

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.895-056.34-056.32:611.018.54:616-097.3:57.083.36

Для цитирования: Епимахова Е.В., Смирнова Л.П., Казанцева Д.В., Паршукова Д.А., Кротенко Н.М., Васильева А.Р., Иванова С.А., Семке А.В. Оценка цитотоксических эффектов IgG, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2021. № 4 (113). С. 5–13. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-4\(113\)-5-13](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-4(113)-5-13)

Оценка цитотоксических эффектов IgG, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией

Епимахова Е.В.¹, Смирнова Л.П.¹, Казанцева Д.В.², Паршукова Д.А.¹, Кротенко Н.М.^{1,2}, Васильева А.Р.², Иванова С.А.¹, Семке А.В.¹

¹ НИИ психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук
Россия, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
Россия, 634050, Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Введение. Исследования последних лет продемонстрировали наличие каталитических свойств иммуноглобулинов класса G (абзимов), выделенных из сыворотки крови больных шизофренией. К настоящему времени у таких пациентов выявлен ряд абзимов с разными каталитическими свойствами, в том числе и каталазной активностью. Однако биологическая роль каталитически активных антител в патогенезе заболевания не ясна. **Целью** данной работы явилось выявление эффектов сывороточных IgG у пациентов с шизофренией на жизнеспособность клеток на модели клеточной линии глиального происхождения U87. **Материалы и методы.** Выделение препаратов IgG проводили методом аффинной хроматографии из сыворотки крови 13 пациентов с параноидной шизофренией в острой фазе и 6 условно здоровых лиц. Гомогенность препаратов определяли методом градиентного электрофореза в 4-18% ПААГ. Каталазную активность IgG измеряли спектрофотометрическим методом. Оценка жизнеспособности клеточной культуры U87 под воздействием сывороточных IgG проводили с использованием флуоресцентных красителей пропидия йодида и Hoechst методом высокопроизводительного скрининга на платформе CellInsight CX7. Для этого клетки глиобластомы рассаживали в 96-луночные планшеты и культивировали с IgG в конечной концентрации 0,2 мг/мл в течение 72 часов. **Результаты.** Подтверждено статистически значимое ($p=0,047$) увеличение каталазной активности IgG-антител у пациентов в стадии обострения клинических проявлений шизофрении по сравнению с контрольной группой условно здоровых людей. Не обнаружено эффектов препаратов IgG, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией, на показатели жизнеспособности культуры клеток глиобластомы U87. **Заключение.** Выявлено, что IgG у больных шизофренией, обладающие повышенной каталазной активностью, не оказывают негативных эффектов на жизнеспособность клеток глиобластомы.

Ключевые слова: шизофрения, абзимы, IgG, глиобластома U87, каталазная активность IgG, жизнеспособность клеток.

ВВЕДЕНИЕ

Шизофрения – мультифакториальное заболевание, этиологический и патогенетический механизмы которого остаются не изученными в полном объеме. Данные клинико-биологических исследований продемонстрировали важную роль иммунной системы в развитии шизофрении [1]. Многочисленные работы свидетельствуют об изменении концентрации цитокинов в периферической крови и спинно-мозговой жидкости, увеличении концентрации нейроспецифичных аутоантител у пациентов с шизофренией и активации

микроглии [2, 3, 4, 5, 6]. В последние годы в сыворотке крови пациентов, страдающих шизофренией, обнаружены антитела, обладающие каталитическими свойствами (абзимы). К настоящему времени выявлены следующие абзимы: ДНК, РНК, ОБМ и гистон-гидролизующие и расщепляющие гидроперекись водорода иммуноглобулины класса G (IgG) [7, 8, 9]. Вместе с тем биологическая роль абзимов в патогенезе заболевания не изучена всесторонне и не установлена окончательно.

В опубликованных авторами из Австралии и США исследованиях обсуждается повышенная проницаемость гематоэнцефалического барьера при шизофрении [10, 11]. Однако до настоящего времени не установлен факт проникновения периферических иммуноглобулинов в головной мозг. Одна из известных патогенетических гипотез наделяет абзимы цитотоксическими свойствами, реализующимися на клетках головного мозга. Изучение молекулярных механизмов действия IgG, обладающих каталитическими свойствами, на клетки центральной нервной системы *in vitro* проверит эту гипотезу.

В настоящем исследовании в качестве экспериментальной модели для установления эффектов IgG использована иммортализованная клеточная линия глиального происхождения U87.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение эффектов IgG, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией, обладающих каталазной активностью, на жизнеспособность клеток на модели клеточной линии U87 глиобластомы человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты и материал

Работа выполнена на базе лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Больные шизофренией, включенные в исследование, получали лечение в отделении эндогенных расстройств (руководитель отделения – д.м.н., профессор А.В.Семке).

