



УДК 576.8.097.2+612.82+616.834

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ВИДОНЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВЫХ АНТИГЕНОВ
МОЗГА, ЯВЛЯЮЩИХСЯ МИШЕНЯМИ АУТОАНТИТЕЛ
ПРИ НЕКОТОРЫХ НЕРВНО-ПСИХИЧЕСКИХ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА**

ПОЛЕТАЕВ А. Б., СЕЛИФАНОВА О. П.

Институт нормальной физиологии им. П. К. Анохина АМН СССР, Москва

С помощью твердофазного иммуноферментного анализа и тест-системы антигенов (АГ; фракции тритон-мочевинного экстракта мозга крыс, разделенного на 12 зон отличающихся по значениям pI составляющих их белков) в крови больных шизофренией, эпилепсией и рассеянным склерозом обнаружено наличие «антимозговых» аутоантител (а-АТ), спектры конкретной АГ направленности которых были специфичны для каждой из исследовавшихся нозологических форм. Наряду с этим, в крови 75—80% больных нервно-психическими заболеваниями, независимо от диагноза, выявлялись а-АТ к мозгоспецифическим белкам группы S-100. С помощью иммобилизованных на протени А-сефарозе (ковалентная сшивка) «антимозговых» а-АТ, иммуноаффинно полученных из крови больных шизофренией и эпилепсией, и экстрактов мозга крыс было выделено соответственно 11 и 5 белков, специфически связывающихся «шизофреническими» и «эпилептическими» а-АТ. Получены данные об их значениях pI и величине M_r . Отмечено, что АГ-мишенями при шизофрении являются, преимущественно, ядерные, а при эпилепсии—цитоплазматические белки нервных клеток. Данные иммуносорбции очищенных а-АТ на колонках с белками печеночных экстрактов свидетельствуют о выраженной органной (тканевой) специфичности направленности «антимозговых» а-АТ при шизофрении и эпилепсии.

В свете представлений о наличии «антимозговых» а-АТ в крови больных шизофренией, эпилепсией, многими формами деменций, демиелинизирующими и другими формами нервно-психических заболеваний [1, 2] и появлении экспериментальных данных о возможной патогенетической роли этих а-АТ [3, 4], вопросы о конкретной АГ направленности соответствующих а-АТ становятся весьма актуальными. Очевидно, что от их решения будет зависеть возможность разработки новых инструментальных методов экспресс-диагностики (в том числе «превентивной», доклинической диагностики) и способов лечения нервно-психических заболеваний, основанных на устранении из кровотока и/или специфическом подавлении синтеза аутоагрессивных а-АТ [1]. Кроме того, физико-химическая и функциональная идентификация отдельных

белков и групп белков нервной ткани, аутоиммунное поражение которых сопровождается развитием определенных психоневрологических симптомов, будет способствовать пониманию биологической роли соответствующих белков в обеспечении нормального функционирования нейрофизиологических механизмов.

В нашей работе была предпринята попытка определения характеристической АГ направленности «антимозговых» а-АТ, присутствующих в крови больных шизофренией, эпилепсией и рассеянным склерозом, а также получения сведений о количестве, величине M_r и значениях pI видонеспецифических белковых АГ-мишеней «шизофренических» и «эпилептических» а-АТ.

Методы исследования

Приготовление тест-системы АГ. Двух наркотизированных взрослых беспородных белых крыс перфузировали транскардинально 150—200 мл 0,15 М NaCl с 5 мМ ЭДТА- Na_3 , извлекали отмытый головной мозг, гомогенизировали его в 12 мл 6 М деионизированной мочевины с 0,05% тритона X-100, центрифугировали 15 мин при 20000 g и белки полученного экстракта после 3-кратного разбавления H_2O подвергали ИЭФ в гранулированном геле (2-х мм слой геля «ультродекс» с 3% амфолинов днапозона 3,5—10; «ЛКВ», Швеция) 18 ч при мощности 6 Вт и напряжении 100—2000 В. После завершения фокусировки и промера pH в геле контактным электродом («ЛКВ», Швеция) собирали зоны геля, имеющие значения pH: менее 4,0, 4—4,5, 4,5—5, 5—5,5, 5,5—6, 6—6,5, 6,5—7, 7—7,5, 7,5—8, 8—8,5, 8,5—9 и выше 9. Таким образом были получены 12 зон тест-системы. Помимо указанных зон в тест-системе дополнительно включали мозгоспецифические белки группы S-100, полученные, как описано ранее [5], основным белком миелина и кальмодулин (два последних—коммерческие препараты «Calbiochem», Швейцария). АГ, разделенные ИЭФ и элюированные из геля деионизированной водой, а также водные растворы индивидуальных белков разливали по аликвотам и хранили до использования при -40° .

