



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ• Экспериментальные и теоретические статьи•
•Experimental and Theoretical articles•

Биол. журн. Армении, 1 (61), 2009

КОМПЛЕМЕНТ КАК ПАТОГЕННЫЙ ФАКТОР ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

Л.П. ОГАНЕСЯН, Г.М. МКРТЧЯН, С.Г. СУКИАСЯН¹,
М.К. АМБАРЦУМЯН, Г.В. АВЕТИСЯН, А.С. БОЯДЖЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА, E-mail: imb@sci.am
¹Стресс Центр МТЦВ РА, E-mail: samsu57@yahoo.com

Проведена оценка функционального состояния важнейшего медиатора иммунного ответа организма, системы комплемента при посттравматическом стрессе. Согласно полученным данным, патогенез ПТСР характеризуется гиперактивацией классического и терминального путей комплемента и гипоактивацией его альтернативного пути.

Система комплемента - посттравматический стресс

Դատարվել է իմունային համակարգի կարևորագույն միջնորդի՝ կոմպլեմենտի համակարգի, ֆունկցիոնալ վիճակի գնահատում հետվնասվածքային սթրեսի ժամանակ: Համաձայն ստացված արդյունքների, հետվնասվածքային սթրեսը բնութագրվում է կոմպլեմենտի դասական ու տերմինալ ուղիների գերակտիվացմամբ և այլընտրանքային ուղու հիպոակտիվացմամբ:

Կոմպլեմենտի համակարգ - հետվնասվածքային սթրես

The assessment of the functional state of the complement system in posttraumatic stress has been performed. According to the data obtained, posttraumatic stress is characterised by hyperactivation of the complement classical and terminal pathways and hypoactivation of the complement alternative pathway.

Complement system - posttraumatic stress

Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) относится к группе “тревно-депрессивных расстройств” (код DSM-IV-TR: 309.81; код МКБ-10: F43.1, F62.0). Заболевание возникает как затянувшийся ответ на событие исключительно угрожающего или катастрофического характера (стихийные бедствия, катастрофы, войны, террористические акты, жестокое физическое насилие и т.п.), вызывающее сильный страх, чувство ужаса и беспомощности по отношению к происходящему [6, 11, 12, 19, 20].

Для больных ПТСР характерны тяжелое эмоциональное состояние, депрессия, снижение сопротивляемости организма, способности к усвоению информации, повышенная склонность к алкоголю, наркотикам и суициду [6, 11, 12, 19, 20].

Вопросы, касающиеся молекулярных патомеханизмов генерации и развития ПТСР, до настоящего времени остаются открытыми, соответственно отсутствуют эффективные методы лечения этого заболевания. Результаты ряда клинических и экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что в этиопатогенез ПТСР вовлечены как факторы окружающей среды, так и генетические факторы [9], и что нарушения на уровне иммунного статуса организма могут в значительной степени быть ответственны за развитие этого заболевания [1, 23, 24].

Цель настоящей работы состояла в изучении роли системы комплемента - важнейшего медиатора иммунного ответа, связующего звена врожденного и приобретенного иммунитета в патогенезе ПТСР. Комплемент является ключевым звеном, медиатором и индуктором многих клеточных и гуморальных звеньев и механизмов, формирующих иммунный ответ организма. Активация комплемента по классическому, альтернативному и лектиновому путям приводит к генерации опсонинов, анафилатоксинов и хемотаксинов, медиаторов воспаления и апоптоза [5, 17, 21]. Нарушения функциональной активности системы комплемента наблюдаются при многих заболеваниях человека [15, 18, 22], включая психические заболевания [3, 10, 14, 25] и физиологический стресс [4, 13].

В настоящей работе мы изучали состояние функциональной активности системы комплемента при ПТСР по сравнению с нормой. Для этого в сыворотке крови больных ПТСР и здоровых лиц определена гемолитическая активность классического и альтернативного путей комплемента, а также его отдельных компонентов - C2, C3, C4, фактора В и фактора D. C2 и C4 являются основными компонентами классического пути, факторы В и D - основными компонентами альтернативного пути, а C3 представляет собой иницирующее звено альтернативного пути и одновременно является центром конвергации всех трех путей комплемента и начальным звеном его терминального пути [5, 17, 21].

