записи коротковолновой области спектра приходилось его разводить до 100 раз. На рис. 1 приведен характерный спектр поглощения ликвора больного.

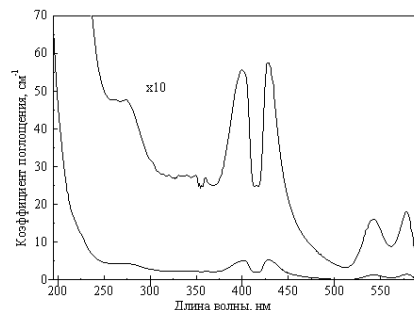


Рис. 1. Спектр поглощения ликвора больного и длинноволновая часть спектра, растянутая в 10 раз по коэффициенту поглощения.

Методики обработки спектров

Анализ наиболее интенсивной части спектра поглощения (192÷240 нм) показал, что плавно убывающее в длинноволновую область поглощение происходит по экспоненциальной зависимости. Оно представляет собой наложение спадающих ветвей полос поглощения, максимумы которых расположены в области вакуумного УФ. Регистрация этих полос затруднена ввиду интенсивного поглощения воды. Совокупность спадающих ветвей этих полос моделировалась соответствующей экспоненциальной функцией. Такое представление физически обосновано и экспериментально подтверждено [2]. Далее эта зависимость вычиталась из исходного спектра поглощения ликвора. В результате удавалось наблюдать полосы, которые были слабее в 100 раз спадающего континуума (см. рис. 2).

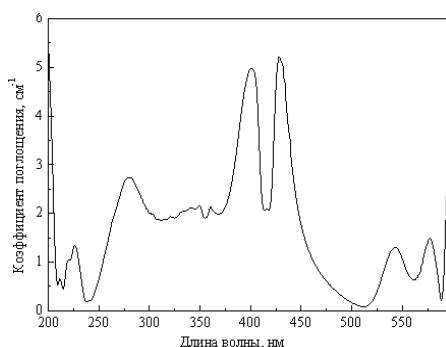


Рис. 2. Спектр поглощения ликвора больного за вычетом коротковолновой полосы

Затем исследовалась форма выраженной полосы поглощения в области 280 нм. Выявлено, что в целом эта полоса имеет симметричную гауссову форму в энергетической системе координат, что дает возможность моделирования такой функции и ее вычитания из исходного спектра. В результате в области основной полосы удастся наблюдать небольшие поглощающие компоненты.

В другом подходе использовался усредненный спектр поглощения ликвора для группы условно здоровых пациентов и применялся для выявления спектральных особенностей ликвора больных. Для этого была получена разность спектра поглощения больного и данного усредненного спектра (см. рис. 3). Этот способ позволил определить ранее описанным методом дополнительные полосы поглощения, характерные для больных.

Отношением спектра поглощения ликвора больного пациента и усредненного спектра поглощения ликвора группы здоровых пациентов можно определить изменение поглощения относительно нормы (см. рис. 4).

Для практического использования важно знать относительное изменение концентрации веществ, которая определяется площадью полосы поглощения. Для этого было проведено интегрирование спектров по нескольким характерным областям: коротковолновой (200–250 нм) и длинноволновой (250–360 нм) в УФ диапазоне и коротковолновой (380–450 нм) и длинноволновой (500–580 нм) в видимой области.

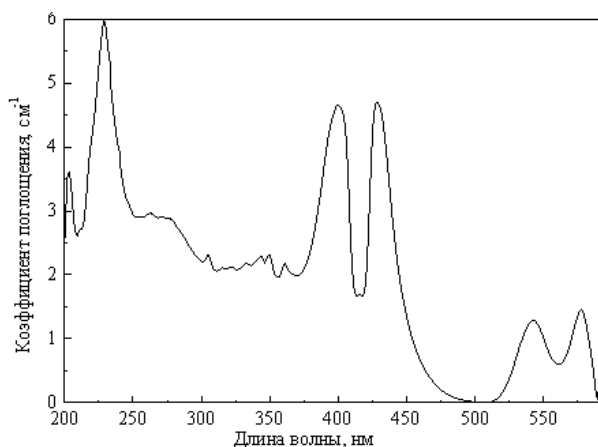


Рис. 3. Разность спектра поглощения ликвора больного и усредненного спектра группы здоровых людей.

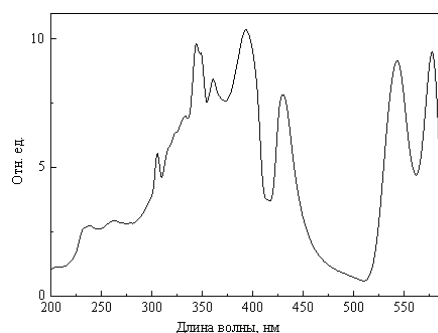


Рис. 4. Отношение спектра поглощения ликвора больного и усредненного спектра поглощения ликвора группы здоровых людей

Результаты

При использовании компьютерного анализа для математической обработки спектров поглощения ликвора в УФ области, были выявлены следующие особенности. Спектры поглощения ликвора пациентов с различными нейрохирургическими заболеваниями имеют характерные полосы, максимумы которых часто находятся на следующих длинах волн: 208, 214, 219, 222, 226, 274, 276, 278, 280 нм. Усредненный спектр поглощения ликвора группы здоровых людей имеет меньше максимумов: 213 ($\Delta k = 0.2 \text{ см}^{-1}$), 219 и 224 ($\Delta k = 2.2 \text{ см}^{-1}$), 265 ($\Delta k = 0.1 \text{ см}^{-1}$), 277 нм ($\Delta k = 1.8 \text{ см}^{-1}$). Сравнение спектров поглощения ликвора в норме и при заболевании показало, что в случае воспалительного процесса k возрастает до 4.5 раз в области 220 нм и до 2 раз в области 280 нм. Этому соответствует изменение концентрации составляющих компонентов ликвора до 4 раз.

