

ПАРАМЕТРЫ ИММУННОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА БОЛЬНЫХ С ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИСТОРИЕЙ ШИЗОФРЕНИИ

Акопян С., Аветисян Г.

Институт молекулярной биологии НАН РА, лаборатория макромолекулярных комплексов

В настоящей работе проведено определение ряда параметров иммунного статуса организма у 12 больных с положительной семейной историей параноидной формы шизофрении. Показано, что в сыворотке крови исследуемых лиц повышено содержание мелких циркулирующих иммунных комплексов, в то время как содержание крупных циркулирующих иммунных комплексов находится в пределах нормы. Анализ белкового состава циркулирующих иммунных комплексов, выделенных из крови исследуемых больных, позволил выявить в составе и крупных, и мелких комплексов специфические аутоантигены, которые отсутствуют в составе комплексов, выделенных из крови здоровых лиц.

Հակոբյան Ս., Ավետիսյան Գ., Օրգանիզմի իմունային կարգավիճակի չափանիշները դրական ընտանեկան պատմություն ունեցող շիզոֆրենիայով հիվանդների մոտ: Տվյալ աշխատանքում իրականացվել է օրգանիզմի իմունային կարգավիճակի մի շարք չափանիշների որոշումը 12 հիվանդների մոտ, որոնք ունենին շիզոֆրենիայի պատմություն տեսակի դրական ընտանեկան պատմություն: Ցույց է տրվել, որ հետազոտված անձների արյան շիճուկի մեջ փոքր շրջանառող իմունային կոմպլեքսների (ՇԻԿ) պարունակությունը բարձր է սովորականից, իսկ խոշոր ՇԻԿ-երի պարունակությունը գտնվում է նորմայի սահմաններում: Հետազոտվող հիվանդների արյան շիճուկի անցումով ՇԻԿ-երի սպիտակուցային կազմի ամպլիգր ցույց տվեց փոքր և մեծ կոմպլեքսներում յուրահատուկ արտոնահանգների առկայությունը, մինչդեռ դրանք բացակայում են առողջ անձանց մոտ:

Hakobyan S., Avetisyan G. The parameters of the immune status of organism in patients with positive family history of schizophrenia. In the present work in 12 patients with positive family history of paranoid schizophrenia the determination of a number of parameters, characterizing the immune status of an organism, has been performed. In comparison to norm the evaluated levels of "small" circulating immune complexes in the blood of schizophrenic patients have been detected, while the concentration of "big" complexes was within the normal range. The analysis of the protein composition of circulating immune complexes, isolated from the blood of the above-mentioned patients, has revealed in both "small" and "big" complexes the presence of the specific autoantigens that are lacking in the complexes of healthy subjects.

ВВЕДЕНИЕ. На сегодняшний день нет сомнений в серьезном нарушении иммунного статуса организма при шизофрении и вовлечении в патогенез этого заболевания аутоиммунных реакций [3, 4, 15, 20]. Однако имеющиеся в отмеченном направлении данные достаточно противоречивы [7, 10-12, 16, 18]. Этот факт может в определенной степени быть обусловлен тем, что большинство исследований этиопатогенеза шизофрении проводится при обследовании пациентов с отрицательной семейной историей этого заболевания, так называемой спорадической формой шизофрении. В силу отсутствия четких и объективных критериев диагностирования шизофрении, зачастую пациентов, страдающих другими психо-неврологическими заболеваниями, имеющих на отдельных стадиях сходную с шизофренией клиническую симптоматику, диагностируют как больных шизофренией [1, 2, 5]. Очевидно, что в случае спорадической формы вероятность подобного неверного диагноза возрастает. Таким образом, проведение исследований при обследовании пациентов с положительной наследственной историей шизофрении представляется очень важным для понимания молекулярных основ этиопатогенеза этого заболевания и, в частности, вопросов, связанных со спецификой нарушения иммунного статуса организма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Субъектом исследования являлись 12 больных параноидной формой шизофрении, находящихся на стадии психического дефекта личности. Все исследуемые больные имели положительную наследственную историю данного заболевания (табл. 1). Объектом исследования являлась сыворотка крови отмеченных больных. В качестве контроля использовали сыворотку крови психически и физически здоровых добровольцев. Клинический материал был получен из Нубарашенской республиканской психиатрической больницы в период госпитализации вышеуказанных лиц.

Определение количественного содержания крупных и мелких циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови проводили по методу Digeon et al. [9]. Концентрацию ЦИК выражали в единицах оптической плотности при 280 нм (A_{280}).

Выделение крупных и мелких ЦИК из сыворотки крови проводили по ранее разработанному нами методу [8].

