

МОДЕЛИРОВАНИЕ НЕОНАТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ-ГИПОКСИИ КРЫС ДЛЯ ПОИСКА МЕТАБОЛОМНЫХ МАРКЕРОВ ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Д.б.н. Силачев Д. Н.

ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии

им. академика В.И. Кулакова Министерства здравоохранения РФ

Лаборатория клеточных технологий



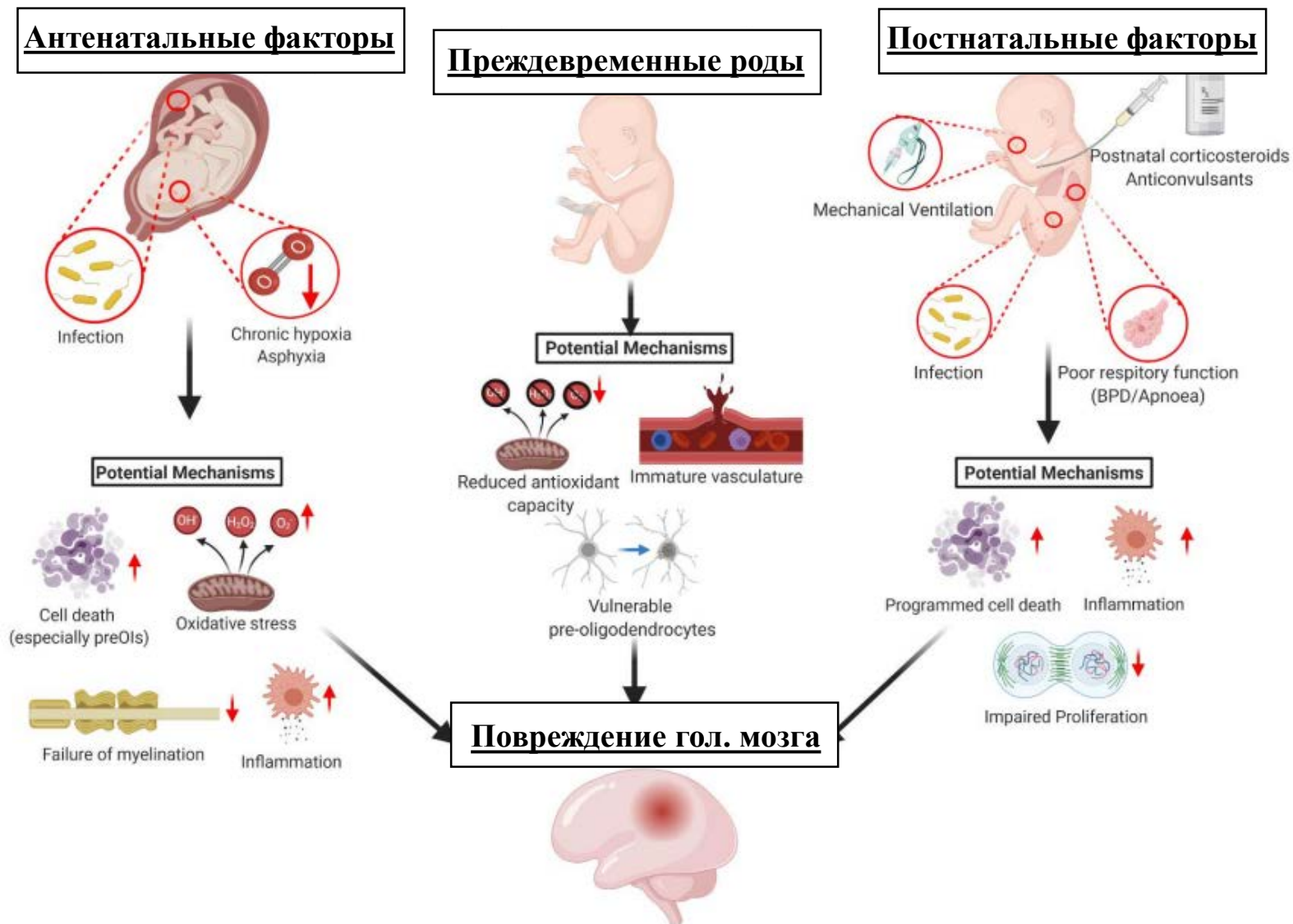
КОНФЕРЕНЦИЯ GLP-PLANET IV
СОВМЕСТНО С АССОЦИАЦИЕЙ
СПЕЦИАЛИСТОВ ПО ЛАБОРАТОРНЫМ
ЖИВОТНЫМ RUS-LASA



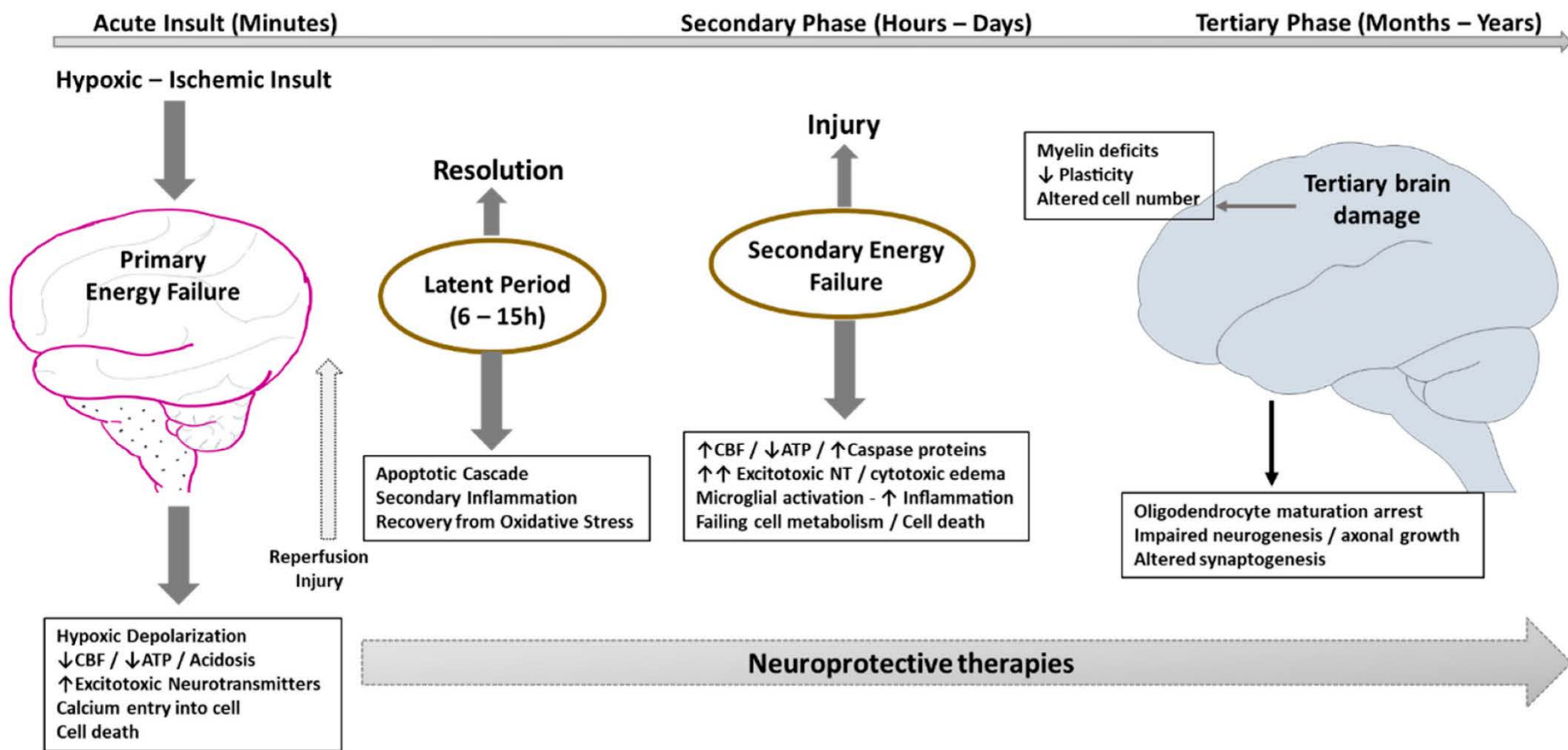
28 - 30 июня 2023 г.



