

Сравнительный анализ липидома и транскриптома мозолистого тела головного мозга при шизофрении и в здоровом состоянии

Comparative analysis of corpus callosum lipidome and transcriptome in schizophrenia and healthy brain

doi: 10.17816/CP15491

Оригинальное исследование

Maria Osetrova¹, Olga Efimova¹,
Marina Zavolskova¹, Elena Stekolschikova¹,
Gleb Vladimirov¹, Dmitry Senko¹,
Tatiana Zhuravleva², Anna Morozova^{3,4},
Yana Zorkina^{3,4}, Denis Andreyuk³,
George Kostyuk^{2,3}, Evgeniy Nikolaev¹,
Philipp Khaitovich¹

¹ Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

³ Mental-health clinic No. 1 named after N.A. Alexeev, Moscow, Russia

⁴ V. Serbsky National Medical Research Centre of Psychiatry and Narcology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

Мария Осетрова¹, Ольга Ефимова¹,
Марина Завольскова¹, Елена Стеколыщикова¹,
Глеб Владимиров¹, Дмитрий Сенько¹,
Татьяна Журавлева², Анна Морозова^{3,4},
Яна Зоркина^{3,4}, Денис Андреюк³,
Георгий Костюк^{2,3}, Евгений Николаев¹,
Филипп Хайтович¹

¹ АНОО ВО «Сколково институт науки и технологий», Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

³ ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы», Москва, Россия

⁴ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России, Москва, Россия

ABSTRACT

BACKGROUND: Functional and structural studies of the brain highlight the importance of white matter alterations in schizophrenia. However, molecular studies of the alterations associated with the disease remain insufficient.

AIM: To study the lipidome and transcriptome composition of the corpus callosum in schizophrenia, including analyzing a larger number of biochemical lipid compounds and their spatial distribution in brain sections, and corpus callosum transcriptome data. To integrate the results of molecular approaches to create a comprehensive molecular perspective of the disease.

METHODS: A total of 8 brain tissue samples (4 from healthy controls (HC) + 4 from schizophrenia patients (SZ)) were analyzed using high-performance liquid chromatography with mass spectrometry (HPLC-MS) and RNA sequencing for transcriptome profiling. Additionally, 6 brain tissue samples (3 HC + 3 SZ) were analyzed using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric imaging (MALDI-MSI). This approach enabled the characterization of mRNA and lipids in brain tissue samples, and the spatial distribution of selected lipids within brain sections.

RESULTS: The analysis revealed a general trend of reduced lipid levels in the corpus callosum of schizophrenia patients for lipid classes measured by mass spectrometric methods. Specifically, nine lipid classes detected via HPLC-MS showed significant differences in schizophrenia samples, with seven of them having lower median intensity. The results between HPLC-MS and MALDI-MSI were highly concordant. Transcriptome analysis identified 1,202 differentially expressed genes, clustered into four functional modules, one of which was associated with lipid metabolism.

CONCLUSION: We identified a series of lipidome and transcriptome alterations in the corpus callosum of schizophrenia patients that were internally consistent and aligned well with previous findings on white matter lipidome changes in schizophrenia. These results add to the existing scope of molecular alterations associated with schizophrenia, shedding light on the biological processes potentially involved in its pathogenesis.

АННОТАЦИЯ

ВВЕДЕНИЕ: Функциональные и структурные исследования мозга свидетельствуют о важной роли изменений белого вещества при шизофрении. Однако исследований молекулярных изменений в белом веществе, связанных с заболеванием, недостаточно.

ЦЕЛЬ: Изучить липидомный и транскриптомный составы мозолистого тела головного мозга при шизофрении и в норме, включая анализ большего числа биохимических классов липидных соединений и их пространственного распределения в срезах мозга, с помощью данных транскриптома. Объединить результаты различных молекулярных подходов для создания комплексной молекулярной картины заболевания.

МЕТОДЫ: Исследовали 8 образцов мозговой ткани (4 от здоровой контрольной группы (КГ) и 4 от больных шизофренией (Ш)) с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) и секвенирования транскриптома. Дополнительно 6 образцов мозговой ткани (3 КГ и 3 Ш) проанализировали с помощью масс-спектрометрической визуализации с использованием матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ-МС). Это позволило выявить относительное количество мРНК и липидов в образцах мозговой ткани, а также определить пространственное распределение некоторых липидов в срезах мозга.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Исследование на основании данных масс-спектрометрических методов выявило общую тенденцию к относительно более низкому количеству липидов в мозолистом теле при шизофрении. Измерение количества липидов в образцах мозговой ткани пациентов с шизофренией с помощью ВЭЖХ-МС показало различия в уровнях липидов всех 9 классов. Кроме того, 7 из них имели относительно более низкую медианную интенсивность. Результаты методов ВЭЖХ-МС и МАЛДИ-МС продемонстрировали высокую степень соответствия. Анализ транскриптома определил 1202 дифференциально экспрессируемых гена. Они составляют 4 функциональных модуля, один из которых связан с метаболизмом липидов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Мы обнаружили в мозолистом теле головного мозга пациентов с шизофренией ряд изменений липидома и транскриптома, которые внутренне консистентны, а также хорошо согласуются с предыдущими выводами о липидоме белого вещества при шизофрении и дополняют их. Полученные в исследовании данные указывают на биологические процессы, которые могут претерпевать изменения во время развития патологии, и расширяют знания о существующем спектре молекулярных изменений, связанных с шизофренией.

Keywords: *schizophrenia; lipidomics; transcriptomics; mass spectrometry; corpus callosum*

Ключевые слова: *шизофрения; липидом; транскриптом; масс-спектрометрия; мозолистое тело*

ВВЕДЕНИЕ

Шизофрения — это многофакторное распространенное психическое расстройство, затрагивающее миллионы людей во всем мире. Шизофрения характеризуется целым рядом симптомов, в том числе бредом, галлюцинациями, дезорганизованной речью и поведением, а также когнитивными нарушениями. Несмотря на обширные исследования, причины развития шизофрении и ее молекулярная основа остаются недостаточно изученными. Тем не менее новые данные свидетельствуют о том, что это расстройство может быть связано с изменениями в метаболизме липидов на молекулярном уровне [1, 2]. Аналогично характерны различия в профиле транскриптом между головным мозгом при шизофрении и здоровым головным мозгом [3], которые отражают системные изменения в молекулярном составе головного мозга при патологическом состоянии [4, 5].

Липидом — это полный набор липидов, присутствующих в определенной клетке или ткани. Липиды являются важнейшими компонентами клеточных мембран и играют значимую роль в широком спектре физиологических процессов, включая накопление энергии, передачу сигналов и транспорт через мембраны [6]. Недавние исследования выявили изменения нескольких классов липидов в липидоме мозолистого тела, связанные с шизофренией, среди которых изменения, касающиеся фосфолипидов и сфинголипидов [7, 8]. Наряду с этим известно, что аномалии мозолистого тела (уменьшение размера, изменение формы и потеря топологии) часто встречаются у людей с шизофренией [4, 5].

Механизмы, обуславливающие эти изменения в липидном обмене, понятны не до конца, но было предложено несколько гипотез [9–11]. По одной из версий, изменения в липидном обмене могут нарушать целостность клеточных мембран, что приводит к дисфункции нейронов и когнитивным нарушениям [12]. Согласно другой гипотезе, при шизофрении могут нарушаться сигнальные пути, участвующие в нейротрансмиссии, что вызывает аномальную нейронную активность и развитие шизофрении [13]. Понимание связанных с шизофренией изменений в липидоме может дать новое представление о механизмах, лежащих в основе этого расстройства. Также это может способствовать разработке новых диагностических методов. Например, профилирование липидома крови

возможно использовать для выявления биомаркеров, помогающих обнаруживать и диагностировать шизофрению на раннем этапе [14]. Широко распространенным методом исследования липидома является высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС). Данный метод позволяет идентифицировать большое количество соединений в рамках одного анализа. Однако в процессе подготовки образцов ткани гомогенизируют, в результате чего утрачивается уникальная пространственная информация. На решение этой проблемы направлены возможности метода масс-спектрометрической визуализации с использованием матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ-МС) (matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometric imaging, MALDI-MSI). Таким образом, метод ВЭЖХ-МС в сочетании с МАЛДИ-МС обеспечивает получение информации с достоверными сигнальными аннотациями и высоким пространственным разрешением, что помогает создать целостную картину структуры липидома мозга.

