

Молекулярные механизмы эндотелиотоксичности кальций-фосфатных бионосов: на пути к концепции

Кутихин А.Г.

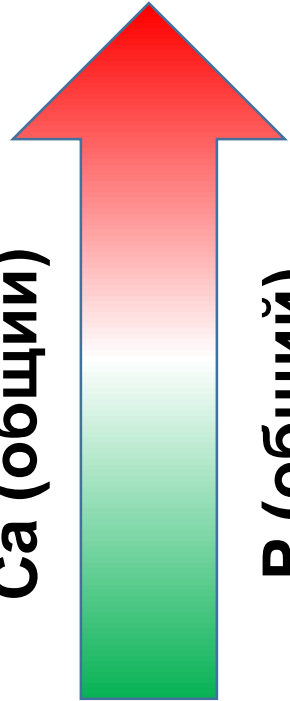
*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт комплексных проблем
сердечно-сосудистых заболеваний»
г. Кемерово*

Клиническая актуальность

Ишемическая болезнь сердца
Острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу
Сердечно-сосудистая смерть

Высокий риск

Са (общий)

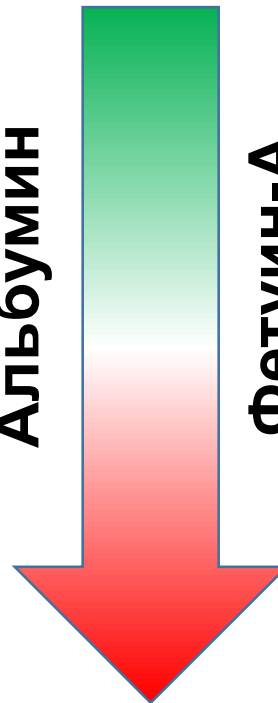


Р (общий)

Низкий риск

Низкий риск

Альбумин

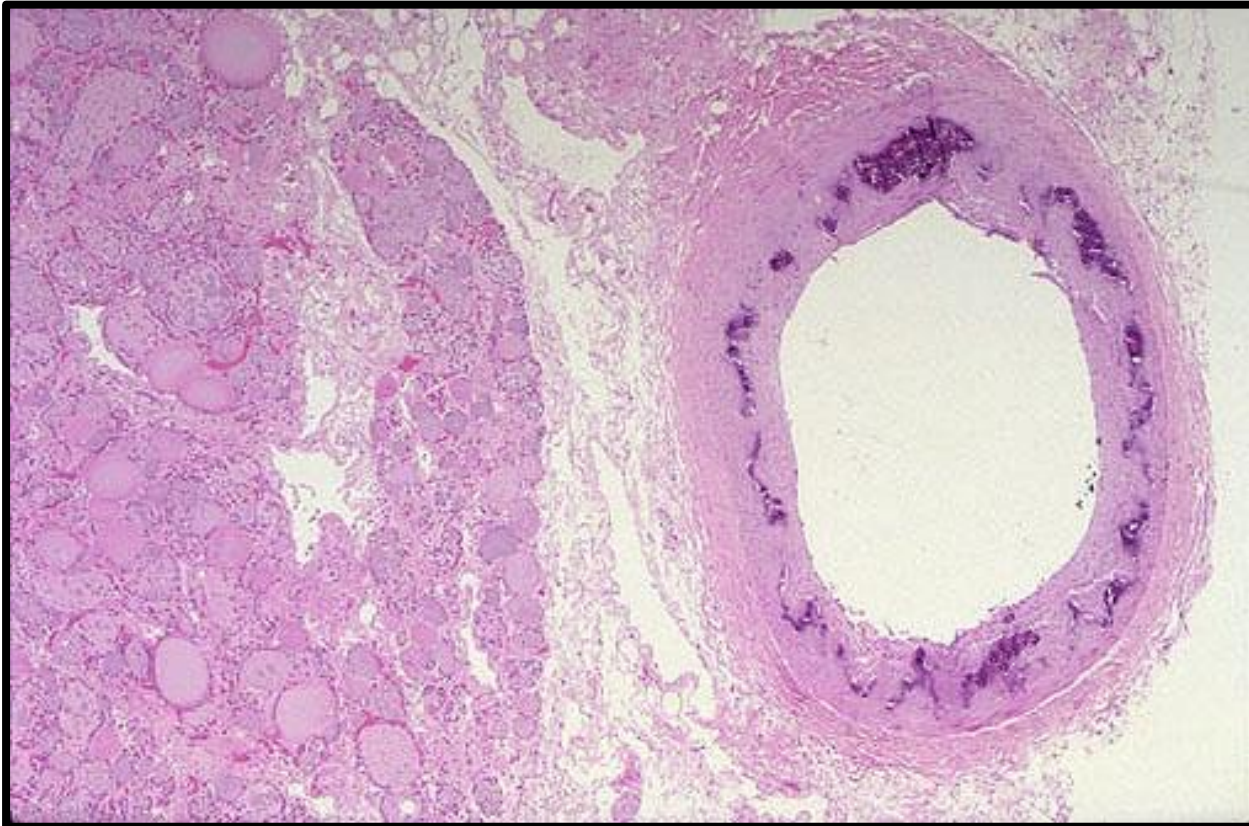


Фетуин-А

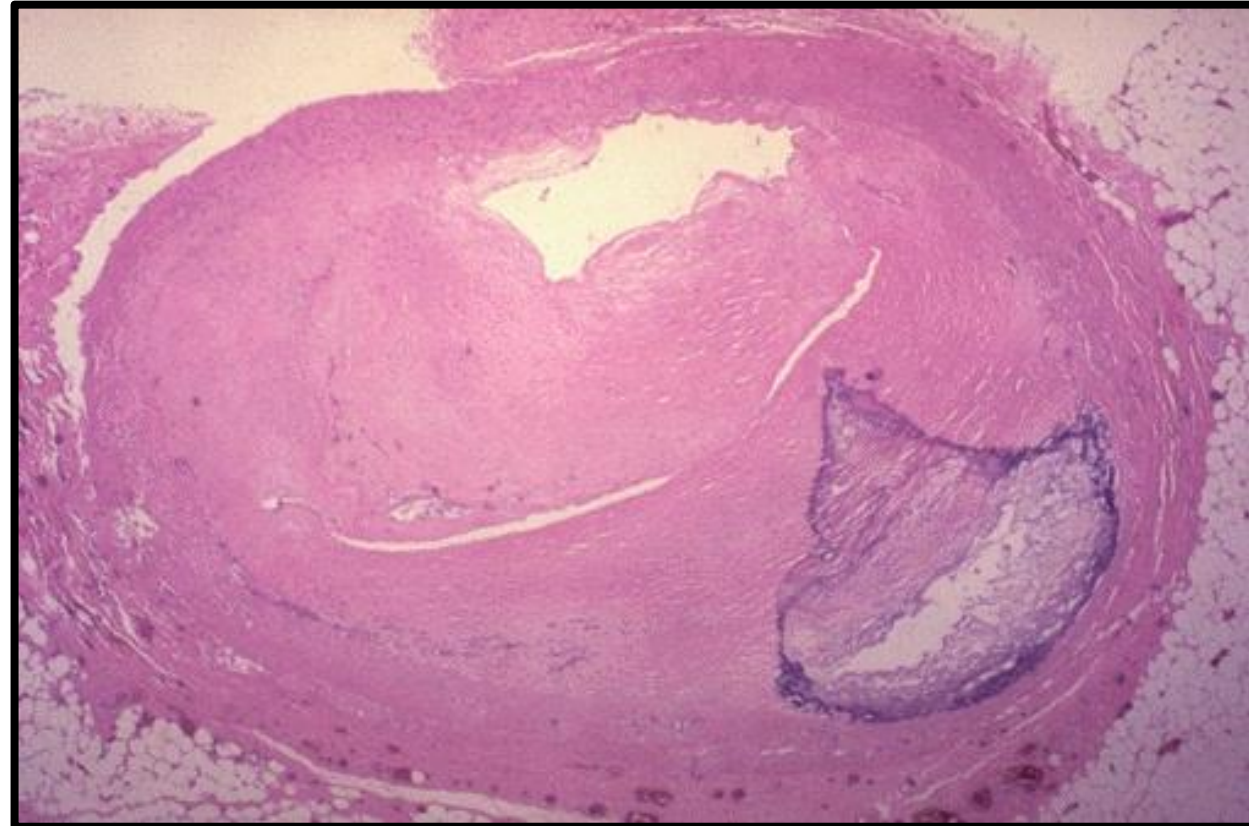
Высокий риск

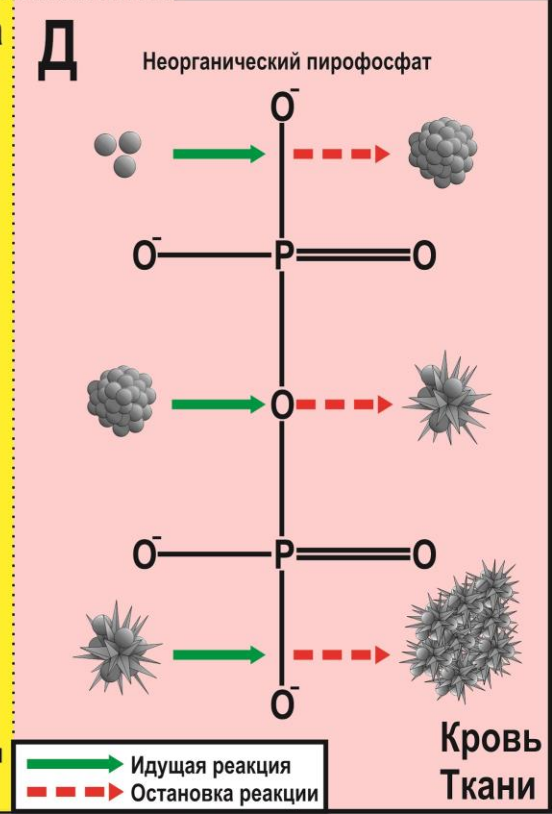
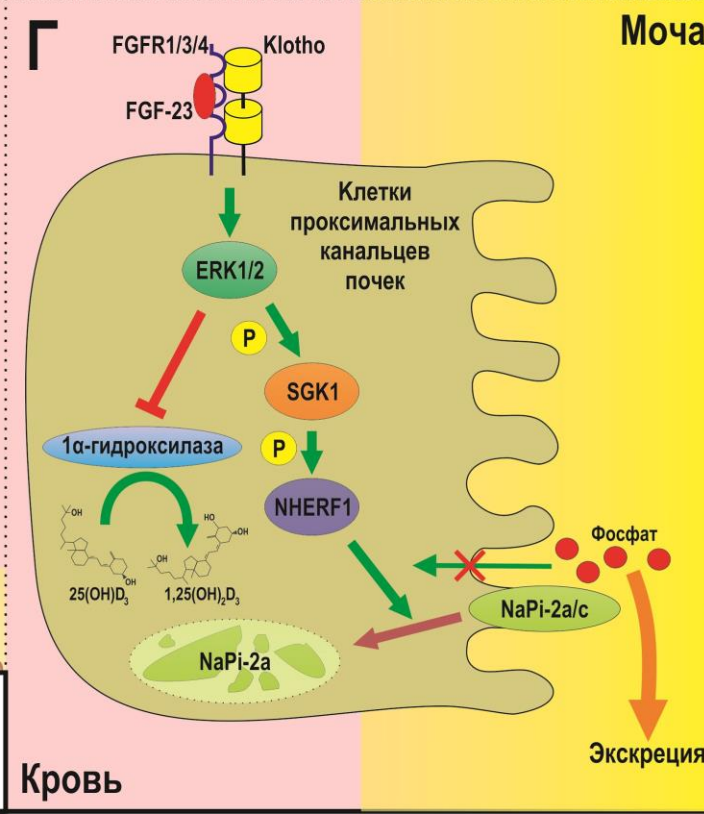
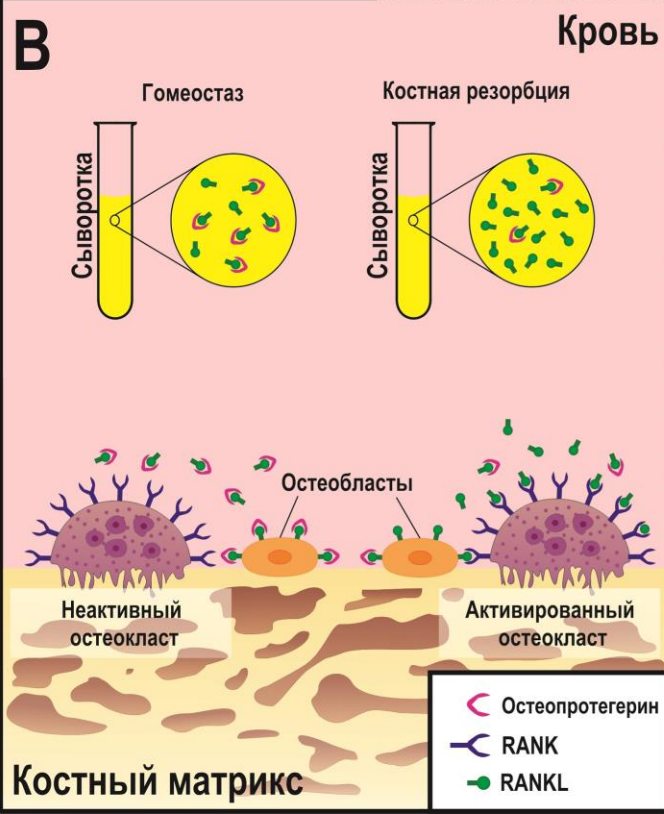
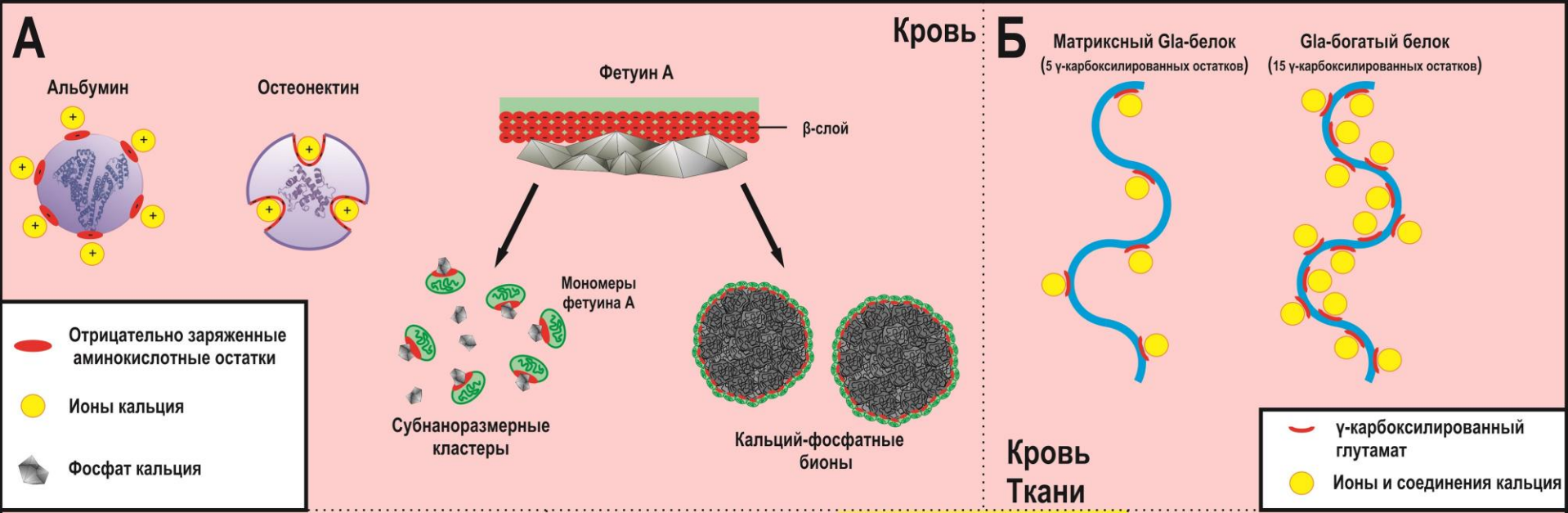
Развилка кальцификации

Кальцификация меди
(терминальная хроническая
почечная недостаточность)

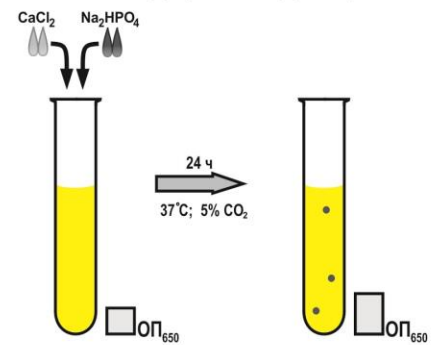


Кальцифицированная
атеросклеротическая
бляшка

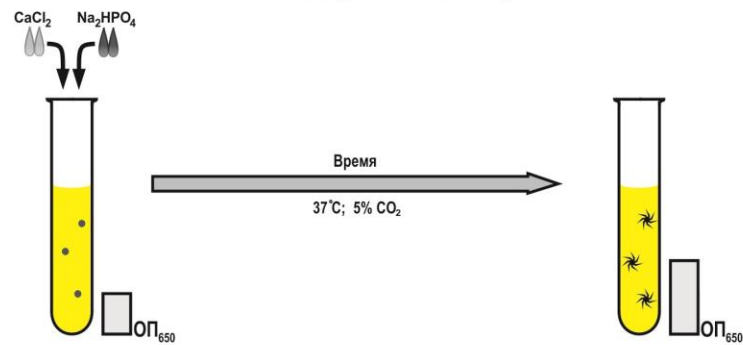




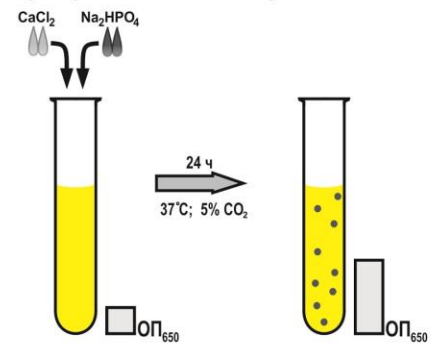
Условно здоровые доноры



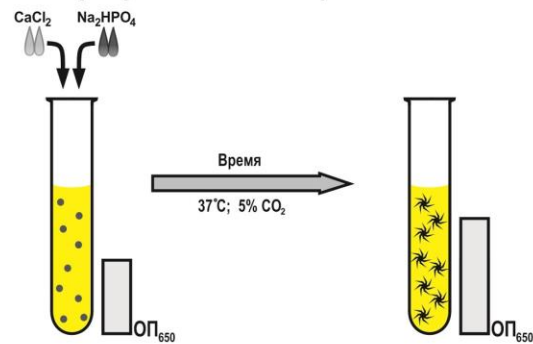
Условно здоровые доноры



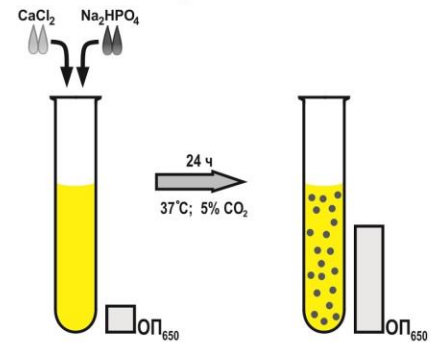
Пациенты с ИБС или артериальной гипертензией



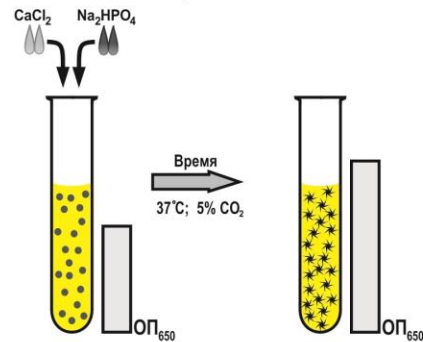
Пациенты с ИБС или артериальной гипертензией



