

АУТОАНТИТЕЛА К ОСНОВНОМУ БЕЛКУ МИЕЛИНА У ПАЦИЕНТОВ С ШИЗОФРЕНИЕЙ ОБЛАДАЮТ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© 2019 г. Д. А. Паршукова¹, В. Н. Бунева², Е. Г. Корнетова¹,
Д. В. Казанцева³, А. Р. Васильева³, С. А. Иванова¹,
Л. П. Смирнова^{1*}

*E-mail: lpismirnova@yandex.ru

¹ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН»
НИИ психического здоровья, Томск, Россия

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

³ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»
Минздрава Российской Федерации, Томск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

Работа посвящена изучению связи активности ОБМ-гидролизующих IgG с уровнем антител к ОБМ у больных шизофренией. У пациентов обнаружена высокая удельная протеолитическая активность антител (АТ) и двукратное увеличение уровня АТ к ОБМ. Между изучаемыми показателями была выявлена достоверная положительная корреляция средней силы ($r = 0.48$; $p = 0.026$).

Ключевые слова: каталитические антитела, шизофрения, основной белок миеллина

DOI: 10.31857/S102872210006927-4

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт психического здоровья, лаборатория молекулярной генетики и биохимии. Смирнова Людмила Павловна. Тел./факс: +7(3822)-72-38-29, 89138722160 (моб.).

E-mail: lpismirnova@yandex.ru

Авторы:

Паршукова Д. А., м.н.с. лаборатории молекулярной генетики и биохимии, ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томск, Россия;

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

Корнетова Е. Г. д.м.н., в.н.с. отделения эндогенных расстройств ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томск, Россия;

Казанцева Д. В., студент ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Томск, Россия;

Васильева А. Р., студент ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Томск, Россия;

Иванова С. А., д.м.н., проф., заместитель директора по научной работе НИИ психического здоровья Томского НИМЦ,

заведующая лабораторией молекулярной генетики и биохимии Научно-исследовательского института психического здоровья, Томск, 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.

ВВЕДЕНИЕ

Природные антитела (АТ) представлены широким спектром циркулирующих иммуноглобулинов, наделенных разнообразными функциями, представления о которых значительно расширились за последние десятилетия. Установлено, что АТ участвуют в клиренсе продуктов деградации эндогенных молекул, регуляции воспалительного ответа, влияют на процессы пролиферации и дифференцировки и обладают каталитическими свойствами [1, 2]. Изменение иммунного гомеостаза, обусловленное снижением регулирующей функции системы Т-лимфоцитов супрессоров, приводит к активации гуморального иммунитета при шизофрении [3]. Основной белок миеллина (ОБМ) является одним

из высоко иммуногенных субстратов, а формирование АТ к нему отражает процессы деструкции в миелиновой оболочке аксонов, что подтверждается высоким титром АТ при таких заболеваниях, как рассеянный склероз и системная красная волчанка. Для шизофрении также характерно повышение уровня АТ к ОБМ. Была обнаружена корреляция снижения уровня АТ к ОБМ с образованием стабильной ремиссии, а увеличение титра АТ, напротив, является неблагоприятным прогностическим фактором [4]. Ранее нами было показано, что титры аутоантител против ОБМ у пациентов с шизофренией в 1,8 раза выше, чем у здоровых людей, но в 5,0 раз ниже, чем у пациентов с рассеянным склерозом [5]. Однако, в литературе не представлено данных относительно содержания АТ к ОБМ при различных клинических характеристиках шизофрении, кроме того не проводилась оценка содержания АТ к ОБМ с уровнем протеолитической активности IgG у пациентов с шизофренией.

