

КАТАЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КАТАЛИТИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

© 2019 г. Е. А. Ермаков^{1,2*}, Л. П. Смирнова³, Н. М. Кротенко³,
А. В. Семке³, В. Н. Бунева², Г. А. Невинский²

*E-mail: evgeny_ermakov@mail.ru

¹ФГАОУВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия;

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия;

³ФГБНУ «НИИ психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук», Томск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

В работе исследовалась способность каталитических антител (абзимов) больных шизофренией и здоровых доноров катализировать реакцию разложения пероксида водорода. Обнаружено, что поликлональные IgG больных шизофренией и здоровых доноров обладают каталазной активностью, причем активность IgG больных в 1,7 раз выше. Показана гетерогенность абзимов с каталазной активностью по сродству к ионам металлов, рН-оптимуму, кинетическим параметрам. Обсуждается возможная антиоксидантная функция каталитических антител с каталазной активностью.

Ключевые слова: каталитические антитела, абзимы, иммуноглобулины, каталазная активность, шизофрения

DOI: 10.31857/S102872210006588-1

Адрес: 630090, Новосибирская область, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8, ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, лаборатория ферментов репарации. Ермаков Евгений Александрович. Тел./факс: +7(383) 363-51-50.

E-mail: evgeny_ermakov@mail.ru

Авторы:

Ермаков Е. А., ассистент кафедры молекулярной биологии и биотехнологии ФГАОУВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия; старший лаборант лаборатории ферментов репарации ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия;

Смирнова Л. П., к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск, Россия;

Кротенко Н. М., к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск, Россия;

Семке А. В., д. м. н., проф., заместитель директора по научной и лечебной работе, заведующий отделением эндогенных расстройств ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск, Россия;

Бунева В. Н., д. б. н., проф., главный научный сотрудник лаборатории ферментов репарации ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск, Россия;

Невинский Г. А., д. б. н., проф., заведующий лабораторией ферментов репарации ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, Новосибирск.

ВВЕДЕНИЕ

Вовлеченность окислительного стресса в патогенез шизофрении подтверждается множественностью исследований [1]. Прооксидантное состояние и окислительный стресс неразрывно связаны с иммунологическими нарушениями и воспалением при шизофрении [2]. Показано, что нарушения в работе иммунной системы сопровождаются образованием каталитических антител, или абзимов, обладающих ферментативными функциями [3]. В сыворотке крови здоровых доноров, а также больных шизофренией обнаружены каталитические антитела с оксидоредуктазной активностью [4]. В данной работе решено исследовать каталазную активность ан-

тител при шизофрении и их способность катализировать реакцию разложения H_2O_2 .

Цель работы: исследовать каталазную активность поликлональных IgG, выделенных из крови больных шизофренией и здоровых доноров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование было включено 18 пациентов с диагнозом шизофрения и 21 здоровый донор. Средний возраст пациентов с шизофренией составил 33,6 лет (от 23 до 55 лет), длительность заболевания в среднем 8,9 лет (от 3 до 19 лет). Препараты поликлональных IgG получали методом аффинной хроматографии белков сыворотки крови на колонках ProteinG-Sepharose. Чистоту и гомогенность полученных препаратов IgG определяли методом SDS PAGE. Каталазную активность полученных препаратов определяли по уменьшению оптической плотности при 240 нм с использованием спектрофотометра LAMBDA 45 UV/Vis (PerkinElmer). Ингибиторный анализ каталазной активности IgG проводился с использованием специфического ингибитора 3-амино-1,2,4-триазола. Статистическую обработку производили в программе Statistica-10 с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Показано, что IgG здоровых доноров и больных шизофренией обладают каталазной активностью и катализируют реакцию разложения H_2O_2 . При этом уровень активности IgG больных шизофренией был в 1,7 раз выше, по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0.05$). Медианное значение уровня каталазной активности IgG больных шизофренией составило 0,515 мМ H_2O_2 /мин/мг IgG (У.Е.), интерквартильный интервал – 0,711 У.Е., в то время как у здоровых доноров медианное значение уровня активности – 0,301 У.Е., интерквартильный интервал – 0,138 У.Е. С использованием жестких, разработанных ранее, критериев, доказано, что каталазная активность принадлежит непосредственно IgG, а не является следствием контаминации каноническими ферментами.

Поскольку классические антиоксидантные ферменты являются, в основном, металл-зависимыми ферментами, мы изучили зависимость каталазной активности IgG от присутствия ионов металлов. Удаление ионов металлов, связанных с IgG, путем диализа против буфера, содержащего 0,3 М ЭДТА, приводило к снижению активности

IgG в 3,1 раза, но не к полной потере активности. Это указывает на чрезвычайную гетерогенность поликлональных каталитических антител, среди которых встречаются металл-зависимые и независимые абзимы. При добавлении ионов металлов (Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+}) активность значительно возрастала. Примечательно, что присутствие Fe^{2+} не оказывало влияния на активность.

Ингибирование каталазной активности IgG с помощью необратимого ингибитора каталазы 3-амино-1,2,4-триазола указывает на наличие гистидина в каталитическом участке активного центра IgG и предполагает сходный механизм катализа.