Патогенез неонатальных повреждений головного мозга

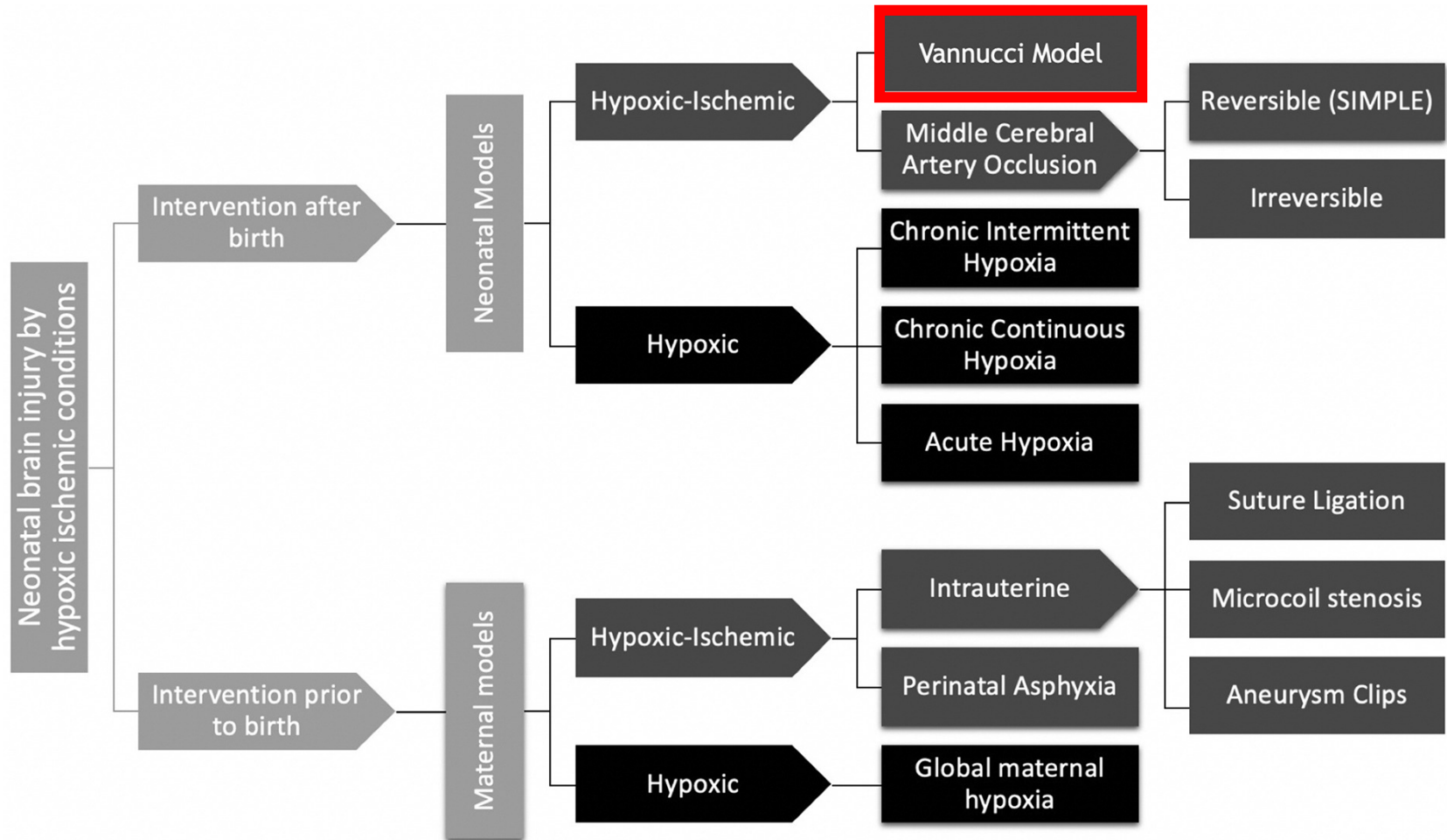


Терапевтическое окно при ГИЭ новорожденных – 6 часов

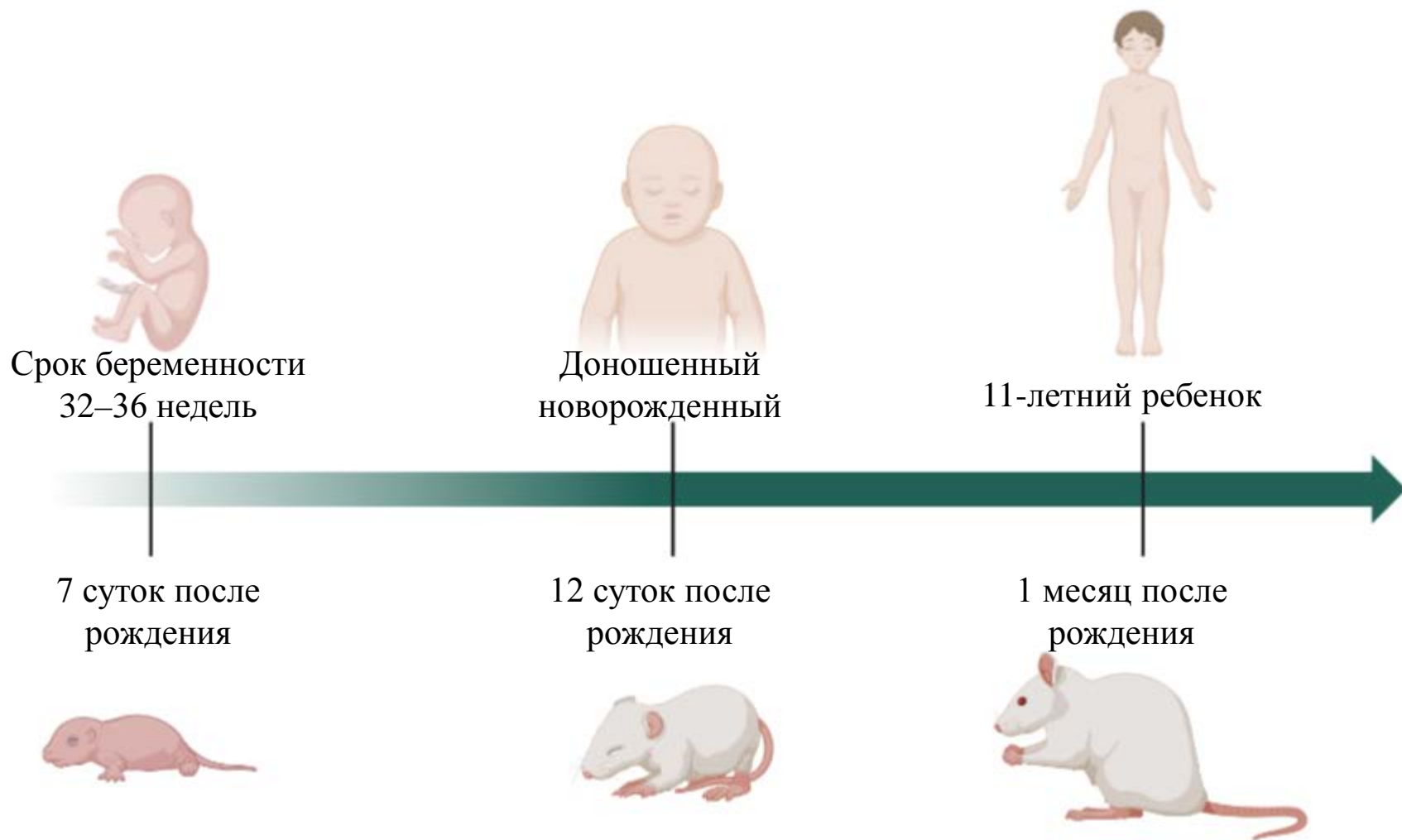


Схема, иллюстрирующая разнообразие животных моделей неонатального повреждения головного мозга

Модель Ваннуччи является хорошо зарекомендовавшей себя моделью неонатального повреждения головного мозга у грызунов. Гипоксически-ишемическое повреждение вызывается путем постоянной односторонней перевязки общей сонной артерии с последующим воздействием гипоксии. Модель Ваннуччи была и остается бесценным инструментом в исследованиях гипоксии-ишемии новорожденных благодаря ее широкому применению.



