

# Протеолитическая активность сывороточных коллаген-гидролизующих антител у пациентов с шизофренией

Паршукова Д.А. (1), Смирнова Л.П. (1), Бунева В.Н. (2), Иванова С.А. (1).

1. НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, Томск, Россия  
 2. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

## Введение

В настоящее время активно развивается направление исследования роли каталитических антител при различных патологиях. Ранее мы изучали сывороточные IgG, гидролизующие ОБМ (основной белок миелина), и их связь с клиническими характеристиками шизофрении [1]. Проникая через повреждённый гематоэнцефалический барьер, нейроспецифические белки могут стимулировать синтез антител к ним. Повышение проницаемости ГЭБ связано с нарушением целостности межэндотелиальных контактов, в которых важную роль играет эндотелиальный коллаген. Данные протеомных исследований демонстрируют снижение уровня коллагена в сыворотке [2], формирование эндотелиальной дисфункции [3] и активацию нейтрофильной эластазы (фермент, гидролизующий эластин и коллаген) при острой шизофрении [4].

## Цель исследования

Данная работа посвящена изучению уровня активности сывороточных IgG, способных гидролизовать коллаген у больных шизофренией.

## Методы

В исследование включено 17 больных шизофренией от 20 до 55 лет с диагнозами параноидная шизофрения, получавших лечение на базе отделения эндогенных расстройств НИИ психического здоровья ТНИМЦ. Для оценки позитивной, негативной и общей психопатологической симптоматики использовалась стандартная международная психометрическая шкала PANSS. Продолжительность болезни составляла от 5 до 17 лет. В качестве группы контроля были обследованы 17 психически и соматически здоровых лиц. Критериями исключения для всех обследуемых лиц было наличие острых и хронических инфекционных, воспалительных, аутоиммунных заболеваний.

- IgG выделены из сыворотки крови здоровых доноров и больных шизофренией методом аффинной хроматографии на колонке с Protein-G Sepharose
- Определение гомогенности АТ методом электрофореза в градиентном 4-18% ПААГ, гель-фильтрация в условиях рН-шока.
- Активность протеолиза оценивалась по убыли субстрата (коллагена) после инкубации с препаратами IgG. с помощью системы гель-документации iBright Imaging Systems FL1500 (Thermo Scientific, США, прибор размещен на базе ЦКП "Медицинская геномика", ТНИМЦ).
- Протеолитическая активность препаратов IgG выражалась в удельных единицах мг коллагена/мг IgG/ч.

## Результаты

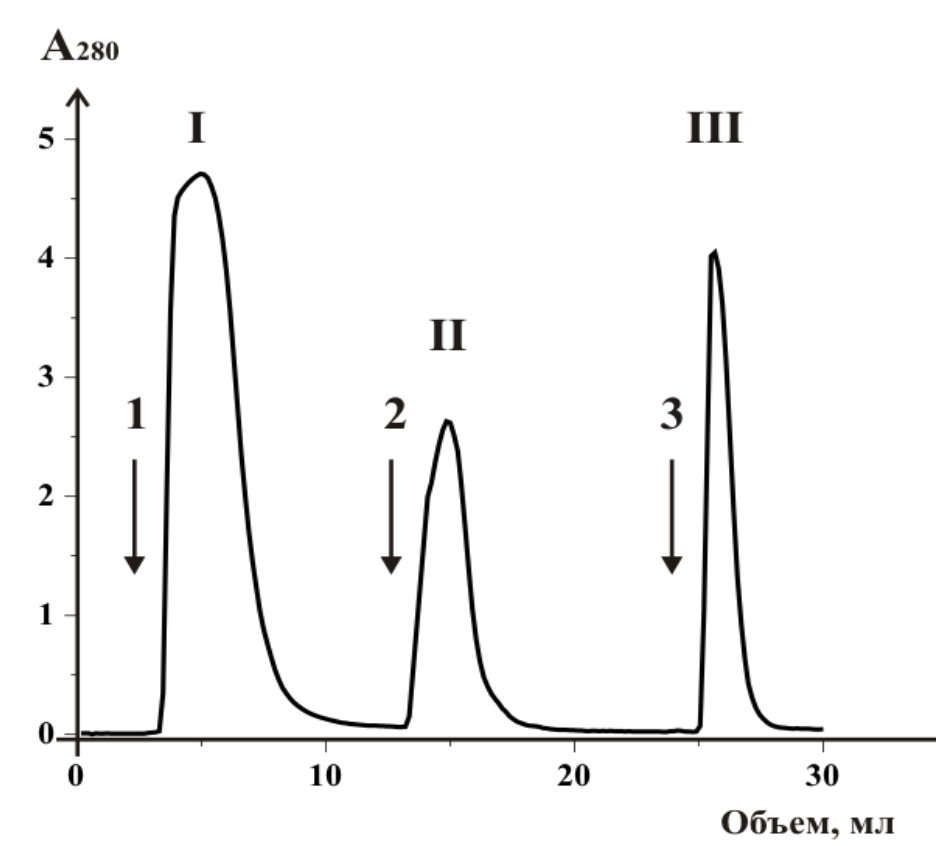
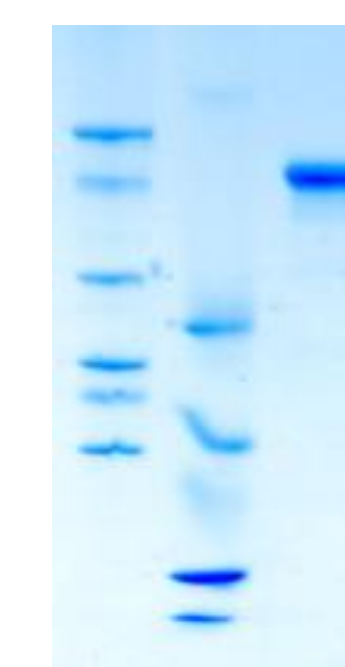


