

нию со штаммом *E. coli* K12 AB1157 каким-то образом связано с разными физико-химическими состояниями мембранных белков этих клеток.

Таблица 1. Антибиотикорезистентность штаммов *Escherichia coli*

Штаммы	Антибиотики			
	Tc (22 мкг/мл)	Pn (22 мкг/мл)	Sm (22 мкг/мл)	Amp (44 мкг/мл)
<i>E. coli</i> G35 N61	-	+	-	-
<i>E. coli</i> G35 N49	-	+	+	+
<i>E. coli</i> K12 AB 1157	-	+	-	-
<i>E. coli</i> K12 AB 1885	-	-	-	-

Примечание: (+) – нормальный рост и (-) – отсутствие роста клеток на полноценной среде.

Таким образом, результаты по изучению антибиотикорезистентности и УФ-резистентности изученных клеток *E. coli* свидетельствуют о сравнительно высокой УФ-резистентности *E. coli* G35 штаммов.

Обнаружено различие в чувствительности вышеуказанных клеток к антибиотикам, что, по всей вероятности, связано с различием в составе и структуре клеточных мембран.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Саакян М.О., Пепоян А.З., Киракосян Л.А., Епископосян А.Р., Карапетян О.Г., Карапетян А.О., Шагинян А.А., Карагезян К.Г. Влияние кислотности среды на рост и размножение штаммов *E. coli*. – ДАН РА, 1999, 99 (4), с. 362-366.
- [2] Peryan A.Z., Mirzoyan N.S., Shahinian A.A., Karageuzian K.G. Peculiarities of lipid peroxidation processes and phospholipid compositions of *E. coli* strain from human intestinal microflora. – ABST, ISFOS., Redox Regulations and Signal Transduction, Clinical Implications. Kyodai, Kaikan, Kyoto, Japan, 1999.
- [3] Paramio J.M., Baulez C., de Vidania R. Comparative study of the lethal effects of near-UV light (360) and 8-methoxypsoralen plus near-UV on plasmid DNA. – Cell. Mol. Biol, 1991, 37 (2), p. 125-37.
- [4] Mizutani Y., Narikawa T., Satoh T., Sakurai N., Kaji H., Yamada S., Somejima T. – J. Biochem., (Tokio), 1999, 126(2), p. 347-53.
- [5] Пепоян А.З., Балаян М.А., Бадалян Г.Г., Карагезян К.Г. О некоторых особенностях радиорезистентности бесплазмидных клеток *Salmonella derby*. – ДАН РА, 1998, 98 (1), с. 66-70.

АУТОАНТИТЕЛА К МОЗГ-СПЕЦИФИЧНЫМ БЕЛКАМ И ДОФАМИН- β -МОНООКСИГЕНАЗЕ В КРОВИ У БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ С ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИСТОРИЕЙ ЭТОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ

Машлян К., Погосян А.

Институт молекулярной биологии НАН РА, лаборатория макромолекулярных комплексов

В настоящей работе нами показано наличие высокого титра антител (АТ) к специфичным для мозга белкам в крови у больных с положительной семейной историей шизофрении и их здоровых родственников, а также отсутствие АТ к дофамин- β -монооксигеназе (ДБМ) в крови у больных спорадической шизофренией. Полученные результаты свидетельствуют в пользу аутоиммунного этиопатогенеза шизофрении.

Մալիյան Կ., Պոգոսյան Ա., Դրական ընտանեկան պատմություն ունեցող առողջ անձանց և շիզոֆրենիայով հիվանդների արյան մեջ ուղեղին յուրահատուկ սպիտակուցների և դոֆամին- β -մոնոօքսիգենազի նկատմամբ ատոտնահամարմինների պարունակությունը: Ներկայացվող աշխատանքում ցույց է տրվել դրական ընտանեկան պատմություն ունեցող, առողջ անձանց և շիզոֆրենիայով հիվանդների արյան մեջ ուղեղին յուրահատուկ սպիտակուցների նկատմամբ հակամարմինների բարձր խտությամբ պարունակությունը: «Պատահական» շիզոֆրենիայով հիվանդների արյան մեջ դոֆամին- β -մոնոօքսիգենազի նկատմամբ ատոտնահամարմինները չեն համարվել: Ստացված արդյունքները վկայում են շիզոֆրենիայի ատոտնոմնային էթիոպաթոգենիզի օգտին:

Mayilyan K., Poghosyan A. Antibodies to brain-specific proteins and dopamine- β -mono-oxygenase in the blood of affected and healthy subjects in families with positive history of schizophrenia. In the present study the evaluated levels of autoantibodies to brain-specific proteins in the blood of the patients and healthy subjects with positive family history of schizophrenia, as well as the lack in anti dopamine- β -mono-oxygenase antibodies in the blood of the patients with sporadic schizophrenic have been demonstrated. The results obtained suggest the autoimmune aetiopathogenesis of schizophrenia.