Соответствие мозга крыс человеческому по степени созревания



Гипоксическая ишемическая энцефалопатия (ГИЭ)

новорожденных

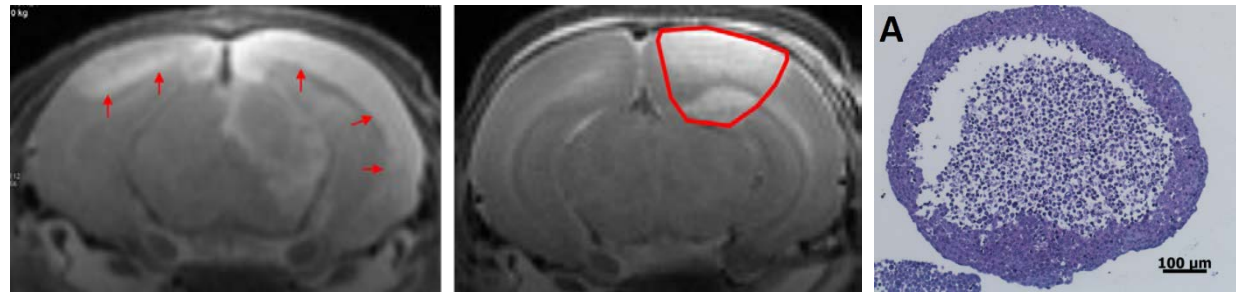
ГИПОКСИЯ/ ИШЕМИЯ

Модельные системы для поиска маркеров повреждения головного мозга



Системное
воздействие на
ВЕСЬ организм

1. Неонатальная гипоксия/ишемия новорожденных крысят на двух сроках гестации;
2. Сочетанная модель повреждения головного мозга (гипоксия/ишемия) + системное воспаление (липолисахарид);
3. Органоиды головного мозга человека.

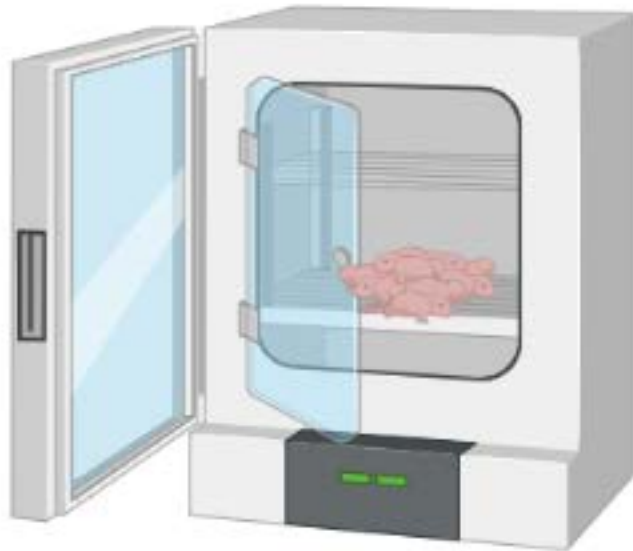
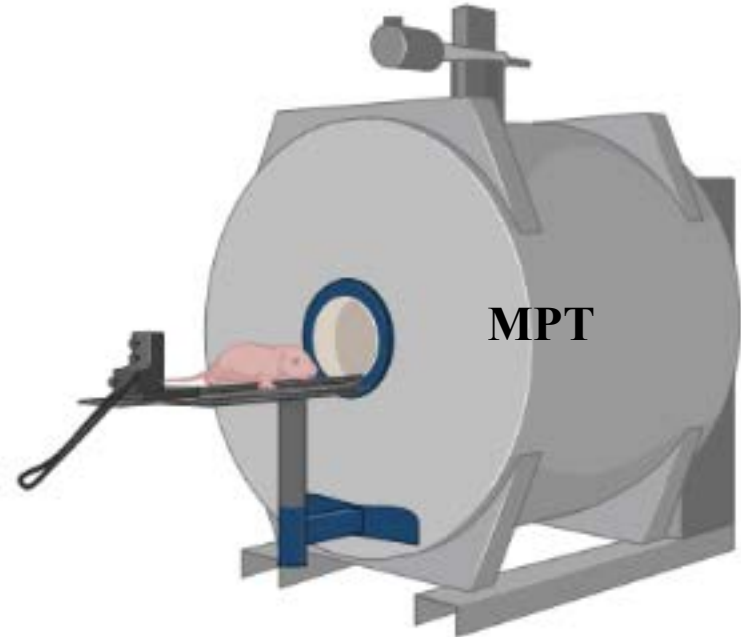


В крови содержится маркеры
повреждения от всех органов

Можно ли найти маркеры
ассоциированные
ТОЛЬКО с повреждением
головного мозга?

