

УДК 616.895.8

БИОМАРКЁРЫ ДЕСТРУКТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ**¹Бойко А.С., ^{1,2}Иванова С.А., ¹Семке А.В., ^{1,3}Бохан Н.А.**¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья», Томск,
e-mail: anastasya-iv@yandex.ru;²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», Томск;³ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск

Целью работы является исследование биологических маркеров в сыворотке крови у больных шизофренией. Обследовано 155 больных шизофренией, проходивших курс лечения в психиатрическом стационаре, и 50 здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту. Проведено определение спектра молекул средней массы, как показателя эндогенной интоксикации, антител к нативной и денатурированной ДНК, концентрации кортизола, дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭА-С) и глутамата в сыворотке крови. Выявлено увеличение концентрации всех исследуемых биомаркёров в сыворотке крови больных шизофренией по сравнению со здоровыми лицами, что свидетельствует о выраженном дисбалансе в гомеостатических процессах и развитии деструктивных процессов при шизофрении. Повышение концентрации нейростероида ДГЭА-С, вероятно, является защитной компенсаторной реакцией на увеличение уровня кортизола. Выявление комплекса нейрогуморальных биомаркеров может внести вклад в понимание метаболических нарушений, связанных с патогенезом заболевания и позволит использовать выявленные особенности для персонализированного подхода к терапии.

Ключевые слова: шизофрения, биологические маркёры, деструктивные процессы, окислительный стресс, эксайтотоксичность, эндогенная интоксикация

BIOMARKERS OF DESTRUCTIVE PROCESSES IN SERUM OF SCHIZOPHRENIC PATIENTS**¹Boiko A.S., ^{1,2}Ivanova S.A., ¹Semke A.V., ^{1,3}Bokhan N.A.**¹Mental Health Research Institute, Tomsk, e-mail: anastasya-iv@yandex.ru;²National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk;³Siberian State Medical University, Tomsk

The aim is the investigation of biological markers in the serum of patients with schizophrenia. The study involved 155 schizophrenic patients receiving treatment in a psychiatric hospital and 50 healthy people matched for sex and age. It was determined the spectrum of molecules medium mass, as an indicator of endogenous toxicity, concentration of antibodies to native and denatured DNA, cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) and glutamate in blood serum. We found an increase in the concentrations of all biomarkers in the serum of schizophrenic patients compared with healthy persons. This indicates a pronounced imbalance in homeostatic processes and the development of destructive processes in schizophrenia. Increasing the concentration of neurosteroid DHEA-S is probably a protective compensatory reaction to increased levels of cortisol. Detection of the complex neurohormonal biomarkers can contribute to the understanding of the metabolic abnormalities associated with the pathogenesis of the disease and allow the use of the identified features for a personalized approach to therapy.

Keywords: schizophrenia, biological markers, destructive processes, oxidative stress, excitotoxicity, endogenous intoxication

Шизофрения – это заболевание не-установленной этиологии и патогенеза, протекающее с полиморфной симптоматикой и приводящее к особому дефекту личности [5]. В основе распространенной нейрохимической концепции патогенеза шизофрении лежит нарушение обмена в дофаминергической и глутаматергической системах. Специфических тестов (биомаркеров) для диагностики шизофрении в настоящее время не существует [1].

При шизофрении наблюдается активация деструктивных процессов, что может проявиться в изменении внутренних механизмов гомеостаза и в свою очередь отрицательно отражается на состоянии организма. Деструктивные процессы, лежащие в осно-

ве неспецифического синдрома эндогенной интоксикации, как правило, связаны с активацией окислительного стресса и сопровождаются нарушениями структуры и функции мембран и в целом рассматриваются как реакции «метаболического полома» [6, 10]. Изучение изменения количества и спектра фракций МСМ в сыворотке крови пациентов с психическими и неврологическими расстройствами позволяет расширить представление о роли и функции эндогенной интоксикации в патогенезе этих состояний и показать их клиническое и диагностическое значение [2].

При ряде заболеваний выявляются антитядерные антитела к ДНК. Патогенетическое и клиническое значение этих антител

(АТ) изучено недостаточно [3]. Антинуклеарные антитела – гетерогенная группа аутоантител к нуклеопротеидам, гистонам и негистоновым белкам клеточного ядра. Уровни антинуклеарных антител различаются в зависимости от индивидуальной иммунореактивности и характера заболевания. Необходимо учитывать то, что аутоиммунный ответ может отличаться на нативную ДНК (dsDNA) и денатурированную (ssDNA).