Серьезное нарушение иммунного статуса организма при шизофрении, обусловленное в основном развитием аутоиммунных реакций на уровне ЦНС, сегодня не оставляет сомнений [1-6]. Предполагают, что аутоиммунные процессы могут развиваться в структурах дофаминовой системы головного мозга на уровне блокирования дофамин- β -монооксигеназы (ФК 1.14.17.1) [7-10] или/и образования антирецепторных антител (АТ) со стимулирующим или блокирующим рецептор-действием [4, 11]. До настоящего времени, однако, не ясно, являются ли аутоиммунные реакции этиологическим фактором шизофрении [11-16].

В связи с вышеизложенным нам представлялось крайне важным исследовать возможность наличия АТ к ДБМ, а также к специфичным для мозга белкам у больных шизофренией и здоровых лиц с положительной наследственной историей этого заболевания.

СУБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Субъектом исследования являлись: члены двух семей (в трех поколениях) с положительной наследственной историей шизофрении, включая как больных, так и их здоровых родственников; больные спорадической ши-

зофрении; физически и психически здоровые лица, представляющие контрольную группу, которую добровольно составили научные сотрудники Института молекулярной биологии НАН РА.

Объектом исследования являлась кровь вышеотмеченных больных и здоровых лиц. Пробы крови брали в 9:00 утра, на голодный желудок, пункцией из вены. Пробы сразу помещали на лед, затем центрифугировали при 10000g 10 мин. и отбирали сыворотку, которую использовали в последующих экспериментах.

Клинический материал в случае больных спорадической психозом был получен из Центра психического здоровья "Норк" МЗ РА. Забор крови у членов двух семей с положительной наследственной историей психоза проводили по месту проживания обследуемых лиц. Больные члены этих семей состояли на учете в Центре психического здоровья "Норк" МЗ РА, но в период обследования не были госпитализированы.

Диагностирование пациентов и их подбор в основном проводился на кафедре психиатрии и медицинской психологии ЕрГМУ им. М. Герапи, согласно Международной классификации болезней (МКБ-9). Все больные психозом страдали хронической параноидной формой этого заболевания.

Очистку электрофоретически гомогенных препаратов иммуноглобулинов G из сыворотки крови проводили посредством ранее разработанной нами процедуры, включающей фракционирование 40% сульфатом аммония, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозой ("Sigma", США) и гель-фильтрацию на сефарозе 6B ("Pharmacia", Швеция) при 5°C [10].

Суммарный экстракт мозг-специфических белков получали из головного мозга физически и психически здоровых лиц, погибших в результате несчастного случая, по ранее описанной нами процедуре [17]. Этот материал любезно предоставлялся в наше распоряжение руководством кафедры патологической анатомии ЕрГМУ им. М. Герапи через 2 часа после официальной регистрации смерти погибших лиц. Полученный экстракт содержит как водорастворимые, так и слабо связанные с мембранами, экстрагируемые 1% NaCl белки мозга.

Концентрацию электрофоретически гомогенных препаратов иммуноглобулинов G определяли спектрофотометрически, исходя из значения коэффициентов их оптического поглощения при 280 нм (A1%280 13,5) [18].

Общую концентрацию белка определяли методом Lowry et al. [19], при использовании человеческого сывороточного альбумина для построения стандартной кривой.

Двойную иммунодиффузию на агаре проводили для определения содержания АТ к мозг-специфическим белкам в сыворотке крови и во фракции изолированных иммуноглобулинов G по методу Ouchterlony [20].

Определение содержания АТ к ДБМ в сыворотке крови проводили двумя независимыми методами — вышеотмеченным методом двойной иммунодиффузии и методом "кольцевого теста" [21].