Диагностическая оценка и клиническая верификация заболевания были проведены врачами-психиатрами отделения эндогенных расстройств согласно МКБ-10 и руководству «Оценочный перечень симптомов и глоссарий для психических расстройств». В основную группу исследования были включены 13 пациентов в возрасте от 33 до 70 лет (средний возраст составлял $48,8 \pm 13,64$ года) с диагнозом параноидной шизофрении (F20.00, F20.01, F20.02) в острой фазе; средняя длительность заболевания составила $18,08 \pm 11,5$ года. Контрольную группу исследования составили 6 психически и соматически условно здоровых лиц. Средний возраст в контрольной группе составил $28,66 \pm 9,22$ года.

Отбор условно здоровых проводился с использованием специально разработанной анкеты «Опросник здоровых лиц». Критерий включения – информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Критерием исключения для всех участников исследования было наличие хронических инфекций, воспалительных и аутоиммунных заболеваний, а также острых вирусных или бактериальных инфекций не менее чем за 2 месяца до начала исследования.

Забор крови у пациентов осуществляли из локтевой вены утром натощак; использовали системы Vacutainer («Becton Dickinson», США) с активатором свертывания крови. Для отделения сыворотки от форменных элементов пробирку с кровью центрифугировали при 2000g в течение 20 минут при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ в центрифуге Orto Alresa Digicen 21R (Испания).

Реактивы

В работе использовали среду Игла в модификации Дульбекко (DMEM) (ООО НПП «ПанЭко», Россия), пенициллин/стрептомицин (ООО НПП «ПанЭко», Россия), инактивированную эмбриональную телячью сыворотку (Thermo Fisher Scientific, США), флуоресцентный краситель Hoechst (Thermo Fisher Scientific, США), флуоресцентный краситель Propidium Iodide (Thermo Fisher Scientific, США); буфер А (50 мМ Трис-НСl, рН 7,5); буфер Б (0,1 М глицин-НСl, рН 2,6); 1М Трис-НСl, рН 8,8; 150 мМ NaCl; Triton X-100.

Выделение IgG

IgG выделяли из сыворотки крови методом аффинной хроматографии на хроматографе АКТА purifier GE Healthcare. Для этого 1 мл сыворотки крови наносили на колонку с Protein-G Sepharose [8], уравновешенную буфером А (150 мМ NaCl, 50 мМ Tris-НСl, рН 7,5). Белки, не взаимодействующие с сорбентом, отмывали буфером А до полного исчезновения оптической плотности при значении λ 280 нм. Неспецифически связанные белки элюировали тем же буфером (3 мл), содержащим 1% Triton X-10,0 и промывали колонку буфером А до нулевой оптической плотности. Иммуноглобулины класса G элюировали буфером Б (0,1 М глицин-НСl, рН 2,6), элюат собирали в охлаждаемые пробирки, содержащие 1 М Tris-НСl (рН 8,8). Очищенные препараты IgG диализовали против 50 мМ Tris-НСl, рН 7,5, содержащего 150 мМ NaCl при $+4^{\circ}\text{C}$ в течение 17 часов. Концентрацию белка в полученных препаратах определяли с использованием спектрофотометра Epoch (BioTek, США). Гомогенность препаратов IgG была подтверждена методом градиентного электрофореза в 4-18% ПААГ.

Определение каталазной активности IgG [12]

Каталазную активность IgG определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Specord M40 (Германия) по снижению концентрации перекиси водорода при добавлении исследуемого образца IgG. В среду инкубации, содержащую перекись водорода в 50 мМ фосфатном буфере рН 7,0, добавляли 100 мкл IgG-антител (0,5 мг/мл) и регистрировали изменение оптической плотности при длине волны поглощения 240 нм в течение 5 минут.

При расчете активности каталазы исходили из значения коэффициента миллимолярной экстинкции перекиси водорода: $\varepsilon=0,081 \text{ мМ}^{-1}/\text{см}^{-1}$.

Культивирование глиобластомы

Клетки глиобластомы человека U87 культивировали в среде ДМЕМ, содержащей 50 ед/мл пенициллина, 50 мкг/мл стрептомицина и 10% эмбриональной телячьей сыворотки, при 37° С, 90% влажности в атмосфере с 5% CO₂ в CO₂-инкубаторе (Sanyo MCO-5AC, Япония). Смену среды проводили каждые 2-3 дня.

Для изучения эффектов IgG на показатели жизнеспособности клетки глиобластомы рассаживали в 96-луночные планшеты (1x10⁴ клеток на лунку) и спустя сутки добавляли антитела IgG до конечной концентрации 0,2 мг/мл, далее культивировали в течение 72 часов. В качестве контроля использовали культуру, в которую вместо IgG вносили эквивалентные объемы буфера для диализа антител (50 мМ Трис-НСl, рН 7,5; 150 мМ NaCl). Указанные концентрации IgG-антител были подобраны с учетом результатов ранее проведенных собственных предварительных экспериментов и литературных данных [13, 14].