Проведение твердофазного иммуноферментного анализа. Все АГ разводили 0,1 М карбонатным буфером pH 9,0 с 0,1%-ным NaN_3 до концентрации белка 10 мкг/мл и вносили в лунки 96-луночных плоскодонных полистироловых планшетов «Dynatech», Швейцария. После 12—16 ч сорбции при комнатной температуре лунки отмывали от избытка АГ и вносили в них по 100 мкл проб сывороток крови больных шизофренией (шубобразная параноидная форма), эпилепсией (генерализованная форма с частыми судорожными припадками), рассеянным склерозом или соматически и неврологически здоровых лиц. Все сыворотки использовали в разведениях 1:100 и инкубировали в лунках с АГ 16 ч при комнатной температуре. Затем лунки вновь отмывали и вносили в них по 100 мкл конъюгатов пероксидазы хрена с козьими иммуноглобулинами к IgG человека («La Miranda», США), разведенных 1:1000. Спустя 1 ч лунки отмывали и вносили в них по 100 мкл раствора хромагена (1 мг/мл о-фенилендиамина, «Sigma», США), на

0,01 М фосфатном буфере рН 6,5 с 0,01% H_2O_2). Спустя 30 мин инкубации в темноте, интенсивность реакции в лунках регистрировали фотометрически с помощью ридера МР-580 («Dynatech», Швейцария), на длине волны 405 нм. Для разведений иммунореагентов и отмывки лунок применяли 0,15 М раствор NaCl с 0,1% NaN_3 и 0,5% твин-20. Отмывки производили с помощью прибора «Autowash» («Flowlabs», Великобритания) 3-кратно после каждого иммунореагента и 6-кратно — перед внесением в лунки хромагена. Постановку реакций повторяли трижды и учитывали средний результат. Всего было проанализировано 50 проб сывороток крови больных шизофренией, 50 — больных эпилепсией и 20 — больных рассеянным склерозом. Полученные данные сравнивали с усредненными результатами тестирования 55 проб сывороток крови клинически здоровых лиц, подвергавшихся плановым диспансерным обследованиям. Значения реакций каждой пробы сыворотки с каждой из зон тест-системы выражали в усл. ед. иммунореактивности (УЕР), значение которых определяли в процентах по отношению к среднему уровню реакции данной пробы сыворотки со всеми АГ тест-системы. Расчет производили по формуле:

$$\text{УЕР} = N \cdot \frac{15}{\sum (n_1 + n_2 + \dots + n_{15})} \cdot 100\%,$$

где $n_1, n_2 \dots n_{15}$ — интенсивность реакции (в единицах оптической плотности на 405 нм) данной пробы сыворотки с зонами 1... 15 тест-системы, N — интенсивность реакции (в единицах оптической плотности) данной пробы с данной конкретной зоной тест-системы антигенов.

Такой способ представления и анализа данных был принят для устранения возможных артефактных влияний, обусловленных техническими причинами (использованием разных партий планшетов для иммуноферментного анализа, разных партий вторичных антител, меченных пероксидазой, разных партий субстратов и т. п.).

Получение антительных иммуносорбентов: выделение АГ-мишеней, связывающихся а-АТ при шизофрении и эпилепсии. После проведения иммуноферментного анализа объединенные образцы 50 сывороток крови больных шизофренией и 50 больных эпилепсией пропускали через колонки носителей, содержащих по 300 мг суммарных белков мозга крыс, иммобилизованных на CNB-сефарозе («Pharmacia», Швеция), интенсивно отмывали от несвязанного материала 0,15 М NaCl с 0,1% тритона X-100 (50 объемов) и элюировали специфически связавшиеся с колонкой «антимозговые» а-АТ с помощью 3 М NaSCN (сразу же освобождая АТ от элюирующего агента с помощью гель-фильтрации на последовательно подсоединенной колонке сефадекса G-25). Полученные фракции «антимозговых» а-АТ сывороток крови больных шизофренией и эпилепсией концентрировали ультрафильтрацией до 5 мг/мл и иммобилизовывали на протени А-сефарозе («La Miranda», США) в результате рециркуляции а-АТ через колонки указанного сорбента (16 ч при 4°), отмывки колонок от несвязанного материала и ковалентной сшивки а-АТ с протенином А с помощью 0,5%-ного глутаральдегида (1 ч