Очистку ДБМ из плазмы крови доноров проводили модификацией метода Frigon и Stone [22]. К 225 мл плазмы, добавляя 500 мл 2M NaCl в 0,08M Na-фосфатном буфере, pH=7,0. К разбавленной плазме добавляли к 8 мл 50% сульфата декстрана до конечной концентрации 0,2% (для осаждения липопротеинов и глобулинов), а далее 200 мл 5% ПЭГ (M=6000); для осаждения фибриногена. Раствор инкубировали при постоянном перемешивании в течение 60 мин., после чего центрифугировали при 5000g в течение 30 мин. Надосадочную жидкость, содержащую ДБМ, подвергали диализу против 0,5M NaCl в 0,02M Na-фосфатном буфере, pH=7,0. Отдиализованный раствор далее концентрировали сухим диализом (против ПЭГ 4000) и подвергали аффинной хроматографии на колонке с гидрофобным носителем — фенил сефарозой, уравновешенной 0,5M NaCl в 0,02M Na-фосфатном буфере. На колонку (50x2 см) в среднем наносили 320 мл раствора. Белок элюировали ступенчатым градиентом этиленгликоля (10, 20, 30, 40 и 50%), со скоростью 12 мл/час. В вытекающих фракциях (по 1,5 мл каждая) определяли активность ДБМ. Активные фракции объединяли, диализовали против 0,02M Na-фосфатного буфера, pH=7,5 и подвергали гель-фильтрации на колонке с сефарозой 6B (2,5x19 см), уравновешенной тем же буфером. Через колонку в среднем пропускали 3 мл раствора (5 мг/мл). Элюцию проводили равновесным буфером. В вытекающих фракциях (по 5 мл каждая) определяли активность ДБМ. Активные фракции объединяли, диализовали против 50 мМ Na-фосфатного буфера (pH=7,0) и вторично подвергали гель-фильтрации на колонке с сефарозой 6B при вышеописанных условиях. Активные фракции, полученные после вторичной гель-фильтрации представляли электрофоретически гомогенные препараты ДБМ с удельной активностью 17 мкмоль/мин/л исходной плазмы. Препараты хранили в концентрированном виде (2 мг/мл) при -20°C.

Все этапы очистки препаратов иммуноглобулинов G и ДБМ, а также получение суммарного экстракта мозг-специфических белков проводили при 4°C.

О гомогенности препаратов иммуноглобулинов G и ДБМ судили по наличию одной белковой полосы при электрофорезе (ЭФ) в 7,5% полиакриламидном геле (ПААГ), pH=8,9, по методу Davis [23].

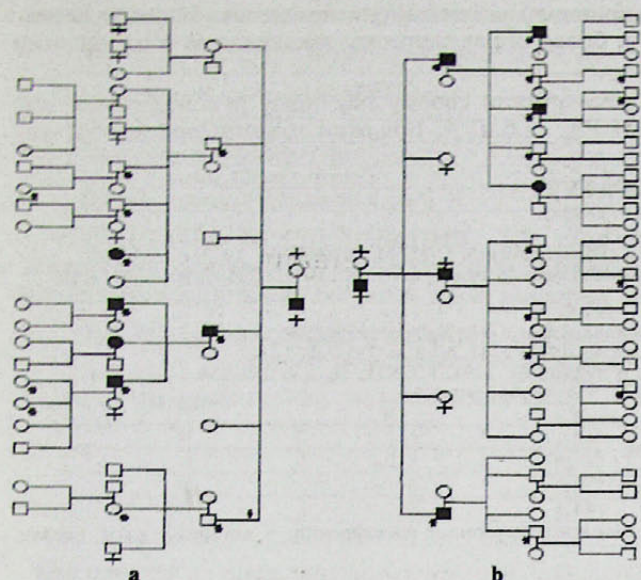


Рис. 1. Геналогическое древо семьи X (а) и семьи Y (б).
 ■ и □ — мужчины; ○ и ● — женщины; ● и ■ — больные шизофренией; * — исследованные члены; + — скончавшиеся

(рис. 2) во фракции иммуноглобулинов G и у больных, и у здоровых членов обследуемых семей с положительной наследственной историей шизофрении обнаруживается высокий титр АТ к мозг-специфическим белкам, на два порядка превышающий титр отмеченных АТ в крови здоровых добровольцев. Исходя из полученных нами данных, очевидно, что повышенное содержание АТ к мозг-специфическим белкам не только отражает патогенез шизофрении, но и ассоциирует с положительной наследственной историей этого заболевания. Последнее является весомым свидетельством в пользу аутоиммунной этиологии шизофрении.

