

УДК 543.429.23:616-073.584

ЯМР ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ И ТКАНЯХ

У. Айхгофф, М. Шпрауль, М. Пьотто

Аннотация

Биологические жидкости представляют собой сложные смеси. Их спектр может иметь несколько тысяч линий. Современные гомо- и гетероядерные многомерные ЯМР-методы позволяют отнести практически все линии и создать банк спектров для метаболических данных. Статистический анализ совокупности всех спектров позволяет обнаружить отклонение от нормы, затем при отклонении от нормы спектры анализируются более подробно симуляционными и поисковыми программами. Ткани являются гетерогенными образцами и в обычных спектрах ЯМР высокого разрешения показывают сравнительно широкие линии за счёт остаточного дипольного взаимодействия. Вращение под магическим углом усредняет эти взаимодействия и приводит к хорошо высокоразрешённым спектрам. Изменения метаболизма за счёт злокачественных процессов могут быть идентифицированы, что лежит в основе ЯМР-гистологии, уже используемой в некоторых больницах.

Ключевые слова: ЯМР, вращение под магическим углом, ЯМР-гистология, онкология, ткани, биологические жидкости.

Введение

ЯМР приобретает всё возрастающее значение в медицине. Магнитно-резонансная томография (МРТ) и магнитно-резонансная спектроскопия *in vivo* (МР-*in vivo*-спектроскопия) используются в клинической диагностике для локализации и характеристики патологических изменений. МРТ органов животных ставит своей целью создание модели заболеваний человека и изучение их развития на клеточном и молекулярном уровнях, включая исследования экспрессии генов и стволовых клеток. Другая, не менее важная область применения ЯМР высокого разрешения – это метаболический скрининг на патологические изменения [1–3] в биологических жидкостях и образцах тканей (биоптате) с помощью ЯМР высокого разрешения [1–6]. Для такого изучения при биопсии тканей применяется высокоразрешающая ЯМР-спектроскопия с вращением под магическим углом [7–9]. Этот метод получил название «ЯМР-гистология».

Анализ смесей. Стандартная и довольно легко решаемая задача ЯМР-спектроскопии – это определение структуры какого-либо одного соединения. Ткани и биологические жидкости содержат множество разных веществ и компонентов. Когда образец представляет собой такую смесь, индивидуальные ЯМР-спектры накладываются друг на друга, формируя трудноразрешимый суммарный спектр. Для анализа ЯМР-спектров смесей [10] существуют два метода: сочетание ЯМР с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ), то есть предварительное разделение смеси и измерение спектров, соответствующих хроматографическим пикам [11, 12], или прямой анализ спектра смеси за счёт распознавания спектральных образов с привлечением данных большой библиотеки спектров. Таким образом, оптимальным оборудованием для таких задач является сочетание

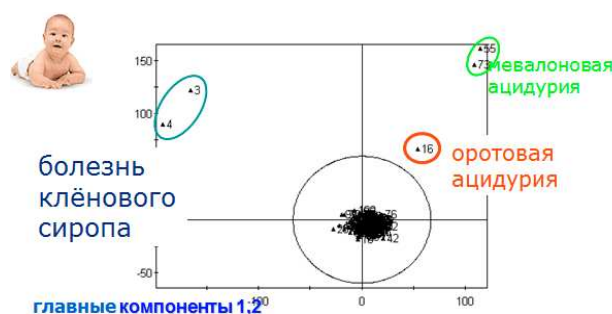


Рис. 1. Представление образцов мочи новорождённых детей в пространстве главных факторов 1 и 2. Данные для здоровых детей находятся в центре графика. Отдельные группы (точки 3, 4, 16, 35 и 73) обнаружены для детей с патологиями

высокопольного ЯМР-спектрометра (минимум 600 МГц) с масс-спектрометром и жидкостным хроматографом, желательно с твёрдофазной экстракцией.