Для анализа белкового состава ЦИК использовали метод электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия (ДС-Na) [19]. Полученные осадки ЦИК растворяли в три-НСI буфере, pH=8,5, до первоначального объема сыворотки, инкубировали в присутствии 4% ДС-Na (Sigma, США) с (и без) 10% β -меркаптоэтанолом (БМЭ; Fluka, Швейцария) 2 часа при 38°C и далее подвергали ЭФ в ПААГ в присутствии ДС-Na. По окончании электрофореза определяли молекулярную массу основных белков полос, обнаруживаемых в составе ЦИК, ис-

пользуя калибровочную кривую, построенную для стандартных белков с известными молекулярными массами (Sigma, США), обработанных идентично ЦИК. Обработку данных этой части эксперимента проводили на компьютере, используя ранее разработанный нами аппликационный программный пакет в интерфейсе "Матлаб 5.0" [6].

Статистическую обработку данных проводили по t-критерию Стьюдента, используя компьютерную программу "SigmaPlot".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. В табл. 1 представлены некоторые характеристики исследованных нами

больных шизофренией, а на рис. 1 – результаты экспериментов по определению концентрации крупных и мелких ЦИК в сыворотке крови вышеотмеченных больных. Согласно полученным данным, содержание крупных ЦИК в сыворотке крови больных шизофренией, по сравнению с предельным для нормы уровнем, практически не изменяется ($p < 0,196$, $t = 1,33$), в то время как для мелких ЦИК наблюдается статистически достоверное увеличение их содержания (приблизительно в два раза по сравнению с предельным для нормы значением; $p < 0,0000318$, $t = 5,21$). Анализ белкового состава ЦИК показал, что, в отличие от контроля, в случае больных шизофренией в составе крупных ЦИК обнаруживаются два белка с молекулярными массами 195,9 кДа и 51,9 кДа, а в составе мелких ЦИК – белок с молекулярной массой 194,5 кДа. Каждый из этих белков, предположительно аутоантигенов, состоит из одной полипептидной цепи, о чем свидетельствует тот факт, что относительная подвижность соответствующих полос не зависела от того, обрабатывали ли предварительно ЦИК только ДС-Na или ДС-Na с БМЭ.

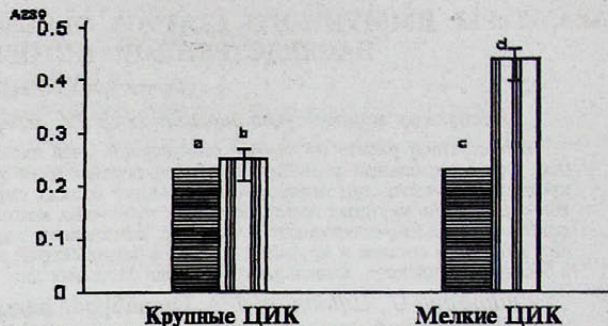


Рис. 1. Сравнение средних величин концентрации крупных и мелких циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови больных шизофренией (b,d) с предельными для нормы значениями (a,c). На ординате отложены значения средней квадратической ошибки ($1 \pm m$).

Таблица 1. Некоторые характеристики исследованных больных шизофренией

Год рождения	Пол	Давность заболевания	Родственники, больные шизофренией	Прием транквилизаторов	Курение табака	Злоупотребления	
						алкоголь	наркотики
1970	М	28 лет	мать, брат	—	+	—	—
1954	М	18 лет	мать, брат	—	+	—	—
1938	М	39 лет	сестра	+	+	+	—
1958	М	30 лет	сестра	—	+	—	—
1933	Ж	35 лет	дочь, сын	+	+	—	—
1961	М	23 года	сестра	+	—	—	—
1958	Ж	18 лет	брат	+	+	—	—
1961	Ж	16 лет	брат	+	+	—	—
1956	М	21 год	мать, брат	—	+	—	—
1959	М	26 лет	мать, брат	—	+	—	+
1940	М	30 лет	сын	+	+	+	—
1967	М	20 лет	отец	—	+	—	+

Результаты вышеотмеченных экспериментов являются еще одним подтверждением существенной роли аутоиммунных процессов в патогенезе шизофрении. Очевидно, что повышенное содержание мелких ЦИК отражает патогенез шизофрении. К сожалению, вышеотмеченный параметр не может быть использован для диагностики шизофрении, поскольку не является специфичным для данной патологии. Однако аутоантигенный состав ЦИК является достаточно специфичным критерием как в случае шизофрении, так и при ряде других заболеваний с аутоиммунным этиопатогенезом [8, 13, 14, 17] и может быть весьма успешно применен в целях диагностики.

БЛАГОДАРНОСТЬ. Авторы выражают благодарность своему научному руководителю, зав. лаб. макромолекулярных комплексов ИМБ НАН РА, д.б.н. А. Бояджян, директору, зам. директора и зав. отделения Нубарашенской республиканской психиатрической больницы, соответственно С. Торосяну, Г. Хачатряну и С. Татевосяну.