Целью данной работы было исследование связи содержания антител к ОБМ с протеолитической активностью ОБМ-гидролизующих IgG у пациентов с шизофренией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 32 пациента с шизофренией в возрасте от 21,9 до 50 лет. Продолжительность болезни составляла от 5 до 17 лет. В качестве группы контроля были обследованы 14 психически и соматически здоровых лиц. Пациенты были сгруппированы в зависимости от ведущей симптоматики (продуктивная, дефицитарная) и длительности болезни (2–5 лет, 6–12 лет, более 13 лет). Поликлональные препараты IgG были выделены из сыворотки крови методом аффинной хроматографии на хроматографе АКТА purifier GE Healthcare на колонке с Protein-G Sepharose. Анализ уровня АТ к ОБМ проводился в очищенных препаратах IgG методом твердофазного ИФА. Относительное содержание анти-ОБМ АТ было выражено в единицах оптического поглощения окрашенного продукта реакции при длине волны 450 нм (ед. А450; среднее значение двух измерений). Скрининг протеолитической активности IgG проводился методом электрофореза в 12,5% ПААГ, ингибиторный анализ этой активности проводился методом тонкослойной хроматографии. Активность протеолиза оценивалась по убыли субстрата (ОБМ) после инкубации с препаратами IgG и выражалась в удельных единицах мг ОБМ/мг IgG/ч.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для всех пациентов, включенных в исследование, был проведен скрининг протеолитической активности IgG к ОБМ. На основании проверки строгих критериев (гомогенность полученных образцов, разделение иммунных комплексов при хроматографии при рН 2,6 «рН-шок анализ») было показано, что изучаемая протеолитическая активность является собственным свойством АТ. В результате исследования обнаружено, что IgG, выделенные из сыворотки крови больных шизофренией, гидролизуют ОБМ. Удельная протеолитическая активность IgG пациентов варьировала 0,747 (0,00; 1,76) мг ОБМ/мг IgG/ч. В то время как для здоровых лиц эта активность была минимальной 0,00 (0,00; 0,37) мг ОБМ/мг IgG/ч. Ингибиторный анализ выявил снижение уровня протеолитической активности при использовании таких ингибиторов как PMSF и ЭДТА, чем показал, что АТ катализируют реакции протеолиза подобно протеазам серинового типа и металлопротеазам. Уровень АТ к ОБМ у здоровых доноров составил $0,04 \pm 0,017$ ед. А450, а для больных шизофренией $0,08 \pm 0,039$ ед. А450. Таким образом, уровень содержания АТ к ОБМ у пациентов с шизофренией в 2 раза превышал уровень АТ у здоровых лиц ($p=0,0014$).

В дальнейшем пациенты были сгруппированы в зависимости от преобладающей клинической симптоматики шизофрении (продуктивной или дефицитарной). Анализ уровня титра антител в этих группах показал достоверные отличия между группой контроля и группой пациентов с ведущей продуктивной симптоматикой ($p=0,0002$), и с группой с ведущей дефицитарной симптоматикой ($p=0,015$). Пациенты с ведущей дефицитарной симптоматикой продемонстрировали более высокие значения — 0,083 ед. А450, чем пациенты с ведущей позитивной симптоматикой — 0,074 ед. А450, но отличия не были достоверными. Была обнаружена статистическая тенденция ($p=0,052$) к увеличению титра АТ к ОБМ у больных шизофренией в группах с продолжительностью болезни 2–5 лет и более 13 лет. При анализе корреляционной связи протеолитической активности антител, способных к гидролизу ОБМ, и уровня содержания IgG к ОБМ в сыворотке пациентов с шизофренией была выявлена достоверная положительная корреляция средней силы ($r=0,48$; $p=0,026$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Повышение уровня АТ к ОБМ были обнаружены в спинномозговой жидкости (СМЖ) и сыворотке пациентов с шизофренией во многих работах. В экспериментальных исследованиях было показано, что аутоАТ, связывающие нейроантигены на ранних стадиях онтогенеза, способствуют образованию различных структурных аномалий в нервной системе и впоследствии приводят к нарушению поведения молодых животных [4]. Повышенные уровни антител часто интерпретируются как нарушение иммунной толерантности, вызывающее аутоиммунный ответ. Но, в то же время, это может отражать гиперактивность иммунной системы, на фоне повышенного содержания провоспалительных цитокинов, которое было продемонстрировано в группах пациентов с острым психозом и хронической шизофренией. Таким образом, учитывая литературные данные об увеличении уровня антител к нейрогенным субстратам (в том числе ОБМ) накануне обострения клинической симптоматики шизофрении и о снижении титров этих антител в периоды ремиссии [4], можно предположить, что увеличение активности абзимов-протеаз наблюдается на фоне вероятной активации гуморального иммунитета в периоды обострения шизофрении и имеет прогностическое значение.