Надо отметить, что наличие определенного количества АТ к мозг-специфическим белкам во фракции иммуноглобулинов G здоровых добровольцев вполне закономерно и находится в соответствии с результатами исследований последних лет, показавших, что в крови у здоровых лиц всегда имеется определенный процент аутоантител к ряду специфических для мозга АГ. Предполагается, что эти аутоантитела формируют сигнальную систему организма: в случае развития патологических процессов, приводящих к нарушению структурно-функциональной целостности ГЭБ, наличие в периферической крови АТ к мозг-специфическим белкам позволяет повысить скорость и эффективность иммунного ответа, что является для организма сигналом к мобилизации его защитных, регуляторных и компенсаторных функций [6, 24].

Определение возможности наличия АТ к ДБМ у больных шизофренией проводили при использовании электрофоретически гомогенных фракций фермента и иммуноглобулинов G, выделенных из сыворотки крови больных спорадической шизофренией. Двумя независимыми методами — двойной иммунодиффузии на агаре и так называемым «кольцевым тестом» не удалось выявить наличие кросс-реактивности вышеотмеченных фракций ни в случае больных, ни в случае здоровых лиц. Этот результат свидетельству-

Как следует из полученных данных

Как следует из полученных данных

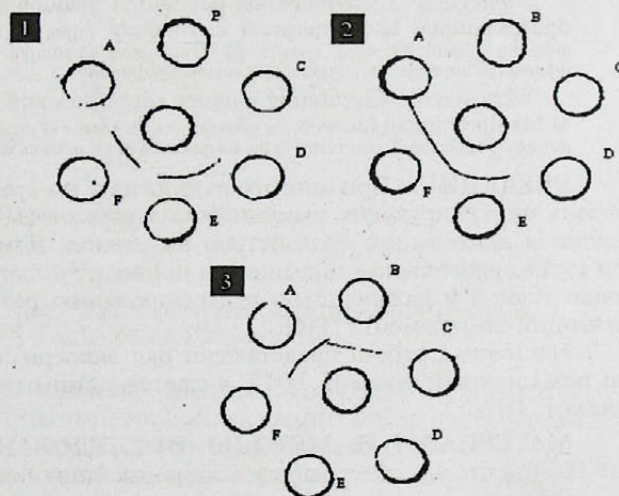


Рис. 3. Определение наличия АТ к мозг-специфическим белкам во фракции иммуноглобулинов G здоровых (1) и больных (2) членов семей с положительной историей шизофрении, а также здоровых добровольцев (3). В центральную лунку нанесена фракция иммуноглобулинов G (2 мг/мл), в боковых — мозг-специфических белков (А — исходный раствор белков (2 мг/мл), В, С, D, E, F, — раствор разбавленный соответственно в 2, 4, 8, 16, и 32 раза). В каждую лунку добавлено 5 мкл соответствующего раствора.

ет либо об отсутствии во фракции иммуноглобулинов G, специфичных к ДБМ АТ, либо о крайне низком содержании последних ($<1\text{мкг}$). В дальнейшем мы планируем применять более чувствительные методы анализа, что позволит прийти к более определенному заключению в отношении рассматриваемого вопроса.