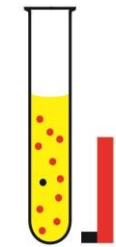
Пациенты с терминальной ХПН



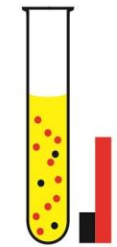
Пациенты с терминальной ХПН



Условно здоровые доноры

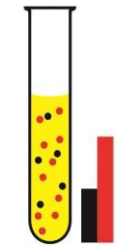


Пациенты со стабильной стенокардией

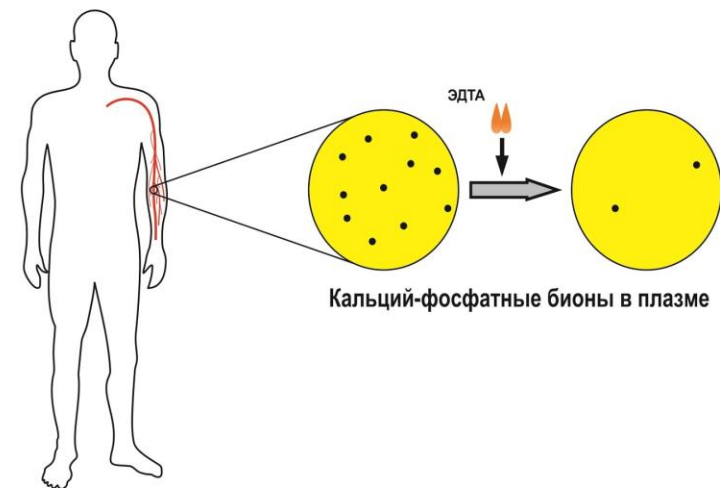
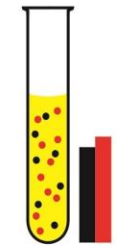


- OsteoSense680⁻ PKH67⁺ (внеклеточные везикулы)
- OsteoSense680⁺ PKH67⁻ (кальций-фосфатные бионы)

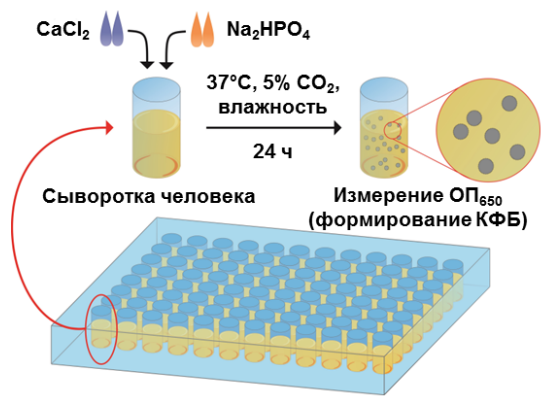
Пациенты с острым коронарным синдромом



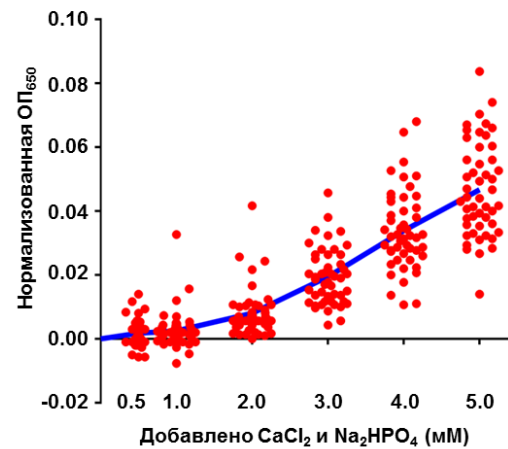
Пациенты с терминальной ХПН



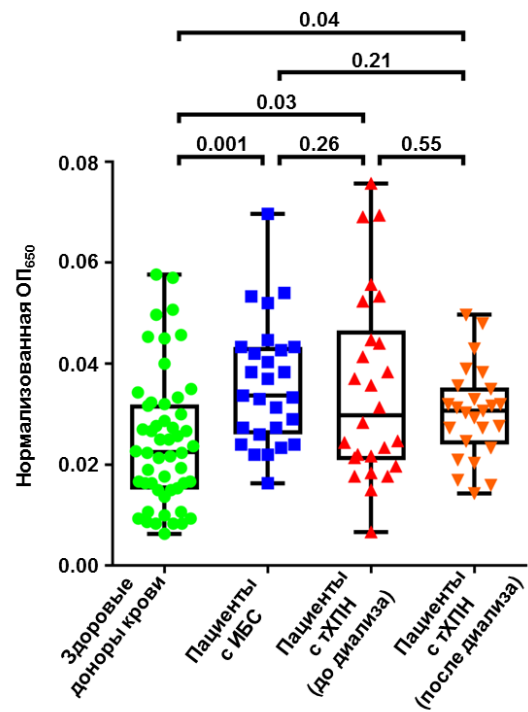
Дизайн анализа формирования КФБ



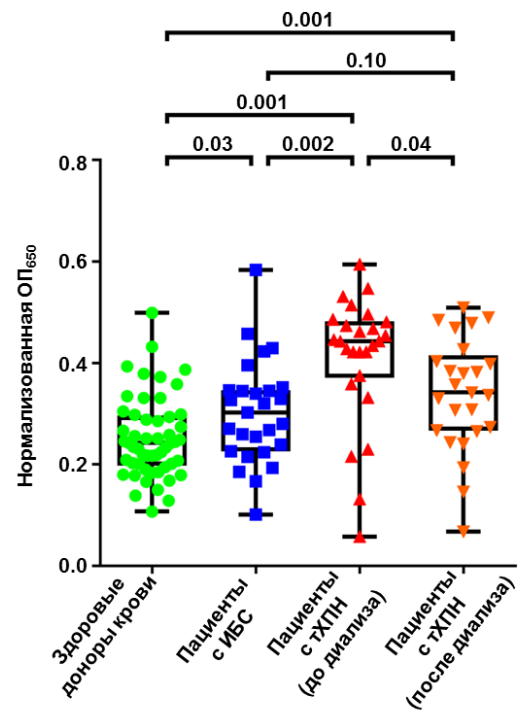
Физиологические уровни формирования КФБ



Добавление 5 мм CaCl₂ и Na₂HPO₄

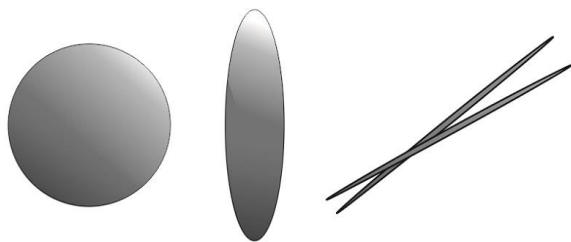


Добавление 20 мм CaCl₂ и Na₂HPO₄

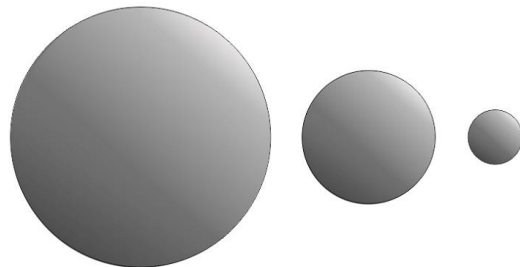


Факторы, определяющие токсичность наночастиц

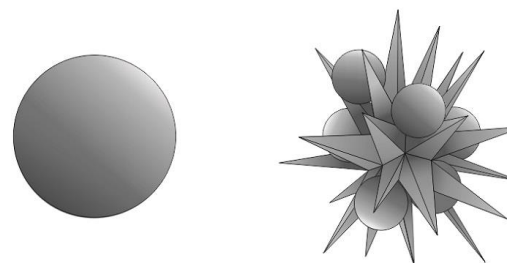
Форма



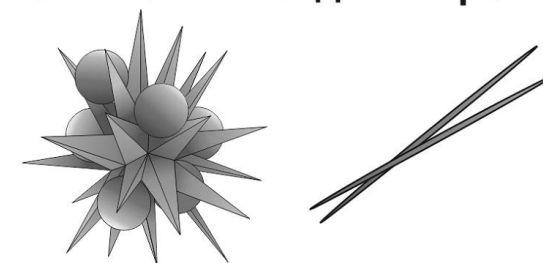
Размерность



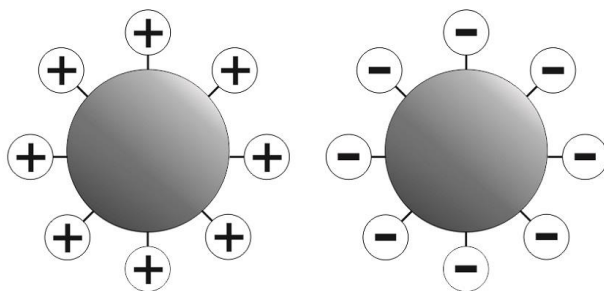
Степень кристалличности



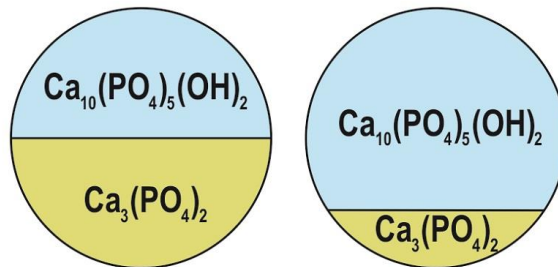
Площадь поверхности /
соотношение диаметров



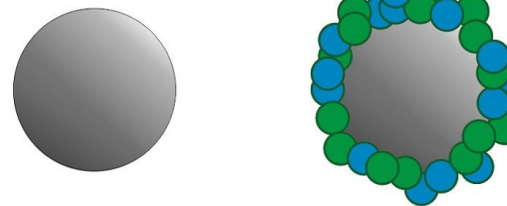
Поверхностный заряд



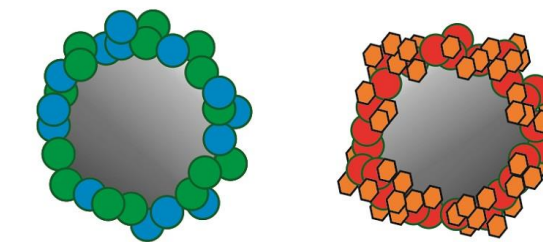
Минеральный состав

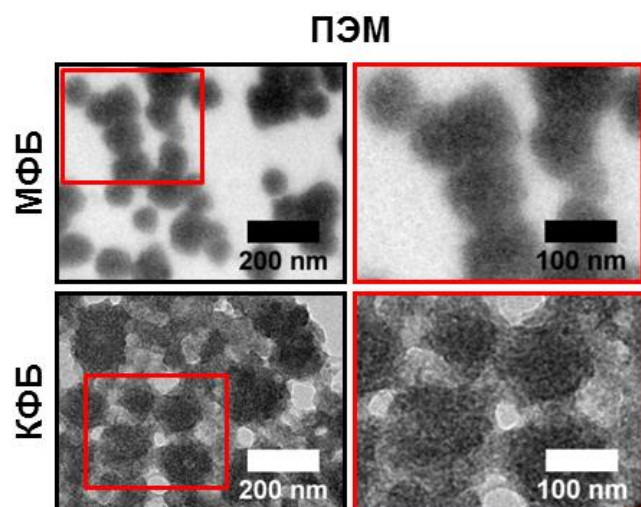
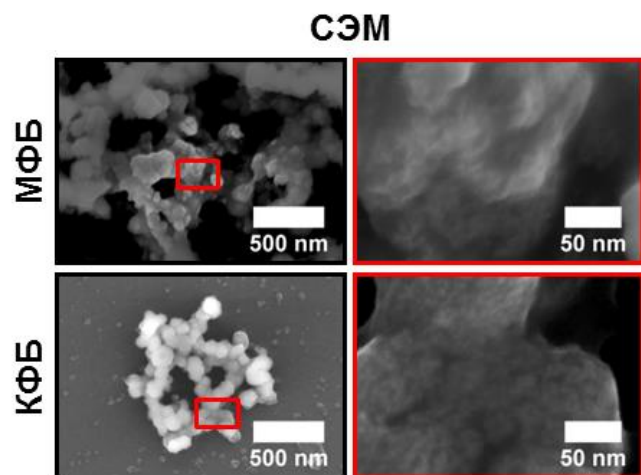


Наличие белковой оболочки

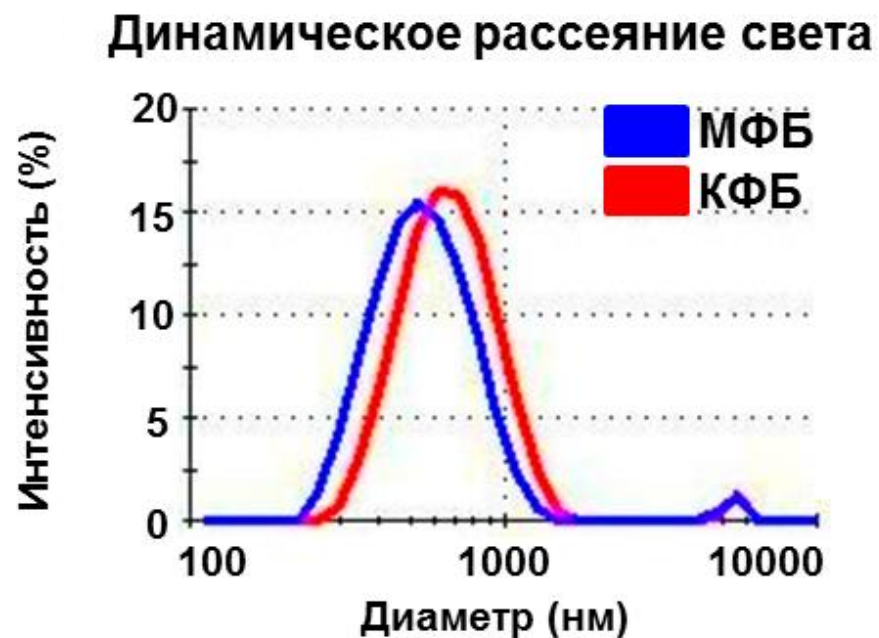
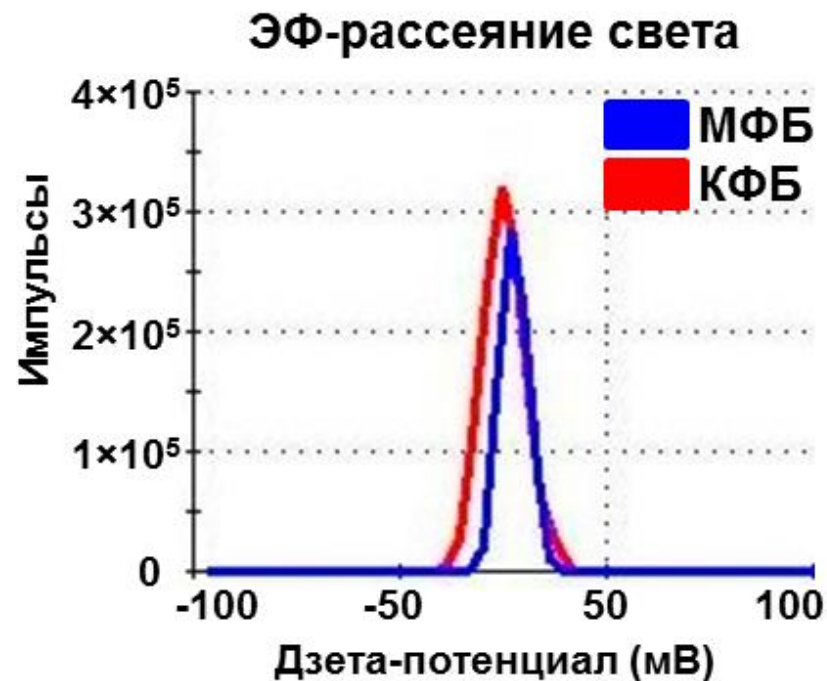
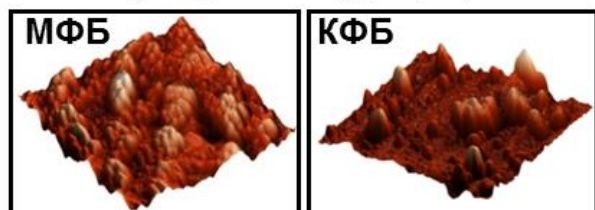


Состав белковой оболочки

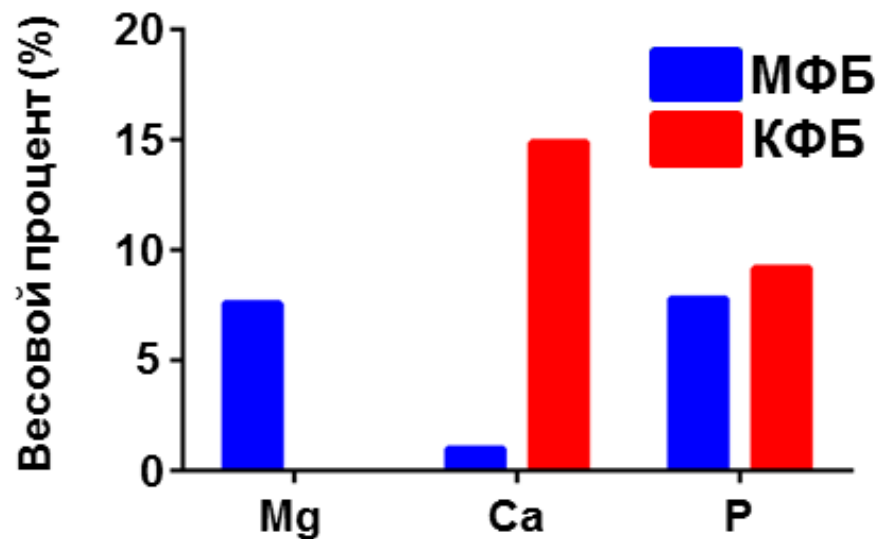




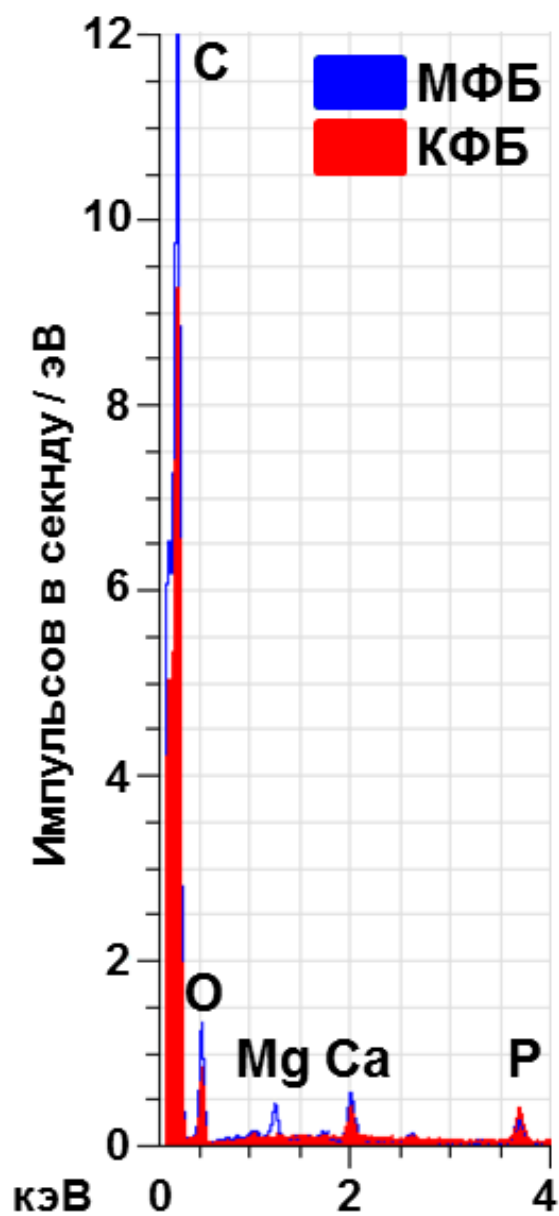
**Атомно-силовая микроскопия
(3D-реконструкция)**



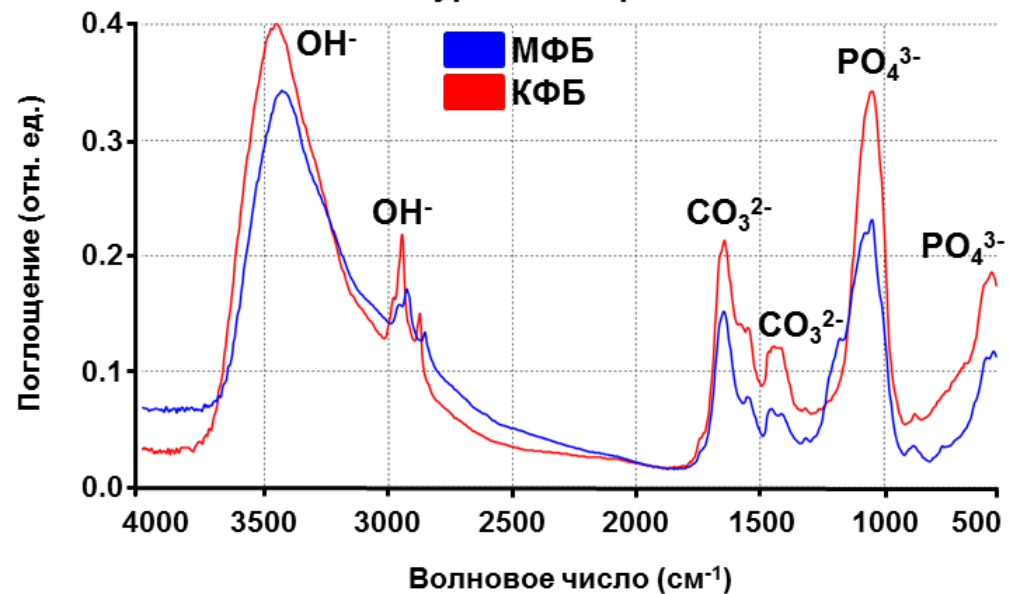
Атомно-эмиссионная спектроскопия



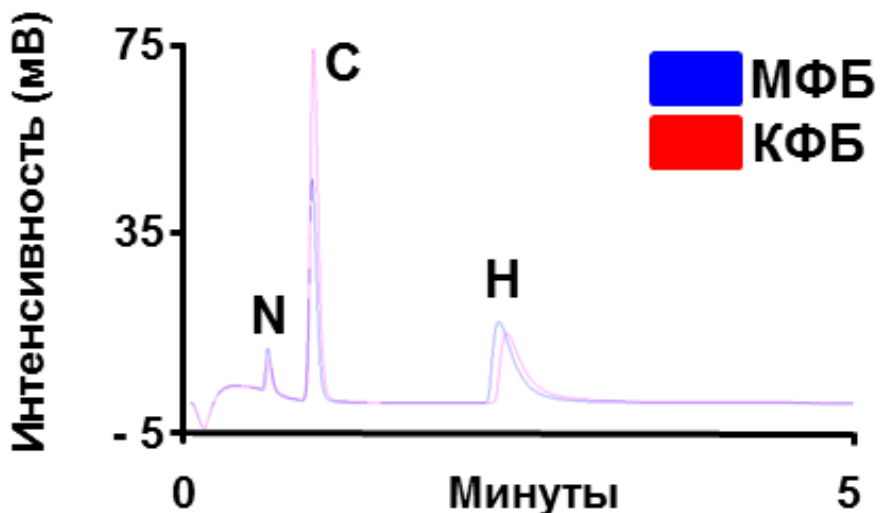
EDX-анализ



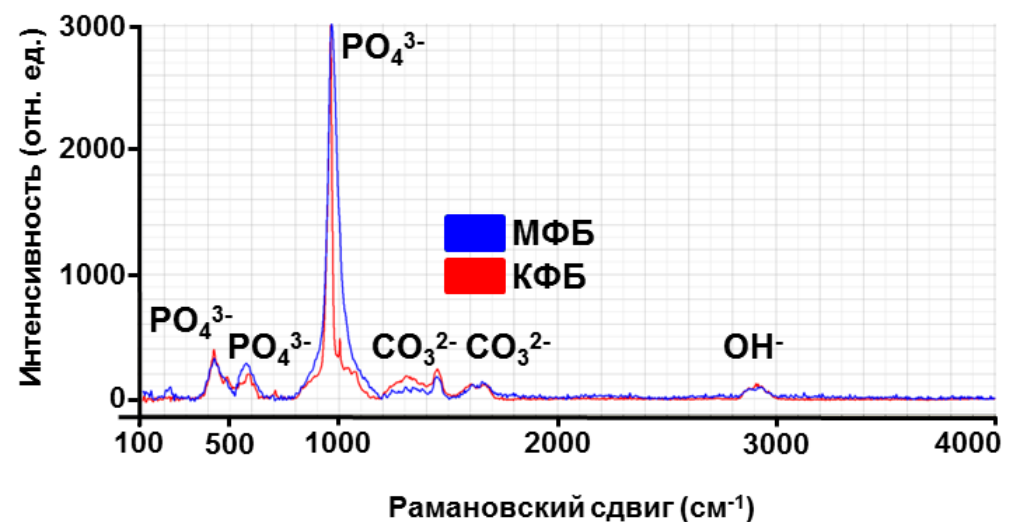
ИК-Фурье-спектроскопия



CHNSO-анализ

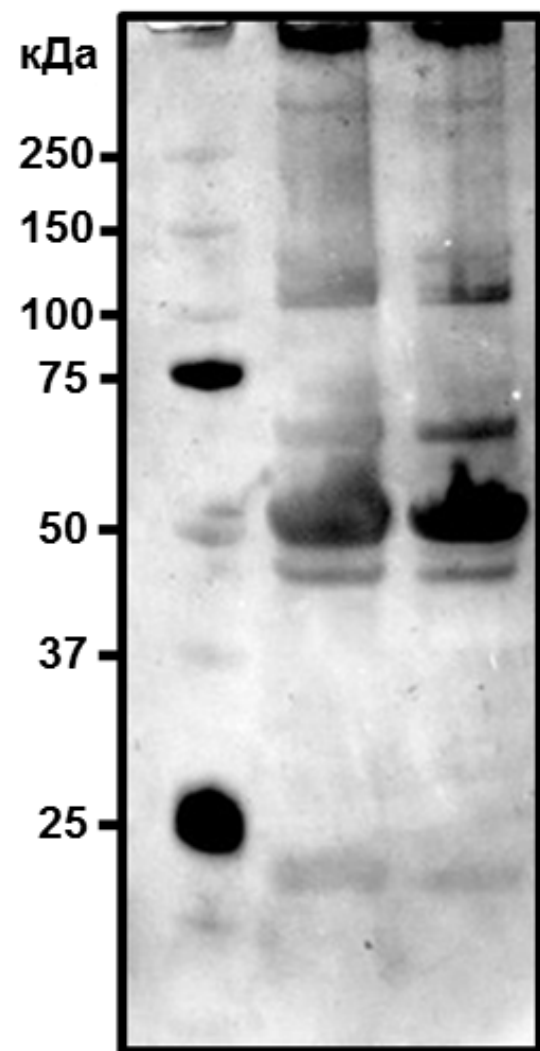


Спектроскопия комбинационного рассеяния света

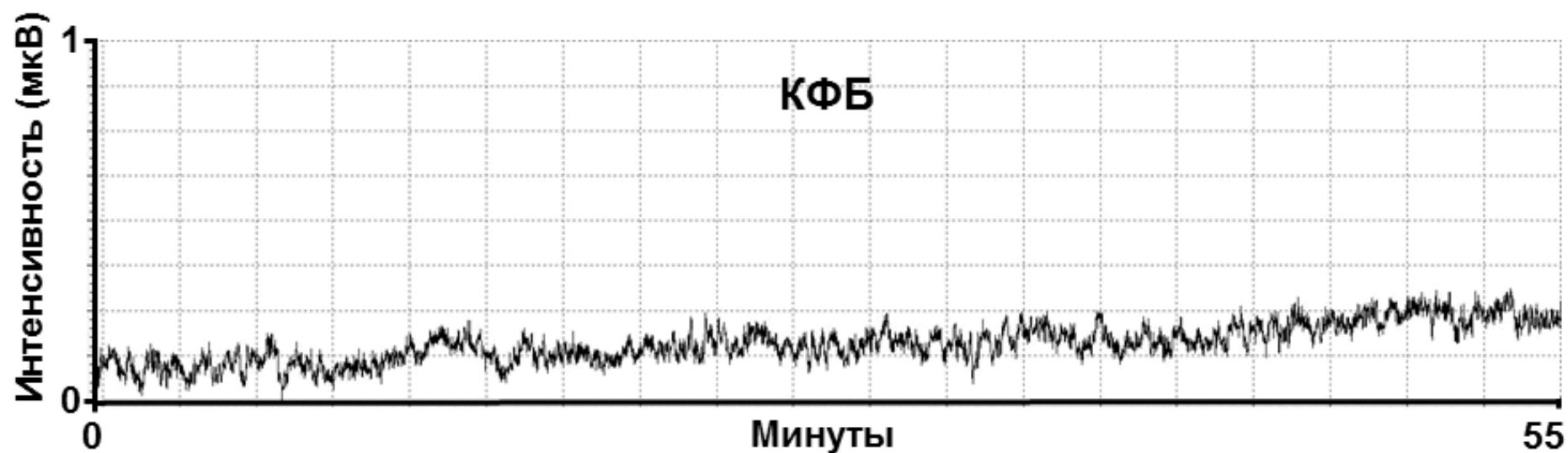
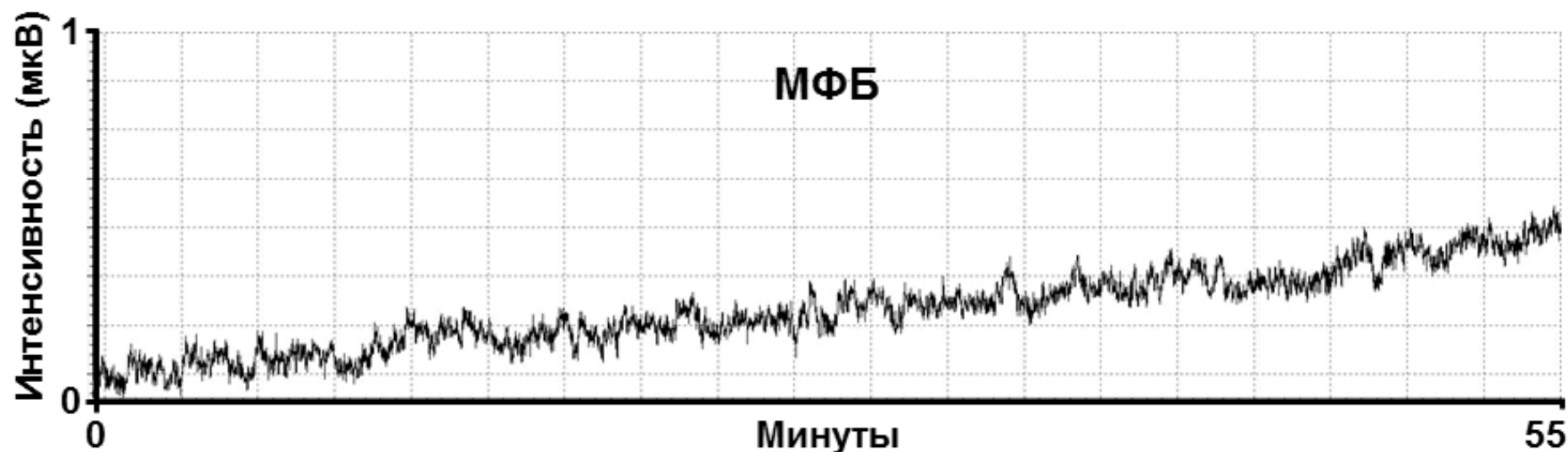


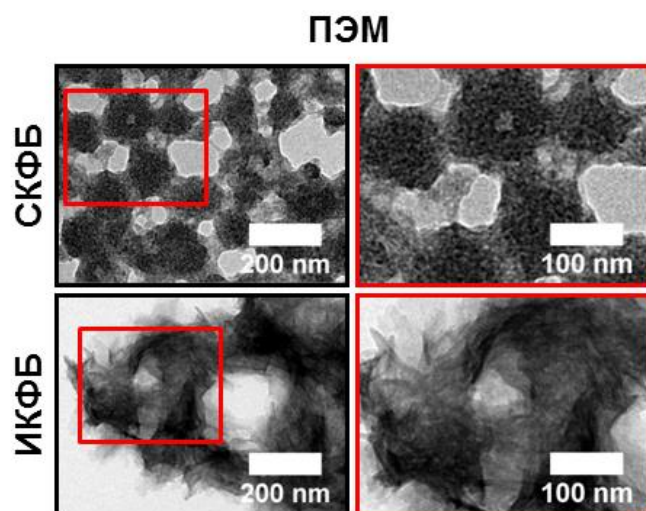
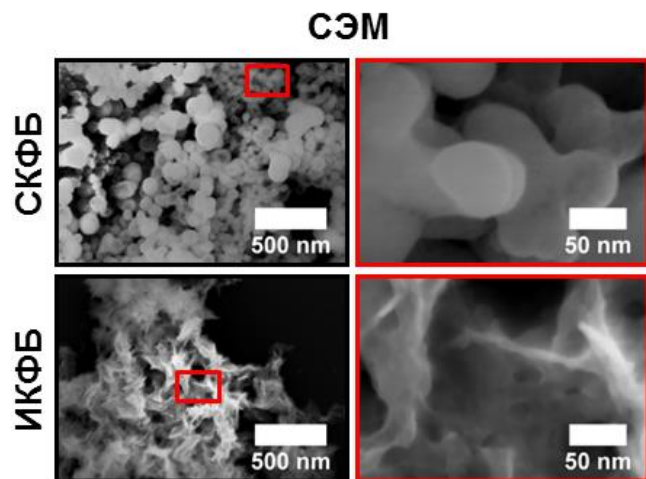
ДСН-ПААГ + AgNO₃

+ МФБ КФБ

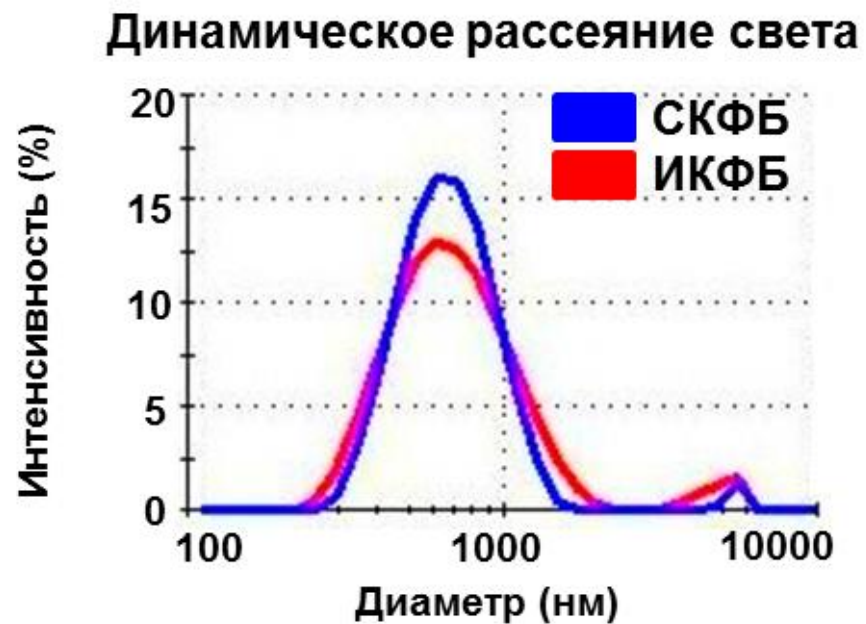
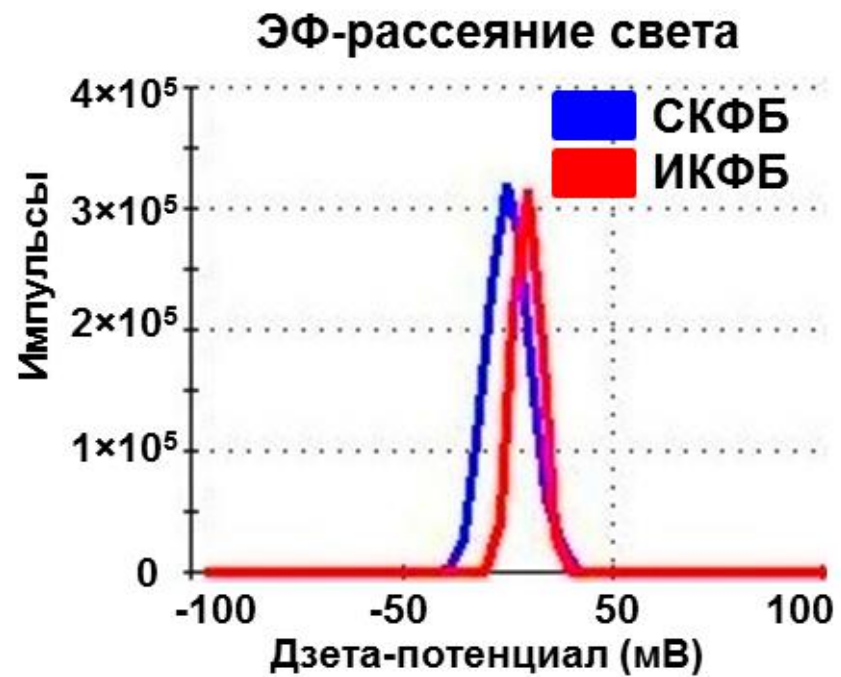
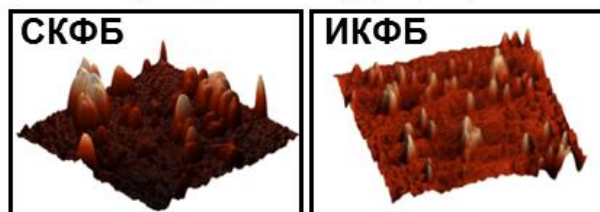


Газовая хромато-масс-спектрометрия

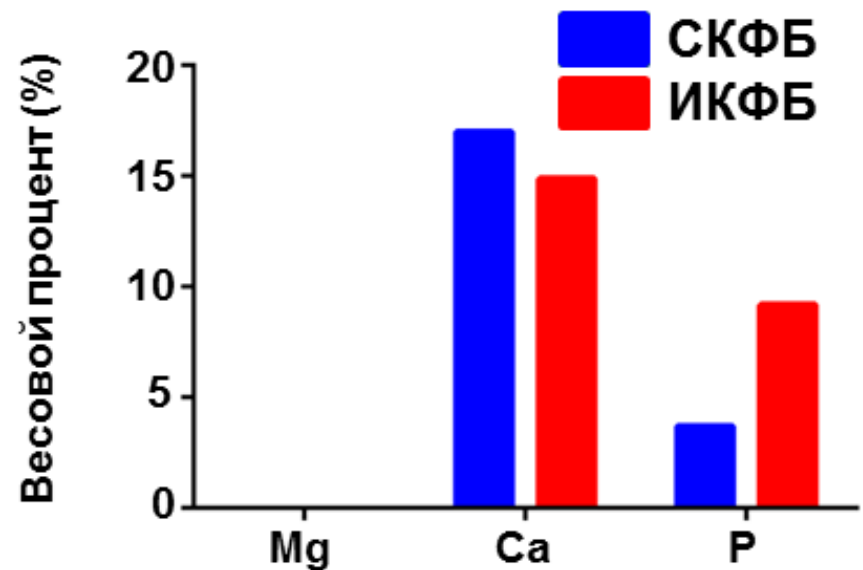




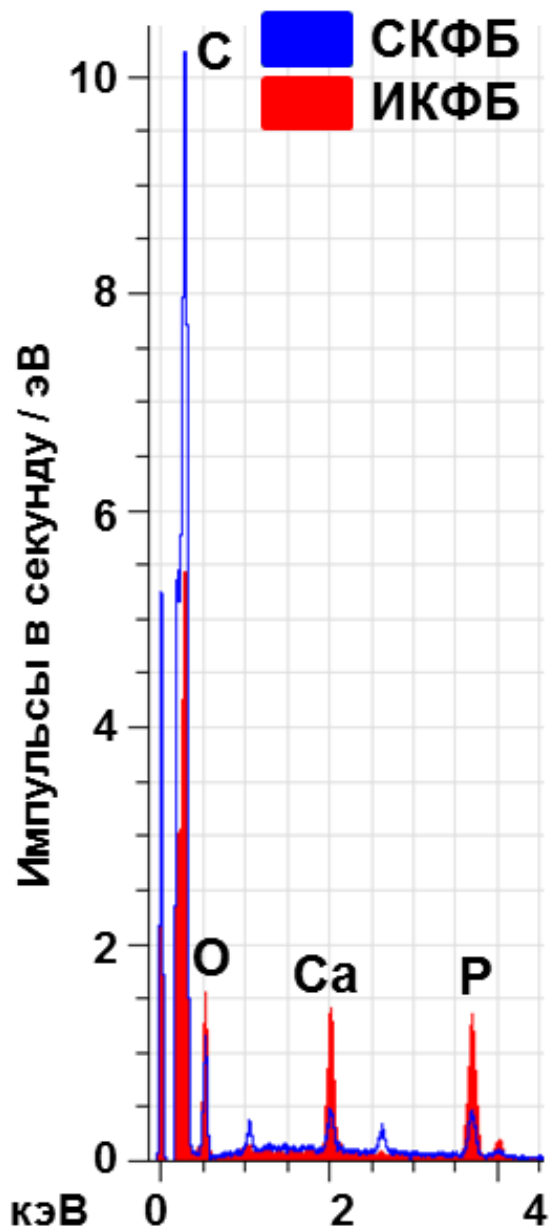
**Атомно-силовая микроскопия
(3D-реконструкция)**