при комнатной температуре с последующей отмывкой 0,5 М NaCl). Сходным образом были получены антительные сорбенты, содержащие а-АТ к белкам ядер клеток мозга (на основе «антимозговых» а-АТ крови больных шизофренией, выделенных на иммобилизованных белках экстракта субклеточной фракции ядер мозга крыс). Полученные иммуносорбенты (по 2 мл геля) загружали в микроколонки (готовили из пастеровских пипеток), соединяли их последовательно, присоединяли преколонку 10-кратно большего объема, содержащую иммобилизованные нефракционированные γ -глобулины сывороток крови здоровых людей и через полученную систему колонок пропускали экстракты мозга 5 перфузированных крыс, приготовленные на 0,1 М фосфатном буфере, pH 7,5 с 0,1% тритона X-100, 2 мМ ЭДТА-Na₃, 0,1 мМ фенилметилсульфанилфторида и 10 мМ йодацетамид. После экстенсивной отмывки тем же буфером колонки расстыковывали и с каждой элюировали сорбированные белки, используя 0,5 мл 3 М NaSCN. Элюирующий агент устранили гель-фильтрацией на колонке сефадекса G-25, уравновешенной 0,05 М формиат-аммонийным буфером, pH 7,5. Белки, снятые с колонок, гидрофильно высушивали и исследовали их с помощью электрофореза и ИЭФ. Процедура часть этого раздела работы иллюстрируется на схеме.

Схема получения антимозговых аутоантител из сывороток крови больных эпилепсией и шизофренией (I этап), их иммобилизации на протеин А-сефарозе (II этап) и применения антительных сорбентов для выделения АГ-мишеней (III этап).

I этап

Объединение сывороток больных эпилепсией (шизофренией)

Пропускание сывороток через колонки с иммобилизованными суммарными белками экстракта мозга (экстракта ядер мозга)

Отмывка колонок 50 объемами 0,15 М NaCl с 0,1% тритона X-100

Элюция суммарной фракции антимозговых «эпилептических» («шизофренических») а-АТ 3 М NaSCN

Удаление NaSCN гель-фильтрацией на G-25

Концентрирование а-АТ ультрафильтрацией на фильтре PS1M („Millipore Inc.“, США)

II этап

Рециркуляция (16 ч, 4°) полученных «эпилептических» («шизофренических») а-АТ через 2-мл колонки протеин А-сефарозы

Отмывка 0,15 М NaCl

Инкубация геля сефароза-протеин а-АТ 1 ч с 0,5% глутаральдегида

Отмывка 0,5 М NaCl

III этап

Получение суммарного экстракта перфузированного мозга 5 крыс

Пропускание экстракта через систему последовательно соединенных колонок:

а — преколонка с иммобилизованными γ -глобулинами сыворотки здоровых людей

б и в — колонки с иммобилизованными «эпилептическими» и «шизофреническими» антимозговыми а-АТ

Отмывка системы колонок (0,1 М фосфатный буфер pH 7,0 с 0,1% тритона X-100, 2 мМ ЭДТА-Na₃, 0,1 мМ ФМСФ, 10 мМ йодацетамид)

Расстыковка колонок.

Раздельная элюция сорбированных белков 3 М NaSCN. Обессоливание; гидрофильное высушивание десорбированных АГ-мишеней

Аналитическое ИЭФ и определение величины M_r белковых антигенов с помощью электрофореза в градиенте ПААГ. Полученные белки растворяли в минимальном объеме 6 М деионизированной мочевины с 0,01% тритона X-100. Электрофоретическое разделение материалов вели в градиентном (5—30% сшивки) ПААГ толщиной 1 мм в нативных условиях при использовании в качестве электродного раствора 0,01 М борат-глицинового буфера, pH 8,5. Гели готовили согласно описанию [6]. ИЭФ материалов проводили на коммерческих ПААГ-пластинах с амфолинами диапазона 3,5—10 («LKB», Швеция) при использовании фитилей, смоченных 1 М NaOH для катода и 0,1 М H_2SO_4 для анода. Электрофоретическое разделение и ИЭФ проводили на приборах GE 2/4 («Pharmacia», Швеция) и Multifor («LKB», Швеция) соответственно. В качестве маркеров для определения величины M_r и изоэлектрической точки использовали соответствующие наборы белковых свидетелей производства «Pharmacia» (Швеция).