Особое внимание в биологических исследованиях психических расстройств уделяют гормонам гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и, в частности, кортизолу. Повышенную концентрацию эндогенного и экзогенного кортизола в организме человека связывают с повышенным риском развития психозов [9]. Нейростероиды дегидроэпиандростерон и его сульфат (ДГЭА-С) воздействуют на возбудимость нейронов и пластичность, обладают нейропротекторными свойствами и могут быть вовлечены в патофизиологические процессы при шизофрении.

Глутамат, являясь возбуждающей аминокислотой пирамидного тракта и интернейронов, в определенных условиях может становиться эксайтотоксином. Эксайтотоксичность – цитотоксичность, свойственная возбуждающим нейротрансмиттерам. В настоящее время считается, что в механизмах гибели нейронов при ряде психических и нейродегенеративных заболеваниях принимают участие процессы эксайтотоксичности.

Целью работы является выявление и исследование биологических маркеров деструктивных процессов в сыворотке крови у больных шизофренией.

Материалы и методы исследования

Было проведено комплексное клинико-биологическое обследование 155 больных шизофренией (диагноз F20 согласно МКБ-10), проходивших курс лечения в психиатрическом стационаре. Включение пациентов в исследование проводилось с учетом этических норм и в соответствии с требованиями Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов (2000 г.). Группу сравнения для биохимических исследований составили 50 психически и соматически практически здоровых лиц, соответствующих по полу и возрасту обследуемым пациентам.

В качестве исследуемого материала для биохимических исследований использовалась сыворотка крови, получаемая по стандартной методике отделением эритроцитов центрифугированием. Оценку параметров эндогенной интоксикации у обследуемых лиц проводили по спектру молекул средней массы с помощью скрининг-метода в нашей модифика-

ции [2]. Данный метод позволяет выделить три фракции МСМ, регистрируемые при различных длинах волн: при 230 нм – нуклеарная фракция (белки-гистоны, продукты разрушения ДНК); при 254 нм – токсическая фракция (гидрофобные токсины, продукты неполного распада белков); при 280 нм – ароматическая фракция (ароматические аминокислоты). Результаты представлены в условных единицах (экстинкции) с вычислением нескольких коэффициентов: коэффициент ароматичности ($KA = E_{230}/E_{280}$), коэффициент распределения ($KP = E_{280}/E_{254}$) и пептидарно-нуклеарный коэффициент ($ПНК = E_{230}/E_{254}$).

Для количественного определения иммуноглобулина G к dsДНК и ssДНК использовали наборы реагентов для иммуноферментного анализа «Векто-dsДНК-IgG» и «Векто-ssДНК-IgG» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия). Концентрацию кортизола и ДГЭА-С определяли с использованием ИФА-наборы реагентов СтероидИФА-кортизол-01 и СтероидИФА-ДГЭА-сульфат («АлкорБио», Россия) соответственно. Уровень глутамата определяли спектрофотометрическим методом с использованием набора Glutamate Assay Kitt (BioVision, США).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы SPSS 20.0, для Windows. Выборки проверялись на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка. Достоверность различий определялась по t-критерию Стьюдента при нормальном распределении для независимых выборок с вычислением среднего и ошибки среднего. Для независимых выборок при распределении, отличающемся от нормального, достоверность различий определяли по U-критерию Манна-Уитни с вычислением медианы и квартилей. Различия считали достоверными при степени значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У больных шизофренией на фоне выраженной клинической симптоматики было обнаружено достоверное увеличение токсической фракции и снижение коэффициента распределения ($E_{254} = 0,321 \pm 0,048$ усл.ед., $p = 0,005$; $KP = 0,909 \pm 0,013$, $p < 0,001$) по сравнению с группой контроля ($E_{254} = 0,287 \pm 0,015$ усл.ед., $KP = 1,235 \pm 0,103$) (рис. 1, 2).