Предыдущие исследования с участием пациентов с шизофренией, посвященные изучению различий в составе транскриптом головного мозга и уровней экспрессии отдельных групп генов, были сосредоточены в основном на корковых областях [3, 15, 16], в то время как участки белого вещества остаются недостаточно изученными. Более того, количество исследований, в которых одновременно анализируются липидомы и транскриптомы в одних и тех же образцах ткани в контексте белого вещества при шизофрении, очень ограничено [7], и ни одно из этих исследований не включает в себя пространственную информацию. В совокупности это отражает пробел в знаниях относительно комплексного изучения липидома белого вещества мозга, особенно с учетом мультиомического подхода.

Цель настоящей работы — изучить липидомный и транскриптомный составы мозолистого тела в норме и при шизофрении, включая анализ большего числа биохимических классов липидных соединений и пространственный анализ распределения этих соединений в участках головного мозга, подкрепленный анализом данных транскриптома мозолистого тела, и интегрировать результаты различных молекулярных подходов к анализу для создания комплексной молекулярной картины заболевания.

МЕТОДЫ

Образцы тканей

Были получены образцы 14 замороженных срезов мозолистого тела человека, полученных у 7 здоровых контрольных субъектов (ЗК) и 7 пациентов с шизофренией (Ш). Из каждой группы по 4 образца (ЗК: 2 мужчины 34 и 62 лет, 2 женщины 34 и 61 года; Ш: 2 мужчины 36 и 74 лет, 2 женщины 57 и 62 лет) были использованы для анализов методами ВЭЖХ-МС и секвенирования РНК. Кроме того, из каждой группы по 3 образца (ЗК: 2 мужчины 58 и 60 лет, 1 женщина 60 лет; Ш: 2 мужчины 69 и 57 лет, 1 женщина 62 лет) были отобраны для анализа методом МАЛДИ-МС. Демографические данные доноров посмертных образцов ткани мозга и номер целостности рибонуклеиновой кислоты (РНК) в образцах (RIN¹) представлены в табл. S1 в Приложении.

Посмертные образцы головного мозга человека были предоставлены биобанком контрактной исследовательской организации «Национальный БиоСервис» (Санкт-Петербург, Россия). Ни у одного из ЗК в анамнезе не было психиатрических или нейродегенеративных заболеваний и при патологоанатомическом исследовании не было выявлено грубых анатомических отклонений. Донорам головного мозга был поставлен диагноз «шизофрения» в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра врачами-психиатрами во время стационарного лечения в ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы» (Москва, Россия). Смерть у всех субъектов наступила внезапно, без длительного состояния агонии. Были получены секции посмертных образцов головного мозга всех субъектов, секции были помещены в алюминиевые блоки и заморожены на сухом льду. Транспортировку образцов осуществляли на сухом льду, а длительное хранение — в морозильных камерах при температуре –80 °С. Образцы не размораживали и не нагревали. Для масс-спектрометрической визуализации образцы массой 300 мг вырезали с использованием стерильных и охлажденных скальпелей, пинцетов и пробирок. Эти образцы быстро замораживали и хранили в низкотемпературной морозильной камере при –80 °С до дальнейшего анализа.

Приготовление образцов тканей

Срезы образцов головного мозга проводил нейрo-анатом в соответствии с «Атласом головного мозга человека» (The Atlas of the Human Brain) [17] с помощью микротомы для замороженной ткани Leica CM1950 (Leica Biosystems, Китай). Срезы выполняли при температуре камеры –18 °С, температуре образца –15 °С. Толщина срезов была установлена на уровне 20 мкм. Срезы помещали на предметное стекло с покрытием оксидом индия-олова (Indium tin oxide, ITO) без адгезивной среды (Hudson Surface Technology, Bruker Glass Slides for MALDI imaging (pn 237001), Республика Корея) и прикрепляли к стеклу путем оттаивания. Затем секции помещали в эксикатор на 90 минут. Воздух из эксикатора удаляли с помощью мембранного насоса MEMVAK 2x1 до уровня давления 30 мбар при комнатной температуре. Раствор α-циано-4-гидроксикоричной кислоты (Sigma-Aldrich, США) с концентрацией 5 мг/мл в смеси 50/50 вода/ацетонитрил с 0,1% трифторуксусной кислотой (Sigma-Aldrich, TFA, США) разбавляли в 2 раза. Разбавленный раствор распыляли с помощью аэрографа Iwata Micron CM-B2 (Anest Iwata, Япония) в течение 2 секунд и оставляли для высушивания в течение 2,5 минуты. Эту процедуру повторяли 20 раз.

Библиотека РНК и оценка данных секвенирования

Получение данных о РНК, оборудование, реактивы и процедуры обработки подробно описаны в [18]. В кратком виде информация следующая. Библиотеки для секвенирования были получены в соответствии с протоколом отбора РНК с использованием полиаденилирования (poly-A selection) и секвенированы на платформе Illumina HiSeq 4000. Исходные данные были отфильтрованы для удаления низкокачественных считываний и любых адаптерных последовательностей, картированы и выровнены с эталонным геномом человека GRCh38. Данные, представленные в транскриптах на миллион (TPM), были дополнительно лог-преобразованы и нормализованы.

Модули, объединяющие функционально схожие транскрипты, были определены с использованием

¹ RIN — это показатель, оценивающий качество и целостность РНК в образцах; значения RIN варьируются от 1 до 10: 10 означает высококачественную, неповрежденную РНК; 7–9 — высокое качество с незначительными повреждениями; 4–6 — умеренное качество с заметной деградацией; 1–3 — сильно деградированная РНК, непригодная для анализа. RIN позволяет исследователям убедиться в том, что образцы РНК пригодны для дальнейших экспериментов.

алгоритмов, основанных на сетях HumanBase [19], которые предсказывают взаимодействия генов на основе больших наборов данных по различным типам тканей и регионам головного мозга, охватывающих более 14 тыс. публикаций. Полученный в данной работе список дифференциально экспрессированных генов при шизофрении был оценен на предмет достоверности соответствия каждой из 144 функций, имеющихся в базе данных. В качестве референтной ткани для функционального анализа было взято мозолистое тело (corpus callosum). Функциональные модули определяли с помощью программного обеспечения на основе алгоритма определения сообществ из предоставленного списка генов и выбранной соответствующей ткани (головной мозг). Гены в кластере имеют общих локальных сетевых соседей и вместе образуют целостный, специфический функциональный модуль.

Выделение липидов

Перед экстракцией липидов кусочки ткани (10–15 мг) переносили в предварительно охлажденные ударопрочные пробирки Precellys объемом 2 мл (Bertin Technologies). В буферный раствор для экстракции (MeOH:MTBE, 1 : 3, об/об) добавляли следующие стандарты липидов для достижения концентрации 0,5 мкг/мл: TAG (15:0/18:1-d7/15:0, Avanti Lipids, 791648C), DAG (15:0/18:1-d7, Avanti Lipids, 791647C), Cer (d18:1-d7/15:0, Avanti Lipids, 860681), LPC (18:1-d7, Avanti Lipids, 791643C), PG (15:0/18:1-d7, Avanti Lipids, 791615C), PC (15:0/18:1-d7, Avanti Lipids, 791637C), PE (15:0/18:1-d7, Avanti Lipids, 791638C). Буферный раствор готовили один раз, хранили при –20 °C и использовали для всех образцов в серии. Перед подготовкой образцов их порядок в серии меняли случайным образом. Холостые образцы, представляющие собой пустые пробирки без ткани головного мозга, также обрабатывали после биологических образцов. Для выделения липидов в каждую пробирку добавляли 1 мл буферного раствора, после чего гомогенизировали ткани с помощью гомогенизатора Precellys Evolution (Bertin Technologies). Затем образцы встряхивали на орбитальном шейкере (30 минут, 4 °C) и обрабатывали в ультразвуковой ванне (10 минут, 0 °C). Далее суспензию переносили в новую пробирку (2 мл) и добавляли 700 мкл смеси H₂O : MeOH (3 : 1, об/об). Полученную смесь встряхивали на орбитальном

шейкере (5 минут, 4 °C) и центрифугировали (11 500 g, 10 минут, 4 °C). После центрифугирования 540 мкл верхней фазы, содержащей гидрофобные соединения (липиды), собирали, переносили в новую пробирку объемом 1,5 мл и удаляли органический растворитель с помощью роторного испарителя (Thermo Scientific SpeedVac) при температуре окружающей среды. Полученные сухие образцы липидов хранили при температуре –80 °C.

Анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией

Для восстановления сухой фракции липидов к каждому образцу добавляли 200 мкл предварительно охлажденной (0 °C) смеси ацетонитрил : изопропанол (7 : 3, об/об). Образцы встряхивали на орбитальном шейкере (10 минут, 4 °C), затем инкубировали в ультразвуковой ванне (10 минут, 0 °C) и центрифугировали (11 500 g, 10 минут, 4 °C). Для подготовки образцов контроля качества объединяли по 5 мкл каждого образца. Перед масс-спектрометрическим анализом 25 мкл каждого образца переносили в пробирку объемом 200 мкл и разбавляли смесью ацетонитрил : изопропанол (7 : 3, об/об) в соотношении 1 : 15 для измерений с положительной полярностью и без разбавления для измерений с отрицательной полярностью. Контрольные образцы вводили в начале масс-спектрометрического анализа для кондиционирования колонки, а затем после каждого 12-го образца в серии.

Анализ проводили с помощью масс-спектрометра Bruker Impact II Quadrupole Time of Flight (QTOF) (Bruker Daltonics, Бремен, Германия) в сочетании с хроматографической системой Waters Acquity HPLC (Waters, Манчестер, Великобритания) по методу, адаптированному из [20]. Хроматографическое разделение выполняли на обращенно-фазовой колонке ACQUITY HPLC BEH C8 (2,1×100 мм, 1,7 мкм, Waters Co., Милфорд, Массачусетс, США) с предколонкой Vanguard с тем же сорбентом. Температуру колонки поддерживали на уровне 60 °C. Объем пробы составлял 3 мкл. Мобильная фаза А состояла из 10 mM ацетата аммония в воде с 0,1% муравьиной кислоты, а мобильная фаза В — из 10 mM ацетата аммония в смеси ацетонитрил : изопропанол (7 : 3, об/об) с 0,1% муравьиной кислоты. Скорость потока была

установлена на 0,4 мл/мин в следующем градиенте элюирования: 1 минута — 55% В, 3 минуты — линейный градиент от 55 до 80% В, 8 минут — линейный градиент от 80 до 85% В, 3 минуты — линейный градиент от 85 до 100% В. Состав фазы выдерживали на уровне 100% В в течение 4,5 минуты, после чего колонку повторно кондиционировали на уровне 55% В в течение 4,5 минуты. Масс-спектрометрическое детектирование выполняли в режиме полного сканирования положительных и отрицательных ионов отдельно в диапазоне 50–1200 m/z . Настройки источника при положительной полярности были следующими: напряжение на капилляре — 4000 В, распылитель — 2 бар, сухой газ — 6,0 л/мин, температура сухого воздуха — 180 °С. Настройки масс-спектрометрии при отрицательной полярности были следующими: капиллярное напряжение — 4000 В, распылитель — 2 бар, сухой газ — 6,0 л/мин, температура сухого воздуха — 200 °С. При каждом цикле инъекции вводили калибровочный раствор аммония формата.

Для оценки молекулярной структуры липидов проводили фрагментацию по заранее выбранным значениям m/z . При сохранении условий хроматографического разделения масс-спектры получали с использованием гибридного прибора Q Exactive в режиме зависимости от данных (DDA), отдельно регистрируя спектры в положительном и отрицательном режимах. В каждом режиме результирующие спектры были получены путем усреднения трех спектров фрагментации при различных энергиях столкновения. Масс-спектрометр Q Exactive, оснащенный подогреваемым источником ионизации электроспреем производства компании Thermo Fisher Scientific (США), имел следующие параметры настройки: температура капилляра — 320 °С, температура нагревателя вспомогательного газа — 350 °С, напряжение на капилляре — 4,5 кВ (–3,5 кВ), уровень RF S-линзы — 60, скорость потока защитного газа (N_2) — 45 условных единиц (УЕ), расход вспомогательного газа (N_2) — 20 УЕ, расход продувочного газа (N_2) — 4 УЕ. Рабочие параметры масс-спектрометра в режиме полного сканирования были настроены следующим образом: разрешение — 70 000 при m/z 200; автоматическая регулировка усиления (AGC target) — $5e5$; максимальное время инъекции (IT) — 50 мс; диапазон сканирования — от 200 до 2000 Да. В режиме DDA: разрешение — 17 500

при m/z 200; AGC — $2e4$; IT — 100 мс; окно выделения масс — 1,2 Да; ширина окна времени удерживания — ожидаемое время $\pm$ 1 минута; ступенчатая нормированная энергия столкновения — 15, 25, 30%; динамическое исключение — 12 с; включение — включено; допуски на настройку — 10 ppm. Спектры регистрировали в профильном режиме.

Обработка данных методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией

После процесса регистрации файлы исходных данных Bruker (файлы в формате .d) были подвергнуты автоматической внутренней калибровке и калибровке блокировки масс, а затем были преобразованы в файлы в формате mzXML с помощью специализированного скрипта DataAnalysis компании Bruker (версия 4.3). Потом файлы mzXML были импортированы в программу XCMS с помощью пакета xcms программного обеспечения R версии 3.8.2. Масс-спектрометрические пики, ошибочно дублированные в ходе процедуры объединения пиков XCMS, идентифицировали с использованием порога массы 10 ppm в пределах секундной разницы во времени удерживания. Пики, обнаруженные в течение первой минуты прогона (время удерживания <1 минуты) и после времени удерживания (18,3 минуты), исключали из дальнейшего анализа. Для вменения недостающих значений использовали процедуру «заполнения пиков» (fillpeaks), предоставленную в пакете xcms. Значения интенсивности липидов, отсутствующие после процедуры fillpeaks, вменяли методом случайной выборки из нормального распределения со средним значением, равным медиане минимальных значений интенсивности обнаруженных липидных пиков, и стандартным отклонением, равным 16-му процентилю этого распределения.

Файлы в формате .raw были преобразованы в файлы в формате .abf с помощью ABF-конвертера. После этого файлы обрабатывали с помощью программы MS-DIAL (версия 4.90) отдельно для положительного и отрицательного режимов. Параметры обработки были установлены следующим образом: максимальный допустимый диапазон для MS1 — 0,05, минимальная высота пика — 10 000, ширина окна масс — 0,05. Остальные параметры были сохранены как значения по умолчанию и оставались неизменными.

Для аннотации липидов использовали внутреннюю базу данных липидов, основанную на предыдущих исследованиях головного мозга и включающую 34 класса липидов (PC, PC-O, PE, PE-O, PE-P, PS, PA, PG, BMP, PI, LPC, LPE, LPC-O, LPE-O, LPS, LPA, LPG, AHexCer, Cer, HexCer, SHexCer, SM, ST, CE, TAG, DAG, MAG, MGDG, DGDG, MGDG-O, DGDG-O, FFA, CAR, NAE). Полученные базы данных площадей липидных соединений экспортировали и обрабатывали в программном обеспечении R. Полярности объединяли, и дубликаты липидов между двумя полярностями фильтровали по совпадению времени удерживания и точной массе. Аннотации, полученные с помощью прибора Q Exactive, были согласованы с пиками в QTOF-анализе на основе времени удерживания и отношения m/z .

Для обеспечения высокого качества аннотированных пиков, учета химических шумов экстракции и технической вариативности к полученному списку мишеней применяли процедуры фильтрации. Во-первых, использовали фильтр холостых образцов: для дальнейшего анализа отбирали только те признаки, средняя интенсивность которых была как минимум в 2 раза выше, чем в холостых образцах. Во-вторых, применялся дисперсионный фильтр: для каждого пика рассчитывали коэффициент вариации по образцам контроля качества и отбирали только те пики, у которых медианный коэффициент вариации (CV) был ниже 0,25.

