

Оценка влияния IgG с ДНК-гидролизующей активностью, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией на жизнеспособность клеток линии нейробластомы человека SH-SY5Y

Епимахова Е.В.¹, Ермаков Е.А.², Казанцева Д.В.¹, Васильева А.Р.¹, Смирнова Л.П.¹

¹ Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

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

Шизофрения сопровождается выраженными изменениями в иммунной системе, в том числе образованием аутоантител [Ветлугина Т.П., 2020; Horváth S., Mirnics R., 2014]. Среди всего пула иммуноглобулинов изученных при шизофрении, встречаются антитела с каталитической активностью (абзимы).

Наличие каталитических свойств значительно увеличивает функциональные возможности антител, однако вместе с тем может приводить к патологическим эффектам. В литературе описаны цитотоксические эффекты поликлональных ДНК-гидролизующих антител при аутоиммунных заболеваниях (рассеянный склероз, системная красная волчанка). При шизофрении также обнаружены каталитические антитела с ДНК-гидролизующей активностью [Ermakov E. A., Smirnova L. P. et.al., 2015]. Однако их биологические свойства не изучены.

ЦЕЛЬ

Изучение эффектов IgG с ДНК-гидролизующей активностью, выделенных из сыворотки крови больных шизофренией, на жизнеспособность на модели клеточной линии SHSY5Y (нейробластомы человека).

МЕТОДЫ

Материалом явилась сыворотка крови 14 пациентов с параноидной шизофренией (F 20.00, F 20.01, F20.02) в острой фазе и 7 психически и соматически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту.

Методы:

1. IgG выделяли из сыворотки крови методом аффинной хроматографии на колонках с ProteinG-Sepharose. Отсутствие примесей и гомогенность полученных препаратов доказана методом градиентного электрофореза в 4–18% ПААГ с окраской Coomassie G-250.

2. ДНК-гидролизующую активность IgG оценивали по степени гидролиза плазмиды pBluescript. Продукты гидролиза анализировали в 1% агарозном геле после окрашивания бромистым этидием (Рис.1) и регистрировали с использованием системы геле-документации Gel Doc XR+ (Bio-Rad Laboratories, США).

3. Оценка жизнеспособности культуры клеток линии нейробластомы человека SH-SY5Y после воздействия исследуемых препаратов IgG проводили методом высокопроизводительного скрининга на платформе CellInsight CX7 (Thermo Scientific, США) с использованием флуоресцентных красителей Пропиди йодида и Хекста (Рис.2). Предварительно клетки нейробластомы рассаживали в 96-луночные планшеты (1x104 клеток на лунку), спустя сутки добавляли полученные препараты IgG больных шизофренией и здоровых доноров в конечной концентрации 0,1 или 0,2 мг/мл и культивировали в течении 24 часов.

4. Статистический анализ проводили в программе SPSS 20,0

Рисунок 1. Форез га 1% агарозном геле

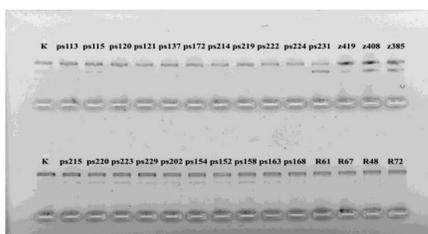
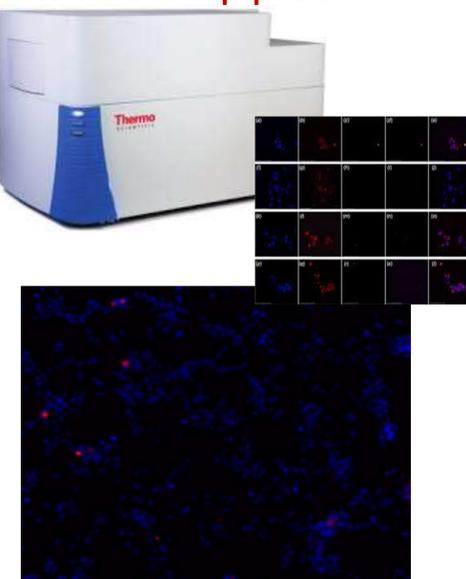