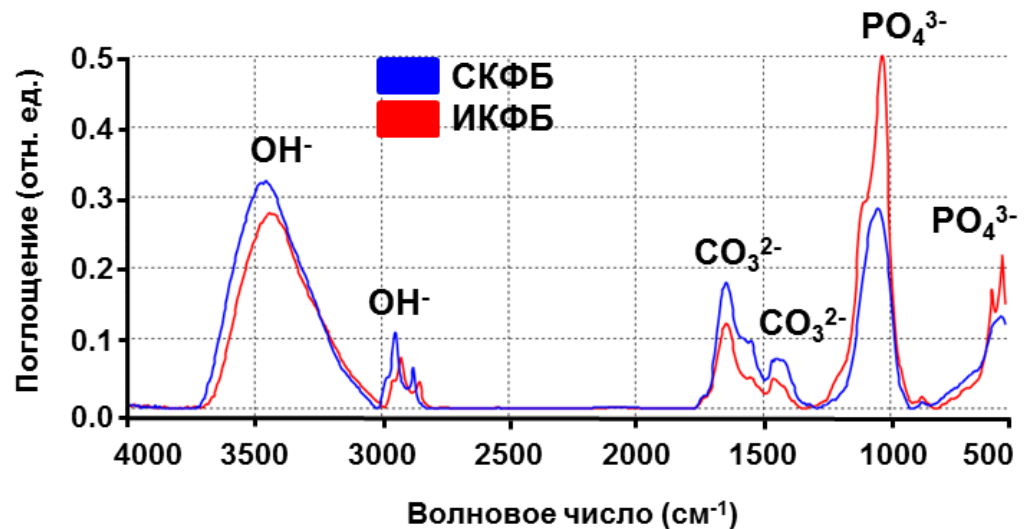
Атомно-эмиссионная спектроскопия



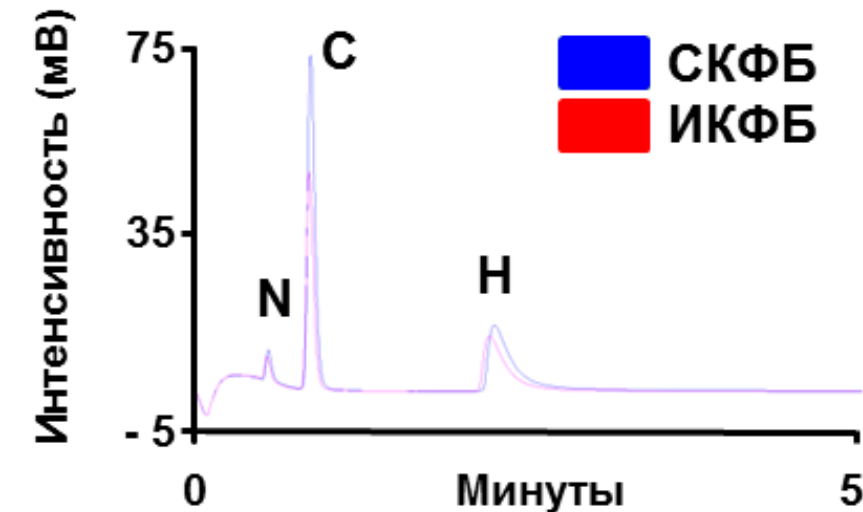
EDX-анализ



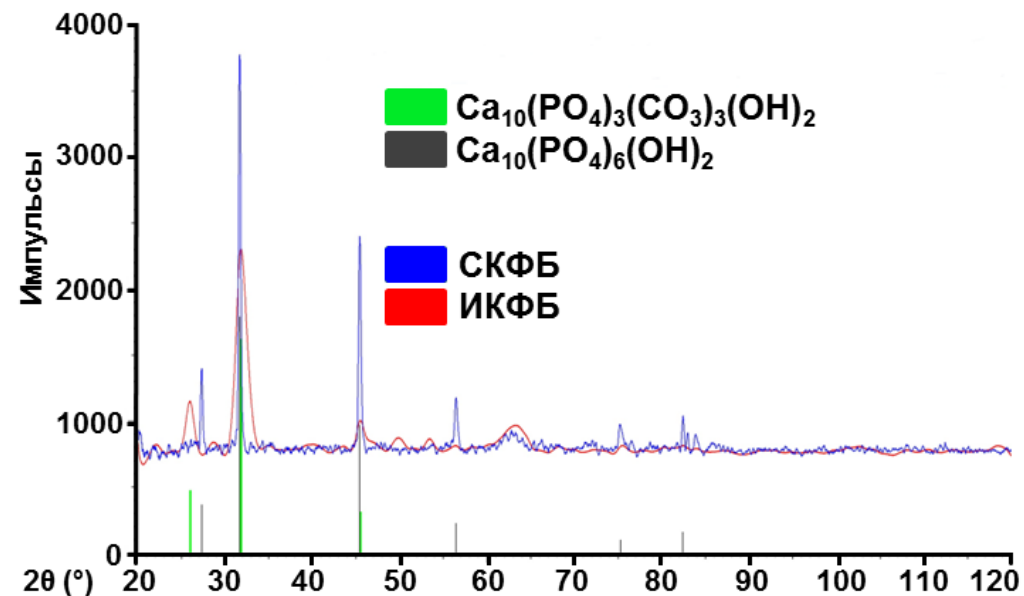
ИК-Фурье-спектроскопия



CHNSO-анализ

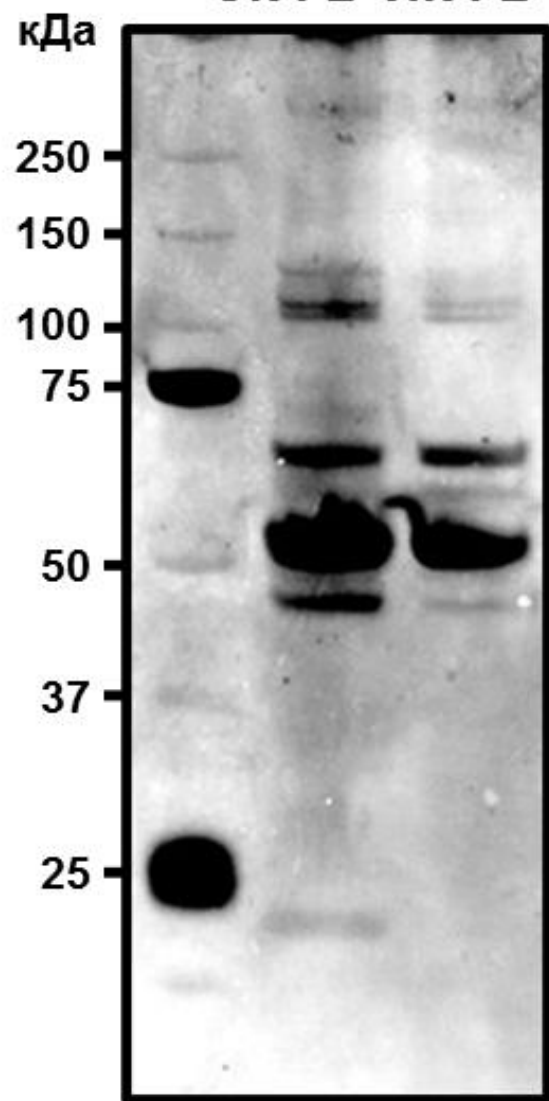


Рентгеновская порошковая дифрактометрия

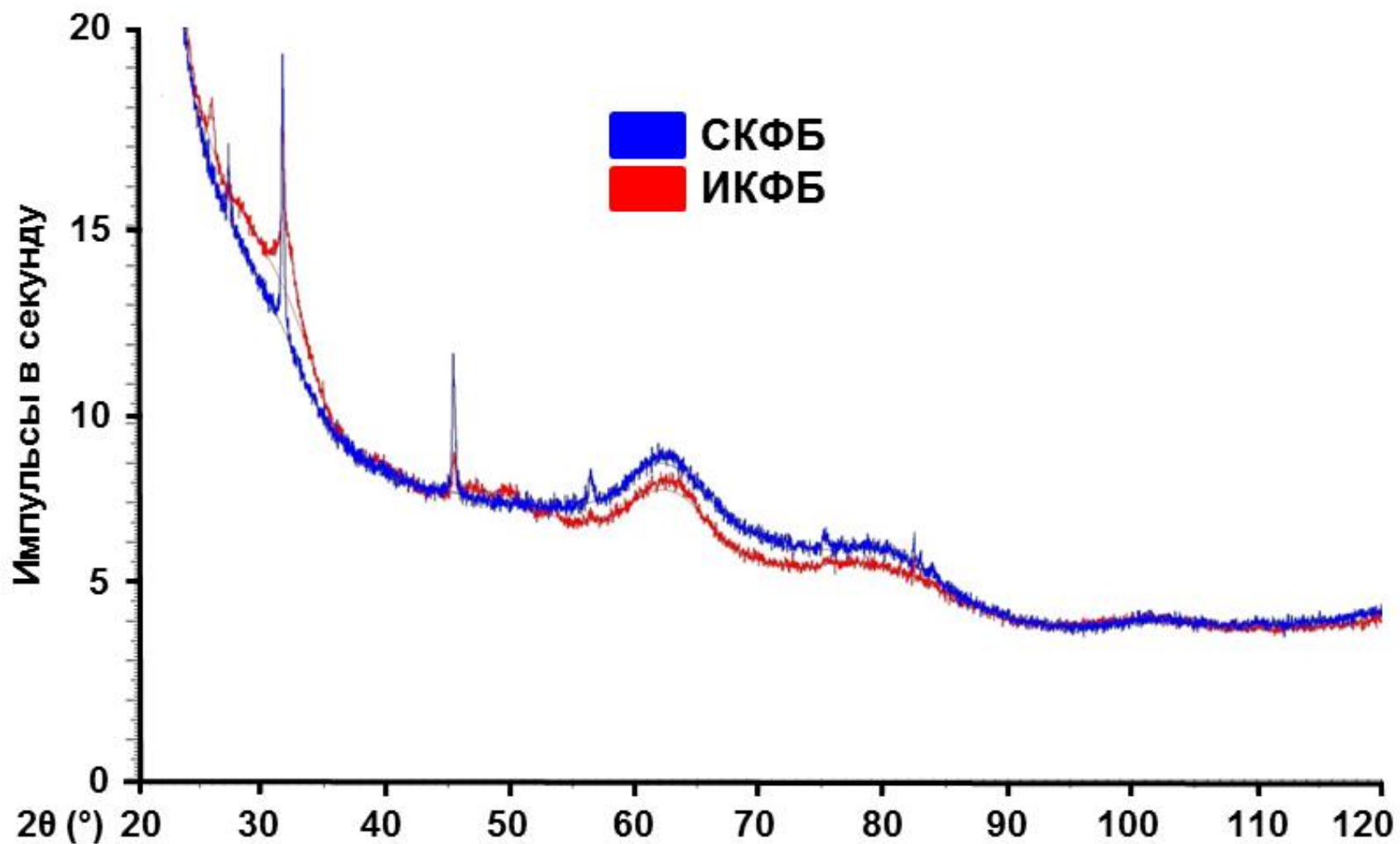


ДСН-ПААГ + AgNO₃

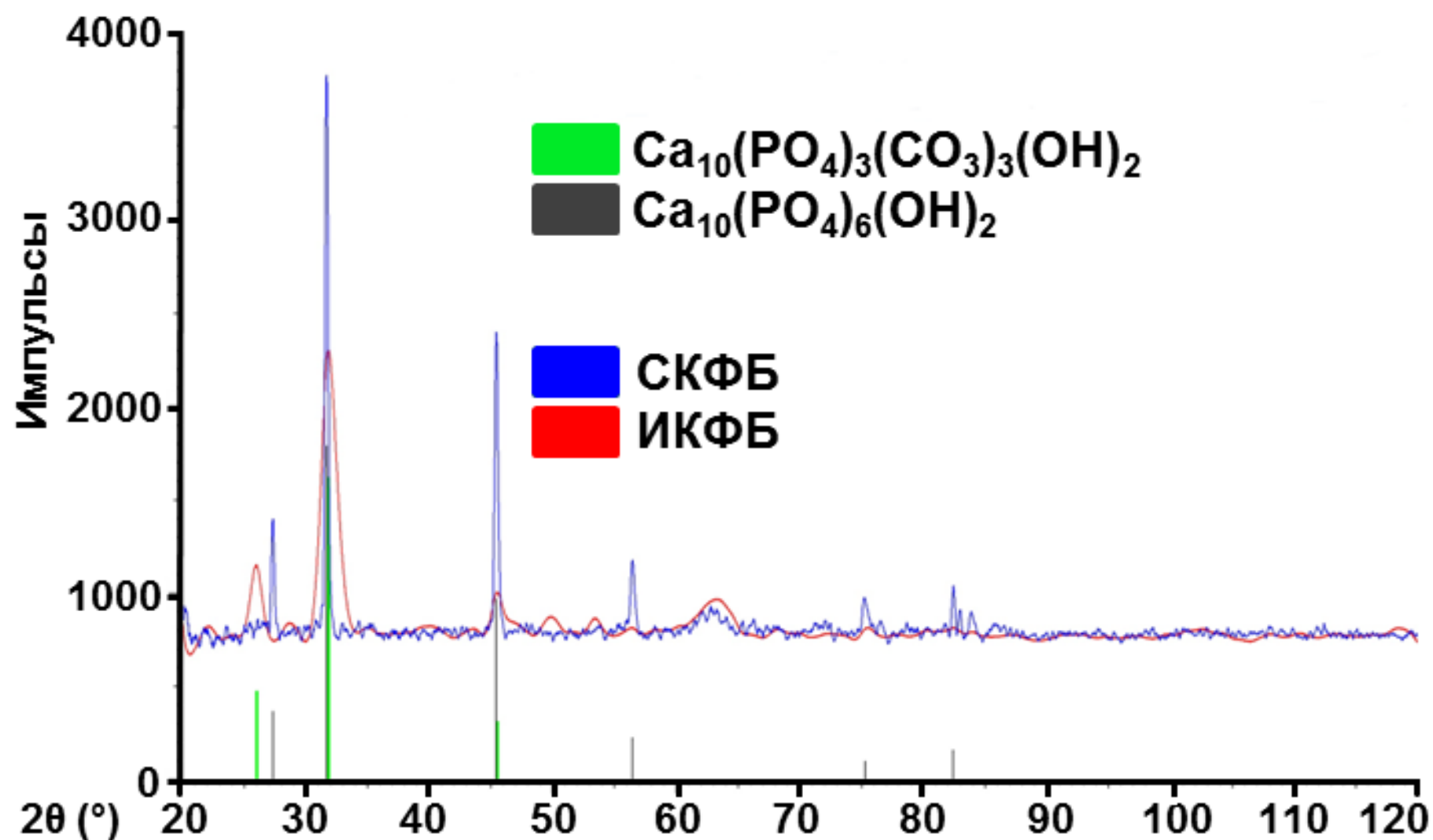
+ СКФБ ИКФБ



Рентгеновская порошковая дифрактометрия
(степень кристалличности)