Далее интенсивность для всех липидов преобразовывали в $\log_{10}$ и нормировали на медианное значение стандартов в образце и влажную массу образца. Для нормализации влажную массу и стандартные интенсивности преобразовывали в $\log_{10}$, затем вычитали разницу между значениями образцов и средним значением параметра. Полученные значения интенсивности липидов дополнительно нормализовали с использованием среднего значения интенсивности для данного липида, рассчитанного в индивидуальном головном мозге, для корректировки межиндивидуальной вариативности.

Анализ методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации

Сбор данных методом МАЛДИ-МС, оборудование, реактивы и процедуры обработки и аннотации пиков описаны в [21]. В кратком виде информация

следующая. МАЛДИ-визуализацию проводили с применением модифицированного масс-спектрометра Thermo Scientific Q Exactive Orbitrap, оснащенного лазером Nd:YAG с длиной волны 355 нм. Для получения изображений контролировали область ткани и размер шага раstra путем программного обеспечения SpectroGlyph, регистрировались спектры с интервалом 40 мкм в обоих измерениях. Ионные изображения были получены с использованием исходных данных и координатных файлов с помощью программного обеспечения Image Insight. Необработанные масс-спектры конвертировали в файлы форматов *.ibd и *.imzML с нулевым порогом фонового шума, а дальнейшую обработку выполняли посредством программного обеспечения Cardinal 2.8.0, пакета R для анализа данных масс-спектрометрической визуализации. При анализе изображений дубликаты координат удаляли, а интенсивность пиков нормировалась по общему ионному току. Для отбора пиков использовали пороговое значение отношения сигнал/шум, равное трем. Спектры выравнивали по среднему спектру, а пики, присутствующие менее чем в 7% спектров, исключали.

Пики от поверхности стекла и неинформативные участки спектра были удалены. Область образца разделяли с помощью пространственного алгоритма k-среднее для разделения тканей и областей без образца. Кластеры формировали в ручном режиме и сохраняли только пики, средняя интенсивность которых в 1,5 раза превышала среднюю интенсивность в тканевом кластере. Наконец, все спектры выравнивали по спектру с наибольшим количеством обнаруженных пиков.

Пики аннотировали как виды липидов на основании отношения массы к заряду для них, а порог разницы масс между полученными и целевыми значениями был установлен на уровне 20 ppm. Для случаев множественных совпадений руководствовались правилами, описанными в [21].

Статистический анализ

Интенсивность липидов преобразовывали в $\log_{10}$ и для дальнейшего анализа рассчитывали среднее значение по всем индивидуумам в группе. Затем вычисляли разницу между средними значениями пиков в двух группах и анализировали данные с использованием одновыборочного t-критерия Стьюдента, чтобы

проверить, отличается ли полученное распределение средних интенсивностей пиков от нуля. Применяли поправку Беньямини–Хохберга для множественной проверки гипотез. Анализ и визуализацию данных проводили с помощью пакетов программного обеспечения R (Ggplot2, MixOmics и других стандартных пакетов R).

Чтобы сравнить наш набор данных с ранее опубликованными данными об изменениях липидом в мозолистом теле при шизофрении [7], к исходным изменениям интенсивности липидов применяли преобразование $\log_2$. Липидные соединения сопоставляли в ручном режиме на основании аннотации (данные ВЭЖХ-МС) или точной массы (МАЛДИ) по отношению к общим аддуктам. Для сравнения с данными МАЛДИ все обнаруженные значения m/z округляли до двух десятичных знаков, и в анализ включались только липиды, точно совпадающие по массе. Для сравнения данных ВЭЖХ-МС для каждого класса рассчитывали среднюю кратность изменений. В анализе использовали только классы липидов, содержащие более 3 липидов. Затем на основе $\log_2$ -преобразованных изменений липидных соединений, совпадающих между наборами данных, рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона.

Различия в распределении липидов по участкам мозолистого тела оценивали с помощью коэффициента дисперсии (CoV). Коэффициенты для групп контроля и шизофрении рассчитывали для масс, аннотированных с использованием ВЭЖХ-МС, как отношение стандартного отклонения к среднему значению для каждой массы. Различия CoV для двух групп проверяли с помощью знакового рангового критерия Уилкоксона.

Этическая экспертиза

Данные, предоставленные для образцов мозга, полученных из «Национального БиоСервиса», не содержали какой-либо личной информации или какой-либо другой информации, которая позволяла бы идентифицировать доноров. Информированное согласие на использование биоматериала в исследовательских целях было получено от индивидуумов или от их ближайших родственников в соответствующих клинических организациях, предоставивших образцы

«Национальному БиоСервису» в соответствии с международными правилами².

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы изучили изменения в составе липидома белого вещества у пациентов с шизофренией (Ш) и здоровых контрольных субъектов (ЗК) с помощью методов ВЭЖХ-МС и МАЛДИ-МС (см. табл. S1 в Приложении). При использовании этих методов было обнаружено 384 и 165 признаков липидов для ВЭЖХ-МС и МАЛДИ соответственно (рис. 1; см. табл. S2, S3 в Приложении). Кроме того, мы измерили изменения экспрессии РНК в той же области головного мозга, связанной с шизофренией, что позволило оценить 14 254 гена, экспрессированных в мозолистом теле (см. рис. 1).

Для каждого из 20 классов липидов, обнаруженных с помощью ВЭЖХ-МС, мы рассчитали средние значения интенсивности для групп Ш и ЗК и использовали одновыборочный t-критерий Стьюдента для сравнения различий между группами с нулем, чтобы оценить различия на уровне классов, характерные для шизофрении (рис. 2A). Для двух классов липидов, таких как диацилглицерины (DG) и свободные жирные кислоты (FA), в образцах, полученных при

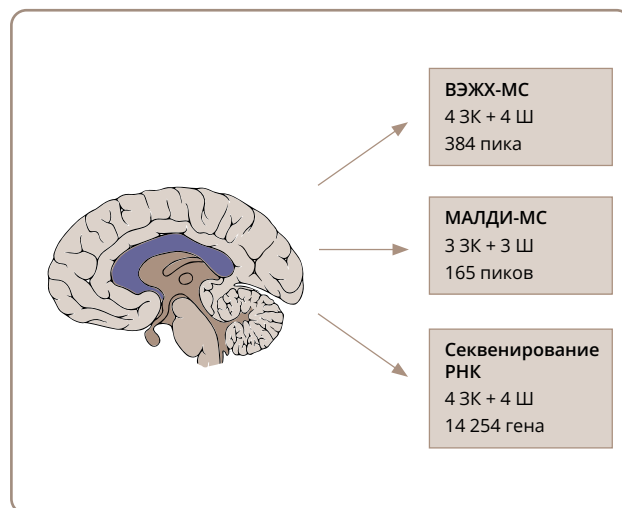


Рисунок 1. Дизайн эксперимента.

Примечание: Были приготовлены срезы мозолистого тела, и эти образцы были использованы для 3 типов измерений: высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС), масс-спектрометрической визуализации с использованием матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ-МС) и секвенирования РНК (RNAseq). Представлено количество признаков, обнаруженных при каждом типе анализа. ЗК — здоровые контрольные субъекты; Ш — пациенты с шизофренией.

Источник: Осетрова и соавт., 2025.

² National BioService, LLC.