Детектирование разделенных белков проводили по следующей схеме. Сначала гели с разделенными белками фиксировали 30 мин в 10% ТХУ, отмывали 5 мин проточной водой, окрашивали 30 мин 0,5% Кумасси R-250 в 7%-ной уксусной кислоте с 50% этанола, отмывали 5-кратно 7%-ной уксусной кислотой с 50%-ным этанолом и 0,5% $CuSO_4$ (окраску и отмывку вели при 70°), и зарисовывали расположение видимых полос. Затем гели последовательно инкубировали в 15%-ном растворе метанола (30 мин), переносили в 5%-ный раствор глутаральдегида (на 30 мин), 3-кратно отмывали чередованием деионизированной воды и 15% метанола (инкубации по 15 мин) и на 2 ч заливали гели 12 mM раствором $AgNO_3$. После ополаскивания в деионизированной воде пластины помещали в проявитель (0,76 М NaOH с 23 mM $NaBH_4$ и 7,5 мл/л 40%-ного формалина) и выдерживали в нем до появления интенсивной черно-коричневой окраски белковых зон. Дальнейшее развитие окраски останавливали помещением гелей в 7%-ную уксусную кислоту с 50% этанола и 0,5% $CuSO_4$. Следует отметить, что предварительная фиксация гелей в ТХУ и окраска их Кумасси в 5—10 раз повышала чувствительность последующей окраски белковых зон нитратом серебра. Описанный метод позволял выявлять зоны, содержащие менее 1 нг белка (по данным детекции стандартных разведений бычьего сывороточного альбумина).

Результаты и обсуждение

Обобщенные результаты иммуноферментного тестирования проб сывороток крови больных шизофренией, эпилепсией и рассеянным склерозом при сравнении их с данными тестирования сывороток здоровых лиц позволяют отметить характерные для каждого из заболеваний зоны пидонеспецифичных АГ, к которым наблюдается продукция а-АТ (рисунки). Так, для шизофрении это ряд зон слабокислых белков, фокусирующихся в диапазоне pH 5,0—6,5, для эпилепсии—кислые и уме-

ренно кислые белки (с pI 4—4,5 и 4,5—5), а для рассеянного склероза—слабощелочные белки и белки с резко выраженными катионными свойствами (pI 7—7,5 и pI выше 9,0).

Помимо отмеченных, характерных для каждого из исследованных заболеваний зон повышенной иммунореактивности, обращает на себя внимание наличие повышенных титров а-АТ к глияльным мозгоспецифическим белкам группы S-100, но не основному белку миелина или близкому по свойствам к S-100 кальмодулину, имеющему, преимущественно, нейрональную локализацию [7]. Были выявлены а-АТ такой направленности у 75—80% больных независимо от формы заболевания. Отметим, что данные о наличии а-АТ к белкам S-100 у больных самыми разными нервно-психическими заболеваниями были получены также югославскими исследователями, использовавшими принципиально иной метод детекции—кожно-аллергические пробы [8]. Эти данные позволяют предполагать причинную связь самых разных форм психо- и невропатологии с нарушениями метаболизма белков S-100 и могут рассматриваться как косвенное свидетельство в пользу гипотез о ведущей роли поражений глияльных клеток в патогенезе различных заболеваний мозга [9].

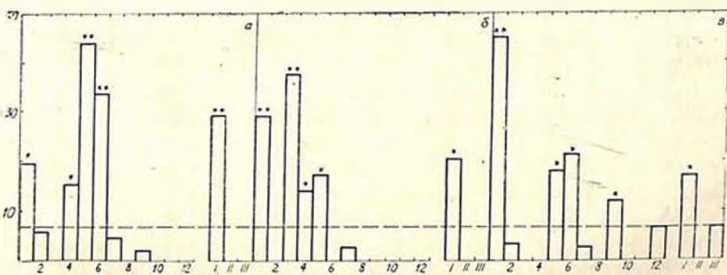


Рис. Спектр антигенной направленности видонеспецифических антимозговых а-АТ, выявляемых в сыворотках крови больных шизофренией (а), эпилепсией (б), рассеянным склерозом (в). По оси абсцисс—фракции: (зоны) 1—12 белков со значениями pI соответственно 3,0—9,5, а также белки S-100 (I), кальмодулин (II), основной белок миелина (III), с которыми проходило тестирование проб сывороток. По оси ординат—уровень относительной иммунореактивности аутоантител (в усл. ед. иммунореактивности в виде разности между данными анализа проб сывороток здоровых и больных) с антигенами тест-системы (уровень иммунореактивности здоровых лиц с соответствующими антигенами принят за 0)