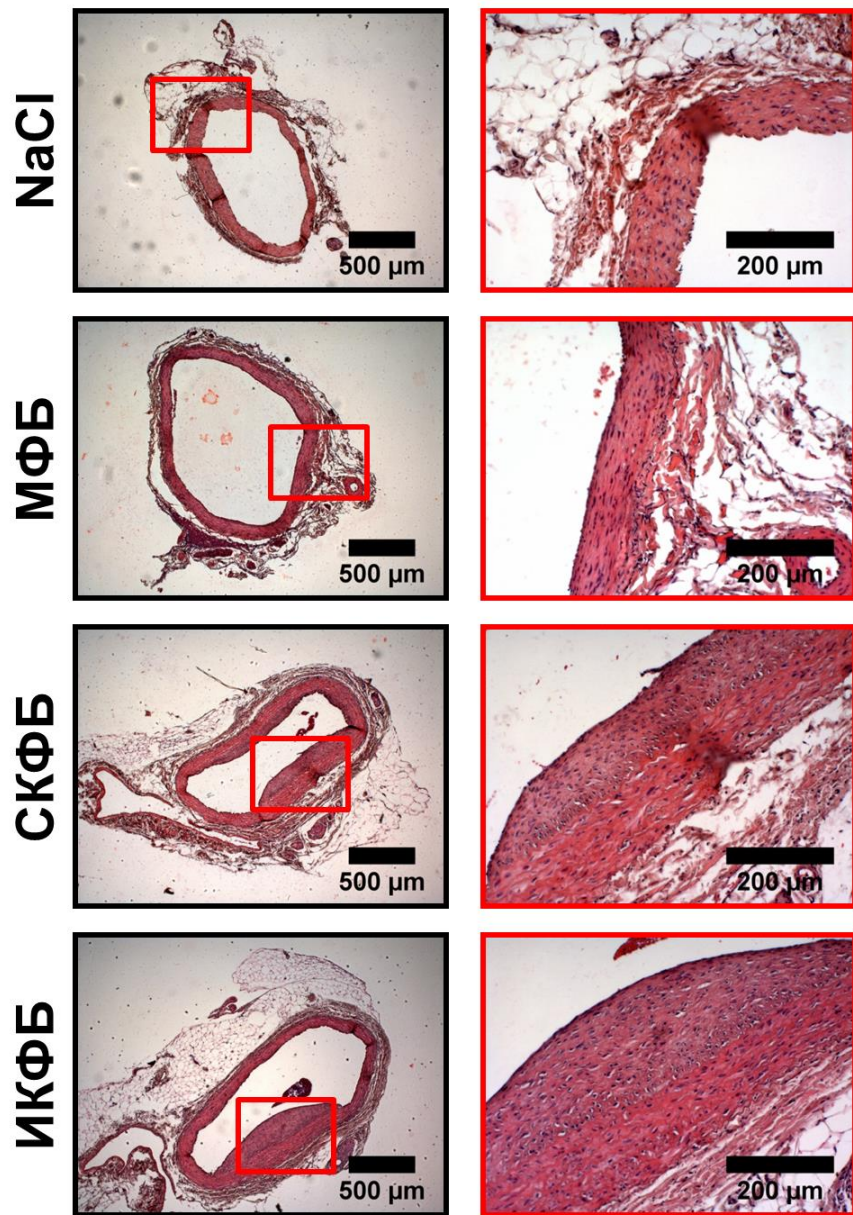


Рентгеновская порошковая дифрактометрия

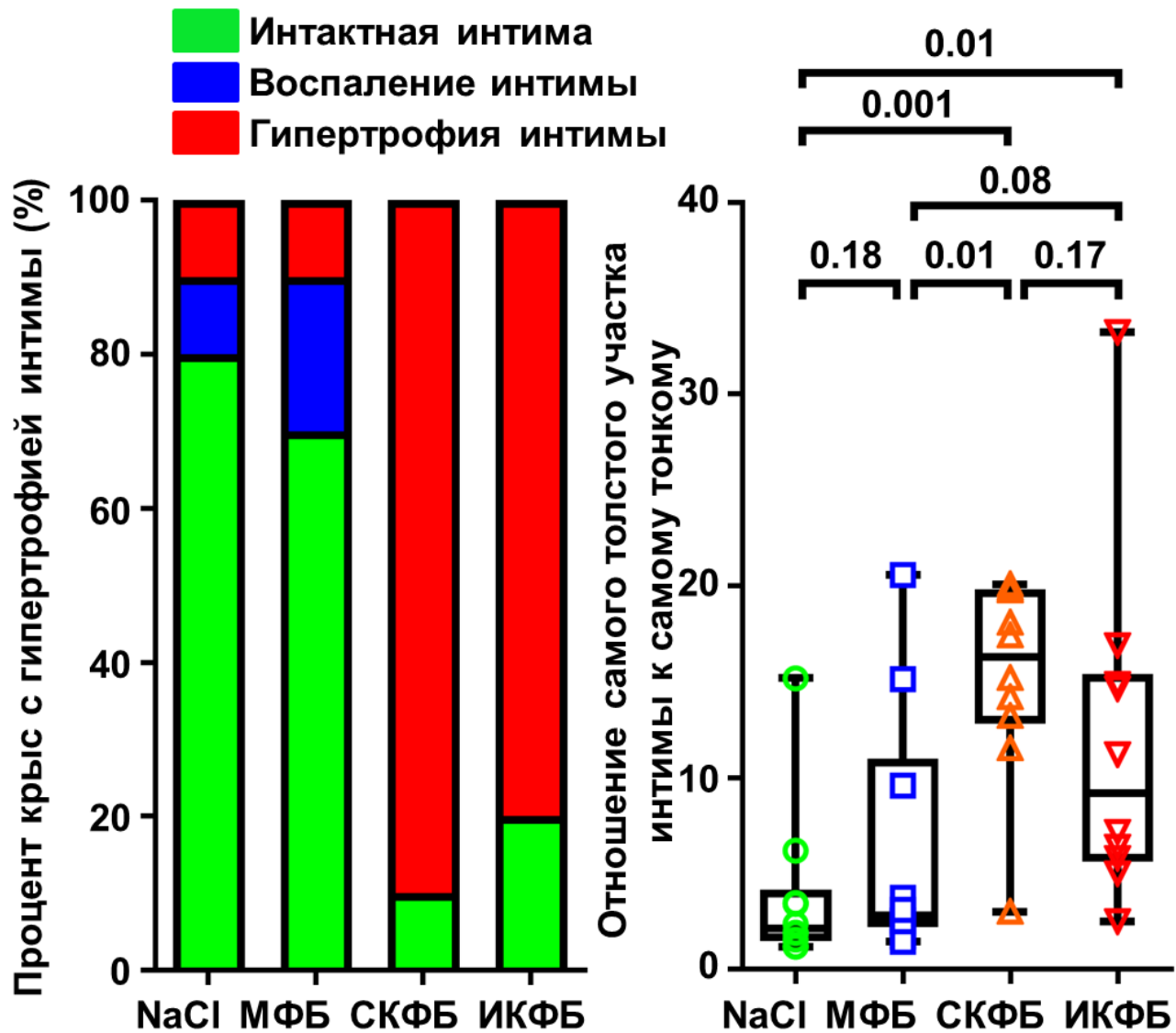


Поврежденная баллоном аорта

Окрашивание Г-Э



Полуколичественный анализ изображений

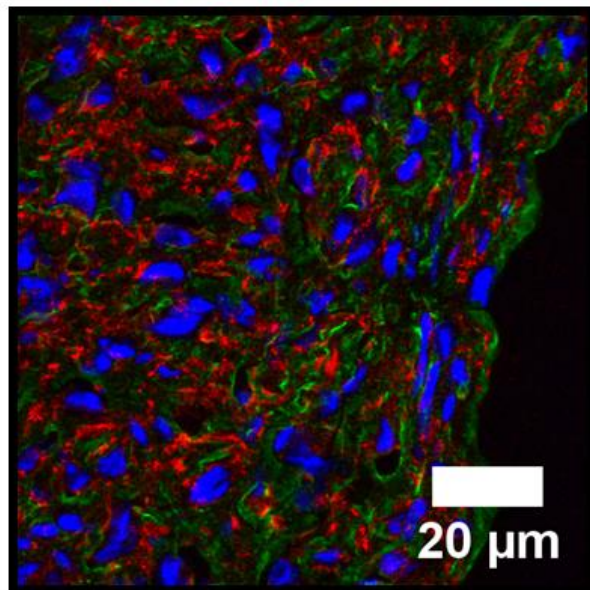
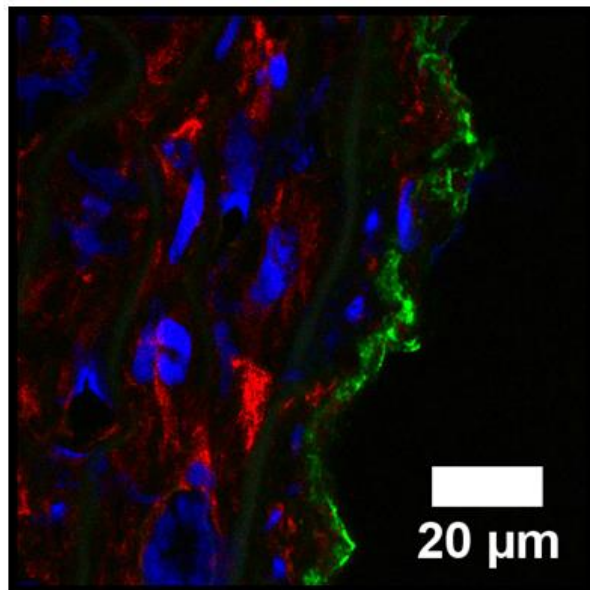


Интактная интима

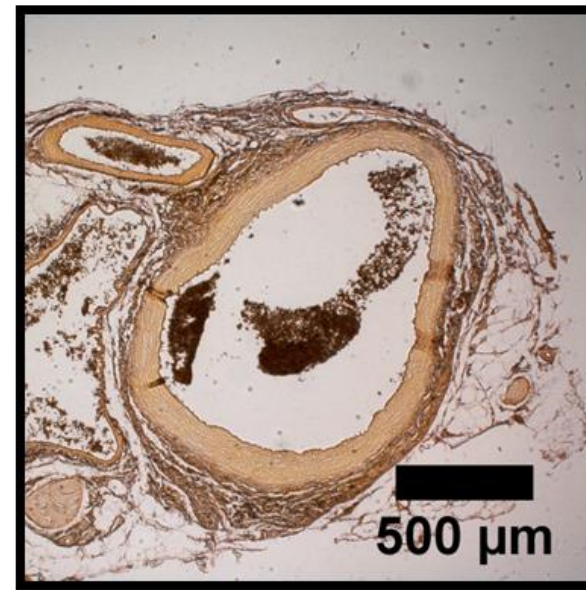
Неоинтима

Ализарин

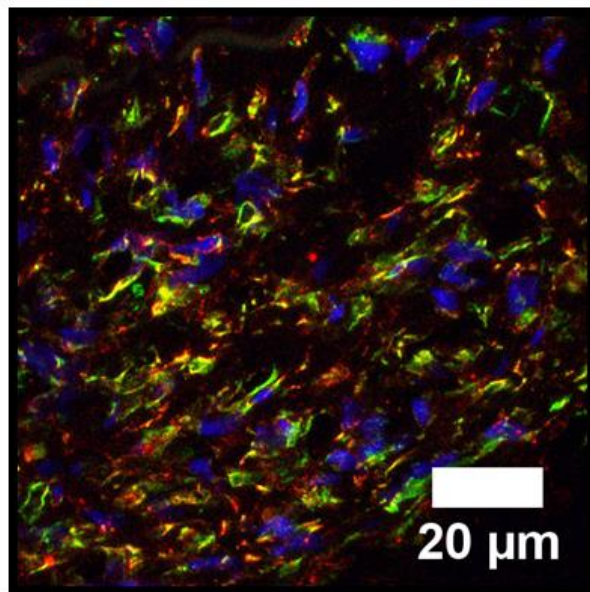
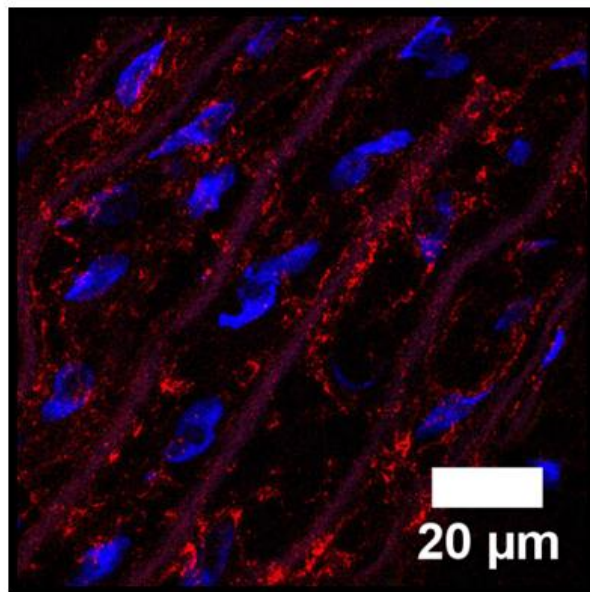
α -SMA/CoII IV/DAPI