Рисунок 1. Профиль аффинной хроматографии белков крови человека на Protein G-Sepharose.

1 – нанесение белков крови; 2 – элюция буфером, содержащим 1% Тритон X-100 и 0,3 М NaCl; 3 – элюция буфером глицин-HCl, pH 2,6.  
 Пик I – белки, не обладающие сродством к сорбенту. Пик II – липиды и неспецифически связавшиеся белки + Тритон X-100. Пик III – иммуноглобулины класса G



Дорожки  
 1 – IgG пациента с шизофренией,  
 2 – IgG пациента с шизофренией после обработки 10мМ ДТТ;  
 М – маркеры молекулярной массы белков.

Рисунок 2. Анализ гомогенности препаратов IgG с помощью SDS-электрофореза в градиентном ПААГ.

Рисунок 3. Анализ гидролиза коллагена антителами IgG пациентов с шизофренией и здоровых лиц.

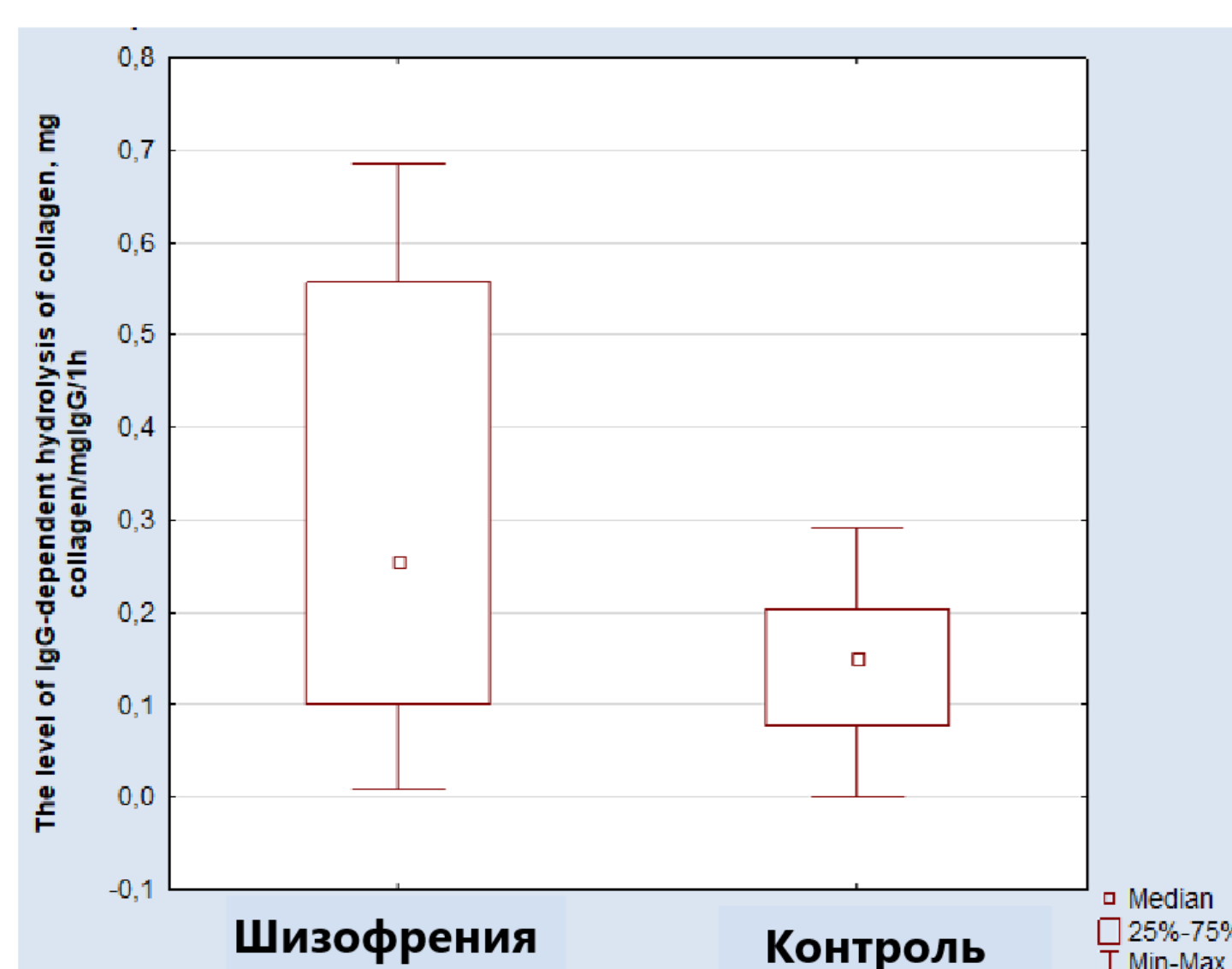
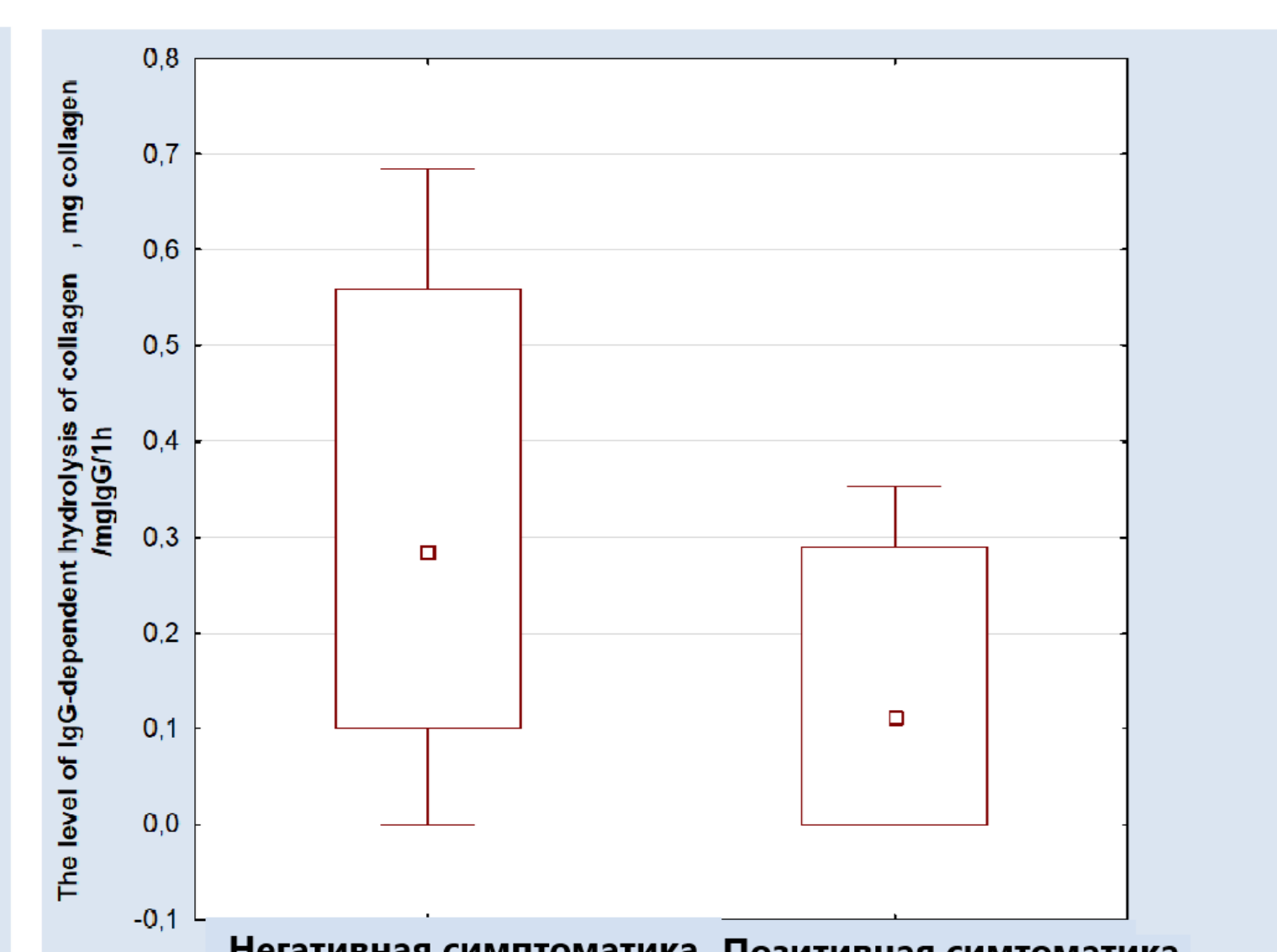


Рисунок 4. Гидролиз коллагена антителами IgG пациентов с различной ведущей симптоматикой



## Результаты и заключение

Было показано, что поликлональные сывороточные антитела пациентов с шизофренией специфически гидролизуют коллаген. Обнаружено, что уровень активности коллаген-гидролизующих IgG больных шизофренией (0,254 [0,10; 0,57] мг коллагена/ мг IgG / 1 час) значительно выше, чем у доноров из контрольной группы (0,14 [0,07; 0,2] мг коллагена/ мг IgG / 1 час;  $p = 0,45$ ). В предыдущих исследованиях мы показали, что поликлональные IgG больных шизофренией также могут гидролизовать ОБМ и уровень их активности связан с преобладающей симптоматикой [1]. Уровень IgG-зависимого гидролиза коллагена в группе пациентов с ведущей негативной симптоматикой составил 0,28 [0,10; 0,56] мг коллагена/ мг IgG / 1 час по сравнению с группой с ведущей положительной симптоматикой шизофрении 0,11 [0,00; 0,29] мг коллагена/ мг IgG / 1ч. Не было обнаружено корреляции уровнем активности ОБМ- и коллаген гидролизующих антител.

**Заключение.** Наши результаты демонстрируют наличие коллаген-гидролизующей активности у сывороточных антител при шизофрении. Данные о гидролизе коллагена являются важной характеристикой патологического процесса при шизофрении, которые могут быть рассмотрены в контексте нарушения функциональной и структурной целостности эндотелиального барьера.

Цитируемая литература:

- [1]. Study of the level of IgG to myelin basic protein and their catalytic activity in schizophrenic patients/ D. Parshukova, S. Sedykh, L. Smirnova, V. Buneva, S. Ivanova, A. Semke// European Neuropsychopharmacology. – 2016. – Т. 26. – С. 215.
- [2]. Результаты поиска биомаркеров шизофрении/ Л.П. Смирнова, Д.А. Паршукова, Е.А. Ермаков, Е.М. Дмитриева, А.С. Бойко, О.Ю. Федоренко, Л.В. Логинова, Н.М. Кротенко, А.А. Серёгин, А.А. Летова, Л.Е. Синянский, Е.Г. Корнетова, С.А. Иванова// Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2018. – № 2 (99). – С. 33-44.
- [3]. The difference in serum proteomes in schizophrenia and bipolar disorder/ L. Smirnova, A. Seregin, I. Boksha, E. Dmitrieva, G. Simutkin, E. Kornetova, O. Savushkina, A. Letova, N. Bokhan, S. Ivanova, V. Zgoda// BMC genomics. — 2019. — 20(7). — 535.
- [4]. The possible role of plasma kallikrein-kinin system and leukocyte elastase in pathogenesis of schizophrenia / I. Shcherbakova, E. Neshkova, V. Dotsenko, T. Platonova, E. Shcherbakova, G. Yarovaya// Immunopharmacology. — 1999. — 43(2-3) — P.273-279.
- [5]. Proteolytic hydrolysis of myelin basic protein by IgGs during long-term treatment of schizophrenia/ D.A. Parshukova, L.P. Smirnova, V.N. Buneva, A.V. Semke, S.A. Ivanova// European Neuropsychopharmacology. – 2015. – Т.25. №52. – С.272.