Выявлено достоверное повышение содержания нуклеарной фракции, коэффициента ароматичности, как и самой ароматической фракции. Изменение спектра средних молекул в сторону нуклеарной фракции связано с увеличением в крови остатков нуклеиновых кислот, что может быть следствием усиления апоптоза клеток крови при шизофрении.

Физиологические значения концентрации антител к ДНК здоровых лиц не превышают 25 МЕ/мл, значения больных были разделены на два диапазона: до 25 МЕ/мл и выше. В группе больных шизофренией наблюдается повышенное содержание АТ к денатурированной ДНК ($30,278 \pm 3,457$ МЕ/мл) по сравнению

с физиологической нормой (< 25 МЕ/мл). Уровень АТ к нативной ДНК практически не отличается от значений здоровых лиц ($27,622 \pm 3,788$ МЕ/мл). У 28% больных

наблюдается повышенный уровень АТ к dsDNA, у 72% их содержание в пределах физиологической нормы. АТ к ssDNA повышены у 40% пациентов (рис. 3).

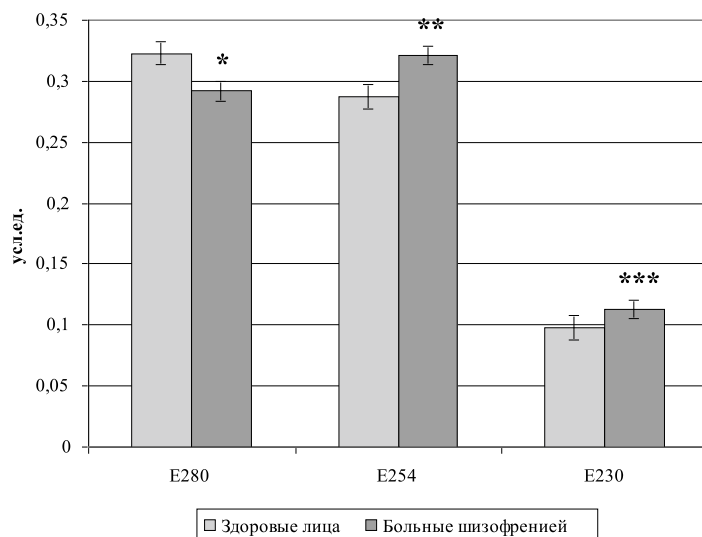


Рис. 1. Спектр молекул средней массы у больных шизофренией и здоровых лиц ($M \pm m$).
Примечание: E280 – коэффициент экстинкции при длине волны 280 нм – ароматическая фракция; E254 – коэффициент экстинкции при длине волны 254 нм – токсическая фракция; E230 – коэффициент экстинкции при длине волны 230 нм – нуклеарная фракция. * – $p = 0,029$, ** – $p = 0,005$, *** – $p = 0,02$ – уровень статистически значимых различий при сравнении показателей пациентов и контрольной группы

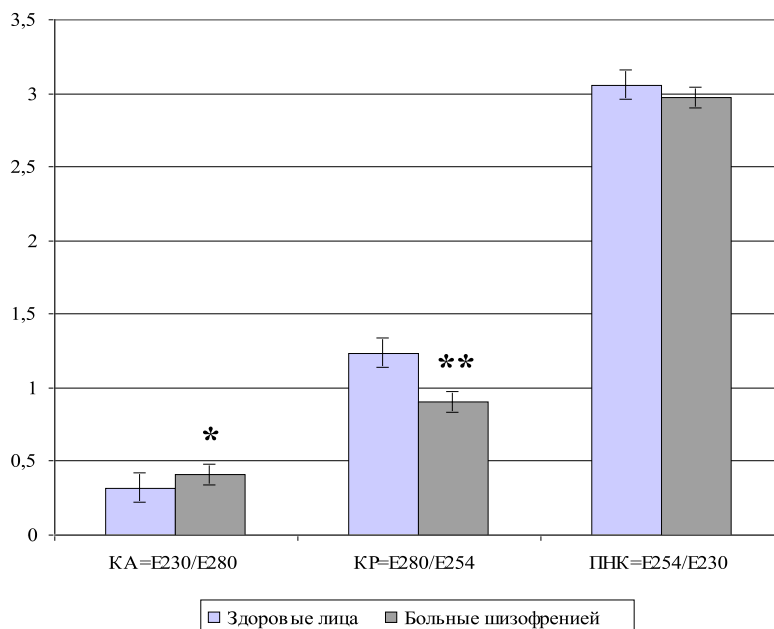


Рис. 2. Спектр молекул средней массы в пересчёте на коэффициенты у больных шизофренией и здоровых лиц ($M \pm m$). Примечание: KA – коэффициент ароматичности; KP – коэффициент распределения; PNH – пептидарно-нуклеарный коэффициент. * – $p = 0,01$, ** – $p < 0,0001$ – уровень статистически значимых различий при сравнении показателей пациентов и контрольной группы

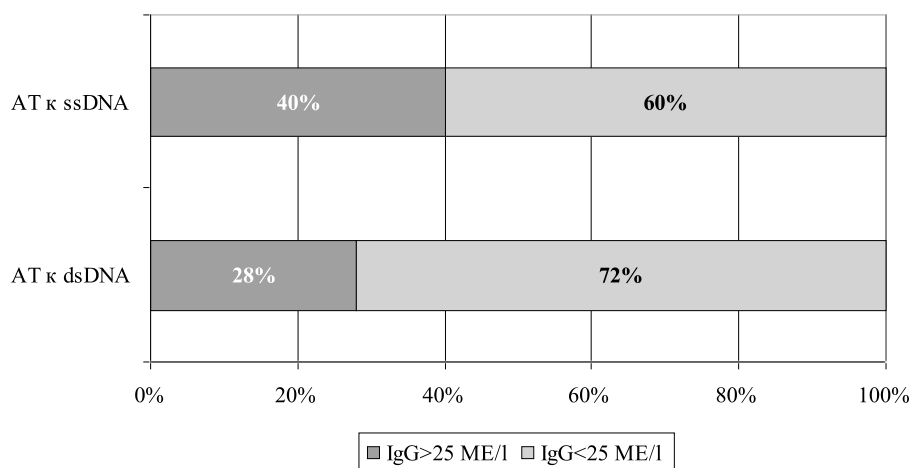


Рис. 3. Распределение пациентов (%) в зависимости от уровня антиядерных антител к денатурированной и нативной ДНК относительно физиологической нормы (25 ME/l)

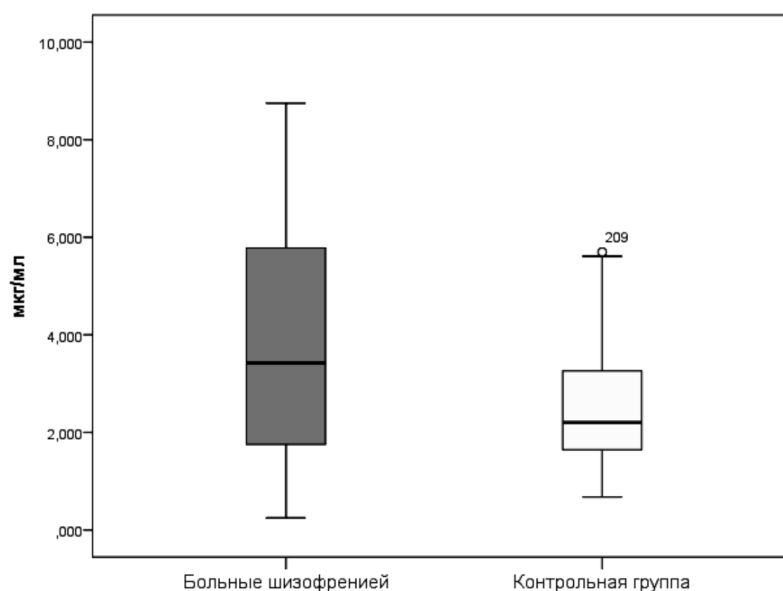


Рис. 4. Концентрация ДГЭА-С (мкг/мл) в сыворотке крови больных шизофренией и здоровых лиц (Me [Q_1 ; Q_3]). Примечание: $p = 0,015$ – уровень статистической значимости различий при сравнении показателей пациентов и контрольной группы

В результате проведенного иммуноферментного анализа было выявлено достоверное ($p = 0,048$) повышение уровня кортизола в сыворотке крови больных шизофренией ($610,27 \pm 15,58$ нмоль/л) по сравнению с группой контроля ($540,73 \pm 22,94$ нмоль/л). Аналогичная ситуация наблюдается относительно концентрации ДГЭА-С в сыворотке крови (рис.4). Было обнаружено достоверное ($p = 0,015$) повышение содержания нейростероида у пациентов ($3,426 [1,749; 5,788]$ мкг/мл), сравнивая со значением здоровых лиц ($2,199 [1,619; 3,273]$ мкг/мл).

В результате спектрофотометрического исследования было обнаружено статистически значимое повышение уровня глутамата у больных шизофренией ($21,106 \pm 0,428$ нмоль/мкл) относительно содержания этой аминокислоты у лиц контрольной группы ($10,566 \pm 0,507$) (рис. 5).

Увеличение содержания МСМ у пациентов находится в соответствии с изменением уровня антител к ДНК. Повышение уровня МСМ и содержания АТ к ДНК у больных шизофренией, вероятно, обусловлено усилением их образования в тканях и патологией их элиминации из организма.

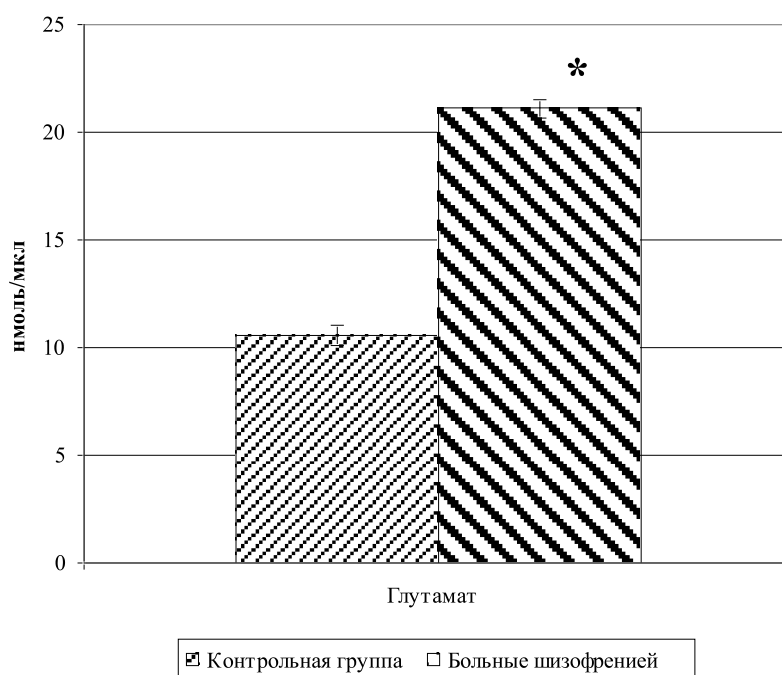


Рис. 5. Концентрация глутамата (нмоль/мл) в сыворотке крови у больных шизофренией и здоровых лиц ($M \pm m$). Примечание: * – $p < 0,0001$ – уровень статистической значимости различий при сравнении показателей между собой

Высокий уровень кортизола у больных шизофренией свидетельствует об активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, как одного из регуляторов стресс-системы организма. Гиперсекреция кортизола вызывает сдвиг метаболизма в сторону катаболических процессов, т.е. процессы распада и высвобождения энергии начинают преобладать над анаболическими. В тоже время, выявлено повышение концентрации ДГЭА-С, что вероятно является компенсаторной реакцией организма. Повышение концентрации кортизола усугубляет нарушения дофаминергической системы, наблюдаемые при шизофрении, особенно на фоне длительной антипсихотической терапии. Применение психотропных соединений прямо или опосредованно приводит к изменению концентрации гормонов в организме пациентов и основных видов обмена веществ и, как следствие этого, к сдвигу в деятельности ключевых энзиматических систем.

Нарушение глутаматергической трансмиссии считается ключевым компонентом патогенеза шизофрении [8, 7]. Согласно теории экстайтоотоксичности, происходит избыточный выброс в постсинаптическую щель возбуждающих нейромедиаторов, что приводит к гиперактивации

постсинаптических глутаматных рецепторов и, как следствие, к нарушению проницаемости ионных каналов. Избыточное накопление внутриклеточного кальция запускает каскад реакций с активацией протеолитических ферментов и разрушением клеточных структур, ведет к увеличению синтеза оксида азота, возрастанию ПОЛ с последующим развитием окислительного стресса, нарушением синтеза нейротрофических факторов и к апоптозу [4].

Заключение

Выявление комплекса биомаркеров, которые связаны с развитием деструктивных процессов или недостаточностью функционирования нейропротективных систем (нейростероидов и нейротрофинов) может внести вклад в понимание метаболических нарушений, связанных с патогенезом заболевания и позволит использовать выявленные особенности для коррекции лечения и подбора соответствующей терапии с точки зрения персонализированного подхода к пациентам.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-15-00480 «Поиск ключевых биомаркеров патогенеза социально значимых эндогенных психических расстройств».

Список литературы

1. Иванова С.А., Федоренко О.Ю., Смирнова Л.П., Семке А.В. Поиск биомаркеров и разработка фармакогенетических подходов к персонализированной терапии больных шизофренией // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2013. – № 1. – С. 12–16.
2. Клинико-диагностическое значение молекул средней массы у больных психическими и неврологическими расстройствами: Пособие для врачей / С.А. Иванова, В.М. Алифорова, В.Ф. Лебедева и др. – Томск, 2010. – 32 с.
3. Кротенко Н. М. Молекулы средней массы и анти-тела к нативной и денатурированной ДНК у пациентов при различных типах течения рассеянного склероза / Н.М. Кротенко, В.М. Алифорова, Н.В. Кротенко, А.А. Рязанцева, А.С. Бойко, С.А. Иванова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 5. – С. 305–310.
4. Курбат М.Н. L-глутамат: современный взгляд на известную аминокислоту // Нейрохимия. – 2009. – Т. 26, № 3. – С. 202–207.
5. Семке А.В. Биологические и клинико-социальные механизмы развития эндогенных психических заболеваний / А.В. Семке, Т.П. Ветлугина, С.А. Иванова, Л.Д. Рахмазова, Е.Г. Корнетова, О.Ю. Федоренко, О.А. Лобачева // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2011. – № 4. – С. 19–23.
6. Смирнова Л.П. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах больных психическими и неврологическими расстройствами / Л.П. Смирнова, Н.В. Кротенко, Н.М. Кротенко, В.Н. Логинов, М.В. Духан, С.А. Иванова, Ю.Л. Мальцева // Сибирский вестник психиатрии и наркологии – 2008. – № 1. – С. 133–135.
7. Ivanova S.A. Glutamate Concentration in the Serum of Patients with Schizophrenia / A.S. Boyko, O.Yu. Fedorenko, N.M. Krotenko, A.V. Semke, N.A. Bokhan // Procedia Chemistry 10 (2014) 80 – 85
8. Ivanova S.A. NMDA receptor genotypes associated with the vulnerability to develop dyskinesia / S.A. Ivanova, E.V. Rudikov, O.Y. Fedorenko, A.V. Semke, A.J.M. Loonen, P. Pechlivanoglou, A.F.Y. Al Hadithy, J.R.B.J. Brouwers, B. Wilffert, M.B. Freidin, I.A. Zhukova, V.M. Alifirova, N.V. Govorin, V.A. Sorokina // Translational Psychiatry. – 2012. – Т. 2. – P. e67.
9. Ritsner M. Cortisol/dehydroepiandrosterone ratio and responses to antipsychotic treatment in schizophrenia / M. Ritsner, A. Gibel, R. Maayan, Y. Ratner, E. Ram, H. Bidsy, I. Modai, A. Weizman // Neuropsychopharmacology. – 2005. – № 10. – P. 1913–1922.
10. Stober G. Schizophrenia: from the brain to peripheral markers. A consensus paper of the WFSBP task force on biological markers / G. Stober, D. Ben-Shachar, M. Cardon, P. Falkai, A.N. Fonteh, M. Gawlik, B.Y. Glenthøj, E. Grunblatt, A. Jablensky, Y.K. Kim, J. Kornhuber, T.F. McNeil, N. Muller, B. Oranje, T. Saito, M. Saoud, A. Schmitt, M. Schwartz, J. Thome, M. Uzbekov, N. Durany, P. Riederer // World J. Biol. Psychiatry. – 2009. – № 10(2). – P. 127–155.