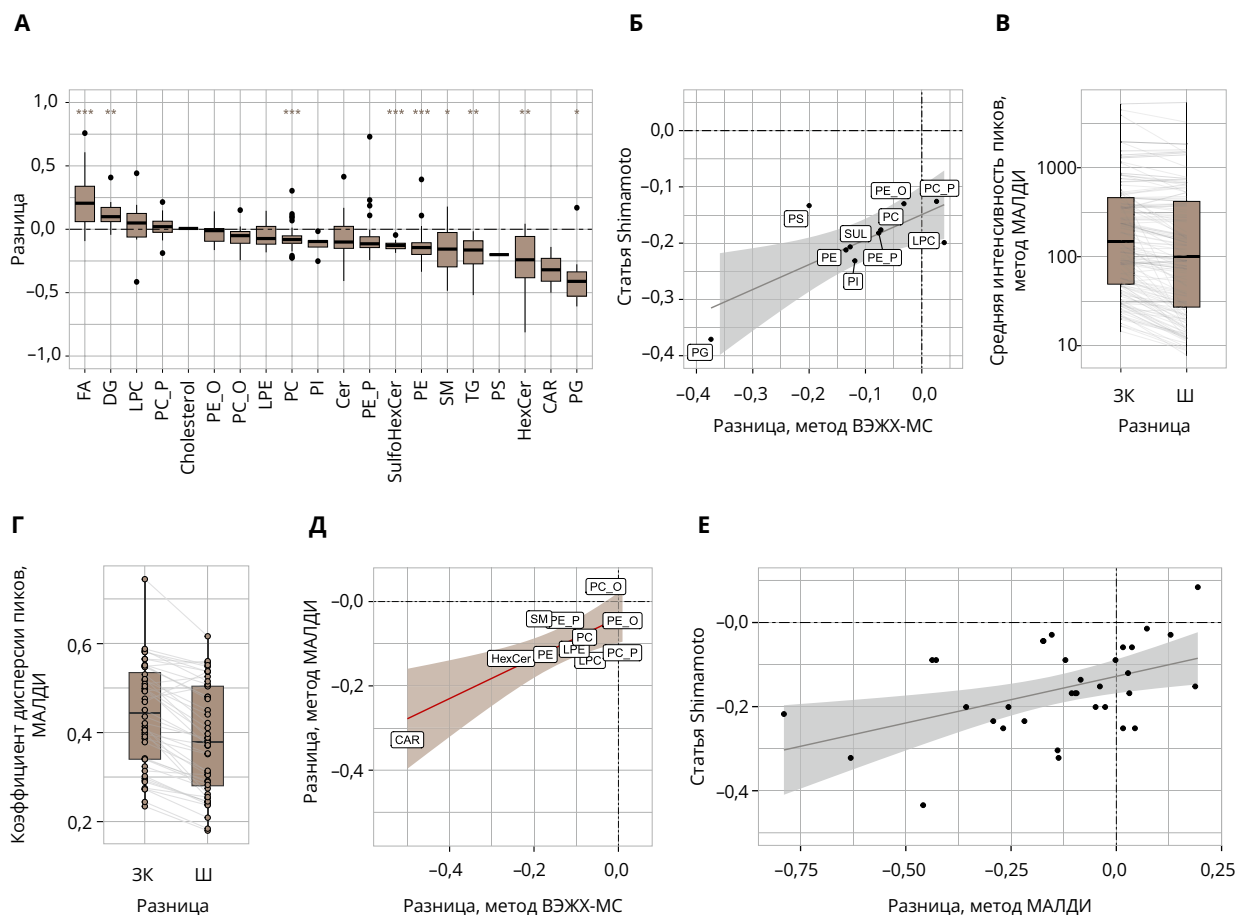


Рисунок 2. Связанные с шизофренией изменения липидома в мозолистом теле у пациентов с шизофренией по сравнению со здоровыми контрольными субъектами.

Примечание: (А) Ящичковая диаграмма, отражающая различия в интенсивности липидов между пациентами с шизофренией (Ш) и здоровыми контрольными субъектами (ЗК) для каждого класса липидов, измеренные методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС). Звездочки отражают статистическую значимость различий, оцененную с помощью одновыборочного t-критерия Стьюдента для различий между группами по сравнению с нулем для каждого класса ($*** p < 0,001$; $** p < 0,01$; $* p < 0,05$; значения p скорректированы с учетом множественной проверки гипотез). Положительные значения означают более высокий уровень в группе шизофрении. (Б) Корреляция средних различий для каждого класса липидов с результатами ранее опубликованной работы Shimamoto и соавт. [7] по липидома мозолистого тела при шизофрении. Корреляция рассчитана на основе общих 10 классов липидов, измеренных в двух работах. (В) Ящичковая диаграмма распределения интенсивности пиков при использовании метода масс-спектрометрической визуализации с использованием матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (МАЛДИ-МС). Каждая линия соединяет один и тот же пик в двух группах образцов. Для оценки того, отличается ли распределение различий между средними значениями пиков в двух группах статистически значимо от нуля, использовали одновыборочный t-критерий Стьюдента ($p = 0,0013$). (Г) Ящичковая диаграмма, показывающая коэффициенты дисперсии, рассчитанные для каждого пика МАЛДИ в каждой группе. Статистическую значимость различий между коэффициентами дисперсии оценивали с помощью знакового рангового критерия Уилкоксона ($p < 4 \times 10^{-10}$). Линии соединяют те же интенсивности липидов, усредненные по разным группам. (Д) Корреляция средних различий для каждого класса липидов для двух методик измерений (ВЭЖХ-МС, МАЛДИ-МС). (Е) Корреляция результатов МАЛДИ-визуализации с [7]. Построение пиков основано на сопоставлении масс, одна точка означает один совпадающий пик.

Прямые линейной регрессии на графиках Б, Д и Е проведены с ДИ=95% по заштрихованным областям, демонстрируя, что все представленные корреляции статистически значимы и положительные. Полные названия классов липидов приведены в списке сокращений в Приложении 1. Границы ящичков на диаграммах представляют собой 25- и 75-ные процентиля, линии — разброс, а статистические выбросы обозначены точками.

Источник: Осетрова и соавт., 2025.

шизофрении, было обнаружено значимое повышение уровня. Напротив, уровни большинства классов липидов (7 классов) были значимо ниже в образцах при шизофрении по сравнению с ЗК. Среди них были фосфатидилхолины (PC) и фосфатидилэтаноламины (PE), основные компоненты клеточных мембран; сфингомиелины (SM), гексосилкерамиды (HexCer) и сульфогексосилкерамиды (SulfoHexCer), ранее установленные как компоненты миелиновой оболочки; триацилглицериды (TG), используемые в качестве субстрата для хранения липидов; фосфатидилглицерины (PG), синтезирующиеся в митохондриях (см. рис. 2А). Продемонстрированные различия на уровне классов липидов хорошо согласуются с ранее сообщавшимися изменениями липидома в мозолистом теле, связанными с шизофренией [7], с R Пирсона = 0,74 ($p=0,0142$), как определено на основе общих 10 классов липидов, измеренных в двух работах (см. рис. 2Б).

Результаты МАЛДИ-визуализации были аналогичными со статистически значимым снижением средней интенсивности пиков, что было оценено с помощью одновыборочного t -критерия Стьюдента для распределения различий между средними значениями всех пиков для двух групп ($p=0,0013$) (см. рис. 2В). Кроме того, коэффициент дисперсии по всем пикселям МАЛДИ, рассчитанный для интенсивности каждого пика, значимо отличается между группами Ш и ЗК (знаковый ранговый критерий Уилкоксона, $p < 4e-10$) (см. рис. 2Г). Для подмножества пиков, совпадающих с результатами ВЭЖХ-МС, продемонстрирована высокая степень согласованности результатов двух масс-спектрометрических методик с $R=0,77$ и $p=0,0061$ (см. рис. 2Д). При расчете без учета наиболее отличающегося класса, карнитинов, корреляция оставалась положительной, но не была статистически значимой ($R=0,29$; $p=0,42$). Наконец, пики МАЛДИ, сопоставленные с данными Shimamoto и соавт. [8], статистически значимо положительно коррелировали между двумя наборами данных с $R=0,46$ и $p=0,0066$ (см. рис. 2Е).

Анализ 14 254 транскриптов в образцах мозолистого тела выявил 1202 (8,4%) дифференциально экспрессированных генов между группами Ш и ЗК (см. табл. S4 в Приложении). Из анализа были исключены 20 генов из 1202 по причине отсутствия информации о них в базе данных HumanBase. В результате были идентифицированы 4 функциональных модуля, в которые вошли 492 из обнаруженных генов (рис. 3; см. табл. S5

в Приложении). Основные клеточные функции модуля М1: цитоплазматическая трансляция, трансляция, процесс биосинтеза пептидов, процесс биосинтеза амидов, процесс метаболизма пептидов; модуля М2: отрицательная регуляция внешнего сигнального пути апоптоза посредством рецепторов домена смерти, регуляция внешнего сигнального пути апоптоза посредством рецепторов домена смерти, регуляция внешнего сигнального пути апоптоза, внешний сигнальный путь апоптоза посредством рецепторов домена смерти, отрицательная регуляция внешнего сигнального пути апоптоза; модуля М3: миграция эпителиальных клеток, миграция в тканях, миграция в эпителии, миграция клеток амебоидного типа, регуляция морфогенеза клеток; модуля М4: процесс биосинтеза жирных кислот, процесс биосинтеза монокарбоновых кислот, трансмембранный транспорт хлоридов, процесс биосинтеза низкомолекулярных соединений, поддержка фоторецепторных клеток.