Оценка жизнеспособности клеток

Влияние препаратов IgG на жизнеспособность, оцениваемое на модели культуры клеток U87 глиобластомы человека, было проведено на платформе CellInsight CX7 HCS (Thermo Fisher Scientific, США), с использованием флуоресцентных красителей Hoechst (окрашивает все клеточные

ядра, регистрация сигнала при значении длины волны 386 нм) и Propidium Iodide (окрашивает ядра мертвых клеток, регистрация сигнала на длине волны 560 нм). Далее ядра идентифицировали и анализировали на основе интенсивности флуоресценции сигнала с использованием программного обеспечения для анализа клеток HCS Studio™ (Thermo Fisher Scientific).

Статистическая обработка результатов

Производилась с помощью программ SPSS, версия 20.0 для Windows. Проверку на нормальность распределения значений переменных проводили по критерию Колмогорова–Смирнова. Статистическую значимость различий между независимыми группами, характеризующимися количественными признаками и не подчиняющимися нормальному закону распределения, оценивали с использованием непараметрического рангового критерия Краскела–Уоллиса, для двух независимых групп – с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводили методом расчета коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первым этапом работы являлось подтверждение принадлежности изучаемой активности IgG к выделенным иммуноглобулинам: выделение на специфическом аффинном сорбенте, определение электрофоретической гомогенности препаратов (рис. 1).

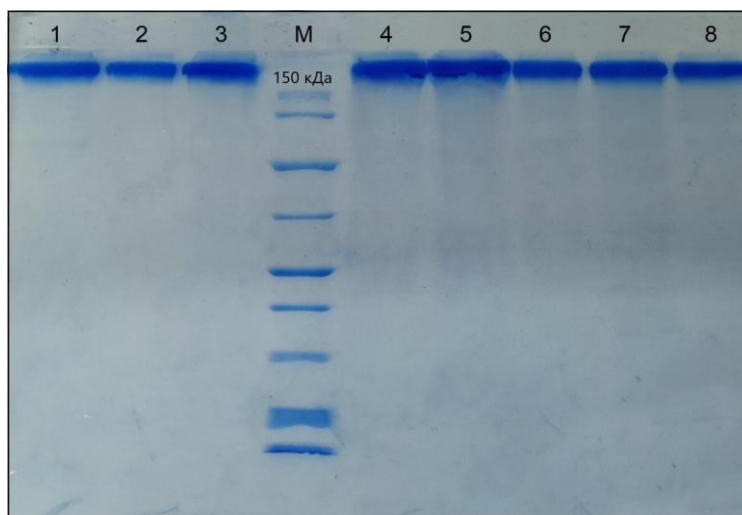


Рисунок 1. Электрофоретический анализ гомогенности препаратов IgG в градиентном ПААГ 4-18%

Примечание: дорожки 1-8 – IgG, выделенные из крови исследуемых лиц; М – маркеры молекулярной массы белков, кДа.

Выделенные из сыворотки крови IgG использовали для изучения их собственной каталазной активности. Выявлено, что IgG больных шизофренией и условно здоровых доноров обладают каталазной активностью. При этом значения ак-

тивности IgG пациентов статистически значимо ($p=0,047$) более высокие по сравнению со значениями в контрольной группе условно здоровых: 3,86 [2,41; 6,33] мМ H₂O₂/мин/мг против 1,74 [1,18; 1,74] (рис. 2).

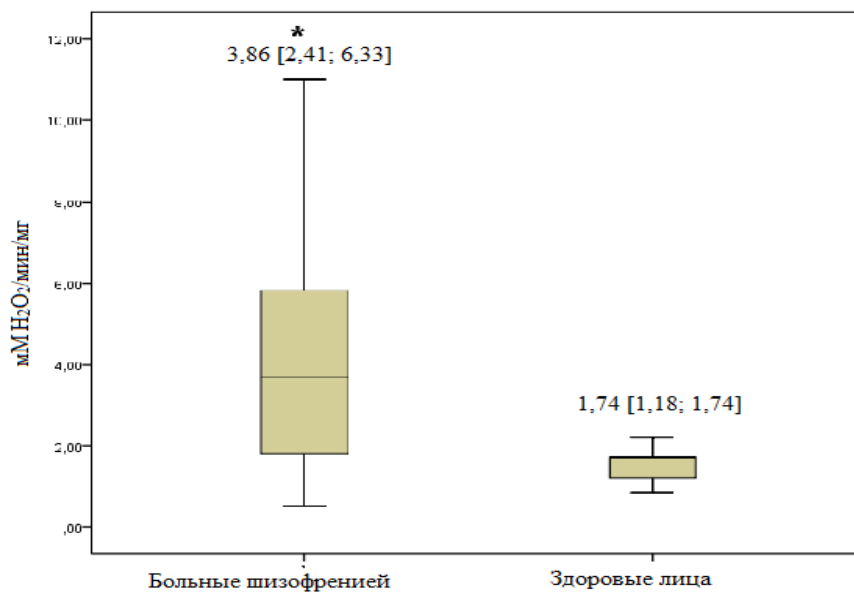


Рисунок 2. Каталазная активность IgG больных шизофренией и условно здоровых лиц

Примечание. Уровень статистической значимости между группой больных шизофренией и контрольной группой условно здоровых лиц: * – $p=0,047$.

На следующем этапе работы проводилось изучение влияния IgG с установленной каталазной активностью на показатели гибели клеток в клеточной культуре глиобластомы человека U87.

Долю мертвых клеток рассчитывали в соответствии с количеством ядер, окрашенных флуоресцентным красителем Propidium Iodide, от общего числа ядер (рис. 3).

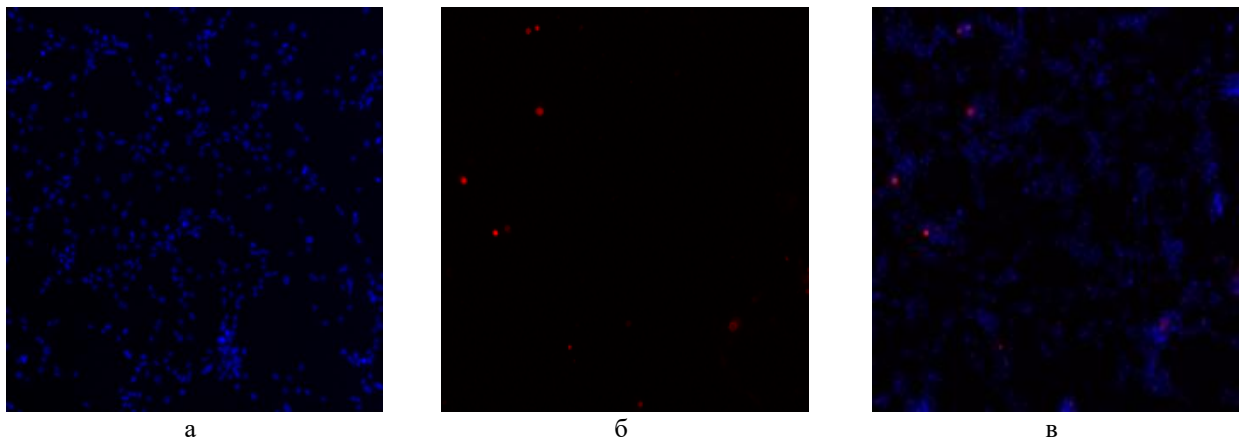


Рисунок 3. Регистрация клеток на приборе CX7

Примечание. Клетки, окрашенные флуоресцентным красителем Hoechst – а; клетки, окрашенные флуоресцентным красителем Propidium Iodide – б; композиция двух красителей – в.

В результате цитотоксический эффект препаратов IgG, полученных как из сыворотки крови больных шизофренией, так и условно здоровых лиц не был выявлен. Так, процент мертвых клеток после 72-часового воздействия IgG-антител, выделенных из крови пациентов, составил 1,78% [1,44; 2,15].

При добавлении в клеточную культуру IgG-антител условно здоровых лиц аналогичный показатель оказался более высоким и составил

2,03% [1,71; 2,24]. При культивировании глиобластомы с добавлением раствора Трис-HCl, но без IgG-антител процент мертвых клеток так же имел более высокое значение – 2,01 [1,96; 2,07]. Однако статистически значимых ($p=0,63$) корреляционных взаимосвязей между показателями каталазной активности и процентом мертвых клеток не было обнаружено.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее нами продемонстрировано, что IgG-антитела, выделенные из сыворотки крови больных шизофренией, обладают каталазной активностью [8]. В настоящей работе также определялась собственная каталазная активность IgG-антител, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией и здоровых лиц. Подтверждены полученные ранее результаты и установлено, что каталазная активность IgG антител пациентов в стадии обострения клинических проявлений шизофрении статистически значимо превышает такую активность в группе здоровых людей. Этот результат можно связать с высоким уровнем генерализованного окислительного стресса у больных шизофренией [15, 16, 17, 18, 19, 20]. Показано, что антитела с каталитическими свойствами обнаружены при разных патологических состояниях и у здоровых лиц, но наибольшее число исследований посвящено свойствам абзимов при аутоиммунных заболеваниях [21]. При этом в ряде работ описаны цитотоксические эффекты препаратов IgG, проявляющих ДНК-азную активность, полученных из сыворотки крови больных системной красной волчанкой и ревматоидным артритом. Авторами высказываются предположения о способности IgG проникать через мембрану клеток, воздействуя на внутриклеточные процессы, активировать апоптоз и клеточную гибель [13, 22, 23].

В связи с этим на следующем этапе работы нами изучено влияние IgG, обладающих каталазной активностью, на жизнеспособность культуры клеток глиобластомы человека U87. Клеточную линию U87 широко применяют в научных исследованиях в качестве альтернативной модели глиальных клеток для изучения механизмов различных биологически активных соединений [24, 25]. Основными преимуществами использования иммортализованных клеточных линий являются относительная простота при культивировании и высокая скорость роста клеток.

В результате проведенного *in vitro* эксперимента, вопреки предполагаемым ожиданиям, не было обнаружено цитотоксического эффекта препаратов IgG, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией, на клеточной модели глиобластомы U87. Как известно, опухолевые клетки проявляют устойчивость к влиянию АФК и других цитотоксических факторов [26]. Возможно, отсутствие ожидаемого эффекта обусловлено наличием защитных механизмов, свойственных глиобластоме U87. Для окончательного вывода о влиянии IgG-антител больных шизофренией на показатели клеточной гибели необходимы дальнейшие исследования в этом направлении с использованием других клеточных моделей и методов исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в связи с публикацией данной статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках выполнения технологии психиатрического сервиса в диагностике и персонализированной терапии больных шизофренией и шизотипическим расстройством. Номер государственной регистрации АААА-А20-1200416900-2.

В части выделения IgG и определения их каталазной активности работа поддержана грантом РФФИ № 18-15-00053-П «Поиск периферических маркеров, ассоциированных с нарушением миелинизации головного мозга и патогенезом заболевания при шизофрении».

Оценка жизнеспособности клеточной культуры проводилась с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование с участием людей проведено с соблюдением принципов информированного согласия и этических стандартов, разработанных в соответствии с Хельсинской декларацией ВМА, и одобрено Локальным этическим комитетом при НИИ психического здоровья Томского НИМЦ (№ 113 от 24 сентября 2018 г.).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ветлугина Т.П. Иммунопатология при шизофрении: итоги исследования в НИИ психического здоровья Томского НИМЦ. Сибирский вестник психиатрии и наркологии. 2020. № 4 (109). С. 5-14. Vetlugina TP. Immunopathology in schizophrenia: results of the study at Mental Health Research Institute of Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences. Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry. 2020;4(109):5-14. doi: 10.26617/1810-3111-2020-4(109)-5-14 (in Russian).
2. Müller N, Weidinger E, Leitner B, Schwarz MJ. The role of inflammation in schizophrenia. Front Neurosci. 2015 Oct 21;9:372. doi: 10.3389/fnins.2015.00372. PMID: 26539073; PMCID: PMC4612505.
3. Miller BJ, Buckley P, Seabolt W, Mellor A, Kirkpatrick B. Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects. Biol Psychiatry. 2011 Oct 1;70(7):663-71. doi: 10.1016/j.biopsych.2011.04.013. Epub 2011 Jun 8. PMID: 21641581; PMCID: PMC4071300.
4. Horváth S, Mirnics K. Immune system disturbances in schizophrenia. Biol Psychiatry. 2014 Feb 15; 75(4):316-23. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.06.010. Epub 2013 Jul 25. PMID: 23890736; PMCID: PMC3841236.
5. Зозуля С.А., Олейчик И.В., Андросова Л.В., Отман И.Н., Сарманова З.В., Столяров С.А., Бизяева А.С., Юнилайнен О.А., Ключник Т.П. Мониторинг течения эндогенных психозов по

- иммунологическим показателям. Психическое здоровье. 2017. Т. 15, № 1 (128). С. 11-18. Zozulya SA, Oleichik IV, Androsova LV, Otman IN, Sarmanova ZV, Stolyarov SA, Bizyaeva AS, Yunilainen O A, Klyushnik TP. Monitoring trend of endogenous psychoses by immunological parameters. *Mental Health*. 2017;15,1(128):11-18 (in Russian).
6. Ключник Т.П., Зозуля С.А., Олейчик И.В. Маркеры активации иммунной системы в мониторинге течения эндогенных психических заболеваний. В книге: Биологические маркеры шизофрении: поиск и клиническое применение / под ред. Н.А. Бохана, С.А. Ивановой. Новосибирск: Изд-во СО РАН; 2017. С. 34-46. Klyushnik TP, Zozulya SA, Oleichik IV. Markers of activation of the immune system in monitoring the course of endogenous mental diseases. In the book: *Biological markers of schizophrenia: search and clinical application* / edited by N.A. Bokhan, S.A. Ivanova. Novosibirsk: SB RAS Publishing House; 2017:34-46 (in Russian).
 7. Parshukova D, Smirnova LP, Ermakov EA, Bokhan NA, Semke AV, Ivanova SA, Buneva VN, Nevinsky GA. Autoimmunity and immune system dysregulation in schizophrenia: IgGs from sera of patients hydrolyze myelin basic protein. *J Mol Recognit*. 2019 Feb;32(2):e2759. doi: 10.1002/jmr.2759. Epub 2018 Aug 15. PMID: 30112774.
 8. Ermakov EA, Smirnova LP, Bokhan NA, Semke AV, Ivanova SA, Buneva VN, Nevinsky GA. Catalase activity of IgG antibodies from the sera of healthy donors and patients with schizophrenia. *PLoS One*. 2017 Sep 25;12(9):e0183867. doi: 10.1371/journal.pone.0183867. PMID: 28945759; PMCID: PMC5612456.
 9. Ramesh R, Sundaresh A, Rajkumar RP, Negi VS, Vijayalakshmi MA, Krishnamoorthy R, Tamouza R, Leboyer M, Kamalanathan AS. DNA hydrolysing IgG catalytic antibodies: an emerging link between psychoses and autoimmunity. *NPJ Schizophrenia*. 2021 Feb 26;7(1):13. doi: 10.1038/s41537-021-00143-6. PMID: 33637732; PMCID:PMC7910540.
 10. Glass LJ, Sinclair D, Boerigter D, Naude K, Fung SJ, Brown D, Catts VS, Tooney P, O'Donnell M, Lenroot R, Galletly C, Liu D, Weickert TW, Shannon C. Brain antibodies in the cortex and blood of people with schizophrenia and controls. *Transl Psychiatry*. 2017;7(8):e1192. Published 2017 Aug 8. doi: 10.1038/tp.2017.134
 11. Najjar S, Pahlajani S, De Sanctis V, Stern JNH, Najjar A, Chong D. Neurovascular Unit Dysfunction and Blood-Brain Barrier Hyperpermeability Contribute to Schizophrenia Neurobiology: A Theoretical Integration of Clinical and Experimental Evidence. *Front Psychiatry*. 2017 May 23;8:83. doi: 10.3389/fpsy.2017.00083. PMID: 28588507; PMCID: PMC5440518.
 12. Beers RF Jr, Sizer IW. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem*. 1952 Mar;195(1):133-40. PMID: 14938361.
 13. Сабирзянова А.З., Невзорова Т.А. Цитотоксичность и генотоксичность антител к нативной дезоксирибонуклеиновой кислоте при системной красной волчанке и ревматоидном артрите. *Российский иммунологический журнал*. 2013. Т. 7 (16), № 4. С. 428-436. Sabirzyanova AZ, Nevzorova TA. Cytotoxicity and genotoxicity of antibodies to native deoxyribonucleic acid in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Russian Journal of Immunology*. 2013;7(16),4:428-436 (in Russian).
 14. Ermakov E, Zaharova O, Ivanova S, Buneva V, Nevinsky G. New link between inflammation and schizophrenia: IgG with nuclease activity. *European Neuropsychopharmacology*. 2018; S15-S16. doi: 10.1016/j.euroneuro.2017.12.035
 15. Ermakov EA, Dmitrieva EM, Parshukova DA, Kazantseva DV, Vasilieva AR, Smirnova LP. Oxidative Stress-Related Mechanisms in Schizophrenia Pathogenesis and New Treatment Perspectives. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Jan 23;2021:8881770. doi: 10.1155/2021/8881770. PMID: 33552387; PMCID: PMC7847339.
 16. Смирнова Л.П., Кротенко Н.В., Кротенко Н.М., Логинов В.Н., Духан М.В., Иванова С.А., Мальцева Ю.Л. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах больных психическими и неврологическими расстройствами. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2008. № 1 (48). С. 133-135. Smirnova LP, Krotenko NV, Krotenko NM, Loginov VN, Dukhan MV, Ivanova SA, Maltseva Yu.L. The activity of antioxidant enzymes in erythrocytes of patients with mental and neurological disorders. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2008;1(48):133-135 (in Russian).
 17. Кротенко Н.М., Смирнова Л.П., Логинов В.Н., Иванова А.С., Семке А.В. Влияние нейролептической терапии на состояние перикисного окисления липидов и систему глутатиона у больных шизофренией. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2010. № 2 (59). С. 133-135. Krotenko NM, Smirnova LP, Loginov VN, Ivanova AS, Semke AV. The effect of neuroleptic therapy on the state of lipid peroxidation and the glutathione system in patients with schizophrenia. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2010;2(59):133-135 (in Russian).
 18. Щигорева Ю.Г., Смирнова Л.П., Кротенко Н.М., Бойко А.С., Корнетова Е.Г., Семке А.В. Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах периферической крови больных шизофренией с поздней дискинезией. *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 5. С. 341. Shchigoreva YuG, Smirnova LP, Krotenko NM, Boyko AS, Kornetova EG, Semke AV. Activi-

- ty of antioxidant enzymes in erythrocytes of peripheral blood of schizophrenic patients with tardive dyskinesia. *Modern Problems of Science and Education*. 2013; 5:341 (in Russian).
19. Прохорова Т.А., Савушкина О.К., Терешкина Е.Б., Каледа В.Г., Помыткин А.Н., Бокша И.С., Бурбаева Г.Ш. Активность ферментов глутатионового обмена (глутатионредуктазы и глутатион-*s*-трансферазы) в тромбоцитах больных эндогенными психозами. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2015. Т. 17, № 1. С. 95-97. Prokhorova TA, Savushkina OK, Tereshkina EB, Kalela VG, Pomytkin AN, Boksha IS, Burbaeva GSh. The activity of enzymes of glutathione metabolism (glutathione reductase and glutathione-*s*-transferase) in platelets of patients with endogenous psychoses. *Health and Education in the XXI Century*. 2015;17, 1:95-97 (in Russian).
 20. Савушкина О.К., Бокша И.С., Воробьева Е.А., Бурминский Д.С., Морозова М.А., Бурбаева Г.Ш. Активность тромбоцитарной глутатионредуктазы у больных шизофренией. *Вестник Совета молодых учёных и специалистов Челябинской области*. 2016. Т. 1. № 2 (13). С. 21-23. Savushkina OK, Boksha IS, Vorobieva EA, Burminsky DS, Morozova MA, Burbaeva GSh. The activity of platelet glutathione reductase in patients with schizophrenia. *Bulletin of the Council of Young Scientists and Specialists of the Chelyabinsk Region*. 2016;1,2(13): 21-23 (in Russian).
 21. Nevinsky GA. Catalytic antibodies in norm and systemic lupus erythematosus. In: Khan WA (Ed.). *Lupus*. Rijeka, Croatia: InTech; 2017:41-101. doi: 10.5772/67790
 22. Rivadeneyra-Espinoza L, Ruiz-Argüelles A. Cell-penetrating anti-native DNA antibodies trigger apoptosis through both the neglect and programmed pathways. *J Autoimmun*. 2006 Feb;26(1):52-6. doi: 10.1016/j.jaut.2005.10.008. Epub 2005 Dec 20. PMID: 16368224.
 23. Suchkov SV. Mechanisms underlying cytotoxicity of anti-DNA antibodies. *Bull Exp Biol Med*. 2001 May;131(5):475-8. doi: 10.1023/a:1017936317842. PMID: 11550058.
 24. Li Y, Cheng D, Cheng R, Zhu X, Wan T, Liu J, Zhang R. Mechanisms of U87 astrocytoma cell uptake and trafficking of monomeric versus protofibril Alzheimer's disease amyloid- β proteins. *PLoS One*. 2014 Jun 18;9(6):e99939. doi: 10.1371/journal.pone.0099939. PMID: 24941200; PMCID: PMC4062444.
 25. Zabłocka A, Mitkiewicz M, Macała J, Janusz M. Neurotrophic Activity of Cultured Cell Line U87 is Up-Regulated by Proline-Rich Polypeptide Complex and Its Constituent Nonapeptide. *Cell Mol Neurobiol*. 201 Oct;35(7):977-86. doi: 10.1007/s10571-015-0192-8. Epub 2015 Apr 5. PMID: 25841889; PMCID: PMC4572042.
 26. Кондакова И.В., Какурина Г.В., Смирнова Л.П., Борунов Е.В. Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами. *Сибирский онкологический журнал*. 2005. № 1. С. 58-61. Kondakova IV, Kakurina GV, Smirnova LP, Borunov EV. Regulation of proliferation and apoptosis of tumor cells by free radicals. *Siberian Journal of Oncology*. 2005;1:58-61 (in Russian).

Поступила в редакцию 30.09.2021
Утверждена к печати 29.11.2021

Епимахова Елена Викторовна, к.б.н., научный сотрудник отделения аддиктивных состояний НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН. SPIN-код 7021-5740. ResearcherID J-3122-2017. Scopus Author ID 57216672615. ORCID iD 0000-0002-9304-4496.

Смирнова Людмила Павловна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН. lpsmirnova@yandex.ru, +7(3822)72-38-32. SPIN-код 2351-1097. ResearcherID C-9126-2012. Scopus Author 7102578775. ORCID iD 0000-0003-0083-9124.

Казанцева Дарья Витальевна, студент, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. dashka1745@mail.ru, +7(3822)72-38-32.

Паршукова Дарья Андреевна, к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН. susl2008@yandex.ru, +7(3822)72-38-32. SPIN-код 9520-6480. ResearcherID C-9937-2012. Scopus Author ID 57188639720. ORCID iD 0000-0003- 2760-0252.

Кротенко Нина Михайловна, к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и биохимии НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН, доцент кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. krovlad@yandex.ru, +7(3822)72-38-29. SPIN-код 1414-3720. ResearcherID S-6458-2016. ORCID iD 0000-0003-0171-1368.

Васильева Алиса Романовна, студент, ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. dashka1745@mail.ru, +7(3822)72-38-32.

Иванова Светлана Александровна, д.м.н., профессор, заместитель директора по научной работе НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН. ivanovaniipz@gmail.com, +7(3822)72-31-77. SPIN-код 5776-1365. ResearcherID C-5333-2012. Scopus Author ID 36113599800. ORCID iD 0000-0001-7078-323X.

Семке Аркадий Валентинович, д.м.н., профессор, заместитель директора по научной и лечебной работе НИИ психического здоровья ТНИМЦ РАН. asemke@mail.ru, +7(3822)72-31-77. SPIN-код 2351-1097. ResearcherID B-1714-2016. Scopus Author 56004076800. ORCID iD 0000-0002-8698-0251.

✉ Епимахова Елена Викторовна, elenazhernova@sibmail.com

UDC 616.895-056.34-056.32:611.018.54:616-097.3:57.083.36

For citation: Epimakhova E.V., Smirnova L.P., Kazantseva D.V., Parshukova D.A., Krotenko N.M., Vasilyeva A.R., Ivanova S.A., Semke A.V. Evaluation of the cytotoxic effects of IgG isolated from the blood serum of schizophrenic patients. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2021; 4 (113): 5–13. [https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-4\(113\)-5-13](https://doi.org/10.26617/1810-3111-2021-4(113)-5-13)

Evaluation of the cytotoxic effects of IgG isolated from the blood serum of schizophrenic patients

Epimakhova E.V.¹, Smirnova L.P.¹, Kazantseva D.V.², Parshukova D.A.¹, Krotenko N.M.^{1,2}, Vasilyeva A.R.², Ivanova S.A.¹, Semke A.V.¹

¹ *Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences Aleutskaya Street 4, 634014, Tomsk, Russian Federation*

² *Siberian State Medical University Moskovsky Trakt 2, 634050634050, Tomsk, Russian Federation*

ABSTRACT

Introduction. Recent studies have demonstrated the presence of catalytic properties of class G immunoglobulins (abzymes) isolated from the blood serum of schizophrenic patients. To date, a number of abzymes with different catalytic properties, including catalase activity, have been identified in such patients. However, the biological role of catalytically active antibodies in the pathogenesis of the disease is not clear. **Objective** of this work was to reveal the effects of serum IgG in patients with schizophrenia on cell viability in a model of the glial cell line U87. **Materials and Methods.** Isolation of IgG preparations was performed by affinity chromatography from the blood serum of 13 patients with paranoid schizophrenia in the acute phase and 6 healthy individuals. The homogeneity of the preparations was determined by the method of gradient electrophoresis in 4-18% PAGE. IgG catalase activity was measured spectrophotometrically. The viability of the U87 cell culture under the influence of serum IgG was assessed using the fluorescent dyes propidium iodide and Hoechst by high-throughput screening on the CellInsight CX7 platform. For this, glioblastoma cells were seeded in 96-well plates and cultured with IgG at a final concentration of 0.2 mg / ml for 72 hours. **Results.** A statistically significant ($p=0.047$) increase in the catalase activity of IgG antibodies in patients at the stage of exacerbation of clinical manifestations of schizophrenia was confirmed as compared with the group of healthy people. No effects of IgG preparations isolated from the blood serum of schizophrenic patients on the viability of the U87 glioblastoma cell culture were found. **Conclusion.** It was revealed that IgG in patients with schizophrenia, which have increased catalase activity, do not have negative effects on the viability of glioblastoma cells.

Keywords: schizophrenia, abzymes, IgG, glioblastoma U87, catalase activity, cell viability.

Received September 30.2021

Accepted November 29.2021

Epimakhova Elena V., PhD, researcher, Addictive States Department, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. elenazhernova@sibmail.com. ResearcherID J-3122-2017. Scopus Author ID 57216672615. ORCID iD 0000-0002-9304-4496.

Smirnova Lyudmila P., PhD, senior researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. lpsmirnova@yandex.ru, +7(3822)72-38-32. SPIN-code 2351-1097. ResearcherID C-9126-2012. Scopus Author ID 7102578775. ORCID iD 0000-0003-0083-9124.

Kazantseva Daria V., student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation. dashka1745@mail.ru, +7(3822)72-38-32.

Parshukova Daria A., PhD, researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. susl2008@yandex.ru, +7(3822)72-38-32. SPIN-code 9520-6480. ResearcherID C-9937-2012. Scopus Author ID 57188639720. ORCID iD 0000-0003-2760-0252.

Krotenko Nina M., PhD, researcher, Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia; assistant professor, Department of Normal Physiology. Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. krovlad@yandex.ru, +7(3822)72-38-29. SPIN-code 1414-3720. ResearcherID S-6458-2016. ORCID iD 0000-0003-0171-1368.

Vasilyeva Alisa R., student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russia. dashka1745@mail.ru, +7(3822)72-38-32.

Ivanova Svetlana A., DSc, Deputy Director for Research, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. ivanovaniipz@gmail.com. +7(3822)72-31-77. ResearcherID C-5333-2012. Scopus Author ID 36113599800. ORCID iD 0000-0001-7078-323X

Semke Arkady V., MD, Prof., Deputy Director for Research and Medical Work, Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia. asemke@mail.ru, +7(3822)72-31-77. SPIN-code 2351-1097. ResearcherID B-1714-2016. Scopus Author ID 56004076800. ORCID iD 0000-0002-8698-0251.

✉ Epimakhova Elena V., elenazhernova@sibmail.com