Материал и методика. *Субъекты исследования.* В исследование были вовлечены больные ПТСР (ветераны Карабахской войны: n=31; 27 мужчин, 4 женщины; средний возраст ($M \pm m$) $42 \pm 4,6$ лет, давность заболевания – 13 лет). Все больные госпитализировались в Стресс центре МТСП РА. Забор крови у них проводили сразу по поступлении, до лечения и приема лекарственных средств. Больных диагностировали на основе “Structured clinical interview for diagnostic and statistical manual of mental disorders” (DSM-IV (SCID-I)) [8] и “Clinician administered PTSD scale” (CAPS) [2]. Контрольную группу составили соответствующие больным по возрасту и полу физически и психически здоровые добровольцы (n=31). Никто из субъектов исследования не страдал иммунными, сердечно-сосудистыми, церебрально-сосудистыми, метаболическими, онкологическими или почечными заболеваниями. В период взятия крови они не болели инфекционными заболеваниями и, как минимум, за 12 месяцев до взятия крови не использовали противовоспалительные, антигистаминовые или иммуносупрессорные препараты и не подвергались хирургическим вмешательствам. Все субъекты дали согласие на забор 5 мл венозной крови для проведения настоящего исследования. Исследование было одобрено Комитетом по этике Института молекулярной биологии НАН РА.

Забор крови и получение образцов сыворотки.

Забор крови проводили натошак пункцией из локтевой вены в 9:00-10:00 ч утра. Образцы крови помещали на лед и через 60 мин подвергали центрифугированию (3000g x 15мин, 4^o) для отделения сыворотки от форменных элементов.

Определение гемолитической активности

Гемолитическую активность классического и альтернативного путей комплемента (CH50 и AH50 соответственно), а также его компонентов, C2 (C2H50), C3 (C3H50), C4 (C4H50), фактора В (FBH50) и фактора D (FDH50) в сыворотке крови больных и здоровых лиц определяли как описано ранее [7]. При измерении AH50, FDH50 и FBH50 в качестве клеток-мишеней использовали эритроциты кролика, а при измерении CH50, C2H50, C3H50 и C4H50 – бараньи эритроциты, сенсibilизированные специфичными к ним кроличьими антителами. Гемолитическую активность выражали в единицах на мл сыворотки. Одна единица гемолитической активности – это количество сыворотки, которое вызывает 50%-ный гемолиз эритроцитов в данной инкубационной среде. Бараньи эритроциты, сенсibilизированные специфичными к ним кроличьими антителами (5x10⁸ клеток/мл), и кроличьи эритроциты (1x10⁸ клеток/мл) готовили как описано ранее [7]. Приготовление истощенных по компонентам комплемента сывороток, используемых при определении гемолитической активности отдельных компонентов комплемента, проводили согласно ранее разработанным методам [16]; эффективность этих процедур, тестируемая твердофазным иммуноферментным анализом, составляла $\geq 95\%$.

Статистический анализ данных.

Данные анализировали непарным двухконцевым t-тестом Стьюдента и определением коэффициента корреляции Пирсона (r). Значения $p < 0,05$ принимались как статистически достоверные.

Результаты и обсуждение. Согласно полученным данным, средние величины CH50, C2H50 и C4H50 в сыворотке крови больных ПТСП в 2,1, 1,2 и 1,6 раза достоверно превышали таковые группы здоровых лиц. С другой стороны, средние значения C3H50, AH50, FBH50 и FDH50 в сыворотке крови больных ПТСП были в 1,7, 1,5, 1,6 и 2,3 раза ниже, чем в случае аналогичных параметров здоровых лиц. Результаты среднестатистического анализа полученных данных представлены в табл. 1.

Корреляционный анализ показал, что у больных ПТСП C3H50 достоверно коррелирует с C2H50 и C4H50 ($r=0.72$, $p<0.002$ и $r=0.5$, $p<0.05$ соответственно), а AH50 – с C3H50 ($r=0.57$, $p<0.027$). Других достоверных корреляций между определенными параметрами при ПТСП нами не было выявлено. В группе здоровых лиц не наблюдалась какая-либо корреляция между отмеченными параметрами.