БЛАГОДАРНОСТЬ. Авторы выражают благодарность своему научному руководителю, зав. лаб. макромолекулярных комплексов ИМБ НАН РА, д.б.н. А. Бояджян и клин. ординатору кафедры психиатрии ЕрГМУ А. Согояну.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Roy B.F. et al. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, v. 83, N₂₂, p. 8739-8743.
- [2] Roy B.F. et al. — Arch. Gen. Psychiatry, 1988, v. 45, N₁₀, p. 924-928.
- [3] Колякина Г.И., Секурина Т.П. — Итоги науки и техники (Иммунология), т. 25. М.: ВИНТИ, 1990, с. 169-198.
- [4] Крыжановский Г.Н., Магаева С.В. — Итоги науки и техники (Иммунология), т. 25. М.: ВИНТИ, 1990, с. 121-168.
- [5] Ganguli R. et al. — Ann. Med., 1993, v. 25, N₅, p. 489-496.
- [6] Levy-Soussan P. et al. — J. Psychiatry Neurosci. 1996, v. 21, N₂, p. 89-95.
- [7] Вилков Г.А. и др. — Ж. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова, 1983, т. 83, N₉, с. 1395-1398.
- [8] Вилков Г.А. и др. — Ж. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова, 1987, т. 87, N₅, с. 735-738.
- [9] Погосян А.С. и др. — Бюллетень эксперимент. биологии и медицины, 1991, т. CXII, N₈, с. 133-134.
- [10] Бояджян А.С. и др. — Нейрохимия, 1992, N₃₋₄, с. 11-17.
- [11] Arinami T. et al. — Schizophr. Res., 1998, v. 32, N₂, p. 81-86.
- [12] Nimgaonkar V.L. et al. — Schizophr. Res., 1997, v. 23, N₁, p. 81-86.
- [13] Jacobsen L.K. et al. — Psychiatry Res., 1998, v. 78, N₃, p. 123-132.
- [14] Jonsson E.G. et al. — Schizophr. Res., 1998, v. 29, N₃, p. 293-296.
- [15] Sasaki T. et al. — Am. J. Psychiatry, 1999, v. 156, N₆, p. 771-773.
- [16] Hawi Z. et al. — Am. J. Med. Genet., 1999, v. 88, N₄, p. 422-429.
- [17] Малян К. Показатели нейро-иммунного статуса организма в этиопатогенезе шизофрении. — Автореф... к.б.н. Ереван, 2000, 27 с.
- [18] Poynt A. Основы иммунологии. М.: Мир, 1991, 328 с.
- [19] Lowry O.H. et al. — J. Biol. Chem., 1951, v. 193, N₁, p. 265-275.
- [20] Ouchterlony D. — Handbook of Experimental Immunology. Oxford and Edinburgh: Blackwell Sci. Publ., 1967, 655 pp.
- [21] Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. М.: Наука, 1983, 304 с.
- [22] Frigon R.P., Stone R.A. — J. Biol. Chem., 1978, v. 253, N₃, p. 6780-6786.
- [23] Davis B.J. — Ann. NY. Acad. Sci., 1964, v. 121, N₃, p. 404-427.
- [24] Stewart J. Autoimmunity and idiotype networks. — Autoimmunity: physiology and disease. / Coutinho A., Kazatchkine D., eds. New-York: Wiley-Liss, 1994, p. 229-240.

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ И ИХ ПАТОГЕННЫЕ СУБПОПУЛЯЦИИ ПРИ ПЕРИОДИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Мкртчян Г.

Институт молекулярной биологии НАН РА, лаборатория макромолекулярных комплексов

В настоящей работе представлены результаты экспериментов по определению общего содержания циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови у больных с периодической болезнью и оценке содержания патогенных субфракций в общей популяции этих комплексов.

Մկրտչյան Գ., Շրջանառող իմունային համալիրները և նրանց ախտածին ենթաօղակները ցիրկուլիւրող իմունային համալիրների ընդհանուր և ախտածին ենթաօղակների պարունակը: Տվյալ աշխատանքում պարզերակված իմունային համալիրները տառապող անձանց արյան շրջանառության հեղուկում և շրջանառող իմունային կոմպլեքսների ընդհանուր բաժանվածքները և նրանցում ախտածին ենթաօղակայինների պարունակությունը:

Mkrtychyan G. Circulating immune complexes and their pathogenic subpopulations under familial Mediterranean fever. In the present work the results of experiments on determination of the total content and their pathogenic subpopulations' constituents in the blood serum of the patients with familial Mediterranean fever are presented.

ВВЕДЕНИЕ. При многих патологиях, по сравнению с нормой, наблюдается повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в крови. В ряде случаев это является результатом длительного воздействия антигенов. Длительная циркуляция в организме ЦИК даже при их незначительном повышении приводит к формированию их тканевых отложений, повреждению тканей и дальнейшему стимулированию развития иммунных реакций в организме путем активации комплемента [1-4].

Настоящая работа представляет ряд экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что повышенный уровень ЦИК является одним из патогенетических критериев периодической болезни (ПБ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Субъектом исследования являлись больные ПБ (на стадии обострения) и здоровые лица (табл. 1).

Объектом исследования являлась сыворотка крови вышеотмеченных лиц. Клинический материал был получен из Клинической больницы N1 им. М. Гераци МЗ РА. Концентрацию ЦИК определяли спектрофотометрическим методом по Digeon et al. [5] и выражали в единицах оптической плотности при 280 нм (A_{280}). Оценку содержания патогенных субфракций в общей популяции ЦИК проводили по методу Константиновой и др. [6], основанному на определении так называемого коэффициента размера ЦИК: $K=K_2/K_1$, где K_1 и K_2 — концентрации ЦИК, осажденных соответственно 3% и 4% полиэтиленгликолем (бкДа; ПЭГ). На основе диаграммной плоскост-