ЛИТЕРАТУРА

- Варакин Ю.В. Введение: Сосудистые заболевания головного мозга из-за высокой распространенности и тяжелых последствий для ... — Internet. 1999, <http://www.neurology.ru/medgaz.htm>
- Дмитриева Т.Б. Клиническая психиатрия. М: ГЭОТАР Медицина, 1999, 505 с.
- Коляска Г.И., Секирина Т.П. Иммунологические исследования при шизофрении: проблемы и перспективы. — Итоги науки и техники (Иммунология). М.: ВИНТИ, 1990, т. 25, с. 169-198.
- Крыжановский Г.Н., Магараева С.В. Нейроиммунные процессы в механизмах недемилинизирующей патологии ЦНС. — Итоги науки и техники (Иммунология). М.: ВИНТИ, 1990, т. 25, с. 121-168.

- [5] Чуркин А.А., Мартынов А.И. Краткое руководство по использованию МКБ-10 в психиатрии и наркологии. М: Трида-Х, 2000, 232 с.
- [6] Arakelyan A., Boyajyan A., Poghosyan A., Mayilyan K., Aivazyan V., Avetisyan G., Hovsepian M., Mkrtchyan G. The application package under MATLAB 5.0 environment for molecular weight analysis of the main protein components of circulating immune complexes, isolated from the blood of patients with stroke. - Proc. 9th annual conf. "Electron microscopy-2000", Yerevan, p. 20-21.
- [7] Arinami T., Otsuka Y., Hamahuchi H., Itokawa M., Aoki J., Shimizu H., Okubo Y., Iwawaki A., Ota K., Enguchi H., Tagaya H., Yano S., Shimizu H., Toru M. Evidence supporting an association between DRB1 gene and schizophrenia in Japanese. - Schizophr. Res. 1998, v.32, N.2, p.81-86.
- [8] Bakunts H.O., Boyajyan A.S., Poghosyan A.G., Asatryan N.T., Arakelyan A.A., Eryan L.K. Investigation of circulating immune complexes in patients with cerebrovascular disorders. Bulletin of the International Academy of Sciences "Ecology and Safety of Vital Functions". 1999, N.7 (19) 2, p. 141-144.
- [9] Digeon M., Laver M., Riza J., Bach J.F. Detection of circulating immune complexes in human aorta by simplified assays with polyethylene glycol. - J. Immunol. Methods, 1977, v. 16, N. 2, p. 165-183.
- [10] Hawi Z., Gibson S., Straub R.E., Walsh D., Kendler K.S., Gill M. Schizophrenia and HLA: No association with PCR-SSOP typed classical loci in a large Irish familial sample. - Am. J. Med. Genet., 1999, v. 88, N. 4, p. 422-429.
- [11] Jacobsen L.K., Mittleman B.B., Kumra S., Lenane M.C., Barracchini K.C., Adams S., Simonis T., Lee P.R., Long R.T., Sharp W., Sidransky E., Ginn E.I., Rapoport J.L. HLA antigens in childhood onset schizophrenia. - Psychiatry Res., 1998, v. 78, N. 3, p. 123-132.
- [12] Jonsson E.G., Zhang F., Ningaonkar V.L., Rudert W.A., Sedvall G.C. Lack of association between schizophrenia and HLA DQB1 alleles in a Swedish sample. - Schizophr. Res., 1998, v. 29, N. 3, p. 293-296.
- [13] Madan T., Banerjee B., Bhatnagar P.K., Shah A., Sarma P.U. Identification of 45 kD antigen in immune complexes of patients of allergic bronchopulmonary aspergillosis. - Mol. Cell. Biochem., 1997, v. 166, N. 1-2, p. 111-116.
- [14] Mkrtchyan G., Hovsepian M., Arakelyan A., Boyajyan A., Karageuzyan K., Harutyunyan V., Hakobyan G. The studies of the indices of neuro-immune status in patients with FMF. - Abstract of "Familial Mediterranean Fever" II. International Conference, Antalya - Turkey, 3-7 May, 2000, p. 94.
- [15] Muller N., Riedel M., Ackenheil M., Schwarz M.J. The role of immune function in schizophrenia: an overview. - Eur. Arch. Psychiatry. Clin. Neurosci., 1999, v. 249, N. 4 (Suppl.), p. 62-68.
- [16] Ningaonkar V.L., Rudert W.A., Zhang X.R., Trucco M., Ganguli R. Negative association of schizophrenia with HLA DQB1*0602: evidence from a second African-American cohort. - Schizophr. Res., 1997, v. 23, N. 1, p. 81-86.
- [17] Procaccia S., Lanzanova D., Caputo D., Ferrante P., Papini E., Gasparini A., Colucci A., Bianchi M., Villa P., Blasio R., et al. Circulating immune complexes in serum and in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. Characterization and correlation with the clinical course. - Acta. Neurol. Scand., 1988, v. 77, N. 5, p. 373-381.
- [18] Sasaki T., Matsushita M., Nanko S., Fukuda R., Kennedy J.L., Tokunaga K. Schizophrenia and the HLA-DRB1 gene in the Japanese population. - Am. J. Psychiatry, 1999, v. 156, N. 6, p. 771-773.
- [19] Weber K. and Osborn M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. - J. Biol. Chem., 1969, v. 244, N. 6, p. 4406-4412.
- [20] Wiesmann M., Wandinger K.P., Missler U., Eckhoff D., Rothermundt M., Arolt V., Kirchner H. Elevated plasma levels of S-100b protein in schizophrenic patients. - Biol. Psychiatry, 1999, v. 45, N. 11, p. 1508-1511.