С целью выявления индивидуальных АГ-мишеней (помимо S-100) было предпринято их иммуноаффинное выделение из белкового экстракта суммарного мозга крыс и субклеточной фракции ядер. В ходе проведения подготовительного этапа (выделение а-АТ из сывороток крови больных) был обнаружен интересный факт преимущественной сорбции «антимозговых» а-АТ больных шизофренией на колонках с ядерными

АГ: в экспериментах по насыщению аффинных сорбентов на равные по количеству иммобилизованных белков колонки с белками ядер сорбировалось ≈ 10 -кратное большее количество а-АТ, чем на колонки с суммарными белками экстракта мозга. В свою очередь, иммобилизованные а-АТ больных шизофренией сорбировали, преимущественно, белки ядерных экстрактов. Подобных феноменов не отмечалось при работе с сыворотками больных эпилепсией и преколонкой, содержащей γ -глобулины из крови здоровых людей. Эти данные подтверждают прежние иммуногистохимические наблюдения об антиядерной направленности «антимозговых» а-АТ при шизофрении [10].

Таблица 1

Изоэлектрические точки белковых антиген-мишеней аутоантител крови больных шизофренией и эпилепсией

Значения pI элюируемых белков

Носитель с неиммунными γ -глобулинами (преколонка)	Носитель с АТ больных шизофренией	Носитель с АТ больных эпилепсией
4,30	4,30	—
4,55	—	—
5,00	—	—
5,15	—	—
5,20	—	—
—	5,25	—
5,30	—	—
—	5,50	5,50
—	5,57	—
—	—	5,65
5,75	5,75	—
—	6,00	—
—	6,15	—
6,20	6,20	6,20
—	6,25	—
6,27	—	—
—	6,33	—
—	6,55	6,55
—	6,75	—
6,95	—	—
7,25	7,25	—
—	7,50	—
—	—	7,60
7,70	—	—
—	7,85	—
—	—	8,05
8,17	—	—
8,20	—	—
8,35	—	—
—	—	8,50

Таблица 2

Величины M_r белковых антиген-мишеней аутоантител крови больных шизофренией и эпилепсией

M_r элюируемых белков (в кД)

Носитель с неиммунными γ -глобулинами (преколонка)	Носитель с АТ больных шизофренией	Носитель с АТ больных эпилепсией
14	14	14
—	—	19
—	—	23
—	—	27
29	—	—
—	31	—
—	34	—
44	—	—
—	46	—
—	47	47
54	54	—
—	56	—
—	62	—
63	—	—
—	67	—
74	74	—
—	100	—
—	300	—
>300	>300	>300

Данные о величине M_r и изоэлектрических точках белковых АГ-мишеней при шизофрении и эпилепсии, а также о характеристиках белков сорбируемых преколонкой, представлены в табл. 1 и 2. При их анализе обращает на себя внимание общее соответствие между значениями

р) индивидуальных белковых АГ и характерными для шизофрении и эпилепсии зонами повышенной иммунореактивности тест-системы, выявленными с помощью иммуноферментного анализа. Это подтверждает возможность использования данной тест-системы либо ее модификаций в качестве основы для разработки инструментальных экспресс-диагностических методов, пригодных для клинического использования и массовых диспансерных обследований.

Отметим, что среди индивидуальных АГ-мишеней а-АТ больных шизофренией и эпилепсией нам удалось обнаружить соответственно 11 и 5 белков (за вычетом белков, характеристики которых совпадали с сорбировавшимися на преколонку). При этом общий состав АГ-мишеней при данных заболеваниях был существенно различным, что, вероятно, отражает различия в молекулярных изменениях в мозгу, приводящих к возникновению или сопровождающих развитие шизофрении и эпилепсии. Помимо физико-химических характеристик АГ-мишеней следует отметить тот факт, что большая часть обнаруженных белков имела признаки органной (тканевой) специфичности. Это заключение было сделано нами на основании экспериментов по изучению сорбции на иммобилизованных белках экстрактов печени и крови крыс «антимозговых» а-АТ, выделенных из крови больных с использованием колонок с белками мозга, так как было обнаружено, что с сорбентами, содержащими белки печени и крови крыс связывается не более 10—15% а-АТ крови больных шизофренией и эпилепсией, сорбирующихся на колонки с белками мозга, а 85—90% общей популяции а-АТ проходит через сорбент без задержки.

