ПРИМЕНЕНИЕ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ШИЗОФРЕНИИ

Красникова О.В.¹, Гордецов А.С.¹, Касимова Л.Н.¹, Минаева А.А.²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород, e-mail: lala-g@yandex.ru;

²Филиал ГБУЗ «ПКБ № 4 ДЗМ» Психоневрологический диспансер № 16, Нижний Новгород

Цель исследования — изучить целесообразность применения метода инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в диагностике шизофрении. Методом инфракрасной (ИК) спектроскопии исследовали сыворотку крови 30 здоровых добровольцев и 30 пациентов с шизофренией. Регистрацию ИК-спектров образцов высушенной сыворотки крови осуществляли на спектрофотометре «Carl Zeiss Jena SPECORD IR-75» (Германия) в области волновых чисел 1200–1000 см⁻¹ в вазелиновом масле. В качестве диагностических параметров принимали частные от деления высот пиков полос поглощения (см⁻¹/см⁻¹): П₁ – 1150/1040; П₂ – 1160/1040; П₃ – 1140/1100, П₄ – 1165/1070; П₅ – 1165/1150; П₆ – 1165/1025. Рассчитанные показатели продемонстрировали статистически значимую разницу параметров ИК-спектров сыворотки крови больных шизофренией и здоровых людей (p<0,001). Представленные лепестковые диаграммы, построенные с учетом аналитически значимых частот поглощения, позволили визуализировать динамику превращений в виде ИК-профилей, объективно и наглядно иллюстрирующих выводы по диагностике шизофрении. Инфракрасная спектроскопия является потенциально эффективным методом диагностики шизофрении. Данный подход в диагностике шизофрении не имеет аналогов ни в российской, ни в зарубежной практике и может по праву считаться прорывным в данной области науки.

Ключевые слова: инфракрасная спектроскопия, шизофрения.

APPLICATION OF INFRARED SPECTROSCOPY OF BLOOD SERUM FOR DIAGNOSIS OF SCHIZOPHRENIA

Krasnikova O.V.¹, Gordetsov A.S.¹, Kasimova L.N.¹, Minaeva A.A.²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Privolzhskiy Research Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod, e-mail: lala-g@yandex.ru;

² Branch GBUZ «PKB No. 4 DZM» Psychoneurological dispensary No. 16, Nizhny Novgorod

The purpose of the study is to study the feasibility of applying the method of infrared spectroscopy of blood serum in the diagnosis of schizophrenia. The method of infrared (IR) spectroscopy was used to study the blood serum of 30 healthy volunteers and 30 patients with schizophrenia. The IR spectra of the samples of dried blood serum were recorded on a Carl Zeiss Jena SPECORD IR-75 spectrophotometer (Germany), in the wavenumber range 1200–1000 cm⁻¹ in liquid paraffin. As the diagnostic parameters, the quotient of the division of the heights of the peaks of the absorption bands (cm⁻¹ / cm⁻¹) was taken: P₁ - 1150/1040; P₂ - 1160/1040; P₃ - 1140/1100, P₄ - 1165/1070; P₅ - 1165/1150; P₆ - 1165/1025. The calculated indices showed a statistically significant difference in the parameters of the IR spectra of blood serum of patients with schizophrenia and healthy people (p <0.001). The presented petal diagrams, constructed taking into account analytically significant absorption frequencies, made it possible to visualize the dynamics of transformations in the form of IR profiles, objectively and clearly illustrating the findings on the diagnosis of schizophrenia. Infrared spectroscopy is a potentially effective diagnostic tool for schizophrenia. This approach to the diagnosis of schizophrenia has no analogues in either Russian or foreign practice and can rightfully be considered a breakthrough in this field of science.

Keywords: infrared spectroscopy, schizophrenia.

Актуальными нерешенными проблемами современной психиатрии на сегодняшний день остаются поиск эффективных методов диагностики для выявления шизофрении на ранних этапах заболевания, а также мониторинг риска возникновения и течения заболевания. Учеными-исследователями были разработаны различные методы диагностики нервно-психических заболеваний, основанные на оценке иммунологических и нейрохимических

показателей крови [1], специфического паттерна экспрессии генов [2], особенностей кровоснабжения и электрической активности различных структур головного мозга [3]. Однако указанные подходы весьма затратны по времени и стоимости.