Моделирование неонатальной ишемии-гипоксии крыс

ИШЕМИЯ

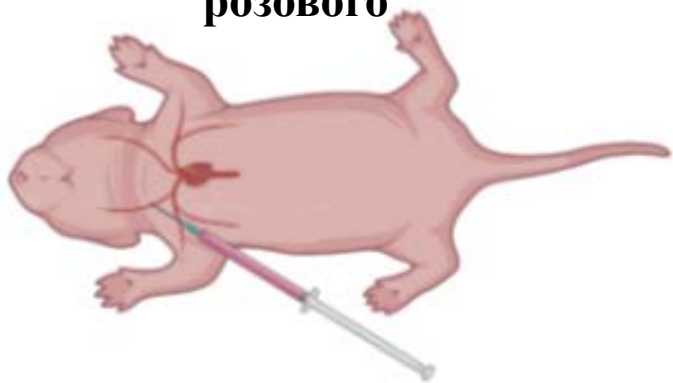


ГИПОКСИЯ
2 ч 8% O₂

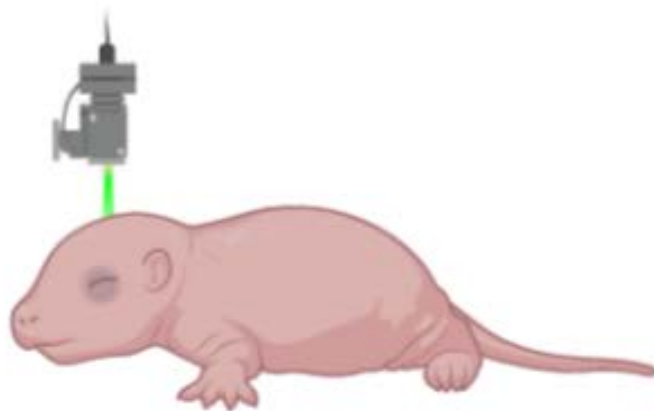
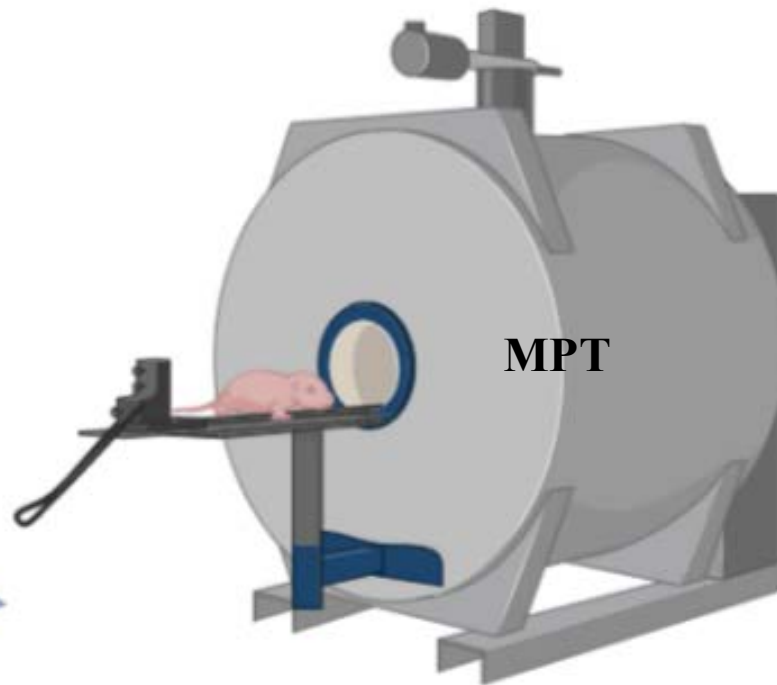


Моделирование фототромбоза крыс

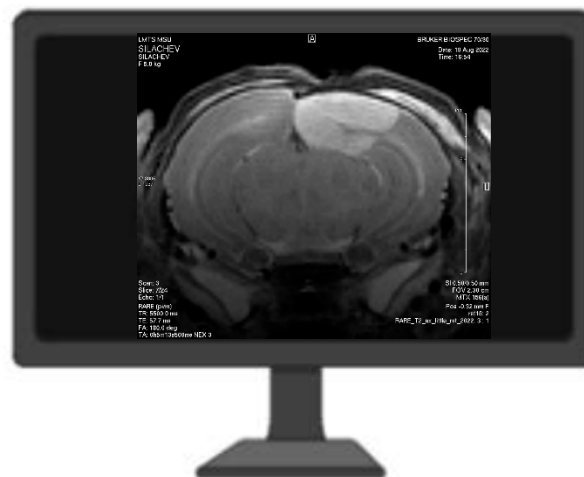
Введение бенгальского
розового



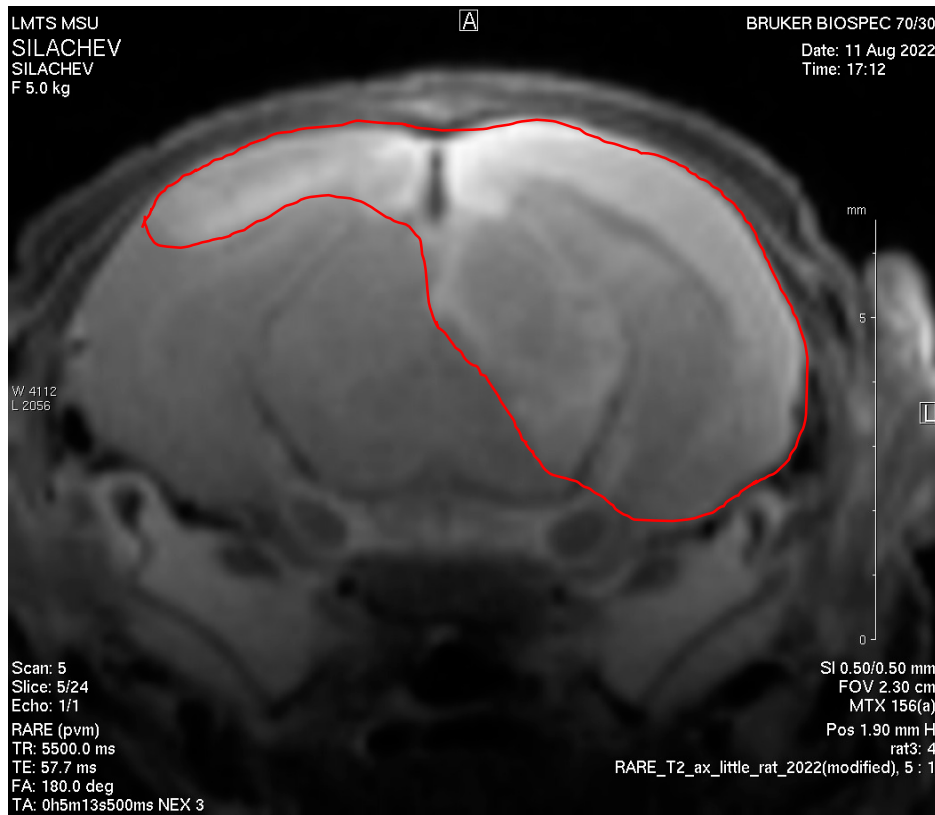
10
МИН



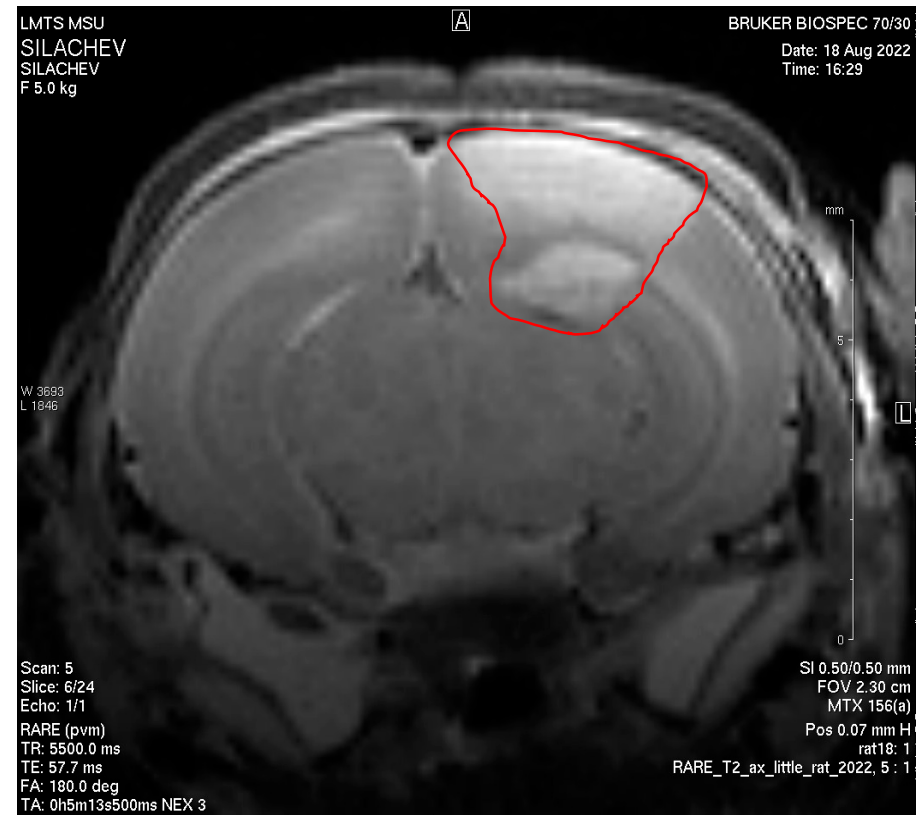
Облучение лазером



МРТ-изображения мозга крыс



Ишемия-гипоксия

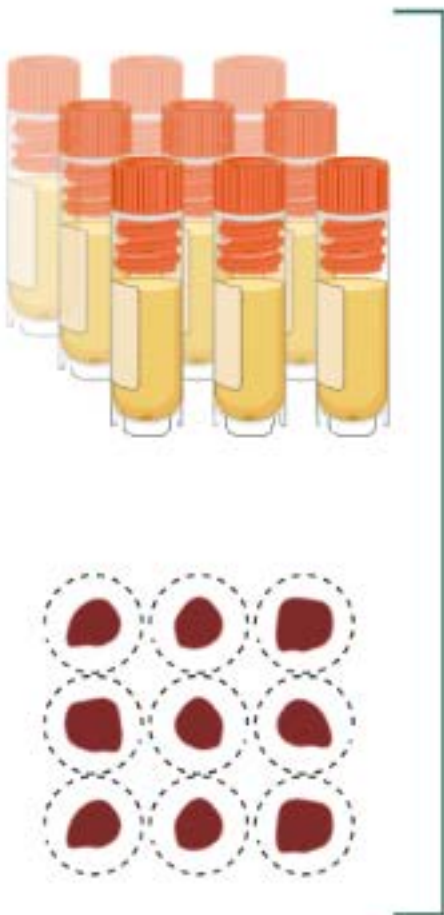


Фототромбоз

По МРТ-изображениям была рассчитана средняя площадь поражения мозга крыс при фототромбозе - $6,96 \pm 0,54 \text{ мм}^2$.