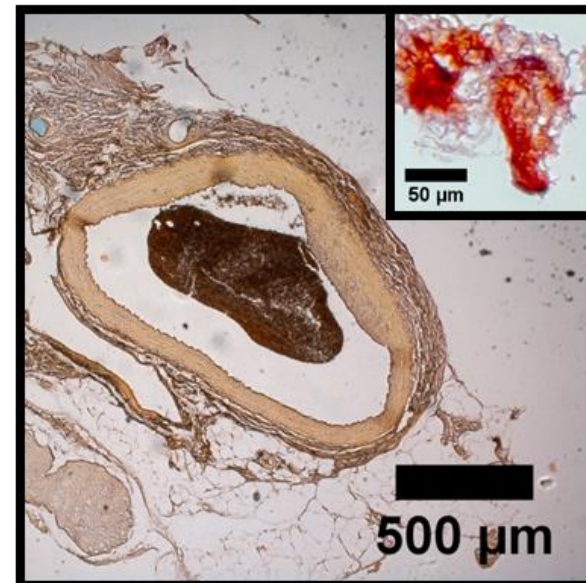
Интактная интима



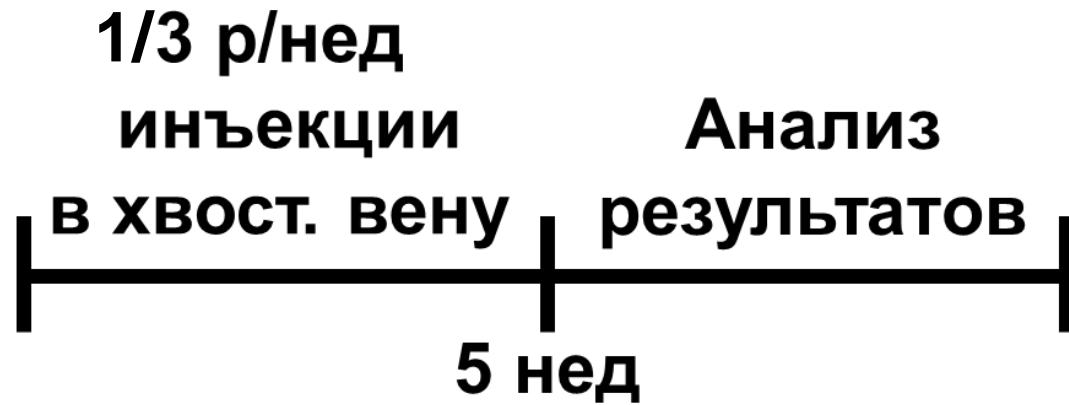
α -SMA/VIM/DAPI



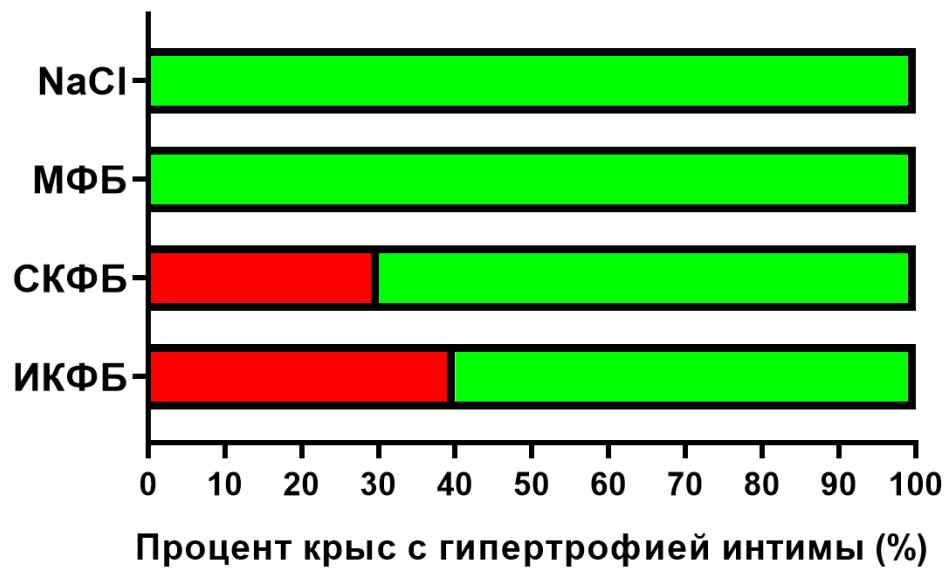
Неоинтима



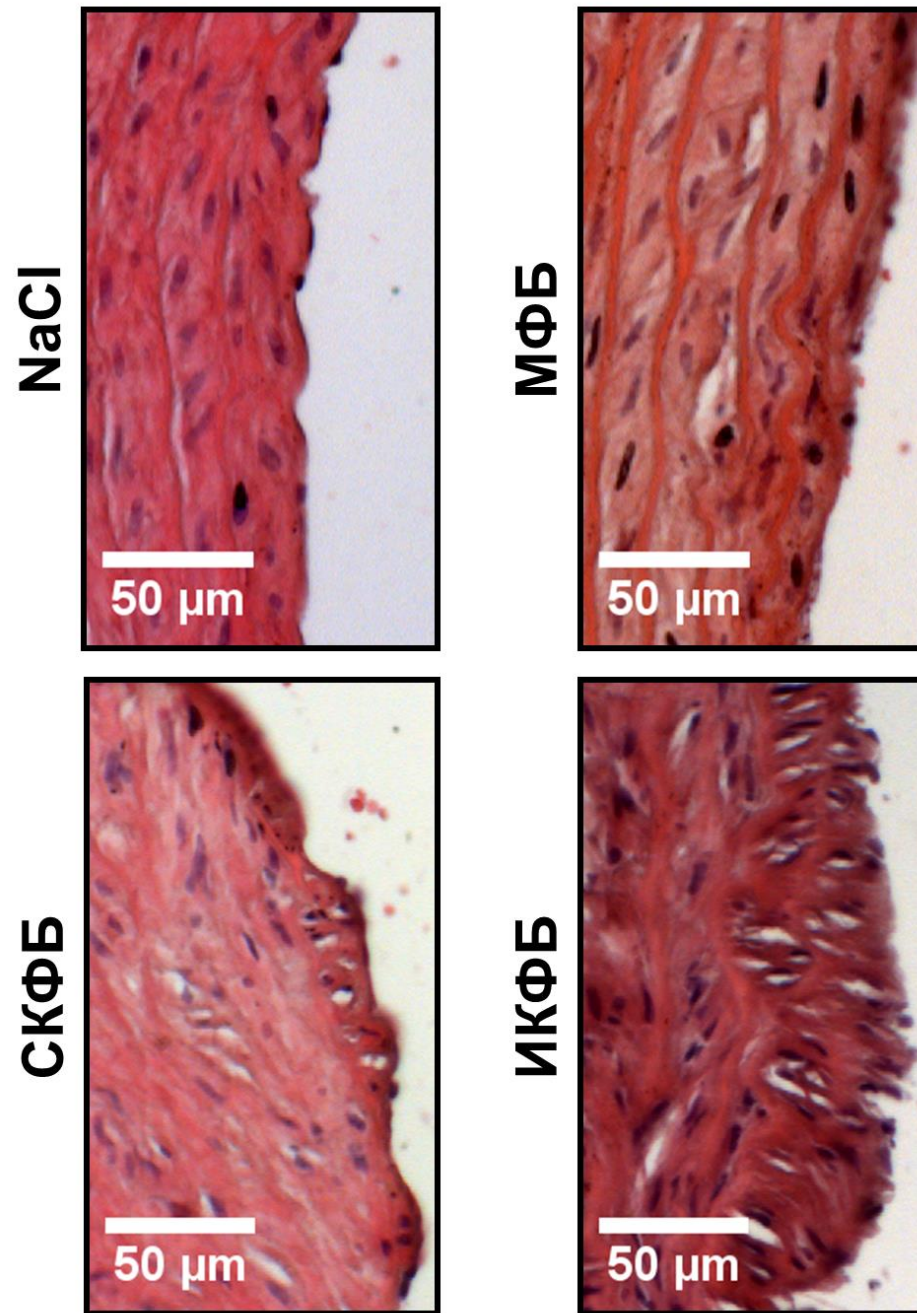
Интактная интима аорты



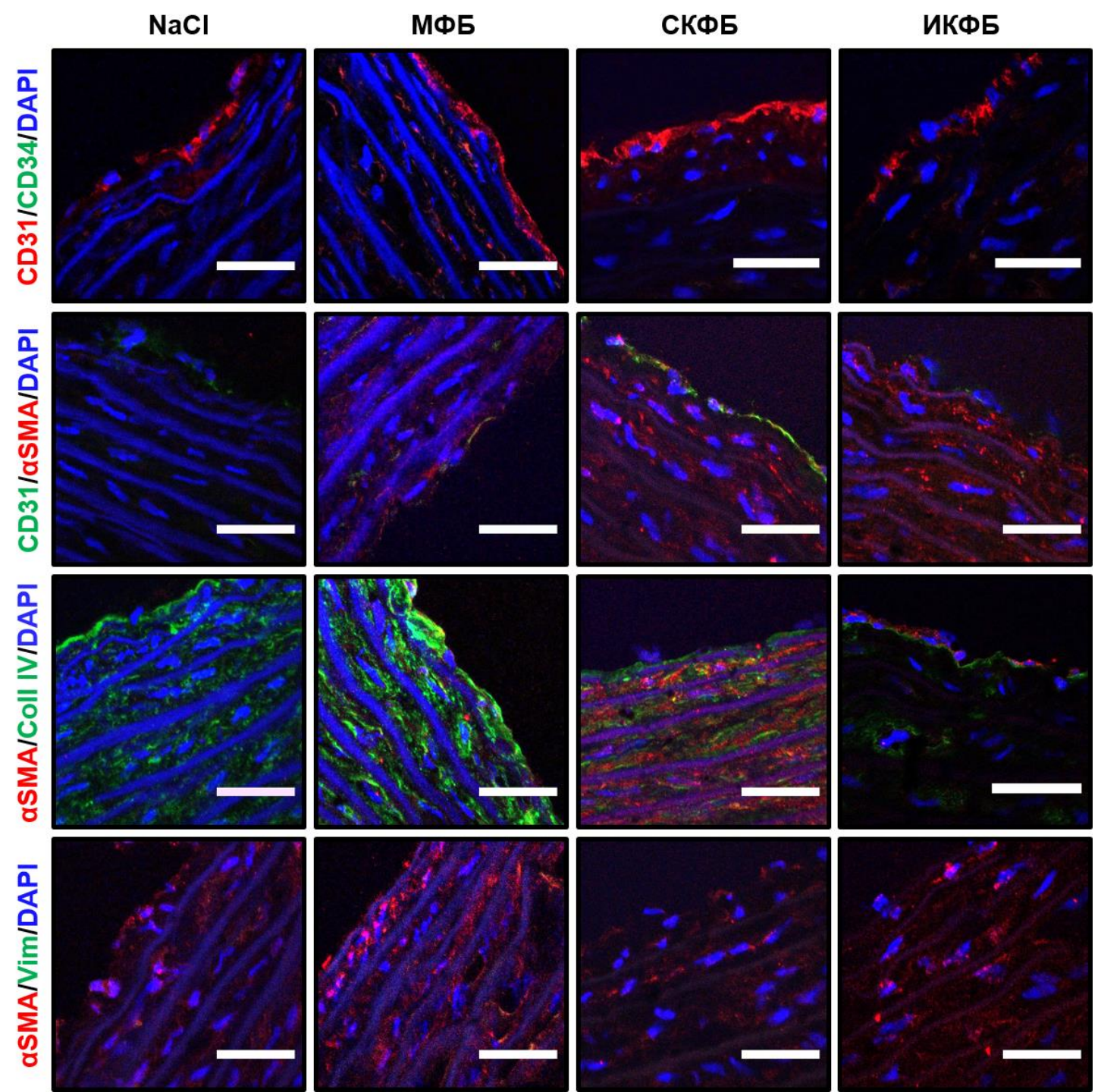
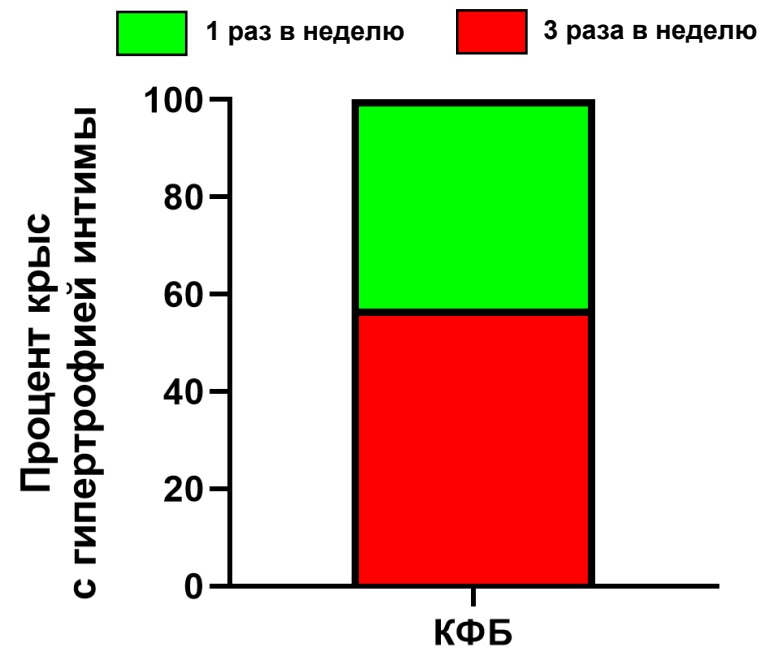
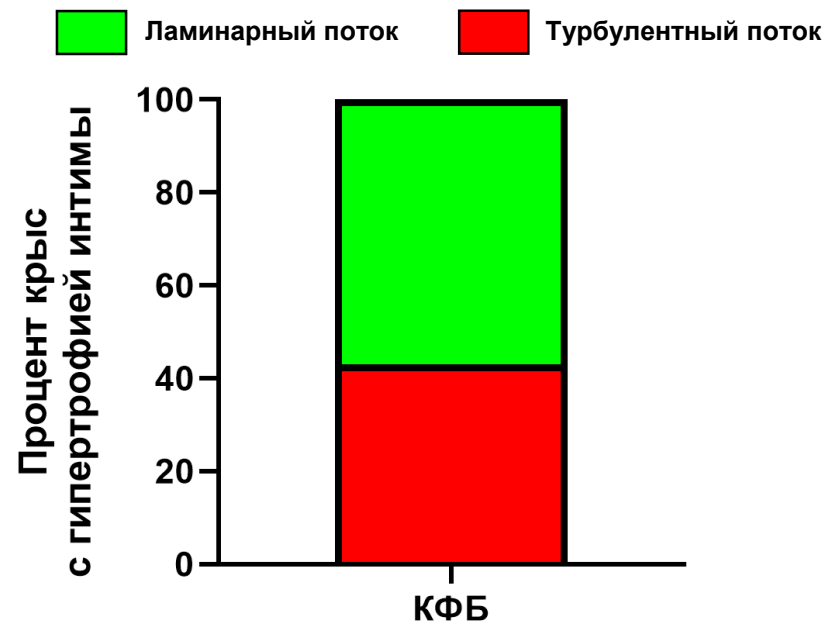
Полуколичественный анализ изображений



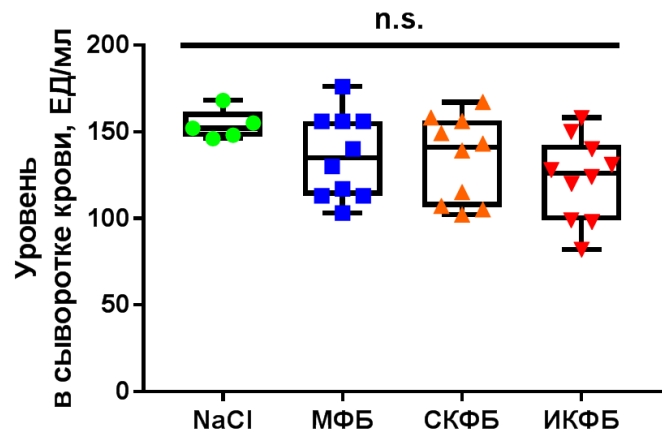
Окрашивание Г-Э



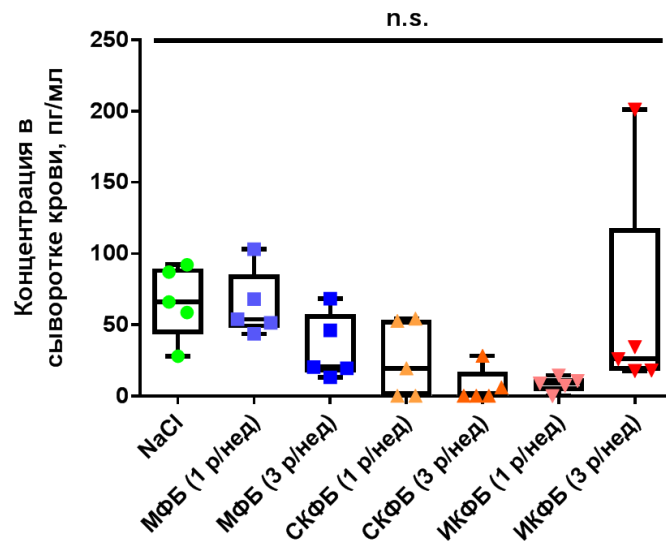
Распространенность гипертрофии интимы



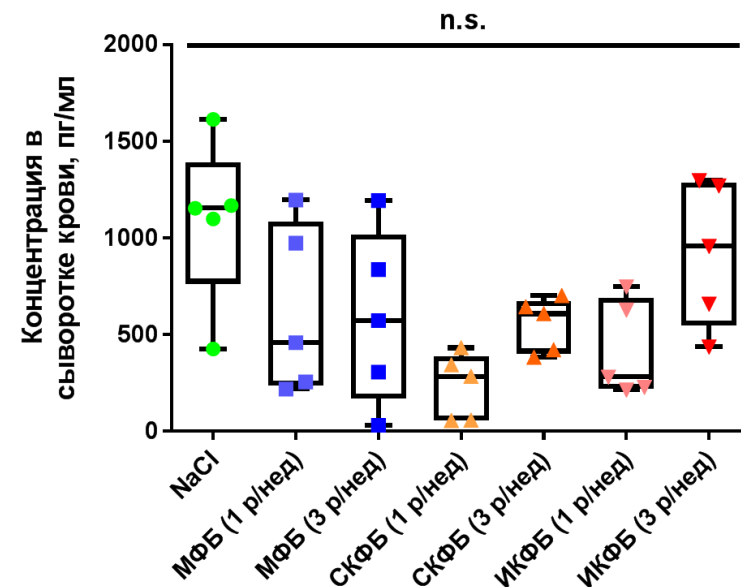
Аспартатаминотрансфераза



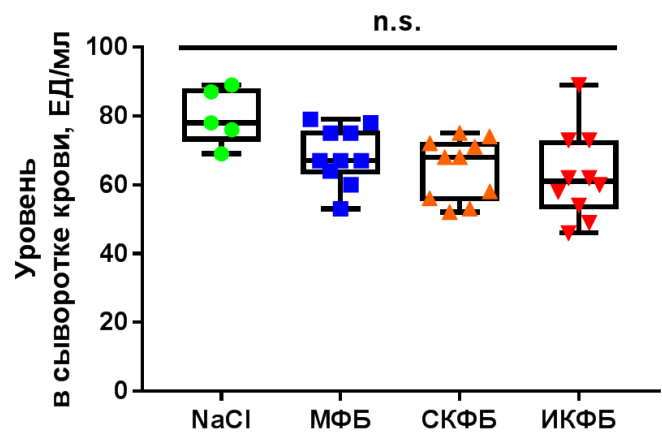
Интерлейкин-1 β



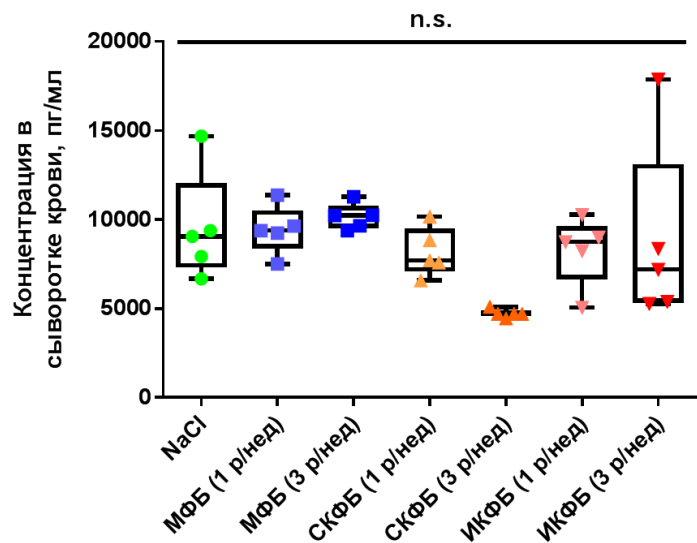
С-реактивный белок



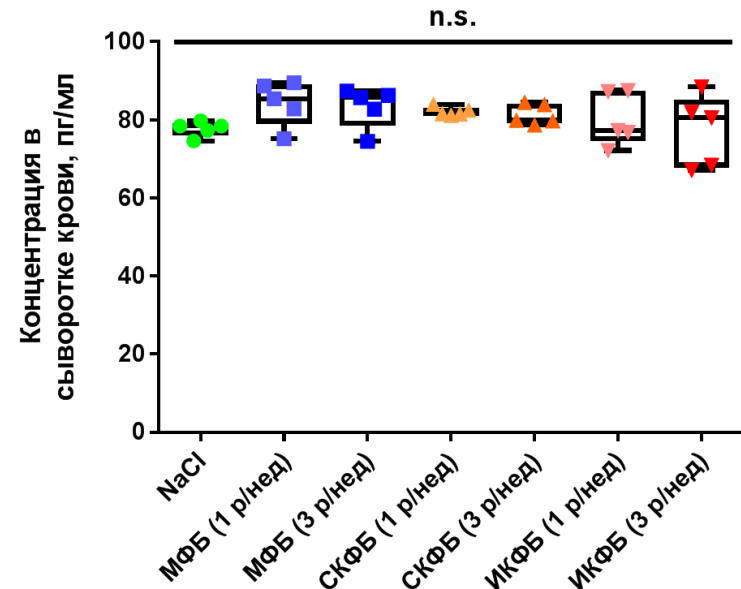
Аланинаминотрансфераза



Моноцитарный хемоаттрактантный белок 1

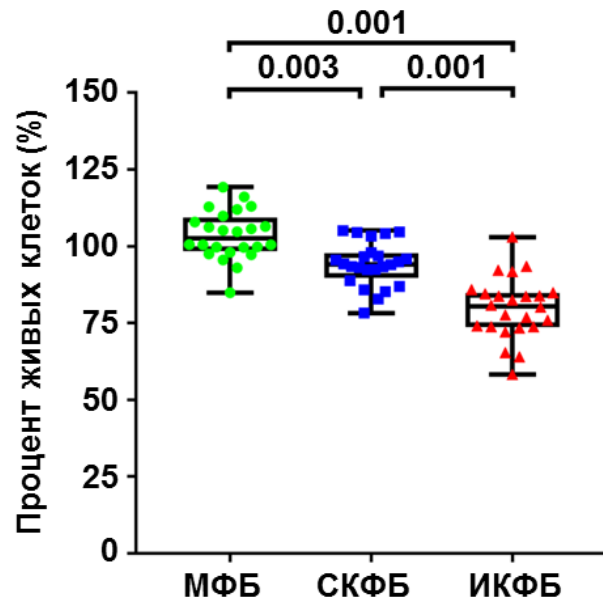


Церулоплазмин

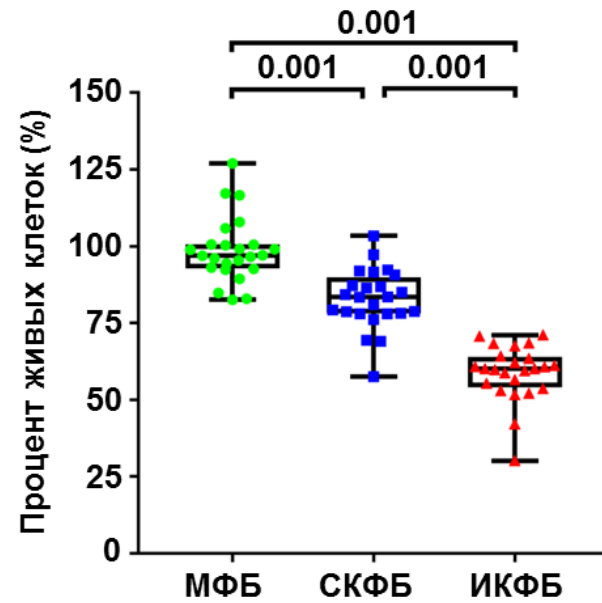


Анализ пролиферации и жизнеспособности

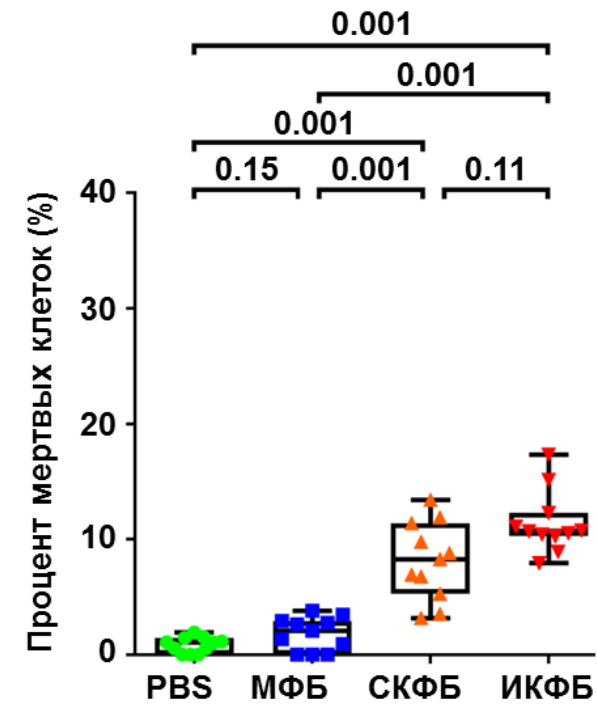
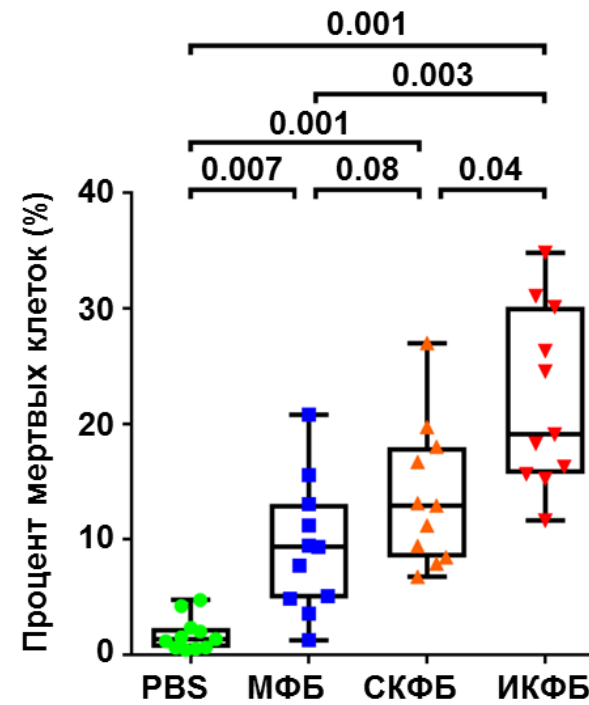
НСАЕС



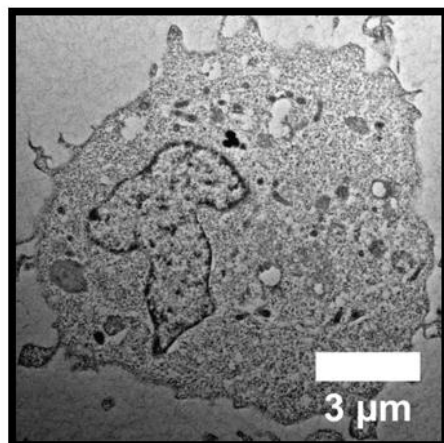
НИТАЕС



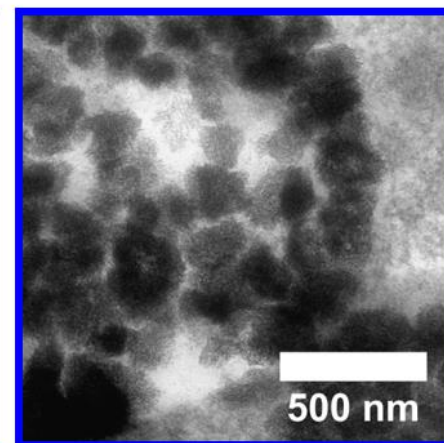
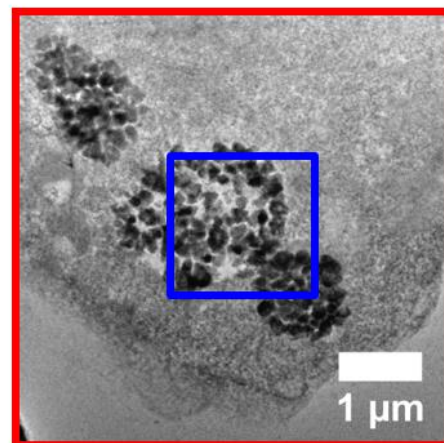
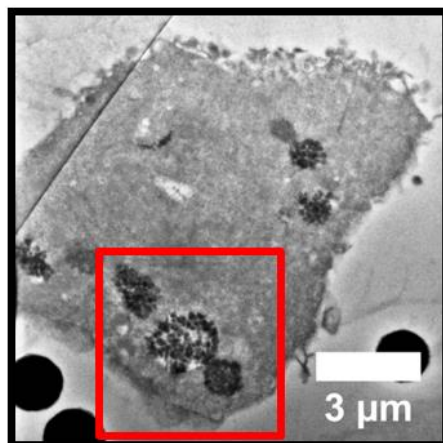
Подсчет EtBr⁺ клеток