Статистический анализ спектров. Оптимальный с аналитической точки зрения набор оборудования и методик имеет один недостаток: анализ спектров не поддаётся полной автоматизации и поэтому не пригоден для целей скрининга в лечебных заведениях, а также на фармацевтических и пищевых производствах без ЯМР-специалистов. Прямой анализ смесей возможен с использованием соответствующего программного обеспечения, если хотя бы приблизительно известны возможные составляющие. Для этого была разработана программа статистического анализа ЯМР-данных АМХ. Она сравнивает все измеренные оцифрованные спектры и определяет «главные компоненты», то есть те параметры, по которым эти спектры больше всего отличаются. На графике главных компонент схожие спектры группируются в кластеры. При исследованиях биологических объектов спектры, соответствующие их нормальному состоянию, попадают в чётко определённый кластер. Отклонения от нормы приводят к точкам за пределами «нормального кластера» и сразу бросаются в глаза. Только эти образцы потом снова измеряются с помощью всех одно- и многомерных ЯМР-методов. Для идентификации отвечающих за эти отклонения метаболитов используется база данных ЯМР-спектров известных метаболитов, которая поставляется вместе с программным обеспечением. Она содержит пока 15000 одномерных и двумерных спектров и постоянно дополняется.

В качестве примера приведём скрининг новорождённых детей на врождённые метаболические отклонения (рис. 1). В сотрудничестве с немецкими университетами в городах Кельн и Грайфсвальд были исследованы 200 и 700 детей, в Турции – 2300 детей. На рис. 1 представлено распределение главных компонент для 200 новорожденных, на нем можно выделить 5 типов отклонений, которые по данным многомерной ЯМР-спектроскопии идентифицируются как мевалоновая ацидурия, оротовая ацидурия и болезнь клёнового сиропа. В качестве примера приведём ^1H – ^{13}C -HSQC-спектр, в котором чётко фиксируются четыре линии мевалоновой кислоты, указывающие на мевалоновую ацидурию как причину отклонения [13–16] (рис. 2).

1. Результаты и их обсуждение

В неоднородных и частично твёрдых образцах ЯМР-спектры представляют собой одну или несколько очень широких линий. Это обусловлено прямым диполь-дипольным взаимодействием и/или разностью магнитной восприимчивости.

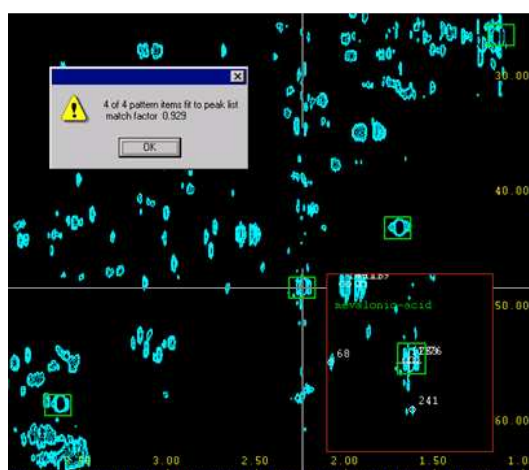


Рис. 2. Участок ^1H - ^{13}C -HSQC-спектра мочи новорождённого после библиотечного поиска чётко показывает 4 линии мелановой кислоты. Прямоугольники вокруг найденных пиков характеризуют точность определения химических сдвигов для ^1H и ^{13}C

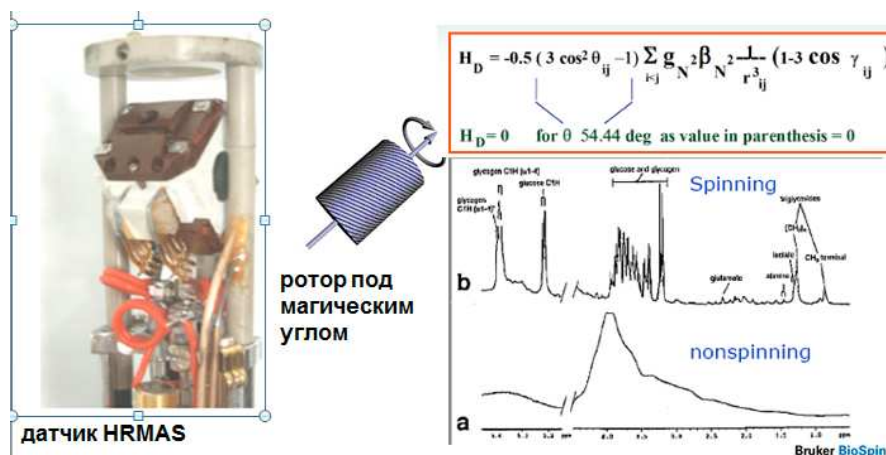


Рис. 3. Принцип метода ЯМР с вращением под магическим углом. Спектр ЯМР печени без вращения образца (а) и при вращении образца под магическим углом (b)