Обнаруженные и описанные 11 и 5 белков, являющихся АГ-мишенями «антимозговых» а-АТ при шизофрении и эпилепсии, вероятно, не исчерпывают всего спектра белков мозга человека, являющихся объектами аутоиммунных процессов при указанных заболеваниях. Это обусловлено тем, что, во-первых, помимо видонеспецифичных АГ-мишеней, общих для мозга человека и других млекопитающих, мишенями а-АТ могут быть и видоспецифичные белки, связанные с молекулярным обеспечением структурно-функциональных особенностей, присущих только мозгу человека. Используемые нами подходы не позволяли детектировать наличие или отсутствие таких видоспецифичных АГ-мишеней; во-вторых, следует иметь в виду, что, используя в качестве основного инструмента иммобилизованные «антимозговые» а-АТ, выделенные из небольших по объему проб сывороток крови множества больных шизофренией и эпилепсией, мы обнаружили и проанализировали свойства лишь тех видонеспецифических АГ-мишеней, а-АТ к которым присутствовали в крови всех или значительной части больных одной и другой нозологической формой. Выделение отдельных АГ, поражаемых а-АТ лишь у индивидуальных больных, возможно, имело место в наших экспериментах, однако количество этих белков оказалось за пределами разрешения методов их детекции. Подтвердить или опровергнуть эти предположения смогут дальнейшие углубленные исследования, однако обнаружение

того факта, что мишенями аутоиммунных процессов при шизофрении и эпилепсии являются не сотни или тысячи, а гораздо меньшее число белков, внушает оптимизм в плане исследования соответствующих процессов и разработки способов их коррекции.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF SPECIES-NONSPECIFIC BRAIN PROTEIN ANTIGENS—TARGETS FOR AUTOANTIBODIES IN SOME NEUROLOGICAL DISORDERS

POLETAYEV A. B., SELIFANOVA O. P.

P. K. Anokhin Institute of Normal Physiology, USSR Acad. Med. Sci., Moscow

„Anti-brain“ autoantibodies (a-AT) specific for each pathology have been detected in the blood of patients suffering from schizophrenia, epilepsy and multiple sclerosis with the aid of solid-phase immunoenzyme analysis and test system of antigens. In addition to them, a-AT to brain-specific S-100 proteins have been detected in the blood of 70–80% of patients with various neurological disorders. With the aid of anti-brain a-AB, immobilized on protein A-Sepharose, proteins specifically binding „schizophrenic“ and „Epileptic“ a-AB have been isolated from rat brain extracts—11 and 5 proteins respectively. Their M_r and pI values have been determined. It's emphasized that in the case of schizophrenia antigen targets are nuclear proteins, whereas in epilepsy—cytoplasmic ones. Immunosorbption data point to a tissue-specificity of anti-brain a-AB in schizophrenia and epilepsy.

ЛИТЕРАТУРА

1. Полетаев А. Б., Шерстнев В. В., Долгов О. Н. Вестн. Акад. мед. наук СССР, № 2, с. 53–55, 1982.
2. Семенов С. Ф., Семенова К. А. Иммунобиологические основы патогенеза нервных и психических заболеваний. М., Медицина, 1984.
3. Полетаев А. Б. Изменение биосинтеза макромолекул мозга животных под влиянием антител к белкам S-100, циркулирующих в общем кровотоке. Ден. ВИНТИ 26, 03, 1986, № 2074-B.
4. Бурбаева Г. Ш., Каменский А. А., Ключиник Т. П., Нинатов С. А., Зайко С. А., Андросова А. В. Журн. высш. нерв. деят-сти, т. 35, № 4, с. 747–752. 1985.
5. Беляев С. В., Куприяненко Т. И., Лысова Н. П., Полетаев А. Б. Биохимия, т. 46, № 12, с. 2193–2201, 1981.
6. Gel-electrophoresis. Principles and methods. Pharmacia guidebook, Uppsala, 1984.
7. Donato R., Battaglia F., Cocchia D. J. Neurochem., v. 47, № 2, p. 350–354, 1986.
8. Vernadakis A. Federat. Proc., 34; № 1, p. 89–95, 1975.
9. Jankovic B. D., Jakulic S., Horvat J. Biol. Psychiat., v. 17, № 6, p. 687–698, 1982.
10. Heath R. G., Krupp I. M. Arch. Gen. Psychiat., v. 16, № 1, p. 1–9, 1967.

Поступила 12. I. 1987