РЕГУЛЯЦИЯ ФОСФАТИВИРУЕМОЙ ГЛУТАМИНАЗЫ В МИТОХОНДРИЯХ МОЗГА КРЫСЫ

Амбарцумян Д.

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА

Изучен гидролиз глутамин в митохондриальной фракции коры мозга белых крыс. Показано, что утилизация глутамин в основном обусловлена действием фосфатактивированной глутаминазы (ФАГ). Активность ФАГ по выходу аммиака превышает таковую по выходу глутамата, что объясняется утилизацией последнего в митохондриях. Пиридоксальфосфат (ПФ) активизирует ФАГ в несколько раз большей степени, чем фосфат. Аддитивности в действии активаторов не наблюдается. Лейцин не оказывает достоверно значимого влияния на активность ФАГ, тогда как таурин вызывает усиление выхода по аммиаку, подавляя таковую по глутамату.

Համարժեքային Դ., Ամենտի ուղեղի ֆոսֆատով ակտիվացվող գլյուտամինազայի կարգավորումը: Ամենտախիլիզ է գլյուտամինի հիդրոլիզը սպիտակ առնետի ուղեղի կեղևի միտոքոնդրիալ ֆրակցիայում: Ցույց է տրվել, որ գլյուտամինի յուրացումը հիմնականում պայմանավորված է ֆոսֆատով ակտիվացվող գլյուտամինազայով (ՖԱԳ): Ֆերմենտի ակտիվությունը ըստ առնետիայի ելքի գերազանցում է ալոսիսին ըստ գլյուտամինազայի ելքի, ինչը րազատվում է փոքրիկ յուրացմամբ միտոքոնդրիումների կողմից: Պիրիդոքսալֆոսֆատը ակտիվացնում է ՖԱԳ-ն ֆոսֆատից մի փոքր ավելի արտախալոված աստիճանով, սակայն նրանց արգելադրությունը չի գտնարվում: Լեյցինը ընդգծված ազդեցություն չի գործում ՖԱԳ-ի ակտիվության վրա, այն դեպքում, երբ տաուրինը ուժեղացնում է առնետիայի արտախալումը և խեղցնում գլյուտամինազայի ելքը:

Hambardzumyan D. Regulation of phosphate-activated glutaminase in rat brain mitochondria. The hydrolysis of glutamine in mitochondrial fraction of brain crust was made in the white rats. It is shown that utilization of glutamine is mainly caused by action of phosphate-activated glutaminase (PAG). Activity of PAG in terms of ammonium output exceeds that in terms of glutamate output what ensues from the latter's utilization in mitochondria. Pyridoxalphosphate (PP) activates PAG in a stronger matter than phosphate does. There is no additive effect in activators. Leucin does not affect significantly the activity of PAG, whereas taurin accelerates the ammonium output and depresses the glutamate output.

ВВЕДЕНИЕ. Обмен глутамин в мозговой ткани изучен достаточно хорошо [1-7], но ряд вопросов, касающихся его роли как источника нейромедиаторных аминокислот [7], субстрата окисления в нейрональных [8, 9] и иммунокомпетентных клетках [10], продолжает оставаться в центре внимания исследователей. Гидролиз глутамин в мозге с образованием глутамата и аммиака осуществляется фосфатактивированной глутаминазой (ФАГ), локализованной в наружной стенке внутренней митохондриальной мембраны [7, 11]. Такая локализация позволяет ферменту выполнять роль посредника между медиаторным и метаболическим пулами глутамата. Показано, что добавление ¹⁴C-глутамин к инкубируемому в фосфатном буфере митохондриям сопровождается накоплением меченого глутамата в инкубационной среде и лишь незначительное количество метки проникает в митохондриальный матрикс [5, 7]. Авторы полагают, что роль ФАГ заключается в поставке глутамата в нейромедиаторный пул. Вместе с тем данные, полученные в нашей лаборатории, свидетельствуют о возможности использования глутамин в качестве энергетического субстрата [8]. Следовательно, глутамин или образующийся из него глутамат могут проникать в