В жидкостях эти взаимодействия усредняются быстрым молекулярным движением. Их гамильтониан содержит множитель $(1 - 3 \cos^2 \Theta_{ij})$, где Θ_{ij} – угол между межатомным вектором \mathbf{r}_{ij} и направлением внешнего магнитного поля. Если образец ориентируется под магическим углом 54.44° и вращается быстро вокруг него, взаимодействия пропадают и появляется ЯМР-спектр высокого разрешения, как показано на рис. 3 для ткани печени крысы. В отличие от твёрдотельных датчиков с кросс-поляризацией (CPMAS), где максимальная мощность и короткие импульсы являются основными требованиями, при разработке HRMAS-датчика главное внимание уделяется высокому разрешению и удобству в работе. Ориентация датчика в магнитном поле управляется компьютером и позволяет осуществлять ввод и вывод образца в турбину внутри сверхпроводящего магнита без смены датчика. Это обеспечивает вместе с блоком смены образца полную автоматизацию серии клинических экспериментов.

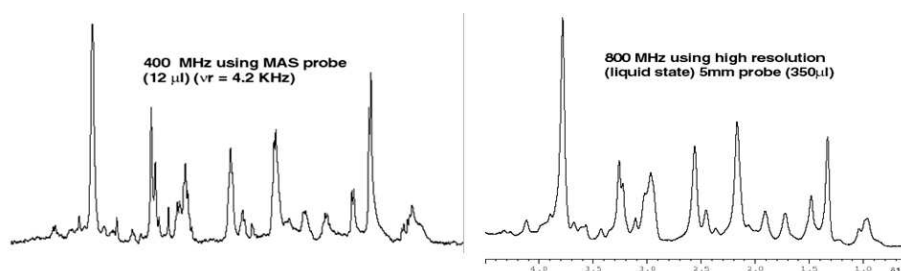


Рис. 4. Спектры крови собаки. Слева: 400 МГц, объём образца 12 мкл, с вращением под магическим углом; справа: 800 МГц, объём образца 350 мкл, без вращения

Рис. 4 иллюстрирует эффект повышения разрешения и чувствительности на примере спектра крови собаки. Обычный ЯМР-спектр крови собаки только на частоте 800 МГц проявляет некоторое разрешение. На более дешёвом спектрометре на 400 МГц с высокоразрешающим вращением под магическим углом достигается значительно более высокое разрешение. За счёт повышения разрешения также значительно повышается чувствительность. Для исследования неоднородных и частично твёрдых образцов значительно эффективнее использовать спектрометр с более низкой частотой и вращением образца под магическим углом, чем увеличивать разрешение измерениями на всё более высоких полях.

После того, как мы убедились в достаточном разрешении и чувствительности метода ЯМР с вращением под магическим углом для патологических процессов в тканях, рассмотрим его применение при некоторых онкологических заболеваниях. Целью хирургического вмешательства является полное удаление патологических тканей, при котором не затрагивается окружающая здоровая ткань. Поэтому ткани, взятые на биопсию, разделяются на две части – для гистопатологического анализа и для хранения в банке опухолей для будущих исследований. Одним из основных методов при этом является метод ЯМР высокого разрешения с вращением под магическим углом (HRMAS), или ЯМР-гистология. Во многих больницах созданы большие базы данных для опухолевых тканей, на основе которых можно создать статистические модели, совершенно аналогично тому, как это было показано для биологических жидкостей.

ЯМР-гистология применяется практически для всех видов онкологических заболеваний [17–19]. В качестве примеров рассмотрим опухоли молочной железы [20, 21], простаты [22–25], прямой кишки [26] и головного мозга [27, 28].

HRMAS-спектры биопсии молочной железы позволяют оценить степень инвазивной карциномы молочных протоков. Спектры опухолей степени II и III чётко отличаются. Распределение главных компонентов показывает: чем больше опухолевых клеток, тем дальше кластер для соответствующего спектра находится от кластера для нормы.

При подозрении на рак предстательной железы легко можно отличить доброкачественные и злокачественные образования. На спектрах биопсии злокачественных опухолей сразу бросаются в глаза низкая концентрация цитрата и высокие концентрации липидов, лактата и холина. Соотношение холина к цитрату является маркером злокачественности и используется для скрининга в клинической МР-in vivo-спектроскопии.