Система комплемента, схематично представленная на рис. 1, занимает центральное место в звеньях врожденного и приобретенного иммунитета, являясь посредником разнообразных процессов, формирующих иммунный ответ. Она состоит из более чем 30 водорастворимых и мембранных белков, регуляторов и рецепторов и представляет каскад реакций, включающий протеолитическое расщепление (активацию) сывороточных гликопротеинов, активируемых клеточными рецепторами. Реакции в каскаде комплемента индуцируют продукцию антител, воспалительные реакции, хемотаксис фагоцитов и опсонизацию апоптотических и некротических клеток, облегчая распознавание, захват и лизис последних.

Таблица 1. Средние значения ($M \pm m$) CH50, C2H50, C3H50, C4H50, AH50, FBH50 и FDH50 в сыворотке крови больных ПТСР и здоровых лиц.

Параметр	Здоровые	Больные	P <
CH50	176 $\pm$ 24,56	375 $\pm$ 29,52	0,0002
C2H50	58,8 $\pm$ 3,1	67,6 $\pm$ 1,63	0,05
C3H50	55,92 $\pm$ 1,82	37,57 $\pm$ 4,198	0,0306
C4H50	36,64 $\pm$ 7,677	60,1 $\pm$ 7,337	0,0325
AH50	87,6 $\pm$ 2,13	52,3 $\pm$ 3,37	0,0001
FBH50	65,2 $\pm$ 12,9	40,8 $\pm$ 3,6	ns
FDH50	163,7 $\pm$ 24,95	71,7 $\pm$ 3,99	0,001

Комплемент может активироваться тремя путями – классическим, альтернативным и лектиновым, отличающимися составом компонентов и механизмами инициации. Общим для них является завершающий этап – терминальный путь комплемента, приводящий к формированию мембрано-атакующих комплексов (МАК) и лизису клеток [5, 17, 21].

За последнее десятилетие стало очевидным, что дисфункция комплемента характерна для ряда заболеваний человека [15, 18, 22], включая психические (шизофрению, болезнь Альцгеймера) [3, 10, 14, 25] и физиологический стресс [4, 13].

В настоящей работе дана оценка функциональной активности системы комплемента при ПТСР. Результаты исследования свидетельствуют о том, что патогенез ПТСР характеризуется дисфункцией комплемента - гиперактивацией его классического и терминального путей и гипоактивацией его альтернативного пути.

Альтернативный путь комплемента активируется в результате спонтанного гидролиза тиоэфирного мостика C3 компоненты комплемента, что индуцирует связывание с ней фактора В (FB), дальнейшее расщепление последнего фактором D (FD) и генерацией C3 конвертазы альтернативного пути - C3bBb. Многофункциональная компонента комплемента C3 является иницирующим звеном альтернативного пути и одновременно участком конвергации всех трех путей комплемента, иными словами, начальным компонентом его терминального пути [5, 17, 21].

Наблюдаемая нами пониженная активность альтернативного пути на фоне спада активности C3 компоненты комплемента в крови у больных ПТСР, скорее всего, отражает истощение C3 компоненты за счет ее сверх-утилизации в терминальном пути. Это предположение подтверждается данными корреляционного анализа, указывающими на наличие достоверной положительной корреляции между уровнями CH50 и C3H50 и отсутствие корреляции между уровнями AH50 и FBH50, а также AH50 и FDH50 у больных ПТСР.

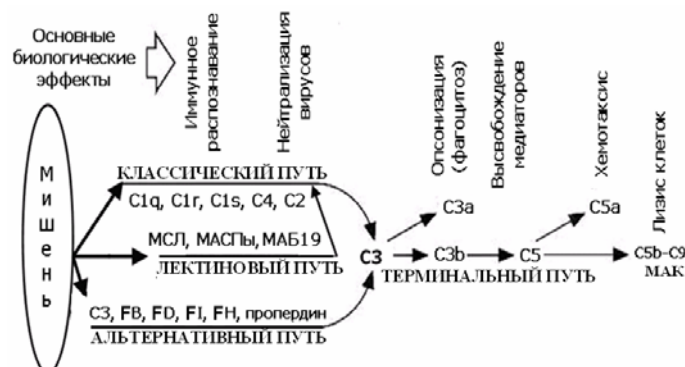


Рис. 1. Система комплемента и опосредованные ею биологические эффекты.

Таким образом, очевидно, что при ПТСР альтернативный путь подавляется на начальном этапе своей активации и что патогенез ПТСР характеризуется также гиперактивацией терминального пути комплемента.

С другой стороны, отсутствие корреляции между АН50 и СН50 свидетельствует, что нарушения на уровне активации классического и альтернативного путей комплемента при ПТСР не взаимосвязаны.

Заключение

Настоящая работа демонстрирует, что ПТСР ассоциирует с дисфункцией системы комплемента и выявляет нарушенные звенья в его каскаде. На основании полученных данных нами были сформулированы следующие выводы.

1. Патогенез ПТСР ассоциирует с дисфункцией системы комплемента, включая гиперактивацию ее классического и терминального путей и гипоактивацию ее альтернативного пути.
2. Изменения в уровнях функциональной активности классического и альтернативного путей комплемента при ПТСР не взаимосвязаны.
3. Активность альтернативного пути подавляется на начальной стадии его инициирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Altemus M., Dhabhar F.S., Yang R. Ann. NY Acad. Sci. 1071,167–183, 2006.
2. Blake D.D., Weather F.W., Nagy L.M. et al. J. Trauma Stress, 8(1), 75–90, 1995.
3. Boyajyan A.S., Khoyetsyan A.G., Hakobyan S.S. et al. Dokl. Biochem. Biophys. (Moscow), 419, 56–57, 2008.
4. Burns V., Edwards K., Ring C. et al. Psychosomatic Medicine, 70, 387–396, 2008.
5. Cole D.S., Morgan B.P. Clin. Sci. 104(5), 455–466, 2003.
6. Connor M.D., Butterfield M.I. FOCUS, 1(3), 247–262, 2003.
7. Doods A.W., Sim R.B. Complement. A practical approach. Oxford: Oxford University Press, 1997.
8. First M.B., Spitzer R.L., Gibbon M., Williams J.B. Structured clinical interview for the DSM-IV axis I disorders (SCID PTSD Module). USA: National Center for PTSD, 1996.

9. *Gitlin J.M.* JAMA, 299(11), 1291-1305, 2008.
10. *Hakobyan S., Boyajyan A., Sim R.B.* Neurosci. Lett., 374(1), 35–37, 2005.
11. *Jacobs W.J., Dalenberg C.* Psychiatr. Clin. North Am., 21(4), 835-845, 1998.
12. *Kinchin D.* Post traumatic stress disorder: the invisible injury. UK: Success Unlimited, 2005.
13. *Maes M., Hendriks D., Gastel A.V. et al.* Psychoneuroendocrinology, 22, 397–409, 1997.
14. *Mayilyan K.R., Weinberger D.R., Sim R.B.* Drug News Perspect. 21(4), 200-210, 2008.
15. *Mollnes T.E., Song W.C., Lambris J.D.* Trends Immunol. Today, 23(2), 61-66, 2002.
16. *Morgan B.P.* Methods in molecular biology. Complement methods and protocols. Totowa, NJ: Humana Press, 2000.
17. *Nauta A.J., Roos A., Daha M.R.* Int. Arch. Allergy Immunol. 134(4), 310-323, 2004.
18. *Sakamoto M., Fujisawa Y., Nishioka K.* Nutrition, 14(4), 391-398, 1998.
19. *Schiraldi G.R.* Post-traumatic stress disorder sourcebook, Columbus: McGraw-Hill Companies, 2000.
20. *Shalev A.Y., Freedman S.* Am. J. Psychiatry, 162(6), 1188-1191.
21. *Sim R.B., Laich A.* Biochem. Soc. Trans. 28 (5), 545–550, 2000.
22. *Volankis J.E., Frank M.M.* The human complement system in health and disease. New York: Mircel Dekker, Inc., 1998.
23. *Von-Kanel R., Hepp U., Kraemer B. et al.* J. Psychiatr. Res. 41(9), 744-752, 2007.
24. *Wong C.M.* Psychiatr. Clin. North Am., 25(2), 369-83, 2002.
25. *Yasojima K., Schwab C., McGeer E.G., McGeer P.L.* Amer. J. Pathol., 154(3), 927-936, 1999.

Поступила 02.02.2009