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. Васильев А. Г., Чурилов Л. П., Трашков А. П., Утехин В. И. Эволюция иммунной системы и регуляторные эффекты антител. Цитология. 2018. 60 № 2. [Vasiliev A. G., Churilov L. P., Trashkov A. P., Utekhin V. I. Evolution of the immune system and regulatory effects of antibodies. Cytology. 2018. 60 no. 2].
2. Невинский Г. А., Канышкова Т. Г., Семенов Д. В., Бунева В. Н. Каталитически активные антитела и их возможная биологическая функция. Вестн. РАМН 2011, № 2, 38–45. [Nevinskij G. A., Kanyshkova T. G., Semenov D. V., Buneva V. N. Catalytically active antibodies and their possible biological function. Bulletin of the RAMS2011, No 2, 38–45].
3. Лобачева О. А., Ветлугина Т. П., Семке А. В. Иммунологические критерии прогноза эффективности антипсихотической терапии больных шизофренией. Сиб. вестн. псих. и наркол. 2013, № 1 (76), 66–70. [Lobacheva O. A., Vetlugina T. P., Semke A. V. Immunological criteria for predicting the effectiveness of antipsychotic therapy for patients with schizophrenia. Sib. notable psycho. and Narkol. 2013, № 1 (76), 66–70].
4. Ключник Т. П., Козловская Г. В., Калинина М. А., Сарманова З. В., Отман И. Н. Динамика содержания антител к нейроантигенам в сыворотке крови больных шизофренией в процессе терапии. Журнал невр. и псих. им. С. С. Корсакова. 2008, Т. 108, № 8, 61–65. [Klyushnik T. P., Kozlovskaya G. V., Kalinina M. A., Sarmanova Z. V., Otman I. N. The dynamics of the content of antibodies to neuroantigens in the serum of patients with schizophrenia during therapy. Journal of Neurology and psychiatry them. S. S. Korsakov 2008, T. 108, No. 8, 61–65].
5. Parshukova D., Smirnova L. P., Ermakov E. A., Bokhan N. A., Semke A. V., Ivanova S. A., Buneva V. N., Nevinsky G. A. Autoimmunity and immune system dysregulation in schizophrenia: IgGs from sera of patients hydrolyze myelin basic protein. J Mol Recognit., 2019, 32.2: e2759.

AUTOANTIBODIES TO THE MYELIN BASIC PROTEIN IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA HAVE PROTEOLYTIC ACTIVITY

© 2019 D. A. Parshukova¹, V. N. Buneva², E. G. Kornetova¹, D. V. Kazantseva³, A. R. Vasileva³, S. A. Ivanova¹, L. P. Smirnova^{1*}

*E-mail: lpsmirnova@yandex.ru

¹Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia

²Siberian Division of Russian Academy of Sciences, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

³Siberian State Medical University, SSMU, Tomsk, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 02.04.2019

This work is devoted to the study of the association of MBP-hydrolyzing IgG activity with the level of antibodies to MBP in patients with schizophrenia. In the group of patients, a high level of specific proteolytic activity of antibodies (AT) and a twofold increase in the level of antibodies to MBP were found. A significant positive correlation ($r=0,48$; $p=0,026$) was found between the studied parameters.

Key words: catalytic antibodies, schizophrenia, myelin basic protein

Authors:

Parshukova D. A., Junior scientist of Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia;

Buneva V. N., Ph D., Professor, Principal Researcher Laboratory of Reparation Enzymes, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Division of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia;

Kornetova E. G., Ph D., Leading Researcher Departments of endogenous disorders, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia

Kazantseva D. V., Student, Siberian State Medical University, SSMU, Tomsk, Russia;

Vasileva A. R., Student, Siberian State Medical University, SSMU, Tomsk, Russia;

Ivanova S. A., PhD, Professor, Deputy Director (Scientific Director) of Mental Health Research Institute of Tomsk National Research Medical Center the Russian Academy of Sciences; Head of Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory of Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia;

Smirnova L. P., ✉ PhD, Senior Researcher of Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences Mental Health Research Institute, Tomsk, Russia. **E-mail:** lpsmirnova@yandex.ru