Опухоли в прямой кишке образуются чаще у мужчин, но имеют место и у женщин. HRMAS-спектры аденокарциномы сильно отличаются от спектров нормальной ткани при стенке кишечника. На рис. 5 показаны соответствующие спектры

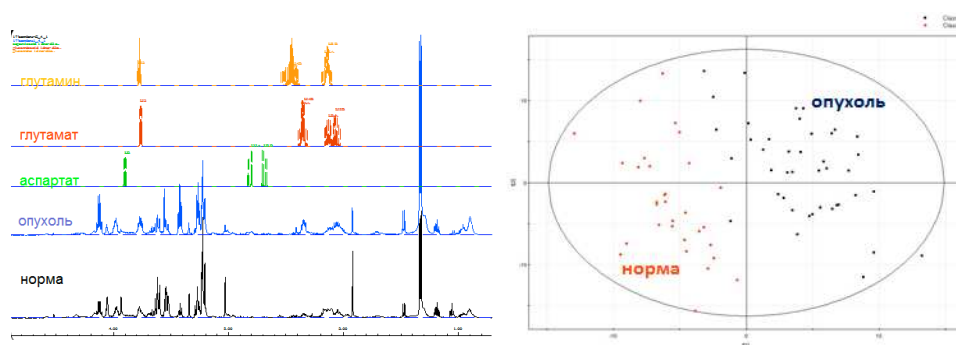


Рис. 5. Данные ЯМР с вращением под магическим углом биоптата стенки прямой кишки; слева: ^1H -спектры – норма, опухоль и характерные метаболиты, справа: в пространстве двух главных факторов (воспроизведено из [26])

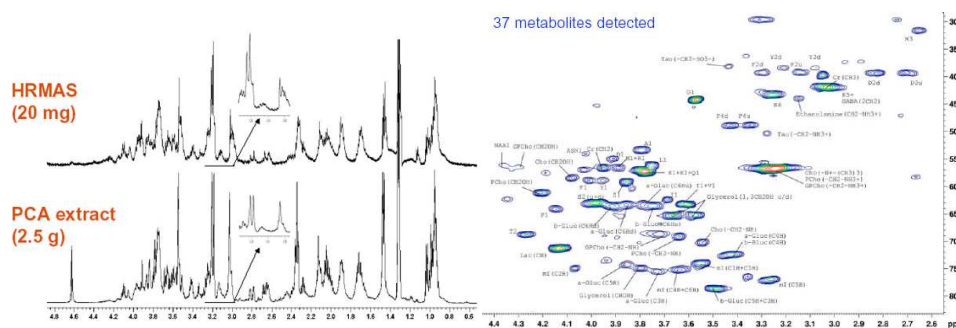


Рис. 6. Исследование мультиформной глиобластомы. Слева: ЯМР-спектр высокого перхлоратного экстракта и ^1H -HRMAS, справа: ^1H - ^{13}C -HRMAS (воспроизведено из [29])

с характерными метаболитами гутамин, глутамат и аспарат. Эти отличия проявляются в спектрах ЯМР, а также они видны на графике (рис. 2) в пространстве двух главных факторов.

Весьма широкое применение получили эти методы для исследования биоптата опухолей мозга. В качестве примера рассмотрим мультиформную глиобластому [37]. Начнём со сравнения жидкостного спектра перхлоратного экстракта со спектром ткани. В спектре ткани видны практически те же метаболиты, что и в экстракте. Но для спектра ткани практически не требуется подготовки образца и требуется значительно меньше ткани, чем для экстракции. ЯМР-спектр *in vivo* головного мозга пациента на томограмме показывает лишь несколько метаболитов и поэтому является недостаточно информативным для дифференциального диагноза. ^1H HRMAS-спектр, особенно с привлечением ещё более информативного двумерного корреляционного ^1H - ^{13}C -HSQC-спектра, позволяет чётко разделить сигналы метаболитов. Были идентифицированы [29] метаболиты: тирозин, метионин, триптофан, треонин, фенилаланин, глутамин, валин, глутамат, аланин, изолейцин, лейцин, пролин, аспарангин, аспарагиновая кислота, липиды, лактат, холин, фосфохолин, *n*-ацетиласпартат (НАА), глицерофосфохолин, креатин, инозитол, мио-инозитол, α - и β -глюкозы, глицерол, малат, сукцинат, урацил, таурин, этаноламин.

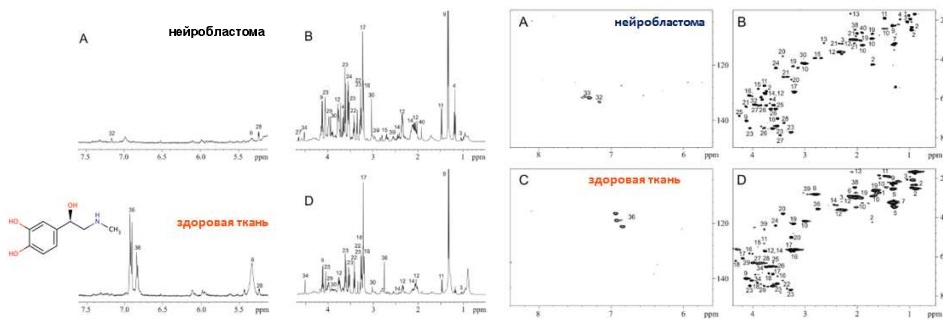


Рис. 7. ^1H -спектры и ^1H - ^{13}C -HSQC-спектры нейробластомы у детей (воспроизведено из [30])

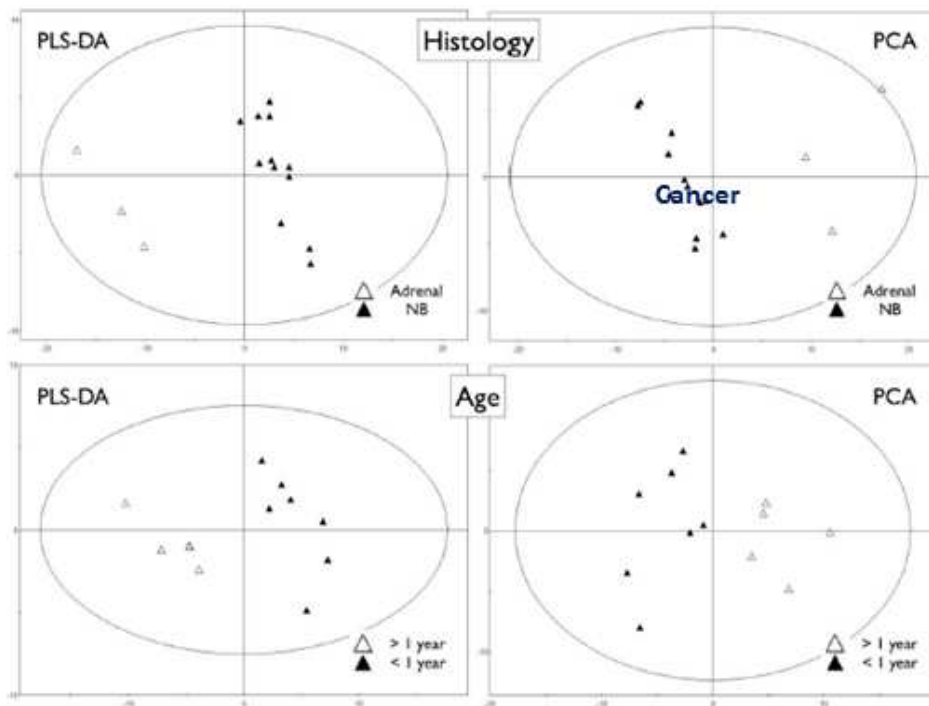


Рис. 8. Сравнение результатов гистологии и HRMAS для нейробластомы у детей с возрастом до 1 года (< 1) и старше (> 1): слева – дискриминантный анализ частных наименьших квадратов, справа – анализ главных компонент (воспроизведено из [30])

Особый интерес представляют результаты исследования нейробластомы у детей, являющейся самой распространённой нейрогенной экстракраниальной опухолью в детской онкологии [30]. При этом остаётся ключевым вопрос: возможно ли метаболически различать нейробластому от здоровой ткани.

^1H -спектры нейробластомы и здоровой ткани заметно отличаются. В корреляционном ^1H - ^{13}C -HSQC-спектре различия ещё более очевидны (рис. 7). Интересно рассматривать график главных компонент (рис. 8). При этом разные способы направленной и ненаправленной статистических обработок дают одинаковые

результаты. Слева показаны результаты дискриминантного анализа частичных наименьших квадратов (partial least square-discriminant analysis – PLS-DA). Для этого метода известно, какие образцы являются здоровыми тканями, а какие – опухолевыми. Справа указан результат анализа главных компонент (principal component analysis – PCA). С помощью этого метода совокупность спектров анализируется без всяких предварительных предположений. Оба метода чётко различают здоровые и опухолевые ткани. Известно, что опухоли детей в возрасте больше 1 года имеют намного более плохой прогноз. Указанные метода показывают, что на самом деле имеется чёткая разница в метаболическом профиле нейробластомы в возрасте до и после одного года. Остаётся пока до конца не ясным, в чём причина этой разницы.