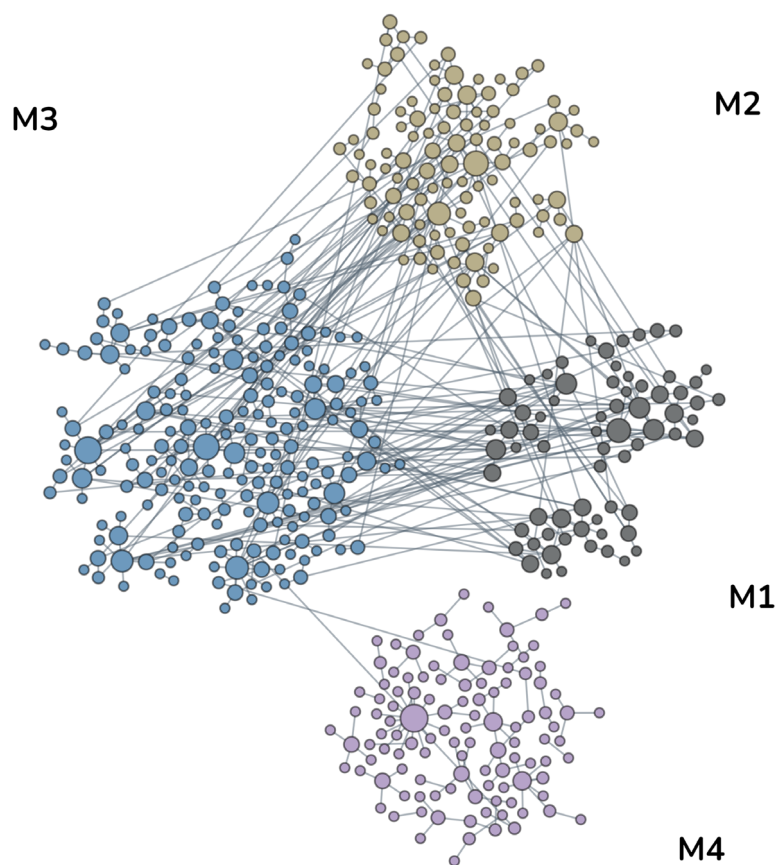
ОБСУЖДЕНИЕ

Основные результаты

Анализ изменений липидного состава мозолистого тела головного мозга у пациентов с шизофренией, выявленных с помощью двух масс-спектрометрических методов, обнаружил тенденцию к общему снижению уровня липидов для наиболее распространенных классов и согласованность между методами и исследованиями. Среди классов липидов с наиболее заметными различиями были классы, для которых ранее была установлена ассоциация с формированием миелиновой оболочки. Анализ пространственного распределения липидов по срезам мозолистого тела продемонстрировал более однородное распределение в образцах, взятых у пациентов с шизофренией. Функциональный анализ генов также выявил модуль, связанный с липидным обменом.

Ограничения

Одним из основных ограничений нашего исследования является небольшой размер выборки, особенно с учетом высокой гетерогенности заболевания. Кроме того, дизайн нашего исследования не исключает возможного влияния искажающих результат переменных, таких как прием антипсихотических препаратов, на липидный состав белого вещества головного мозга. Тем не менее исследование показало



Модуль	Главные 5 терминов	Гены	Термины
● M1	Цитоплазматическая трансляция; трансляция; процесс биосинтеза пептидов; процесс биосинтеза амидов; процесс метаболизма пептидов	69	54
● M2	Отрицательная регуляция внешнего сигнального пути апоптоза посредством рецепторов домена смерти; регуляция внешнего сигнального пути апоптоза посредством рецепторов домена смерти; регуляция внешнего сигнального пути апоптоза; внешний сигнальный путь апоптоза посредством рецепторов домена смерти; отрицательная регуляция внешнего сигнального пути апоптоза	108	75
● M3	Миграция эпителиальных клеток; миграция в тканях; миграция в эпителии; миграция клеток амeboидного типа; регуляция морфогенеза клеток	203	120
● M4	Процесс биосинтеза жирных кислот; процесс биосинтеза монокарбоновых кислот; трансмембранный транспорт хлоридов; процесс биосинтеза низкомолекулярных соединений; поддержка фоторецепторных клеток	112	39

Рисунок 3. Модули генов в мозолистом теле с дифференциальной экспрессией между группой пациентов с шизофренией и здоровыми контрольными субъектами.

Примечание: Одна точка обозначает один ген, окрашенный в соответствии с модулем, ребра представляют функциональную связь между двумя генами, размер точек отражает количество ребер. Пять наиболее статистически значимых функциональных терминов для каждого модуля представлены в таблице.

Источник: Осетрова и соавт., 2025.

статистически значимую корреляцию между двумя независимыми масс-спектрометрическими экспериментами в разных подвыборках, а также корреляцию с ранее опубликованными данными, полученными при изучении большей выборки субъектов. Более того, даже с учетом возможного шума при измерении и аннотировании отдельных липидов результаты на уровне классов липидов являются согласованными и воспроизводимыми. Еще одно ограничение статьи касается статистического анализа. При использовании непарных методов сравнения для определения разницы средних уровней липидов и их CoV между группами не было получено статистически значимых различий ($p > 0,05$ для двухвыборочного t-критерия Стьюдента и критерия Манна-Уитни). С одной стороны, это может быть связано с малой величиной эффекта, с другой стороны, причина может заключаться в том, что различные липиды имеют большой разброс значений характеристик из-за методологических ограничений, что делает дисперсию внутри групп выборки сопоставимой с общей дисперсией для обеих групп.

Интерпретация

Несмотря на то что предыдущие исследования обнаружили ограниченные статистически значимые различия [7] или их отсутствие [22] между пациентами с шизофренией и контрольной группой, мы продемонстрировали согласованность направления различий на уровне классов как для разных методов, так и при сравнении наших результатов с ранее опубликованными данными по подмножеству классов в пересечении. Свободные жирные кислоты наиболее различались в сторону повышения уровня, что также согласуется в направлении различий с результатами предыдущей работы нашей группы [23] и может являться общим маркером нарушений липидного обмена, характерных для шизофрении. Важно отметить, что мозолистое тело оказалось областью с наиболее значимыми различиями по сравнению с другими пятью исследованными областями белого вещества, хотя различия на уровне отдельных классов могли расходиться, что может быть ограничением, связанным с использованием в нашем исследовании относительно небольшой выборки. Снижение уровней липидов, связанных с формированием миелиновой оболочки, таких как

сфингомиелины, гексосилкерамиды и сульфогексосилкерамиды, связывает наши результаты с ранее показанными нарушениями в структуре миелина, выявленными при шизофрении с помощью различных методов MPT [24–27]. Снижение уровня фосфатидилглицеринов может отражать дисфункцию митохондрий, что, как было установлено, также связано с шизофренией [23]. Интересно, что повышение уровня триацилглицеридов в крови является биомаркером шизофрении [28, 29]. Различия в распределении липидов в мозолистом теле, оцененные с помощью коэффициента дисперсии для каждого пика, продемонстрировали более равномерное распределение интенсивности в образцах пациентов с шизофренией, что свидетельствует о менее структурированной организации липидов [30]. Такие результаты могут быть отражением нарушений в клеточной организации (например, менее плотная упаковка миелина и меньшая компартментализация) [31].

Результаты функционального анализа генов хорошо согласуются с результатами ряда новых исследований, посвященных нарушению функционирования рибосом при шизофрении [32, 33], роли внешнего пути апоптоза в механизмах нейропротекции, гомеостаза воспалительных реакций и нейродегенерации [34], влиянию изменений в ацетилировании гистонов на миграцию нейронов при шизофрении [35], прямой связи между экспрессией факторов, направляющих рост аксонов, и развитием межполушарных спаек [36], регуляции баланса возбуждения/торможения в мозге трансмембранным транспортом хлоридов при шизофрении [37, 38] и ключевой роли полиненасыщенных жирных кислот в воспалительной реакции различных типов клеток мозга и дисфункции нейротрансмиттерных систем [39–42]. В рамках данной статьи последний вариант представляет особый интерес, поскольку дальнейшее изучение генов, ассоциированных с M4, может помочь глубже понять обнаруженные различия в липидоме мозолистого тела, связанные с шизофренией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы предполагаем, что исследование молекулярных изменений в составе белого вещества при шизофрении и интеграция различных методик измерения могут обеспечить более глубокое понимание заболевания. Использование масс-спектрометрической

нейровизуализации для анализа состава белого вещества подтвердило перспективность данного метода и его потенциал для изучения пространственных нюансов в изменениях липидома.