Анализ образцов плазмы крови и сухих пятен крyс

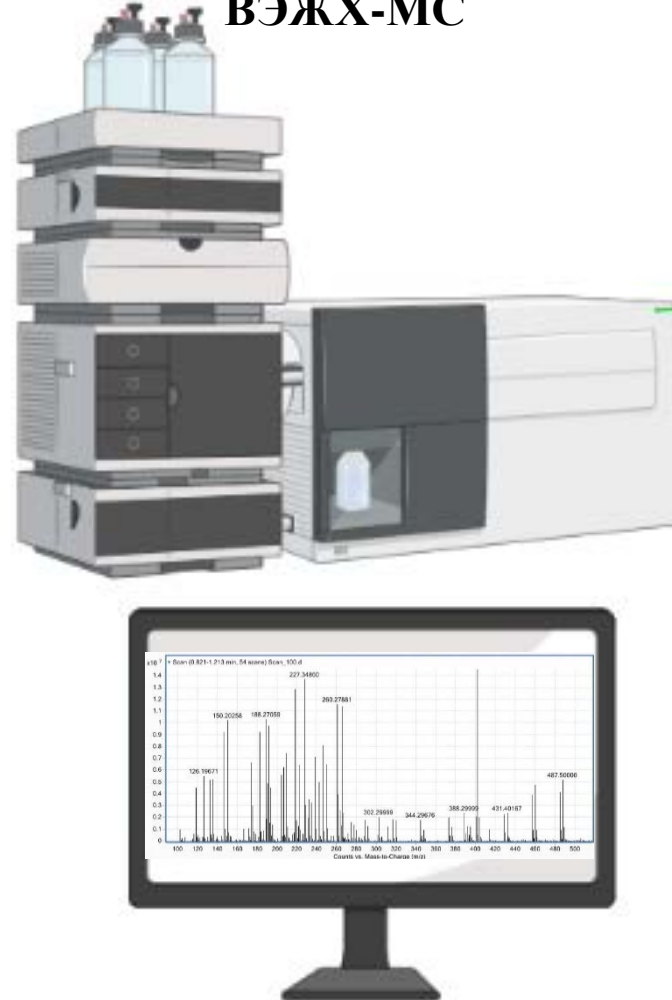
ПЛАЗМА КРОВИ



СУХИЕ ПЯТНА



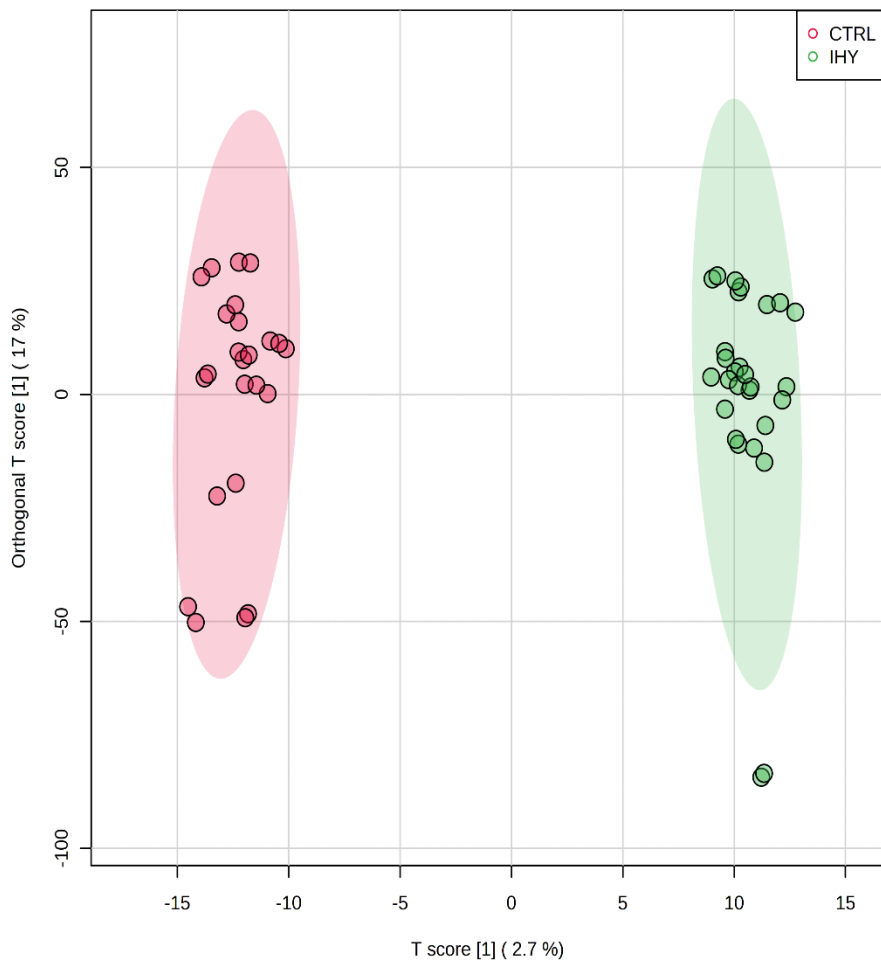
ВЭЖХ-МС



Многомерный статистический анализ данных ВЭЖХ-МС

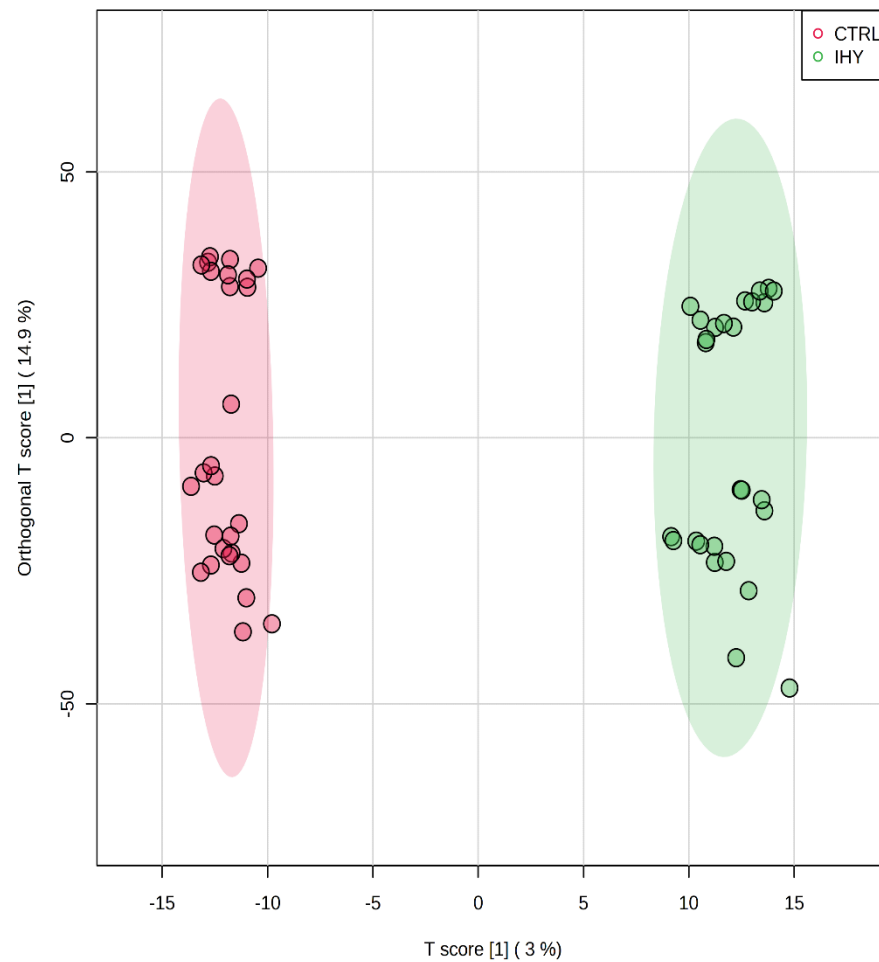
СУХИЕ ПЯТНА

Scores Plot

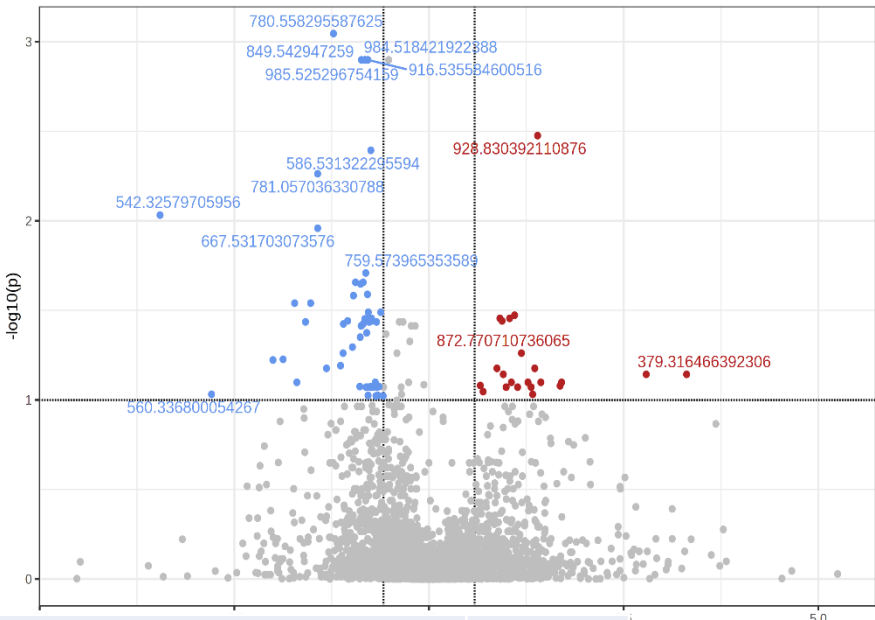


ПЛАЗМА КРОВИ

Scores Plot



Статистический анализ метаболитов в экстрактах сухих пятен

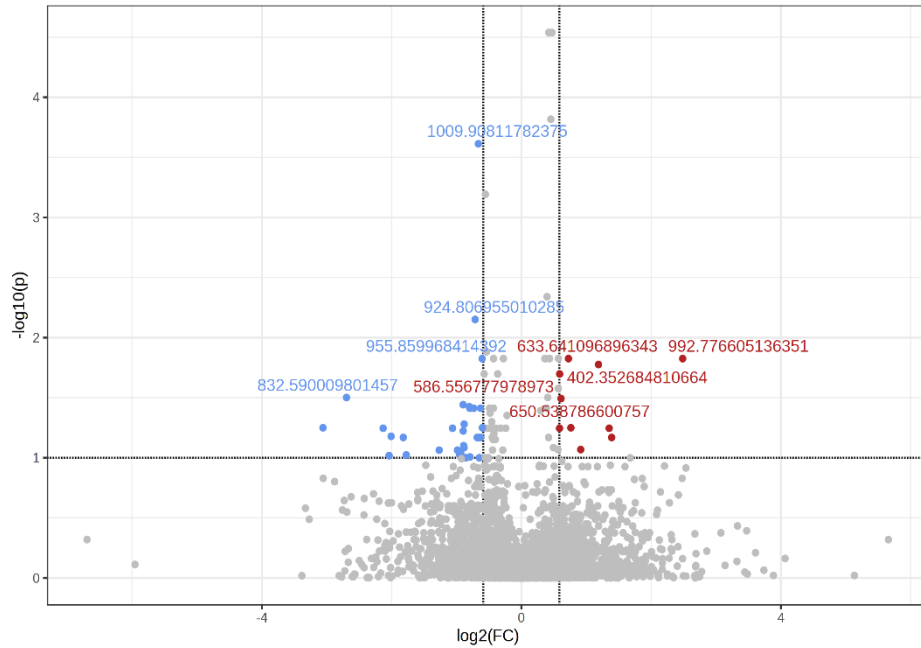


Путь	p
Glycerophospholipid metabolism	1,26E-04
Sphingolipid metabolism	0,0031915
Steroid hormone biosynthesis	0,0067739
Pentose and glucuronate interconversions	0,027903
Galactose metabolism	0,059055

DG – Диглицерид	06.539971813777	PE-NMe2(22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/0:0)	-1,66
PC- фосфатидилхолин	39.5464092235	PG(18:0/22:6(5Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-OH(4))	-1,65
PA-фосфатидная кислота	30.517264166368	PS(22:4(7Z,10Z,13Z,16Z)/PGE2)	-1,6
LPC- лизофосфатидилхолин	44.559846492563	PS(22:1(13Z)/22:6(5Z,8E,10Z,13Z,15E,19Z)-2OH(7S,17S)/14:0)	-1,6
CerP – Церамидфосфат	41.537025571373	PI(18:0/20:4(6Z,8E,10E,14Z)-2OH(5S,12R))	-1,54
MG-Моноацилглицерол	05.249078236887	Oleic acid	-1,5
Cer – Церамид	97.532790156115	PG(16:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))	1,83
Асер-Ацилцерамид	78.693070251888	GlcCer(d18:1/26:0)	2,05
ST-стерол	78.693070251888	PC(24:0/P-18:1(11Z))	2,05
SM-сфингомиелин	80.714184606832	PC(24:0/P-18:0)	2,14
HexCer-ГексозилЦерамид	13.776263319347	TG(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/18:4(6Z,9Z,12Z,15Z))	2,52
NAE- N-ацилэтаноламин	81.296269589063	MG(18:0/0:0/0:0)	6,91
	81.296269589063	MG(0:0/20:3(11Z,14Z,17Z)/0:0)	6,91
	79.316466392306	2(R)-hydroxydocosanoic acid	9,9

m/z	Название	Кратность изменений
542.32579705956	LysoPC(18:2(9Z,12Z)/0:0)	-10,96
542.32579705956	LysoPC(20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)/0:0)	-10,96
898.556698757374	PS(22:0/18:1(12Z)-O(9S,10R))	-3,24
667.531703073576	DG(16:0/22:4(7Z,10Z,13Z,16Z)/0:0)	-2,69
667.531703073576	DG(22:4n6/0:0/18:3n3)	-2,69
780.558295587625	PC(14:0/20:2(11Z,14Z))	-2,34
780.558295587625	PC(14:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))	-2,34
796.558083694917	PC(16:1(9Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,13E)-OH(15S))	-2,2
862.535824411287	PE(22:4(7Z,10Z,13Z,16Z)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	-2,06
876.56452737215	PE(22:1(13Z)/20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)-OH(16R))	-1,98
672.490505078792	PE(14:1(9Z)/P-18:1(11Z))	-1,96
672.490505078792	Cer(d18:2(4E,14Z)/6 keto-PGF1alpha)	-1,96
872.550250102249	PC(18:0/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	-1,85
907.528362328965	PI(16:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))	-1,84
753.54810899816	PA(14:0/24:1(15Z))	-1,83
849.542947259	PG(18:0/PGF2alpha)	-1,83
679.543361435072	DG(18:0/20:3(8Z,11Z,14Z)-2OH(5,6)/0:0)	-1,77
759.573965353589	SM(d18:2(4E,14Z)/18:1(12Z)-2OH(9,10))	-1,76
760.579786847853	PC(14:0/20:1(11Z))	-1,74
544.340154818211	LysoPC(18:1(9Z)/0:0)	-1,74
544.340154818211	LysoPC(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0:0)	-1,74
894.545351511377	PC(20:3(5Z,8Z,11Z)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	-1,73
768.478376809008	PE(22:6(5Z,8E,10Z,13Z,15E,19Z)-2OH(7S,17S)/14:0)	-1,73
916.535584600516	PC(22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	-1,72
916.535584600516	PS(20:1(11Z)/22:6(5Z,8E,10Z,13Z,15E,19Z)-2OH(7S,17S))	-1,72
429.372296955095	Cholesteryl acetate	-1,72
429.372296955095	1-Hydroxyvitamin D5	-1,72
758.573074360645	PC(14:0/20:2(11Z,14Z))	-1,72
893.541304652387	PG(22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	-1,68
909.547268519009	PI(16:0/22:4(10Z,13Z,16Z,19Z))	-1,68
06.539971813777	PE-NMe2(22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/0:0)	-1,66

Статистический анализ метаболитов в экстрактах плазмы крови



m/z	Название	Кратность изменений
649.567583542969	DG 38:2	-8,33
832.590009801457	PC 40:7	-6,48
805.561957775793	PA 42:3	-4,11
805.561957775793	PA 44:6	-4,11
730.544547763707	PC 32:2	-4,02
768.586526527023	LPC 34:1	-3,53
836.67456640541	CerP 50:4;O2	-3,42
852.614678106039	PC 40:5;O	-2,41
689.519053858337	DG 42:10	-1,98
689.519053858337	DG 40:7	-1,98
415.367375092486	MG 22:0	-1,93
533.50567910553	MG O-30:1	-1,91
654.631545999622	Cer 44:5;O	-1,85
601.524575985121	MG 34:2	-1,84
978.900221428032	ACer 64:6;O3	-1,74
263.24009169309	ST 18:0;O	-1,73
979.86641300929	SM 54:3;O2	-1,66
924.806955010285	HexCer 50:1;O2	-1,64
899.790956803979	SM 48:1;O2	-1,6
1009.90811782375	DG O-66:11	-1,58
898.792676572305	CerP 54:1;O2	-1,58
970.896198618808	ACer 62:4;O4	-1,55
955.859968414392	SM 52:1;O2	-1,52
957.875869562133	SM 52:0;O2	-1,52
402.352684810664	NAE 22:2	2,28
992.776605136351	PC 50:5;O	5,5

Status
● DOWN
● Non-Significant
● UP

Путь	p
Glycerophospholipid metabolism	0,000072193
Sphingolipid metabolism	0,00033028
Glycerolipid metabolism	0,0052069

DG – Диглицерид
 PC- фосфатидилхолин
 PA-фосфатидная кислота
 LPC- лизофосфатидилхолин
 CerP – Церамидфосфат
 MG-Моноацилглицерол
 Cer – Церамид
 Асер-Ацилцерамид
 ST-стерол
 SM-сфингомиелин
 HexCer-ГексозилЦерамид
 NAE- N-ацилэтаноламин

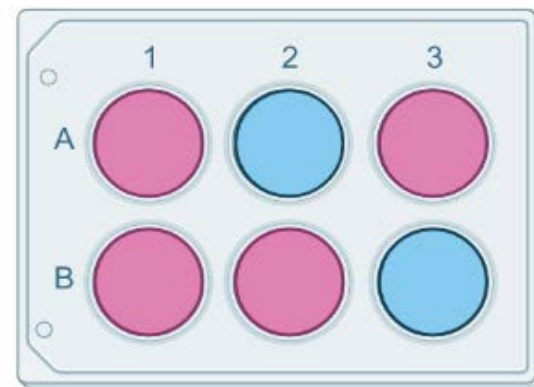
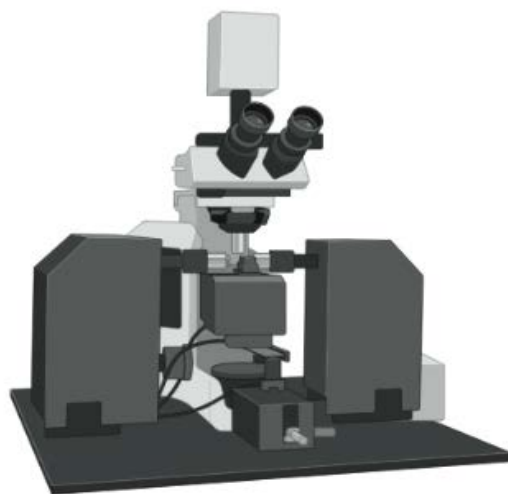
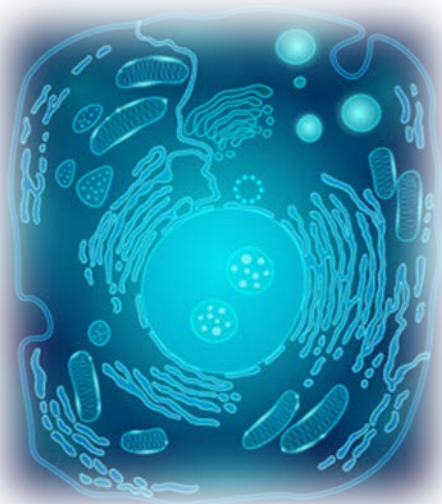
Выводы

- Выбор экспериментальной модели для исследования повреждений неонатального головного мозга должен основываться на желаемых к моделированию этапов зрелости головного мозга человека;
- Модель фотохимически индуцированного тромбоза коры головного мозга может быть воспроизведена не зависимо от возраста животного;
- Изменение липидомного метаболомного профиля может быть использовано в качестве раннего маркера повреждения головного мозга. Липиды играют важную роль в передаче сигналов в клетках и являются неотъемлемой частью многих метаболических процессов.

Благодарности коллегам, принимавшим участие в работе

Отделение	Ф И О	Должность
Отдел системной биологии в репродукции	Франкевич Владимир Евгеньевич	заместитель директора института трансляционной медицины по научной работе
	Чаговец Виталий Викторович,	Заведующий лабораторией
	Чупалав Эльдар Максудович	старший научный сотрудник
	Стародубцева Наталия Леонидовна	Заведующая лабораторией
Отделение реанимации и интенсивной терапии	Ионов Олег Вадимович	Заведующий отделением
	Киртбая Анна Ревазиевна	Заведующая по клинической работе
	Балашова Юлия Петровна	Врач анестезиолог-реаниматолог
Лаборатория клеточных технологий	Силачев Денис Николаевич	заведующий
	Горюнов Кирилл Владимирович	научный сотрудник
	Шевцова Юлия Александровна	младший научный сотрудник
ГБУЗ МО "МОПЦ" Балашиха"	Петрова Анастасия Сергеевна	Заместитель главного врача по педиатрической части
	Грызунова Анастасия Сергеевна	Врач анестезиолог-реаниматолог

БЛАГОДАРИМ ЗА ВНИМАНИЕ



Российский
научный фонд