Заключение

Исследования процессов метаболизма открыли для ЯМР высокого разрешения дорогу к клиническим применениям. Этому способствовала и Европейская программа eTumor, в которой участвуют Имперский колледж и больница св. Марии в Лондоне, Университетская клиника Ла-Рибера в г. Альсира (Валенсия, Испания), Страсбургский университет (Франция), Центр магнитного резонанса Норвежского университета естественных и технических наук в г. Тронхейм (Норвегия), компания Bruker (Германия) и ее отделение во Франции. В Лондоне и Страсбурге ЯМР-спектрометры установлены рядом с операционной для непосредственного контроля биопсий во время операции.

Пионер применения ЯМР в метаболомике Николсон из Империял Колледж в журнале "Spectroscopy Europe" (2011, V. 23, No 1, P. 33). оценил ситуацию на сегодняшний день таким образом: *«Это не простая задача. Применение аналитической химии и математического моделирования связано с большими трудностями, и не всё, над чем мы работаем, принесёт желаемый результат. Но мы надеемся, что через два-три года у нас будут твёрдые основания считать метаболическое профилирование полезным методом в хирургии».*

Summary

U. Eichhoff, M. Spraul, M. Piotto. High Resolution NMR in Biofluids and Tissues.

Bodyfluids are complicated mixtures and each component has its own NMR spectrum. The total spectrum may contain several thousand lines, but with the help of modern homo- and heteronuclear multidimensional NMR methods all lines can be assigned and a metabolite data base can be created. A principal component analysis of all spectra makes it possible to reveal deviation from the normal state. Spectra corresponding to this deviation then have to be evaluated more carefully using spectra simulation and data base programs. Tissues are heterogenous samples and in normal NMR spectra exhibit comparably broad lines due to a residual dipole coupling. Magic angle spinning (MAS) averages out these interactions leading to well resolved spectra which allow the identification of various metabolites. Metabolic changes due to malignant diseases can be detected, which is the basis of NMR-histology, a new discipline that has already been applied in various hospitals.

Key words: NMR, magic angle spinning, NMR-histology, oncology, tissues, biofluids.

Литература

1. *Lindon J.C., Holmes E., Nicholson J.K.* Toxicological applications of magnetic resonance // *Progress NMR Spectrosc.* – 2004. – V. 45, No 1–2. – P. 109–143.
2. *Holmes E., Nicholls A.W., Lindon J.C., Ramos S., Spraul M., Neidig P., Connor S.C., Connelly J., Damment S.J., Haselden J., Nicholson J.K.* Development of a model for