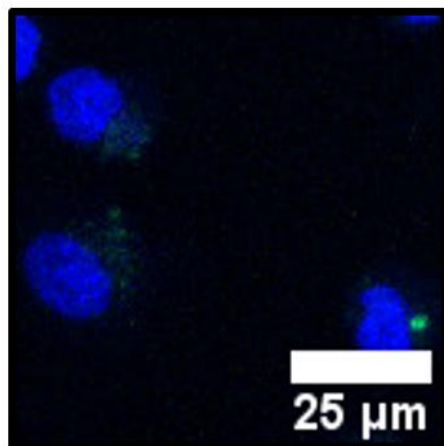
PBS



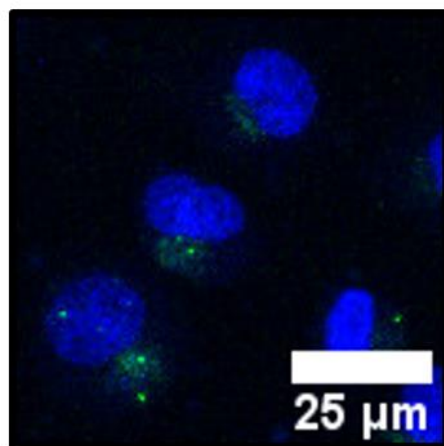
Интернализация КФБ



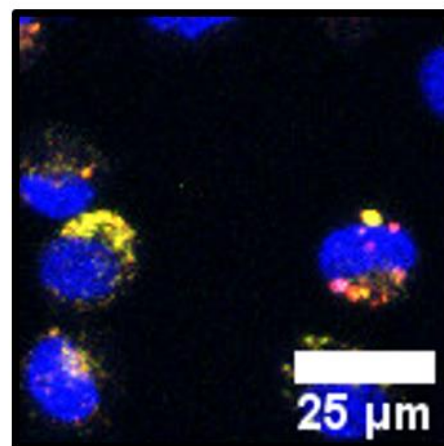
1 ч



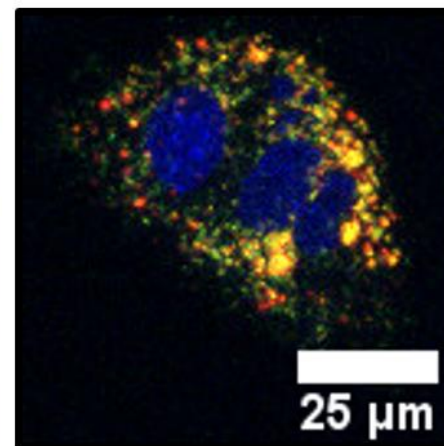
4 ч



1 ч



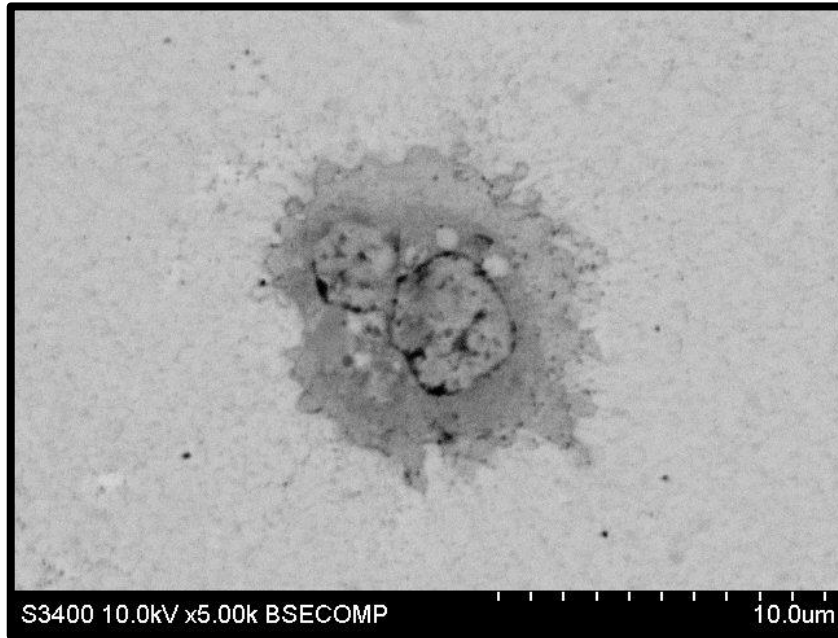
4 ч



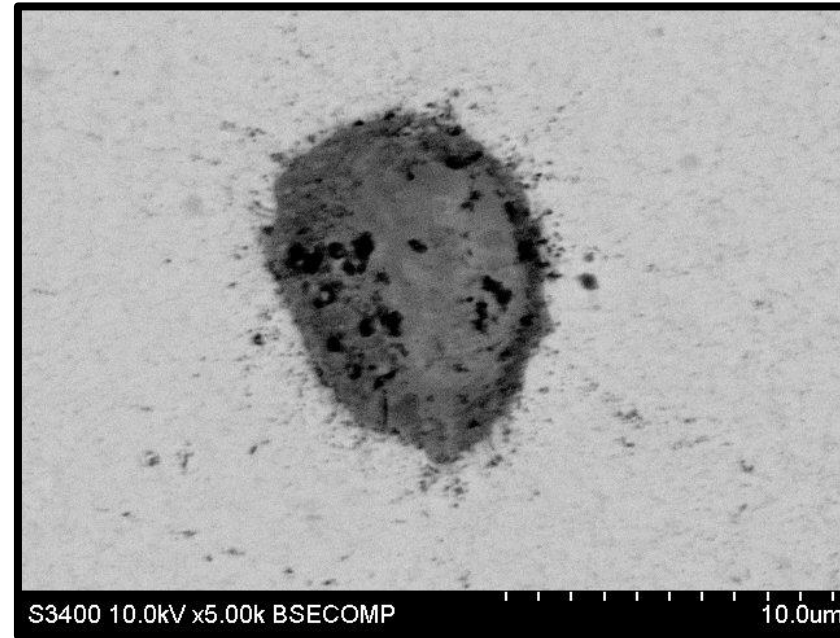
ФИТЦ-КФБ/Hoechst

ФИТЦ-КФБ/LysoTracker Red/Hoechst

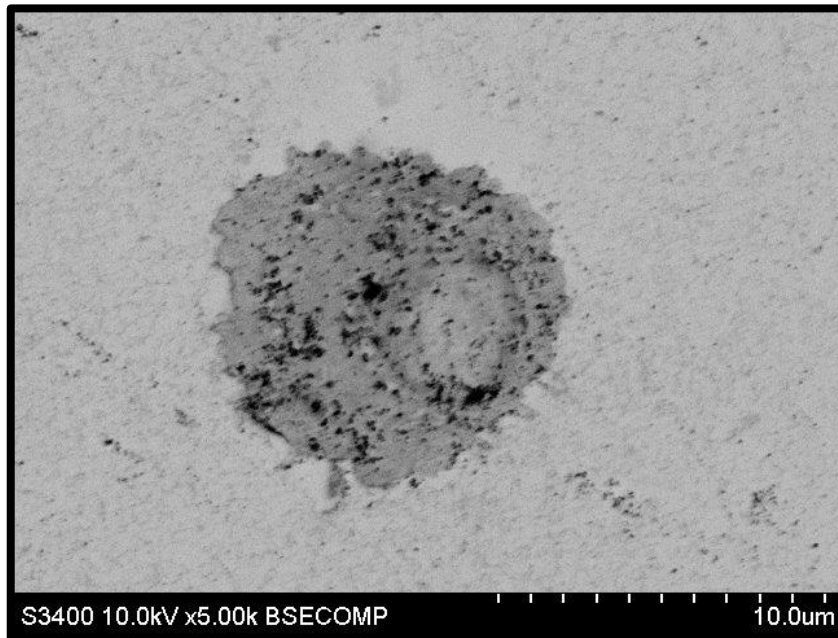
NaCl



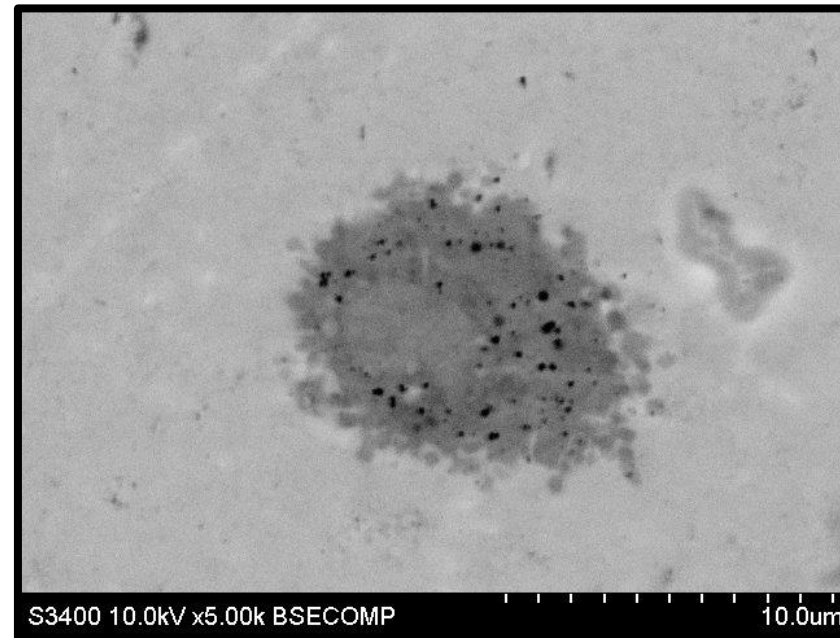
МФБ



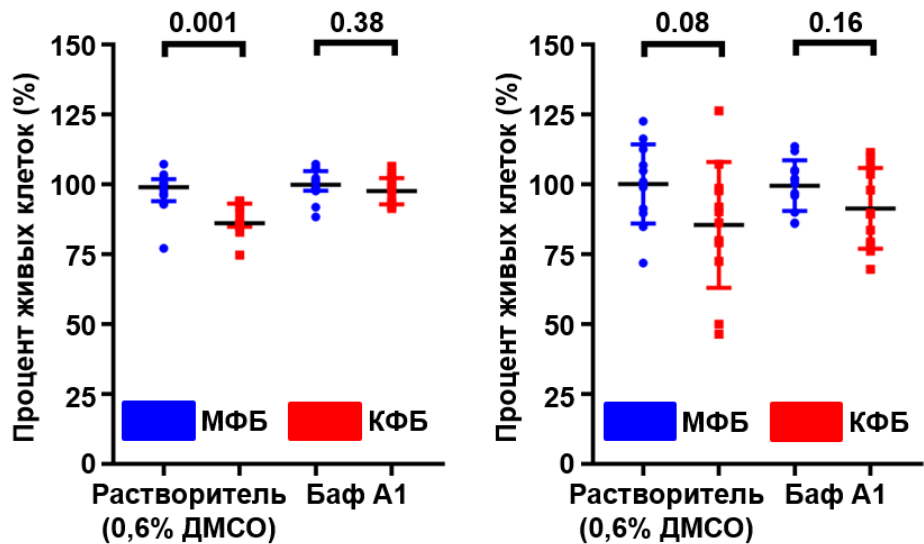
СКФБ



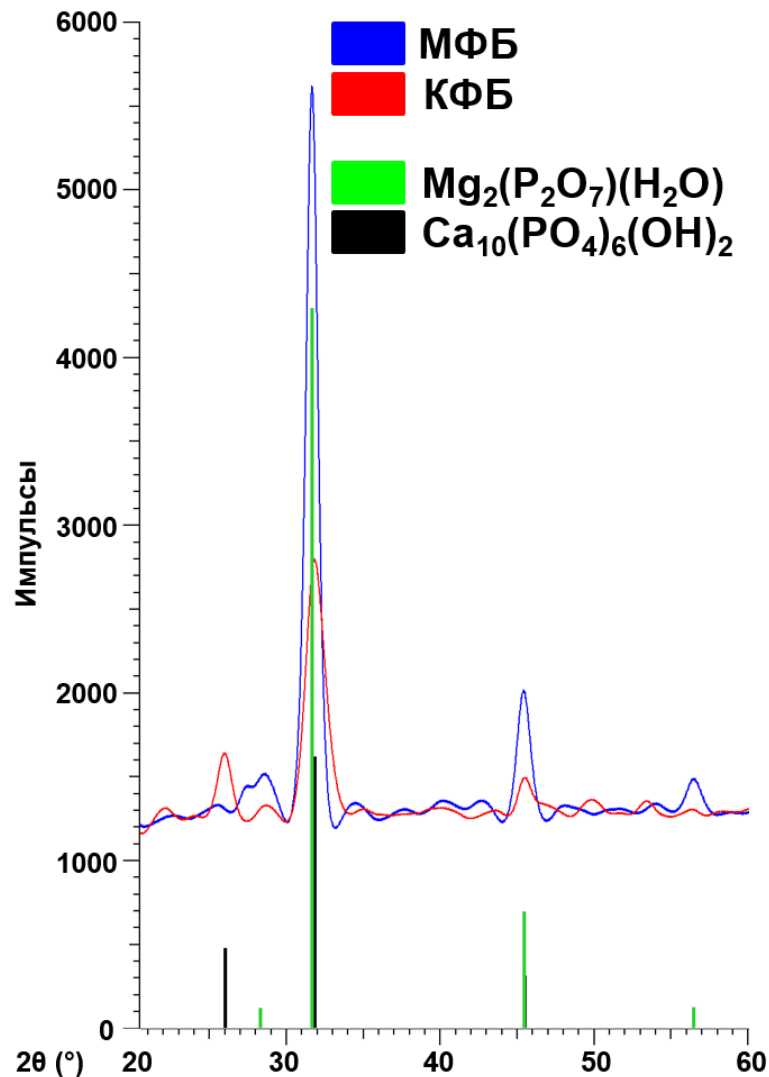
ИКФБ



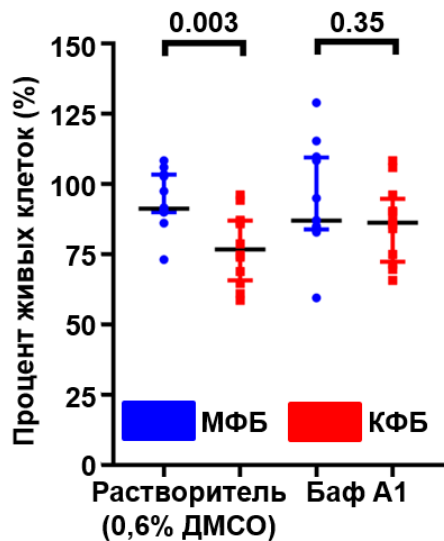
0.1 мкМ Баф А1 (4 ч) 1 мкМ Баф А1 (4 ч)



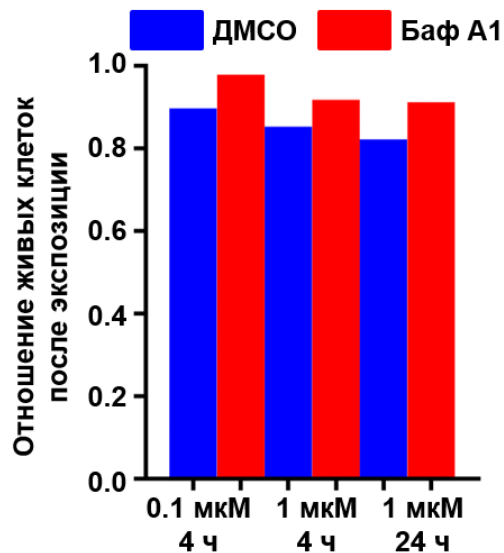
Рентгеновская порошковая дифрактометрия



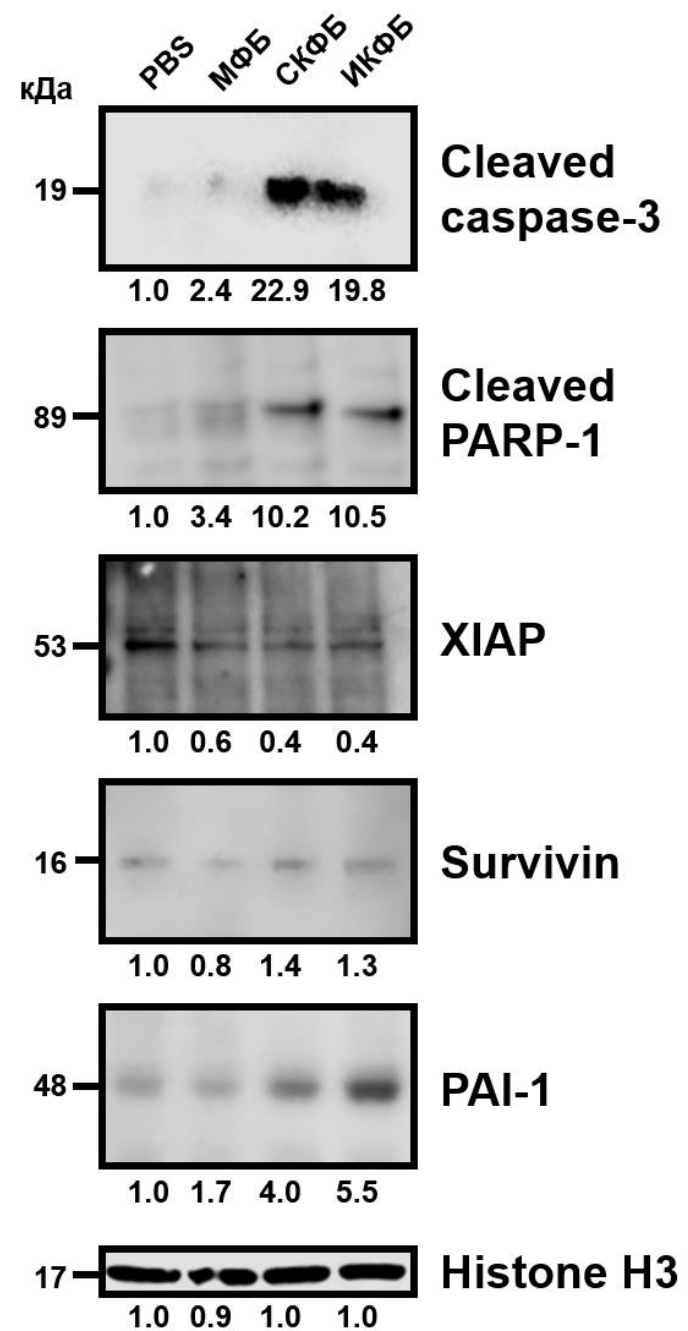
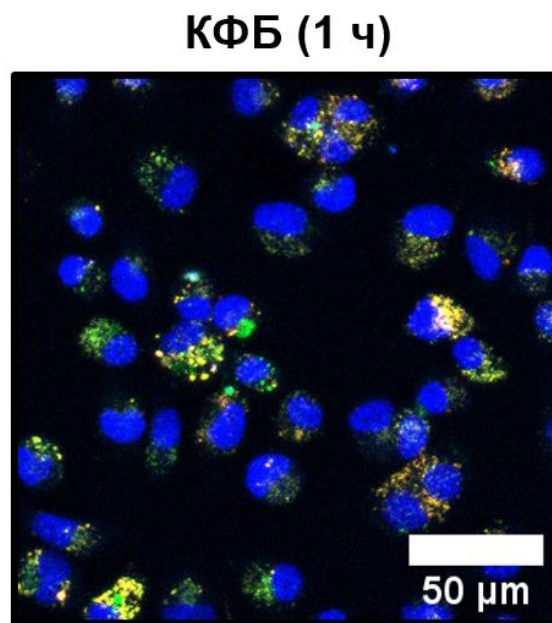
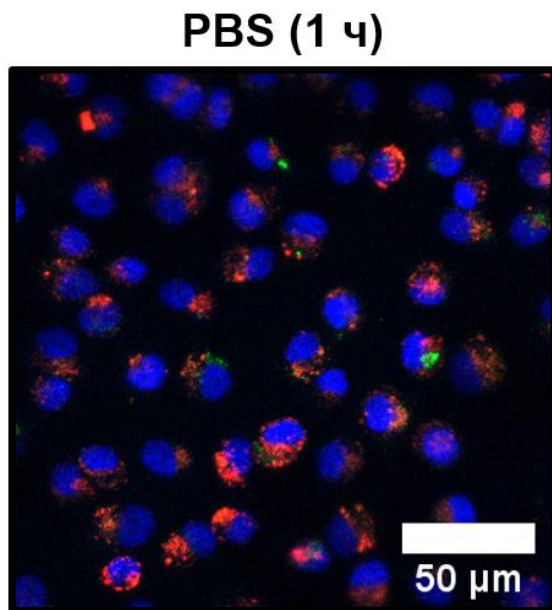
1 мкМ Баф А1 (24 ч)



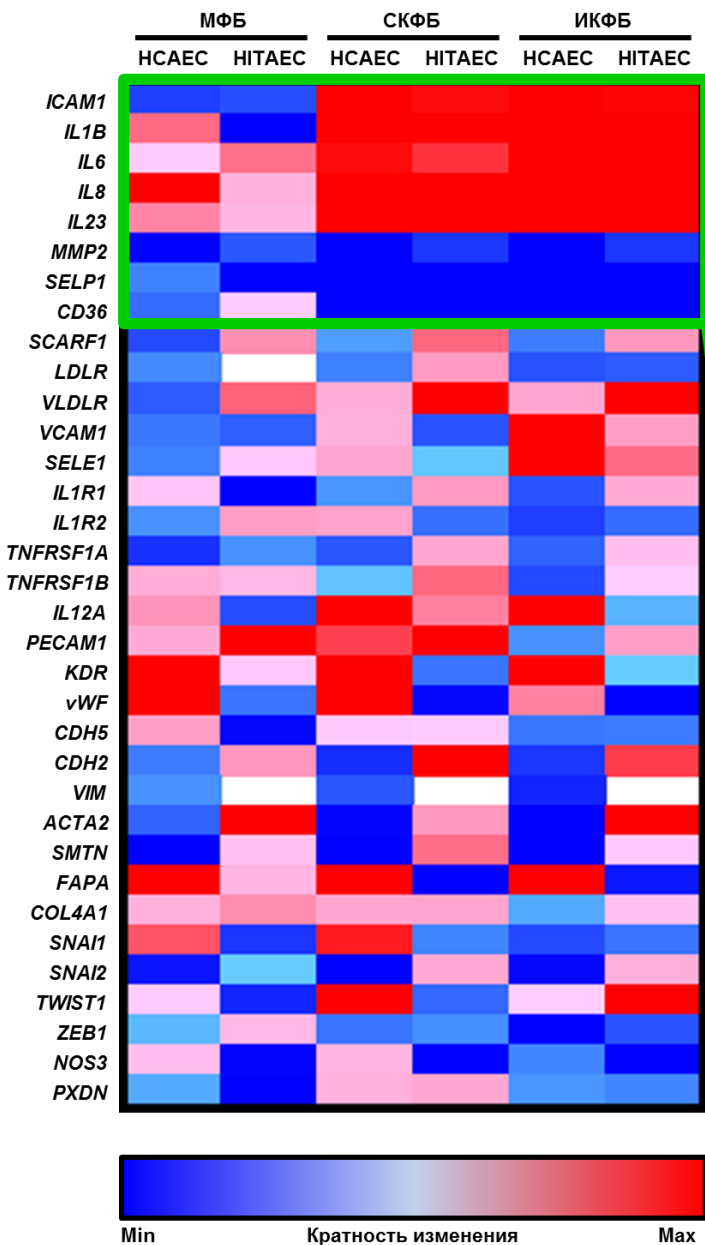
КФБ/МФБ



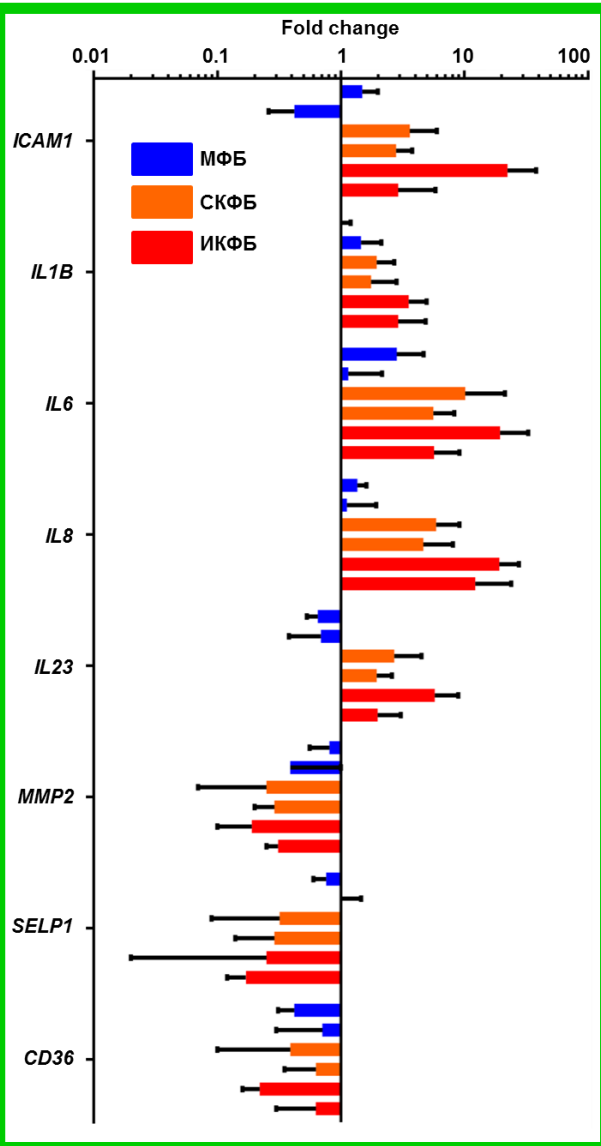
Fluo-3 AM/LysoTracker Red/Hoechst



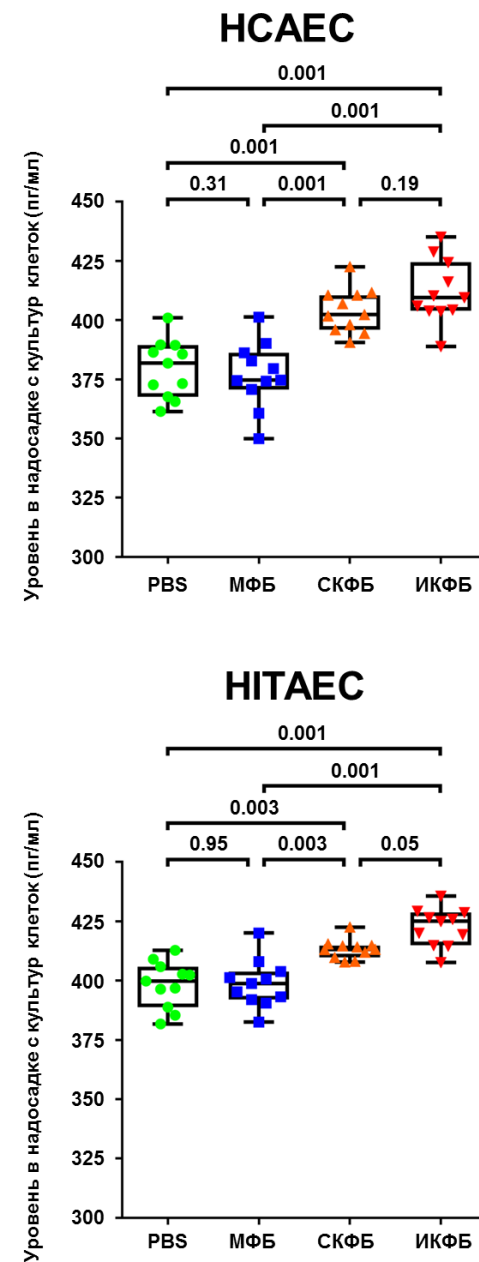
Профилирование генной экспрессии



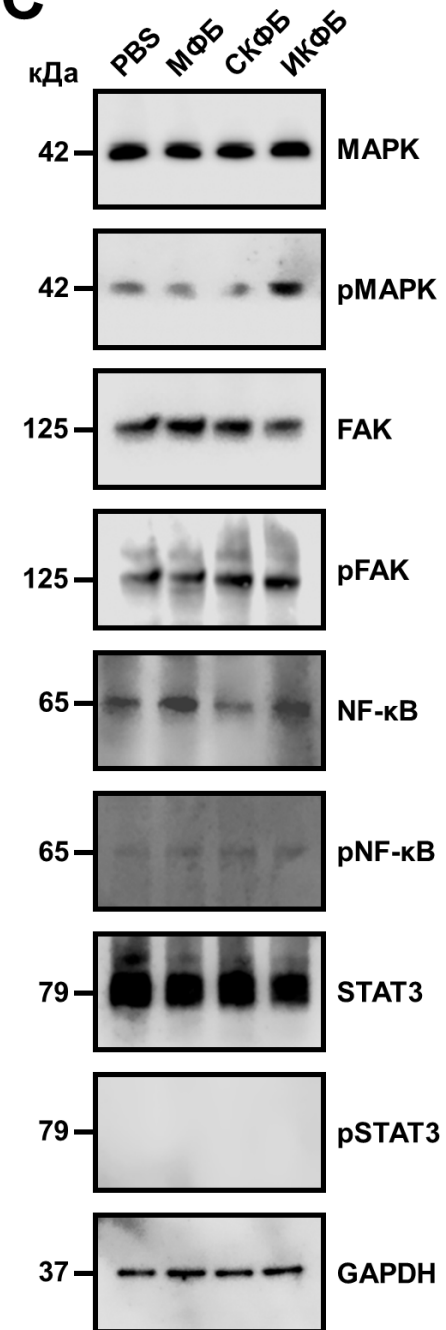
Дифференциально экспрессируемые гены



Интерлейкин-6



C



Базальная мембрана

Просвет сосуда

Эндотелий

Интима (внутренняя оболочка артерии)

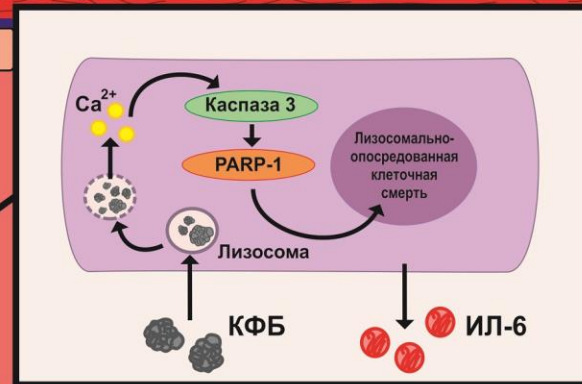
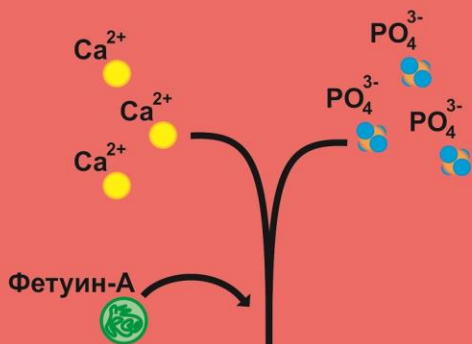
Внутренняя эластическая мембрана

Медия (средняя оболочка артерии)

Внешняя эластическая мембрана

Адвентиция (внешняя оболочка артерии)

Периваскулярная жировая ткань



КФБ

Миграция ГМК

Лимфоидные фолликулы

ГМК сосуда

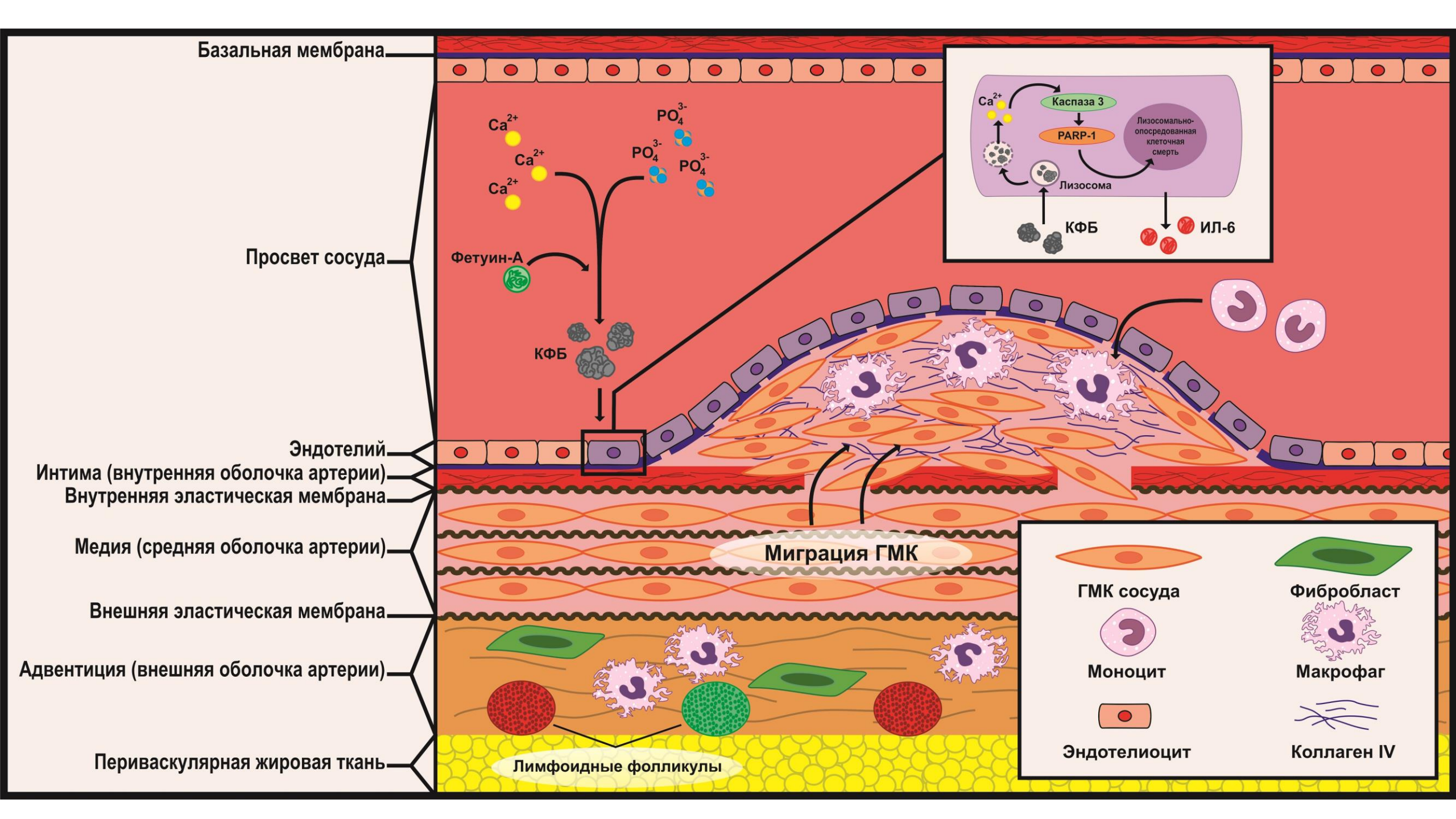
Фибробласт

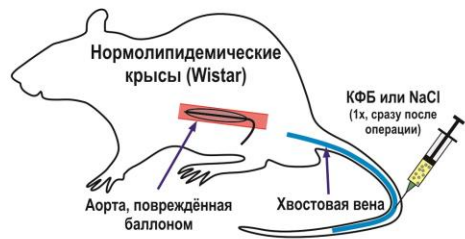
Моноцит

Макрофаг

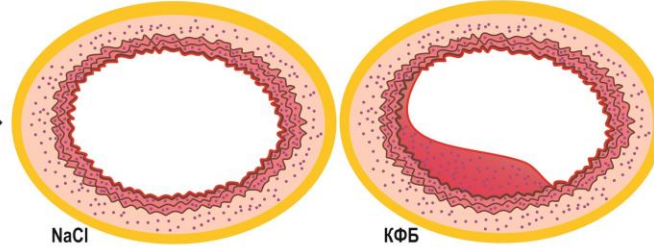
Эндотелиоцит

Коллаген IV

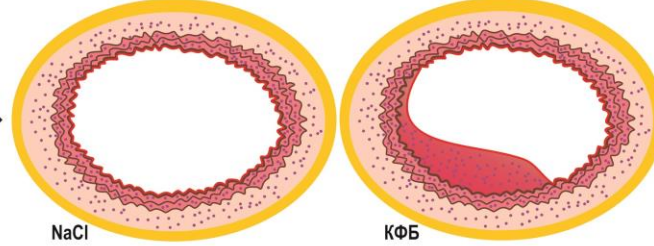




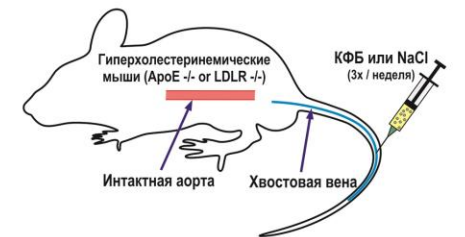
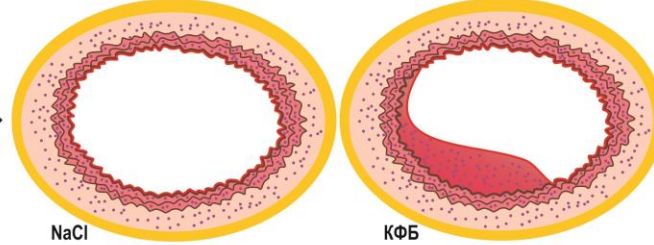
1 неделя



1 неделя

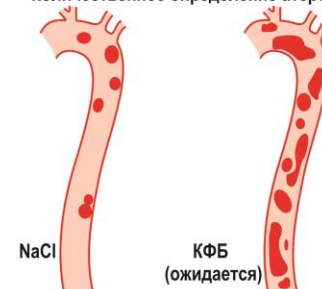


5 недель

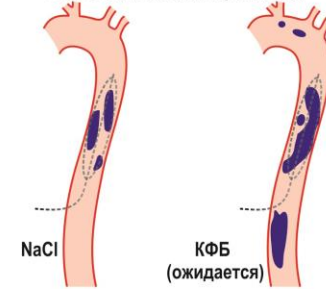


5 недель

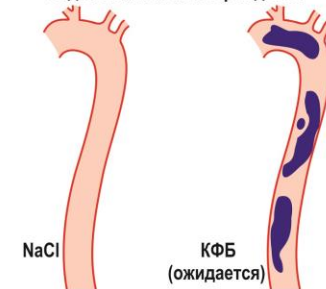
Окрасивание Oil Red O
Количественное определение атеросклероза



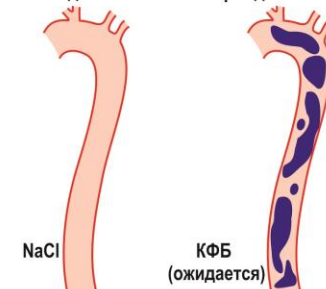
Окрасивание голубым Эванса
Оценка реэпителизации
Количественное определение эндотелиальных повреждений

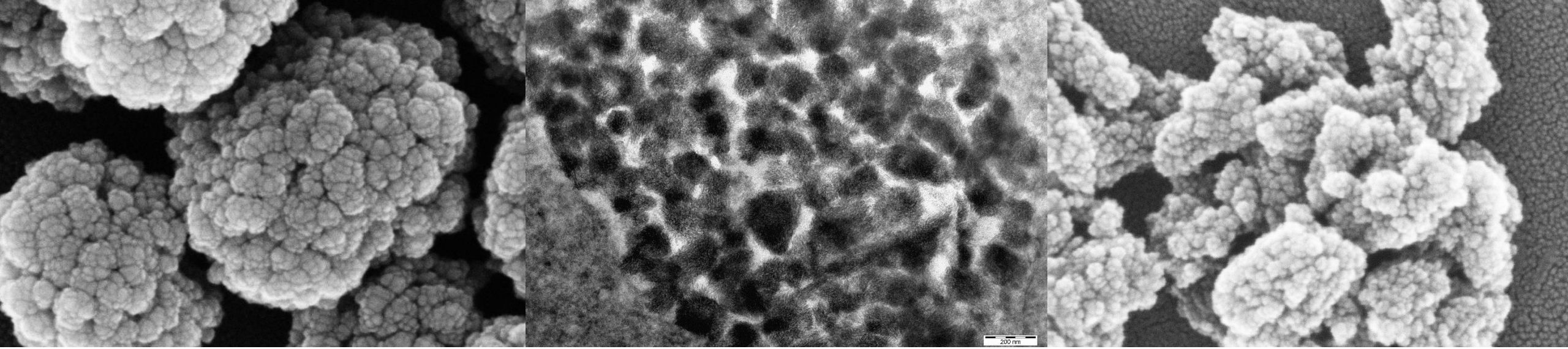


Окрасивание голубым Эванса
Количественное определение эндотелиальных повреждений



Окрасивание голубым Эванса
Количественное определение эндотелиальных повреждений





Спасибо за внимание!

Исследование выполнено в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-15-00032 «Молекулярные механизмы токсичности кальций-фосфатных бионов для эндотелия»)