Известно, что при возникновении шизофрении происходит нарушение процессов обмена веществ и в сыворотке крови меняются концентрации биохимических компонентов – липидов, белков, углеводов [4]. Такие изменения количеств веществ можно принимать за предикторы возникновения шизофрении. Так, в работе [5] определяют содержание глутамата в сыворотке крови больного шизофренией и при его концентрации выше 48,6 нмоль/мл диагностируют ведущую негативную симптоматику. Однако данный подход в диагностике шизофрении имеет множество недостатков, например включает трудоемкую подготовку образцов и создание условий для проведения исследования, требует высоких временных затрат (до нескольких дней), расходов на приобретение и доставку наборов специальных реактивов зарубежного производства для определения глутамата, приобретение которых в связи с нестабильной экономической и политической обстановкой в настоящее время становится практически невозможным.

Одним из альтернативных методов диагностики шизофрении, на наш взгляд, является инфракрасная спектроскопия. Данный физико-химический метод достаточно объективен и точен, позволяет выявить наличие и динамику изменения содержания химических веществ в биологическом образце при патологии [6], таких как РНК, углеводы, жиры, белки [7–9].

Показательными в данном методе являются полосы поглощения фосфор-кислородных связей (Р-О) различных фосфорсодержащих веществ [6].

Так, в работе [10] отмечено, что в роли фосфорсодержащих веществ, имеющих пики полос поглощения с максимумами в области ИК-спектра $1200\text{--}1000\text{ см}^{-1}$, могут выступать компоненты адениловой системы, а именно АТФ, АДФ, АМФ, а также неорганические фосфаты.

Согласно известным литературным данным содержание АТФ в крови больных шизофренией либо резко снижается, либо остается неизменным при одновременном накоплении АДФ и АМФ [11, 12], а колебания концентрации глюкозы в мозге или в нервной ткани могут сильно нарушить выполнение основных функций головного мозга [13].

На основании вышеизложенного целесообразным является исследование изменения характеристик ИК-спектров сыворотки крови больных шизофренией с целью выявления маркеров данного заболевания.

Цель исследования — установить целесообразность применения метода инфракрасной спектроскопии сыворотки крови в диагностике шизофрении.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на базе клиник

кафедры психиатрии совместно с кафедрой общей химии ПИМУ (г. Нижний Новгород). Методом инфракрасной (ИК) спектроскопии исследовали сыворотку крови 30 здоровых добровольцев и 30 пациентов с шизофренией.

Исследование одобрено Этическим комитетом ПИМУ. Каждый пациент дал письменное согласие на участие в исследовании.

Пробоподготовка проводилась по методике, указанной в работе [6]. Сухой образец сыворотки крови растирали в вазелиновом масле. Регистрацию ИК-спектров сухих образцов проводили на спектрофотометрах «Carl Zeiss Jena SPECORD IR-75» и «M80» (Германия).

На полученных ИК-спектрах с помощью компьютерных авторских программ определяли высоты максимумов при 1165; 1160; 1150; 1140; 1100; 1070; 1040, 1025 см^{-1} . Информативными показателями выступали спектроскопические параметры, полученные делением высот пиков полос поглощения друг на друга ($\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$): P_1 – 1150/1040; P_2 – 1160/1040; P_3 – 1140/1100, P_4 – 1165/1070; P_5 – 1165/1150; P_6 – 1165/1025 [14].

Полученные по характеристикам ИК-спектров поглощения цифровые данные были обработаны на IBM PC/AT с помощью пакетов прикладных программ Statistica-6.0 (Windows XP) и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. Результаты представляли в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое, m – стандартное отклонение. Достоверность различий средних значений определяли по t-критерию Стьюдента. Выборки считались принадлежащими к разным генеральным совокупностям при $p \leq 0,05$. Для наглядности и удобства анализа результаты визуализированы в виде диаграмм.

Результаты исследования и их обсуждение

По указанному выше алгоритму были получены значения шести параметров (P_1 , P_2 , P_3 , P_4 , P_5 , P_6) для каждой экспериментальной группы: здоровых добровольцев и пациентов с клинически установленным диагнозом «шизофрения» (см. табл. 1):

Таблица 1

Изменение параметров ИК-спектров сыворотки крови больных шизофренией

	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6
Группа контроля	$0,80 \pm 0,05$	$0,70 \pm 0,06$	$3,10 \pm 0,05$	$0,82 \pm 0,21$	$0,54 \pm 0,06$	$0,80 \pm 0,21$
Группа пациентов с установленным диагнозом «шизофрения»	$1,80 \pm 0,10^*$	$1,30 \pm 0,10^*$	$4,10 \pm 0,15^*$	$1,09 \pm 0,02^*$	$0,65 \pm 0,02^*$	$1,06 \pm 0,02^*$

* – различия достоверны с группой здоровых добровольцев ($p \leq 0,05$)

Как видно из представленных в таблице 1 результатов, при шизофрении происходит достоверное увеличение значений параметров (1–3) ИК-спектров сыворотки крови – на

125%, 85% и 32% соответственно ($p \leq 0,001$). Такой высокий и достоверный рост указанных параметров является надежным диагностическим критерием рассматриваемой патологии.

Результаты математической обработки интерпретировали в виде лепестковых диаграмм, которые представляют собой дифференциально-диагностические профили двух основных состояний (рис. 1):

Рис. 1. Дифференциально-диагностические профили для группы контроля и группы пациентов с установленным диагнозом «шизофрения»

Как видно из рисунка 1, диагностические «образы» нормы и шизофрении отличаются – площадь треугольника шизофрении больше площади профиля контроля, при этом внешний вид фигуры сохраняется.

Такой подход визуализации полученных данных гораздо удобнее для клиницистов и смог бы улучшить эргономику клинического приема, так как, получая для каждого отдельного пациента подобный «профиль» на основе анализа крови и сравнивая его с этими двумя состояниями: «болен» – «здоров», врач имел бы возможность быстро и точно поставить диагноз заболевания или исключить его совсем.

Клинический пример. Больной С., 24 года. Обратился за помощью в психиатрическую клинику. Диагноз «шизофрения» поставлен на основании анамнеза жизни, анамнеза болезни и клинических симптомов.

Методом ИК-спектроскопии провели анализ сыворотки крови, построили дифференциально-диагностический профиль для крови данного пациента (рис. 2):

Рис. 2. Дифференциально-диагностический профиль пациента

Сравнили математический образ конкретного пациента с имеющимися профилями «шизофрения» и «норма». На основании геометрического подобия фигур сделали заключение и поставили диагноз «шизофрения».

Таким образом, метод ИК-спектроскопии позволяет проводить диагностику шизофрении у больных, а также исключать данный диагноз полностью.

Такие графические изменения являются результатом происходящих в организме больного патологических процессов, вследствие чего меняется содержание основных метаболитов обмена веществ — АТФ, АДФ, АМФ и глюкозы, что отражается на ИК-спектрах сыворотки крови испытуемых.

Результат расчета параметров ИК-спектров сыворотки крови, основанных на идентифицированных полосах ИК-спектра, представлен в таблице 1. Рассчитанные показатели продемонстрировали статистически значимую разницу параметров ИК-спектров сыворотки крови больных шизофренией и здоровых людей.

Как видно из результатов, приведенных в таблице, значения параметров П4–П6 достоверно увеличиваются на 33%, 20% и 33% соответственно ($p \leq 0,05$).

В работе [10] указано, что полоса поглощения при 1165 см^{-1} является частью спектра АТФ, при 1150 см^{-1} – АДФ, при 1070 см^{-1} – АМФ. Полоса поглощения при 1025 см^{-1} в рабочем атласе А. Norman (1978) служит частью спектра глюкозы.

Таким образом, на основании полученных данных можно говорить об увеличении содержания в крови больных шизофренией АТФ на фоне снижения содержания АМФ, АДФ и глюкозы.

Полученные данные совпали с результатами работы [15]. Вероятно, такое повышение

содержания АТФ связано с низкой скоростью его потребления. Известно, что при нейрональной активности АТФ утилизируется, поэтому фосфокреатин быстро преобразуется в АТФ. При повышении концентрации фосфокреатина снижается потребление АТФ в левой височной области пациентов с шизофренией. Следовательно, снижение концентрации АДФ и АМФ обусловлено низкой скоростью ресинтеза АТФ. Низкое содержание глюкозы вызвано тем, что основным субстратом окисления для нейронов головного мозга является глюкоза крови, поступающей в мозг, так как в нормальных условиях затруднено отложение больших запасов гликогена в мозгу [13].

Существует целый ряд заболеваний и факторов, которые имеют и вызывают те же симптомы, что и шизофрения, например новообразования головного мозга [16, 17].

Метод ИК-спектроскопии сыворотки крови с успехом позволяет провести дифференциальную диагностику шизофрении и злокачественных новообразований головного мозга. Так, по данным работы [14] расчет параметров P_1 – P_3 позволяет дифференцировать данные патологии (рис. 3).

Рис. 3. Изменение ИК-спектроскопических параметров в зависимости от состояния больного

По сравнению с мировыми аналогами [18, 19] предлагаемый метод является наиболее точным, объективным и не требует больших материальных и временных затрат.

Заключение. В данной работе при разработке метода диагностики шизофрении были использованы ИК-спектроскопические параметры сыворотки крови, зависящие от концентрации молекул фосфатов (АТФ, АДФ, АМФ и глюкозы), изменяющиеся в процессе патологического метаболизма, инициированного шизофренией.

Расчетные показатели продемонстрировали статистически значимую разницу ИК-спектров для изучаемых состояний – норма/шизофрения, давая возможность исключить их полностью.