- classification of toxin-induced lesions using ^1H NMR spectroscopy of urine combined with pattern recognition // *NMR Biomed.* – 1998. – V. 11, No 4–5. – P. 235–244.
3. *Waters N.J., Holmes E., Williams A., Waterfield C.J., Farrant R.D., Nicholson J.K.* NMR and pattern recognition studies on the time-related metabolic effects of α -naphthylisothiocyanate on liver, urine, and plasma in the rat: an integrative metabonomic approach // *Chem. Res. Toxicol.* – 2001. – V. 14, No 10. – P. 1401–1412.
 4. *Nicholson J.K., Foxall P.J., Spraul M., Farrant R.D., Lindon J.C.* 750 MHz ^1H and ^1H - ^{13}C NMR spectroscopy of human blood plasma // *Anal. Chem.* – 1995. – V. 67, No 5. – P. 793–811.
 5. *Zuppi C., Messina I., Forni F., Rossi C., Pennacchietti L., Ferrari F., Giardina B.* ^1H NMR spectra of normal urines: reference ranges of the major metabolites // *Clin. Chim. Acta.* – 1997. – V. 265, No 1. – P. 85–97.
 6. *Spraul M., Hofmann M., Ackermann M., Shockcor J.P., Lindon J.C., Nicholls A.W., Nicholson J.K., Damment S.J.P., Haselden J.N.* Flow injection proton nuclear magnetic resonance spectroscopy combined with pattern recognition methods: implications for rapid structural studies and high throughput biochemical screening // *Anal. Commun.* – 1997. – V. 34, No 11. – P. 339–341.
 7. *Humpfer E., Spraul M., Nicholls A.W., Nicholson J.K., Lindon J.C.* Direct observation of resolved intracellular and extracellular water signals in intact human red blood cells using ^1H MAS NMR spectroscopy // *Magn. Reson. Med.* – 1997. – V. 38, No 2. – P. 334–336.
 8. *Garrod S., Humpfer E., Connor S.C., Connelly J.C., Spraul M., Nicholson J.K., Holmes E.* High-resolution ^1H NMR and magic angle spinning NMR spectroscopic investigation of the biochemical effects of 2-bromoethanamine in intact renal and hepatic tissue // *Magn. Reson. Med.* – 2001. – V. 45, No 5. – P. 781–790.
 9. *Bollard M.E., Garrod S., Holmes E., Lindon J.C., Humpfer E., Spraul M., Nicholson J.K.* High-resolution ^1H and ^1H - ^{13}C magic angle spinning NMR spectroscopy of rat liver // *Magn. Reson. Med.* – 2000. – V. 44, No 2. – P. 201–207.
 10. *Spraul M.* High-Resolution NMR and Mixture Analysis: Medical Applications // *Bruker Report., NMR Applications.* – 1991. – V. 1. – P. 28–32.
 11. *Albert K., Dachtler M., Glaser T., Händel H., Lacker T., Schlotterbeck G., Strohschein S., Tseng L.-H., Braumann U.* On-line coupling of separation techniques to NMR // *J. High Resol. Chromatogr.* – 1999. – V. 22, No 3. – P. 135–143.
 12. *Spraul M., Hofmann M., Lindon J.C., Nicholson J.K., Wilson I.D.* Liquid Chromatography Coupled with high-field proton nuclear magnetic resonance spectroscopy: current status and future prospects // *Anal. Proc.* – 1993. – V. 30, No 10. – P. 390–392.
 13. *Holmes E., Foxall P.J., Spraul M., Farrant R.D., Nicholson J.K., Lindon J.C.* 750 MHz ^1H NMR spectroscopy characterisation of the complex metabolic pattern of urine from patients with inborn errors of metabolism: 2-hydroxyglutaric aciduria and maple syrup urine disease // *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* – 1997. – V. 15, No 11. – P. 1647–1659.
 14. *Constantinou M.A., Papakonstantinou E., Benaki D., Spraul M., Shulpis K., Koupparis M.A., Mikros E.* Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy combined with principal component analysis in detecting inborn errors of metabolism using blood spots: a metabonomic approach // *Anal. Chim. Acta.* – 2004. – V. 511, No 2. – P. 303–312.
 15. *Engelke U.F., Liebrand-van Sambeek M.L., de Jong J.G., Leroy J.G., Morava E., Smeitink J.A., Wevers R.A.* N-acetylated metabolites in urine: proton nuclear magnetic resonance spectroscopic study on patients with inborn errors of metabolism // *Clin. Chem.* – 2004. – V. 50, No 1. – P. 58–66.