Исследована зависимость скорости каталазной реакции от pH среды. Обнаружено, что каждый препарат IgG демонстрирует несколько оптимумов pH в диапазоне от 4,0 до 9,5. Эти данные подтверждают гетерогенность исследуемых каталитических антител.

При анализе кинетических параметров каталазной реакции, катализируемой IgG, начальная скорость реакции зависела от концентрации H_2O_2 и подчинялась кинетике Михаэлиса-Ментен. Получены величины K_m , на 3 порядка меньшие, чем у нативного фермента каталазы. Полученные данные указывают на большее сродство каталитических антител к H_2O_2 , по сравнению с нативным ферментом каталазой. Необходимо отметить, что значительное отличие биохимических свойств абзимов от свойств классических ферментов является еще одним доказательством принадлежности каталитической активности IgG.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Образование каталитических антител обычно связано с воспалением и аутоиммунными реакциями. Один из возможных механизмов генерации абзимов заключается в образовании антиидиотипических антител к антителам, образовавшимся к активным центрам ферментов. Полученные данные свидетельствуют о чрезвычайной гетерогенности абзимов с каталазной активностью. Исследуемые препараты поликлональных IgG содержат различные субфракции антител, обладающие металл-зависимой и независимой каталазной активностью, различным сродством к ионам металлов и обладающие различными оптимумами pH.

Антиоксидантные ферменты, в том числе и каталаза, защищают организм от активированных кислородных метаболитов. Полученные данные позволяют предположить, что абзимы с каталазной активностью могут являться компонентом

антиоксидантной системы организма. Однако следует отметить, что скорость катализа и другие кинетические параметры абзимов значительно ниже классических ферментов. Поэтому вклад каталитических антител в работу антиоксидантной системы может быть незначительным. С другой стороны, антитела присутствуют в кровотоке длительное время, а антиоксидантные ферменты находятся в основном в эритроцитах и при попадании в кровоток быстро инактивируются протеазами. Поэтому абзимы с каталазной активностью могут иметь защитную биологическую функцию. Таким образом, иммунная система посредством каталитических антител может участвовать в поддержании гомеостаза организма и защите от оксидативного стресса.

Работа поддержана грантом РФФИ № 18-15-00053 «Поиск периферических маркеров ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении» 2018–2020 гг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Yao J.K., Reddy R. Oxidative Stress in Schizophrenia: Pathogenetic and Therapeutic Implications. *Antioxid. Redox Signal.* 2011, 15(7), 1999–2002.
2. Steullet P., Cabungcal J.H., Monin A., Dwir D., O'Donnell P., Cuenod M., Do K. Q. Redox dysregulation, neuroinflammation, and NMDA receptor hypofunction: A “central hub” in schizophrenia pathophysiology? *Schizophrenia research.* 2016, 176(1), 41–51.
3. Nevinsky G. A., Buneva V. N. Natural catalytic antibodies in norm, autoimmune, viral, and bacterial diseases. *The Scientific World Journal*, 2010, 10, 1203–1233.
4. Ермаков Е. А., Толмачева А. С., Смирнова Л. П., Иванова С. А., Бунева В. Н., Невинский Г. А. Особенности окислительно-восстановительных, амилазной и АТФазной активностей IgG антител из крови больных шизофренией. *Российский иммунологический журнал*, 2017, 11(4), 627–640. [Ermakov E. A., Tolmacheva A. S., Smirnova L. P., Ivanova S. A., Buneva V. N., Nevinsky G. A. Features of the redox, amylase and ATPase activity of IgG antibodies from the blood of schizophrenic patients. *Russian Journal of Immunology*, 2017, 11 (4), 627–640.]

CATALASE ACTIVITY OF CATALYTIC ANTIBODIES IN SCHIZOPHRENIA

© 2019 Е. А. Ermakov^{1,2*}, L. P. Smirnova³, N. M. Krotenko³,
A. V. Semke³, V. N. Buneva^{1,2}, G. A. Nevinsky^{1,2}

*E-mail: evgeny_ermakov@mail.ru

¹Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

³Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 01.04.2019

In this work, the ability of catalytic antibodies (abzymes) in patients with schizophrenia and healthy donors to catalyze the decomposition of hydrogen peroxide was investigated. The polyclonal IgG in patients with schizophrenia and healthy donors was found to have catalase activity, and the activity of patient's IgG was 1.7 times higher. The heterogeneity of abzymes with catalase activity by affinity to metal ions, pH optimum, kinetic parameters is shown. A possible antioxidant function of catalytic antibodies with catalase activity is discussed.

Key words: catalytic antibodies, abzymes, immunoglobulins, catalase activity, schizophrenia

Authors:

Ermakov E. A., ✉ Assistant of Department of Molecular Biology and Biotechnology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia; Senior Laboratory Assistant, Laboratory of Repair Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** evgeny_ermakov@mail.ru;

Smirnova L. P., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia;

Krotenko N. M., Ph.D., Senior Researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia;

Semke A. V., MD, Professor, Deputy Director for Scientific and Medical Work, Head of the Department of Endogenous Disorders, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Tomsk National Research Institute of Mental Health, Tomsk, Russia;

Buneva V. N., Dr. Sc., prof., Chief Researcher of the Laboratory of Repair Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia;

Nevinsky G. A., Dr. Sc., prof., Head of the Laboratory of Repair Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia.