

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-160

РЕГИСТРАЦИИ И МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ДИНАМИКИ
ФОТООБЕСЦВЕЧИВАНИЯ МОЛЕКУЛ NADH В СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ
ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ*

REGISTRATION AND MATHEMATICAL MODELING OF THE NADH PHOTOBLEACHING
DYNAMICS IN CARDIAC TISSUE FOR THE INDICATION OF ISCHEMIC DAMAGE

М. М. Слотвицкий¹⁻³, А. К. Бережной^{1,2}, Т. О. Сергеева^{1,2}, С. А. Романова²,
Р. С. Шайдулина⁴, В. А. Цвеляя¹⁻³, К. И. Агладзе^{2,3}

¹ Университет ИТМО, Санкт-Петербург

² Московский физико-технический институт, Долгопрудный

³ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского

⁴ Альметьевский государственный нефтяной институт

M. M. Slotvitskiy¹⁻³, A. K. Berezhnoy^{1,2}, T. O. Sergeeva^{1,2}, S. A. Romanova²,
R. S. Shaidulina⁴, V. A. Tsvelaya¹⁻³, K. I. Agladze^{2,3}

¹ ITMO University, Saint Petersburg

² Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

³ M. F. Vladimirovsky Moscow Regional Clinical Research Institute

⁴ Almet'yevsk State Oil Institute

✉ mikhail.slotvitskiy@phystech.edu

Аннотация

В работе мы предлагаем новый подход к неинвазивной детекции ишемии сердечной ткани. В качестве источника информации используется нелинейная динамика флуоресценции молекул NADH под действием постоянного возбуждающего излучения. Это позволяет в реальном времени получать карту ишемических очагов, а также разделять обратимые и необратимые стадии ишемических повреждений.

Abstract

In this study, we propose a new approach to noninvasive detection of cardiac tissue ischemia. The nonlinear dynamics of NADH molecules fluorescence changes under the influence of constant exciting light is used as a source of information. This allows us to obtain a map of ischemic regions in real time, as well as to separate reversible and irreversible stages of ischemic damage.

Смертность от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) достигает почти половины от общего количества смертей в развитых странах [1]. Одним из наиболее эффективных способов лечения терминальных стадий ССЗ остается трансплантация донорского органа, возможность которой ограничивается дефицитом донорских сердец. Одной из основных причин дефицита является то, что около 60 % сердец оказываются непригодными для пересадки, в том числе по причине возникновения функциональных повреждений на стадии тепловой ишемии (до извлечения сердца) и холодовой ишемии (время транспортировки в кардиоплегическом растворе) [1, 2]. Наличие таких повреждений может привести к непредсказуемым послеоперационным аритмиям и отторжению сердца (не связанным с несовместимостью по HLA-гену) [2].

Известно, что соотношение концентраций молекул NAD^+ и NADH является надежным маркером ишемии (доля NADH варьируется от 22 % в норме до 80 % при ишемии [3]), однако биохимические методы оценки требуют инвазивных манипуляций с клетками, исключая возможность последовательных измерений: альтернативой служит оптическая оценка автофлуоресценции молекул NADH в ткани (fNADH) [4]. Простота регистрации fNADH компенсируется сложностью интерпретации: с одной стороны, оптическая регистрация не дает представления о текущем значении концентрации NAD^+ , а с другой, абсолютное значение fNADH при неизменной концентрации NADH неустойчиво к изменениям мощности поглощаемого тканью возбуждающего излучения и фотообесцвечиванию (перехода NADH в NAD^+ при поглощении фотонов [5]).

* Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 24-21-00162).

Одна из попыток решить описанные проблемы была предпринята группой М. В. Кау [4]: авторы использовали фотообесцвечивание, чтобы сдвинуть баланс $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ в большую сторону, тем самым запустив работу фермента дегидрогеназы (осуществляющей переход, обратный результирующей реакции фотообесцвечивания, переводя избыточный NAD^+ обратно в NADH) для оценки продукции NADH в реальном времени — данный метод позволил качественно отделить случаи холодовой ишемии и реперфузии изолированного крысиного сердца. Целью нашей работы было построение точной количественной оценки ишемических повреждений; для этого мы разработали математическую модель, описывающую баланс концентраций NADH и NAD^+ при фотообесцвечивании и результирующей работе дегидрогеназы. Теоретическая часть работы позволила сделать два вывода: 1) изменение $f\text{NADH}$ во времени нелинейным образом зависит как от начальных концентраций NADH и NAD^+ , так и от активности дегидрогеназы; 2) обратная задача имеет единственное решение — форма сигнала $f\text{NADH}$ позволяет однозначно определить баланс NADH и NAD^+ при произвольной мощности поглощаемого возбуждающего излучения. Возможность использовать произвольное значение мощности позволило перейти от качественной оценки к количественной. Оба вывода были проверены в серии экспериментов на изолированных крысиных сердцах и монослоях человеческих кардиомиоцитов, полученных направленной дифференцировкой из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Полученные результаты могут быть полезны как для фундаментального изучения процессов ишемического повреждения, так и для практического применения с построением карт ишемии сердец, находящихся на сохранении в кардиоплегическом растворе во время транспортировки или длительных операций на открытом сердце.

Литература

1. McCartney S.L., Patel C., Del Rio J.M. Long-term outcomes and management of the heart transplant recipient // *Best practice & research Clinical anaesthesiology*. 2017. Vol. 31, № 2. P. 237–248.
2. Beuth J. et al. New strategies to expand and optimize heart donor pool: ex vivo heart perfusion and donation after circulatory death: a review of current research and future trends // *Anesthesia & Analgesia*. 2019. Vol. 128, № 3. P. 406–413.
3. Scholz T.D. et al. Effect of substrate on mitochondrial NADH , cytosolic redox state, and phosphorylated compounds in isolated hearts // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 1995. Vol. 268. № 1. P. H82–H91.
4. Moreno A. et al. Enzyme-dependent fluorescence recovery of NADH after photobleaching to assess dehydrogenase activity of isolated perfused hearts // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7, № 1. P. 45744.
5. Joubert F. et al. NADH enzyme-dependent fluorescence recovery after photobleaching (ED-FRAP): applications to enzyme and mitochondrial reaction kinetics, in vitro et al. // *Biophysical journal*. 2004. Vol. 86, № 1. P. 629–645.