Представленные лепестковые диаграммы, построенные с учетом значений всех отношений высот пиков полос поглощения с диагностически значимыми максимумами, позволили визуализировать ИК-профили, сделав диагностику шизофрении не только более объективной и достоверной, но и более наглядной.

Данный подход в диагностике шизофрении на основании ИК-спектроскопии крови каждого конкретного пациента применен впервые в мировой практике.

Список литературы

1. Смирнова Л.П., Иванова С.А., Корнетова Е.Г., Щигорева Ю.Г., Наумова А.И., Семке А.В. Лабораторный способ дифференциальной диагностики ведущей позитивной и негативной симптоматики у больных шизофренией // Патент 2482486 С1. 2013.
2. Сторожева З.И., Киренская А.В., Новотоцкий-Власов В.Ю., Ткаченко А.А. Способ диагностики шизофрении // Патент 2563124 С1. 2015.
3. Саркисян В.В. Способ дифференциальной диагностики параноидной шизофрении и шизоаффективного расстройства // Патент 2532309. 2014.
4. Озорнин А.С., Озорнина Н.В., Говорин Н.В. Некоторые патофизиологические механизмы изменения показателей липидного спектра крови при антипсихотической терапии у больных острой шизофренией // Социальная и клиническая психиатрия. 2013. Т. 23(2). С. 45-49.
5. Смирнова Л.П., Корнетова Е.Г., Логинова Л.В., Иванова С.А., Дармаева Б.-Х.В., Семке А.В., Бохан Н.А. Лабораторный способ диагностики ведущей негативной симптоматики у больных шизофренией // Патент 2578957. 2016.
6. Гордцов А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей // Современные технологии в медицине. 2010. № 1. С. 84-98.

7. Bellisola G., Sorio C. Infrared spectroscopy and microscopy in cancer research and diagnosis Infrared spectroscopy and microscopy in cancer research and diagnosis. Am. J. Cancer Res. 2012. Vol. 2 (1). P. 1-21.
8. Hands J.R., Dorling K.M., Abel P. et al. Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared(ATR-FTIR) spectral discrimination of brain tumour severity from serum samples. J. Biophotonics. 2014. Vol. 7 (3-4). P. 189-199.
9. Hands J.R., Abel P.K. Ashton et al. Investigating the rapid diagnosis of gliomas from serum samples using infrared spectroscopy and cytokine and angiogenesis factors. Anal. Bioanal. Chem. 2013. Vol. 405 (23). P. 7347-7355.
10. Красникова О.В. Физиологический анализ инфракрасных спектров плазмы крови животных в норме и при экспериментальном онкогенезе: дис. ... канд. биол. наук. Нижний Новгород: ННГУ, 2012. 133 с.
11. Марута Н.А., Рачкаускас Г.С., Фролов В.М., Высочин Е.В. Эффективность комбинации реамберина и циклоферона в лечении больных параноидной шизофренией с терапевтической резистентностью к нейролептикам // Украинский вестник психоневрологии. 2011. Т. 19. №. 4 (69). С. 80-85.
12. Степаненко Б.Н. Углеводы и углеводный обмен // Химия и обмен углеводов: материалы II Всесоюзной конференции по проблеме. М.: АН СССР. 1961. 335 с.
13. Вартанян М.Е. Современные проблемы генетики психиатрических заболеваний // Проблемы медицинской генетики: сб. ст. М., 1970. С.495-509.
14. Гордецов А.С., Красникова О.В., Минаева А. А, Касимова Л.Н., Павлова Е.К. Способ дифференциальной диагностики шизофрении и злокачественных новообразований головного мозга // Патент 2664444. 2018.
15. Узбеков М.Г., Гурович И.Я., Иванова С.А. Потенциальные биомаркеры психических заболеваний в аспекте системного подхода // Социальная и клиническая психиатрия. 2016. Т.26. № 1. С.77-94.
16. Прощенко И.В., Максимова Н.Е. Комплексное исследование больных параноидной формой шизофрении // Социальная и клиническая психиатрия. 2018. Т. 28(3). С. 105-107.
17. Гурович И.Я. Шизофрения в систематике психических расстройств // Социальная и клиническая психиатрия. 2014. Т. 24(2). С. 46-49.
18. Михеева Н. Шизофрения: диагностика заболевания // Вестник психологии. 2016. [Электронный ресурс]. URL: <https://psychologyjournal.ru/public/shizofreniya-chast-2/> (дата обращения: 20.05.2020).
19. Розанов В.А. Рост нарушений психического здоровья в мире — психиатрическая эпидемиология современности // Уральский журнал психиатрии, наркологии и

психотерапии. 2015. № 3 (1). С. 6–21.