История публикации

Рукопись поступила: 13.12.2023

Рукопись принята: 27.02.2025

Опубликована онлайн: 17.03.2025

Вклад авторов: Концептуализация — Мария Осетрова, Филипп Хайтович; методология — Ольга Ефимова, Глеб Владимиров, Елена Стекольников; программное обеспечение — Мария Осетрова; валидация — Мария Осетрова; формальный анализ — Мария Осетрова; исследование — Мария Осетрова, Дмитрий Сенько; ресурсы — Ольга Ефимова, Татьяна Журавлева, Глеб Владимиров, Георгий Костюк, Евгений Николаев; обработка данных — Мария Осетрова, Елена Стекольников; написание (подготовка первоначального варианта) — Мария Осетрова, Марина Завольскова; написание (рецензирование и редактирование) — Денис Андреюк, Яна Зоркина, Анна Морозова, Филипп Хайтович; визуализация — Мария Осетрова; руководство — Филипп Хайтович; администрирование проекта — Филипп Хайтович. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи.

Финансирование: Работа Марии Осетровой финансировалась Российским научным фондом, грант № 20-15-00299. Работа Дмитрия Сенько, Марины Завольсковой и Ольги Ефимовой финансировалась Российским научным фондом, грант № 22-15-00474.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дополнительная информация

Дополнительный материал к этой статье можно найти в онлайн-версии:

Приложение 1: <https://doi.org/10.17816/CP15491-145517>
Таблица S1: <https://doi.org/10.17816/CP15491-145515>
Таблица S2: <https://doi.org/10.17816/CP15491-145518>
Таблица S3: <https://doi.org/10.17816/CP15491-145519>
Таблица S4: <https://doi.org/10.17816/CP15491-145520>
Таблица S5: <https://doi.org/10.17816/CP15491-145516>

Цитировать:

Осетрова М.С., Ефимова О.И., Завольскова М.Д., Стекольников Е.А., Владимиров Г.Н., Сенько Д.А., Журавлева Т.А., Морозова А.Ю., Зоркина Я.А., Андреюк Д.С., Костюк Г.П., Николаев Е.Н., Хайтович Ф.Е. Сравнительный анализ липидома и транскриптома мозолистого тела головного мозга при шизофрении и в здоровом состоянии // *Consortium PSYCHIATRICUM*. 2025. Т. 6, № 1. CP15491. doi: 10.17816/CP15491

Сведения об авторах

***Мария Станиславовна Осетрова**, инженер-исследователь Центра нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; e-Library SPIN-код: 5813-1688, Researcher ID: HOH-3453-2023, Scopus Author ID: 57505703600, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8174-9544>
E-mail: maria.osetrova.sk@gmail.com

Ольга Игоревна Ефимова, младший научный сотрудник Центра нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; e-Library SPIN-код: 3427-8085, Scopus Author ID: 15836570500, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0842-3203>

Марина Дмитриевна Завольскова, стажер-исследователь Центра нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; e-Library SPIN-код: 1800-6986, Scopus Author ID: 57209106743, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4532-0721>

Елена Алексеевна Стекольников, к.х.н., старший научный сотрудник Центра нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; e-Library SPIN-код: 3859-4534, Researcher ID: U-1735-2018, Scopus Author ID: 56462907300, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8607-9773>

Глеб Николаевич Владимиров, к.ф.-м.н., старший научный сотрудник Центра нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; Scopus Author ID: 55579659300, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4623-4884>

Дмитрий Андреевич Сенько, аспирант Центра нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8752-9932>

Татьяна Алексеевна Журавлева, студентка факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Анна Юрьевна Морозова, к.м.н., старший научный сотрудник Научно-клинического исследовательского центра нейropsychиатрии ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы»; старший научный сотрудник отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр

психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России; e-Library SPIN-код: 3233-7638, Researcher ID: T-1361-2019, Scopus Author ID: 55648593900, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8681-5299>

Яна Александровна Зоркина, к.б.н., старший научный сотрудник Научно-клинического исследовательского центра нейropsychиатрии ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы»; научный сотрудник отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского» Минздрава России; e-Library SPIN-код: 3017-3328, Researcher ID: H-2424-2013, Scopus Author ID: 54584719100, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0247-2717>

Денис Сергеевич Андреюк, к.б.н., старший научный сотрудник Научно-клинического исследовательского центра нейropsychиатрии ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы»; e-Library SPIN-код: 8083-4058, Researcher ID: AAQ-6260-2020, Scopus Author ID: 6602608643, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3349-5391>

Георгий Петрович Костюк, д.м.н., профессор, главный врач ГБУЗ «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы»; заведующий кафедрой психического здоровья и клинической психиатрии факультета психологии ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»; e-Library SPIN-код: 3424-4544, Researcher ID: AAA-1682-2020, Scopus Author ID: 57200081884, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3073-6305>

Евгений Николаевич Николаев, д.ф.-м.н., профессор, заведующий лабораторией масс-спектрометрии Центра молекулярной и клеточной биологии АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; e-Library SPIN-код: 4984-1007, Scopus Author ID: 55394217800, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6209-2068>

Филипп Ефимович Хайтович, к.б.н., профессор, директор Центра нейробиологии и нейрореабилитации им. Владимира Зельмана АНОО ВО «Сколковский институт науки и технологий»; Scopus Author ID: 6602559039, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4305-0054>

*автор, ответственный за переписку

Список литературы

- Wang D, Sun X, Maziade M, et al. Characterising phospholipids and free fatty acids in patients with schizophrenia: A case-control study. *World J Biol Psychiatry*. 2021;22(3):161–174. doi: 10.1080/15622975.2020.1769188
- Schmitt A, Wilczek K, Blennow K, et al. Altered thalamic membrane phospholipids in schizophrenia: a postmortem study. *Biol Psychiatry*. 2004;56(1):41–45. doi: 10.1016/j.biopsych.2004.03.019
- Miyahara K, Hino M, Shishido, et al. Identification of schizophrenia symptom-related gene modules by postmortem brain transcriptome analysis. *Transl Psychiatry*. 2023;13(1):144. doi: 10.1038/s41398-023-02449-8
- Türk Y, Ercan I, Sahin I, et al. Corpus callosum in schizophrenia with deficit and non-deficit syndrome: a statistical shape analysis. *Gen Psychiatr*. 2021;34(6):e100635. doi: 10.1136/gpsych-2021-100635
- Wang P, Jiang Y, Hoptman MJ, et al. Structural-functional connectivity deficits of callosal — white matter — cortical circuits in schizophrenia. *Psychiatry Res*. 2023;330:115559. doi: 10.1016/j.psychres.2023
- Yoon JH, Seo Y, Jo YS, et al. Brain lipidomics: From functional landscape to clinical significance. *Sci Adv*. 2022;8(37):eadc931. doi: 10.1126/sciadv.adc93177
- Shimamoto-Mitsuyama C, Nakaya A, Esaki K, et al. Lipid Pathology of the Corpus Callosum in Schizophrenia and the Potential Role of Abnormal Gene Regulatory Networks with Reduced Microglial Marker Expression. *Cereb Cortex*. 2021;31(1):448–462. doi: 10.1093/cercor/bhaa236
- Esaki K, Balan S, Iwayama Y, et al. Evidence for Altered Metabolism of Sphingosine-1-Phosphate in the Corpus Callosum of Patients with Schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2020;46(5):1172–1181. doi: 10.1093/schbul/sbaa052
- Zhao X, Zhang S, Sanders AR, et al. Brain Lipids and Lipid Droplet Dysregulation in Alzheimer's Disease and Neuropsychiatric Disorders. *Complex Psychiatry*. 2023;9(1–4):154–171. doi: 10.1159/000535131
- Xu K, Zheng P, Zhao S, et al. Altered MANF and RYR2 concentrations associated with hypolipidemia in the serum of patients with schizophrenia. *J Psychiatr Res*. 2023;163:142–149. doi: 10.1016/j.jpsychires.2023.05.044
- Fiziková I, Dragašek J, Račay P. Mitochondrial Dysfunction, Altered Mitochondrial Oxygen, and Energy Metabolism Associated with the Pathogenesis of Schizophrenia. *Int J Mol Sci*. 2023;24(9). doi: 10.3390/ijms24097991
- Ghosh S, Dyer RA, Beasley CL. Evidence for altered cell membrane lipid composition in postmortem prefrontal white matter in bipolar disorder and schizophrenia. *J Psychiatr Res*. 2023;95:135–142. doi: 10.1016/j.jpsychires.2017.08.009
- Howes OD, Onwordi EC. The synaptic hypothesis of schizophrenia version III: a master mechanism. *Mol Psychiatry*. 2023;28(5):1843–1856. doi: 10.1038/s41380-023-02043-w
- Hussain G, Anwar H, Rasul A, et al. Lipids as biomarkers of brain disorders. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(3):351–374. doi: 10.1080/10408398.2018.1529653
- Perez JM, Berto S, Gleason K, et al. Hippocampal subfield transcriptome analysis in schizophrenia psychosis. *Mol Psychiatry*. 2021;26(6):2577–2589. doi: 10.1038/s41380-020-0696-6
- Lindholm Carlström E, Niazi A, Etemadikhah M, et al. Transcriptome Analysis of Post-Mortem Brain Tissue Reveals Up-Regulation of the Complement Cascade in a Subgroup of Schizophrenia Patients. *Genes (Basel)*. 2021;12(8):1242. doi: 10.3390/genes12081242
- Mai JK, Majtanik M, Paxinos G. *Atlas of the Human Brain*. Cambridge: Academic Press; 2015.
- Khrameeva E, Kurochkin I, Han D, et al. Single-cell-resolution transcriptome map of human, chimpanzee, bonobo, and macaque brains. *Genome Res*. 2020;30(5):776–789. doi: 10.1101/gr.256958.119
- Greene CS, Krishnan A, Wong AK, et al. Understanding multicellular function and disease with human