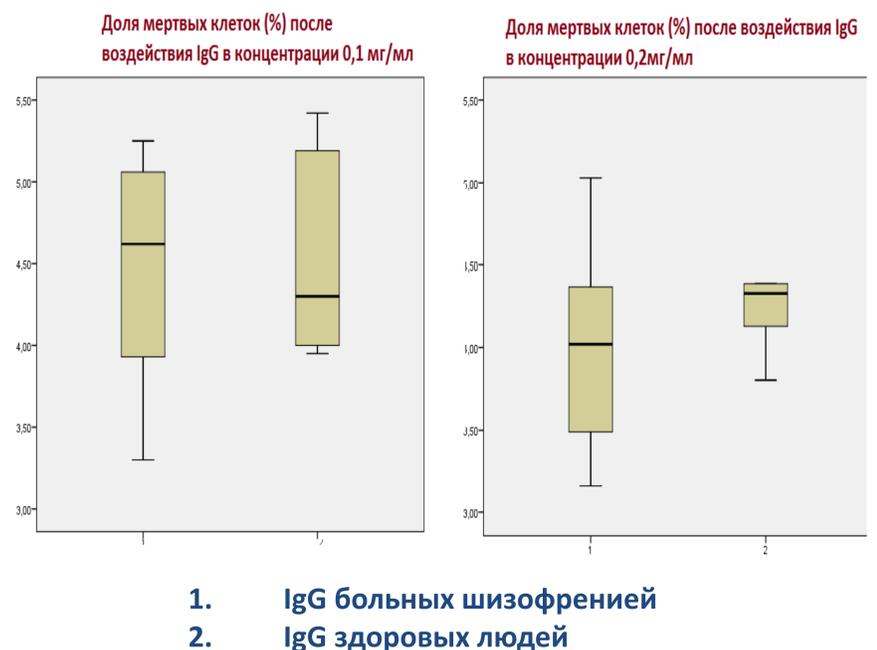
Рисунок 2. Регистрация клеток на платформе CX7



РЕЗУЛЬТАТЫ

Использованные в исследовании образцы IgG выделенные из сыворотки крови больных шизофренией обладали высокой ДНК-гидролизующей активностью (15 – 48 % гидролиза субстрата за 2 часа инкубации). Протестированные препараты IgG здоровых доноров не обладали активностью. Доля мертвых клеток линии SH-SY5Y после воздействия 0,1мг/мл IgG больных шизофренией обладающих ДНК-гидролизующей активностью через 24 часа составила 4,62 [3,93; 5,06] %. При добавлении в клеточную культуру IgG здоровых доноров этот показатель составил 4,3 [4,00; 5,19] %. Аналогичные результаты получены при более высокой концентрации антител – 0,2 мг/мл. Доля мертвых клеток при культивировании с препаратами IgG больных шизофренией составил 4,02 [3,49; 4,37] %, при инкубации с IgG здоровых людей - 4,33 [4,36; 4,39] (Рис.3)

Рисунок 3. Доля мертвых клеток (%) после воздействия IgG



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, in vitro было показано, что выделенные из сыворотки крови пациентов с шизофренией IgG с ДНК-гидролизующей активностью, так и без активности не оказывают влияния на жизнеспособность клеток линии нейробластомы человека SH-SY5Y. Возможно, отсутствие цитотоксического действия IgG связано с высоким уровнем защитных свойств нейробластомы или является отличительной особенностью каталитических IgG при шизофрении, поскольку при других заболеваниях, например, при системной красной волчанке, каталитические антитела проявляют выраженную цитотоксичность.