16. *Constantinou M.A., Papakonstantinou E., Spraul M., Sevastiadou S., Costalos C., Koupparis M.A., Shulpis K., Tsantili-Kakoulidou A., Mikros E.* ^1H NMR-based metabolomics for the diagnosis of inborn errors of metabolism in urine // *Anal. Chim. Acta.* – 2005. – V. 542, No 2. – P. 169–177.
17. *Bayet-Robert M., Loiseau D., Rio P., Demidem A., Barhomeuf C., Stepien G., Morvan D.* Quantitative two-dimensional HRMAS ^1H -NMR spectroscopy-based metabolite profiling of human cancer cell lines and response to chemotherapy // *Magn. Reson. Med.* – 2010. – V. 63, No 5. – P. 1172–1183.
18. *Moka D., Vorreuther R., Schicha H., Spraul M., Humpfer E., Lipinski M., Foxall P.J., Nicholson J.K., Lindon J.C.* Biochemical Classification of kidney carcinoma biopsy samples using magic-angle-spinning ^1H nuclear magnetic resonance // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1998. – V. 17, No 1. – P. 125–132.
19. *Tate A.R., Foxall P.J., Holmes E., Moka D., Spraul M., Nicholson J.K., Lindon J.C.* Distinction between normal and renal cell carcinoma kidney cortical biopsy samples using pattern recognition of ^1H magic angle spinning (MAS) NMR spectra // *NMR in Biomedicine.* – 2000. – V. 13, No 2. – P. 64–71.
20. *Sitter B., Sonnewald U., Spraul M., Fjösne H.E., Gribbestad I.S.* High-resolution magic angle spinning MRS of breast cancer tissue // *NMR Biomed.* – 2002. – V. 15, No 5. – P. 327–337.
21. *Sitter B., Lundgren S., Bathen T.F., Halgunset J., Fjösne H.E., Gribbestad I.S.* Comparison of HR MAS MR spectroscopic profiles of breast cancer tissue with clinical parameters // *NMR Biomed.* – 2006. – V. 19, No 1. – P. 30–40.
22. *Tessem M.-B., Swanson M.G., Keshari K.R., Albers M.J., Joun D., Tabatabai Z.L., Simko J.P., Shinohara K., Nelson S.J., Vigneron D.B., Gribbestad I.S., Kurhanewicz J.* Evaluation of lactate and alanine as metabolic biomarkers of prostate cancer using ^1H -HR-MAS of biopsy tissues // *Magn. Reson. Med.* – 2008. – V. 60, No 3. – P. 510–516.
23. *Swanson M.G., Vigneron D.B., Tabatabai Z.L., Males R.G., Schmitt L., Carroll P.R., James J.K., Hurd R.E., Kurhanewicz J.* Proton HR-MAS spectroscopy and quantitative pathologic analysis of MRI/3D-MRSI-targeted postsurgical prostate tissues // *Magn. Reson. Med.* – 2003. – V. 50, No 5. – P. 944–954.
24. *Wu C.-L., Taylor J.L., He W., Zepeda A.G., Halpern E.F., Bielecki A., Gonzalez R.G., Cheng L.L.* Proton high-resolution magic angle spinning NMR analysis of fresh and previously frozen tissue of human prostate // *Magn. Reson. Med.* – 2003. – V. 50, No 6. – P. 1307–1311.
25. *Kelm B.M., Menze B.H., Zechmann C.M., Baudendistel K.T., Hamprecht F.A.* Automated estimation of tumor probability in prostate magnetic resonance spectroscopic imaging: pattern recognition vs quantification // *Magn. Reson. Med.* – 2007. – V. 57, No 1. – P. 150–159.
26. *Piotto M., Moussalieh F.-M., Dillmann B., Imperiale A., Neuville A., Brigand C., Bellocq J.-P., Elbayed K., Namer I.J.* Metabolic characterization of primary human colorectal cancers using high resolution magic angle spinning ^1H magnetic resonance spectroscopy // *Metabolomics.* – 2009. – V. 5, No 3. – P. 292–301.
27. *Erb G., Elbayed K., Piotto M., Raya J., Neuville A., Mohr M., Maitrot D., Kehrli P., Namer I.J.* Toward improved grading of malignancy in oligodendrogliomas using metabolomics // *Magn. Reson. Med.* – 2008. – V. 59, No 5. – P. 959–965.
28. *Opstad K.S., Bell B.A., Griffiths J.R., Howe F.A.* Toward accurate quantification of metabolites, lipids, and macromolecules in HRMAS spectra of human brain tumor biopsies using LCModel // *Magn. Reson. Med.* – 2008. – V. 60, No 5. – P. 1237–1242.

29. *Martinez-Bisbal M.C., Marti-Bonmati L., Piquer J., Revert A., Ferrer P., Llacer J.L., Piotto M., Assemat O., Celda B.* ^1H and ^{13}C HR-MAS spectroscopy of intact biopsy samples ex vivo and in vivo ^1H MRS study of human high grade gliomas // *NMR Biomed.* – 2004. – V. 17, No 4. – P. 191–205.
30. *Imperiale A., Elbayed K., Moussallieh F.-M., Newville A., Piotto M., Bellocq J.-P., Lutz P., Namer I.-J.* Metabolic Pattern of Childhood Neuroblastoma obtained by ^1H -High-Resolution Magic Angle Spinning (HRMAS) NMR Spectroscopy // *Pediatr. Blood Cancer.* – 2011. – V. 56, No 1. – P. 24–34.

Поступила в редакцию
01.02.12

Айххофф, Уве (Eichhoff, Uwe) – доктор физических наук, почетный профессор Московского государственного университета, научный консультант компании «Bruker BioSpin», г. Райнштеттен, Германия.

E-mail: *Uwe.Eichhoff@bruker-biospin.de*

Шпрауль, Манфред (Spraul, Manfred) – доктор химических наук, руководитель группы по применению ЯМР компании «Bruker BioSpin», г. Райнштеттен, Германия.

E-mail: *Manfred.Spraul@bruker-biospin.de*

Пьетто, Марциал (Piotto, Martial) – доктор химических наук, руководитель группы по применению ЯМР компании «Bruker BioSpin», г. Висамбур, Франция.

E-mail: *Martial.Piotto@bruker.fr*