- tissue-specific networks. *Nat Genet.* 2015;47(6):569–576. doi: 10.1038/ng.3259
20. Senko D, Gorovaya A, Stekolshchikova E, et al. Time-Dependent Effect of Sciatic Nerve Injury on Rat Plasma Lipidome. *Int J Mol Sci.* 2022;23(24):15544. doi: 10.3390/ijms232415544
21. Osetrova M, Zavolskova M, Mazin P, et al. Mass spectrometry imaging of two neocortical areas reveals the histological selectivity of schizophrenia-associated lipid alterations. *Consort Psychiatr.* 2024;5(3):4–16. doi: 10.17816/CP15488
22. Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, et al. Fatty acid composition of the postmortem corpus callosum of patients with schizophrenia, bipolar disorder, or major depressive disorder. *Eur Psychiatry.* 2017;39:51–56. doi: 10.1016/j.eurpsy.2016.05.007
23. Senko D, Efimova O, Osetrova M, et al. White matter lipidome alterations in the schizophrenia brain. *Schizophrenia (Heidelb).* 2024;10(1):123. doi: 10.1038/s41537-024-00542-5
24. Kelly S, Jahanshad N, Zalesky A, et al. Widespread white matter microstructural differences in schizophrenia across 4322 individuals: results from the ENIGMA Schizophrenia DTI Working Group. *Mol Psychiatry.* 2018;23(5):1261–1269. doi: 10.1038/mp.2017.170
25. Smirnova LP, Yarnykh VL, Parshukova DA, et al. Global hypomyelination of the brain white and gray matter in schizophrenia: quantitative imaging using macromolecular proton fraction. *Transl Psychiatry.* 2021;11(1):365. doi: 10.1038/s41398-021-01475-8
26. Iwatani J, Ishida T, Donishi T, et al. Use of T1-weighted/T2-weighted magnetic resonance ratio images to elucidate changes in the schizophrenic brain. *Brain Behav.* 2015;5(10):e00399. doi: 10.1002/brb3.399
27. Carreira Figueiredo I, Borgan F, Pasternak O, et al. White-matter free-water diffusion MRI in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychopharmacology.* 2022;47(7):1413–1420. doi: 10.1038/s41386-022-01272-x
28. Tkachev A, Stekolshchikova E, Vanyushkina A, et al. Lipid Alteration Signature in the Blood Plasma of Individuals With Schizophrenia, Depression, and Bipolar Disorder. *JAMA Psychiatry.* 2023;80(3):250–259. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2022.4350
29. Solberg DK, Bentsen H, Refsum H, et al. Lipid profiles in schizophrenia associated with clinical traits: a five year follow-up study. *BMC Psychiatry.* 2016;16(1):299. doi: 10.1186/s12888-016-1006-3
30. Valdés-Tovar M, Rodríguez-Ramírez AM, Rodríguez-Cárdenas L, et al. Insights into myelin dysfunction in schizophrenia and bipolar disorder. *World J Psychiatry.* 2022;12(2):264–285. doi: 10.5498/wjpv.12.i2.264
31. Davis KL, Stewart DG, Friedman JI, et al. White matter changes in schizophrenia: evidence for myelin-related dysfunction. *Arch Gen Psychiatry.* 2003;60(5):443–456. doi: 10.1001/archpsyc.60.5.443
32. Liang Q, Jiang Y, Shieh AW, et al. The impact of common variants on gene expression in the human brain: from RNA to protein to schizophrenia risk. *bioRxiv [Preprint].* 2023;2023.06.04.54363. doi: 10.1101/2023.06.04.543603
33. Mekiten O, Yitzhaky A, Gould N, et al. Ribosome subunits are upregulated in brain samples of a subgroup of individuals with schizophrenia: A systematic gene expression meta-analysis. *J Psychiatr Res.* 2023;164:372–381. doi: 10.1016/j.jpsychires.2023.06.013
34. Vitale I, Pietrocola F, Guilbaud E, et al. Apoptotic cell death in disease-Current understanding of the NCCD 2023. *Cell Death Differ.* 2023;30(5):1097–1154. doi: 10.1038/s41418-023-01153-w
35. Borrie SC, Bagni C. Neurons acetylate their way to migration. *EMBO Rep.* 2016;17(12):1674–1676. doi: 10.15252/embr.201643427
36. Tsuji Y, Kerever A, Furukawa T, et al. Diffusion magnetic resonance tractography-based evaluation of commissural fiber abnormalities in a heparan sulfate endosulfatase-deficient mouse brain. *Magn Reson Imaging.* 2022;88:123–131. doi: 10.1016/j.mri.2022.01.017
37. Lam P, Newland J, Faull RLM, et al. Cation-Chloride Cotransporters KCC2 and NKCC1 as Therapeutic Targets in Neurological and Neuropsychiatric Disorders. *Molecules.* 2023;28(3):1344. doi: 10.3390/molecules28031344
38. Hui KK, Chater TE, Goda Y, et al. How Staying Negative Is Good for the (Adult) Brain: Maintaining Chloride Homeostasis and the GABA-Shift in Neurological Disorders. *Front Mol Neurosci.* 2022;15:893111. doi: 10.3389/fnmol.2022.893111
39. Zhang Y, Yin J, Yan H, et al. Correlations between omega-3 fatty acids and inflammatory/glial abnormalities: the involvement of the membrane and neurotransmitter dysfunction in schizophrenia. *Front Cell Neurosci.* 2023;17:1163764. doi: 10.3389/fncel.2023.1163764
40. Gao Y, Hu X, Wang D, et al. Association between Arachidonic Acid and the Risk of Schizophrenia: A Cross-National Study and Mendelian Randomization Analysis. 2023;15(5):1195. doi: 10.3390/nu15051195
41. Le ATP, Higuchi Y, Sumiyoshi T, et al. Analysis of polyunsaturated fatty acids in antipsychotic-free individuals with at-risk mental state and patients with first-episode schizophrenia. *Front Psychiatry.* 2023;14:1188452. doi: 10.3389/fpsy.2023.1188452
42. Yamamoto Y, Owada Y. Possible involvement of fatty acid binding proteins in psychiatric disorders. *Anat Sci Int.* 2021;96(3):333–342. doi: 10.1007/s12565-020-00598-0