Исследование спектров поглощения ликвора, содержащего кровь, в видимой области позволило выделить полосы, соответствующие железосодержащим белкам крови. К ним относится гемоглобин и его производные: дезоксигемоглобин, оксигемоглобин и метгемоглобин. Гемоглобин – белок эритроцитов, переносящий молекулярный кислород. По химической природе гемоглобин состоит из белка глобина и гема – комплекса Fe(II) с протопорфирином. В молекуле дезоксигемоглобина железо отстоит от плоскости порфиринового кольца на 0,5 – 0,6 Å. Из шести 3d-электронов железа Fe(II) спарены на одной из низших d-орбиталей, а четыре электрона занимают оставшиеся d-орбитали, спин $S = 2$. Магнитный момент гема в этом состоянии равен $\sim 5,5$ боровского магнетона, а спектр поглощения в зеленой области имеет характерную полосу, максимум которой находится на длине волны 556 нм [3].

Атом железа в оксигемоглобине лежит практически в плоскости порфиринового кольца. Все шесть d-электронов спарены на трех низших d-орбиталях, спин $S = 0$, оксигемоглобин диамагнитен [3]. В зеленой области имеются две характерные полосы поглощения: 542 и 576 нм [4].

В метгемоглобине место кислорода занимает молекула воды, железо находится ближе к плоскости гема, чем в дезоксигемоглобине, все пять d-электронов неспарены и занимают пять d-орбиталей. Спин $S = 5/2$ и магнитный момент равен $\sim 5,91$ боровского магнетона [3]. В видимой области

имеются характерные полосы поглощения: 420, 542 и 578 нм [4].

Анализ спектров поглощения ликвора пациентов с нейрохирургическими заболеваниями в видимой области позволил выявить характерные полосы, максимумы которых находятся на следующих длинах волн: 398, 428, 542, 578 нм. Полосы поглощения в области 428, 542 и 578 нм соответствуют производным гемоглобина – оксигемоглобину и метгемоглобину. Появление в ликворе белков крови свидетельствует о нарушении проницаемости и даже разрушении гематоэнцефалического барьера вследствие неврологических заболеваний или травм. Абсорбционный метод исследования спектров поглощения ликвора, предложенный выше, позволяет использовать его для целей диагностики и прогнозирования течения болезней. Сравнение спектров поглощения ликвора в норме и при заболевании показало, что в случае присутствия в ликворе крови k возрастает до 10 раз в области 400 нм, до 8 раз в области 420 нм и до 9 раз в области 540, 580 нм.

При сопоставлении спектров с клиническим проявлением болезней были получены следующие результаты. При остеохондрозе позвоночника $k = 40 \div 100 \text{ см}^{-1}$ при 200 нм находился в пределах, близких к норме, интегральное увеличение концентрации компонентов ликвора от нормы составляло до 1.6 раз. Появление грыжи диска сопровождается увеличением $k \sim 230 \text{ см}^{-1}$, а при наличии болевого синдрома длительностью до полугода чаще $k > 300 \text{ см}^{-1}$. При этом увеличение концентрации компонентов возрастает от 1.1 до 2.4 раз. При осложненных травмах позвоночника с давностью заболевания от 0.5 до 5 лет $k = 70 \div 260 \text{ см}^{-1}$, 30 лет – $k = 69 \div 142 \text{ см}^{-1}$, увеличение концентрации компонентов – от 1.3 до 1.7 раз. У больного с неосложненной травмой позвоночно-двигательного сегмента (давность травмы 15 лет) $k = 80 \text{ см}^{-1}$, концентрация компонентов – от нормы до увеличения в 1.5 раза. Наличие нормальной концентрации веществ в ликворе указывает на компенсированное течение болезни.

В результате исследований наблюдались заметные изменения спектров поглощения ликвора в УФ и видимой области в зависимости от вида и тяжести заболевания. Так, при травматических и инсультных состояниях в ликворе появлялись белки крови, содержащие железо (гемоглобин и его производные). Предложенная выше методика, основанная на прецизионных измерениях с последующими обработками на спектрально-вычислительном комплексе, позволяет выявлять железосодержащие компоненты в ликворе и определять их количество. Высокая чувствительность методики даёт возможность использовать её для регистрации малых повреждений центральной нервной системы. В заключение, следует отметить, что новые методы исследования, возникшие на стыке клинической медицины и физики с применением компьютерной техники, позволяют более детально оценивать и интерпретировать состояния качественных свойств ликвора у нейрохирургических больных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семибратова В.А., Титов Ю.М. Спектроскопия спинномозговой жидкости человека // Волновые процессы в проблеме космической погоды: труды VI сессии молодых ученых. - Иркутск, 2003. - С.190-191.
2. Грузин П.Г., Потапов В.Э., Семибратова В.А., Сорочиков В.А., Титов Ю.М. Методы анализа слабоструктурированных УФ-спектров поглощения ликвора для нейрохирургических задач // Взаимодействие полей и излучения с веществом: труды VII сессии молодых ученых. – Иркутск, 2004. - С. 223-225.
3. Л.А. Блюменфельд. Гемоглобин // Соросовский образовательный журнал. 1998. №4. – С. 34-38.
4. W.G. Zijistra, A. Buusma, W.P. Meeuwseer-van der Roest. Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin and methemoglobin // Clinical chemistry. Vol. 37/9. 1991. – P. 1633-1638.

Иркутский государственный университет.