

12. Wright G., Lewis H., Hogan B., et al. A self-expanding metal stent for complicated variceal hemorrhage: experience at a single center. // Gastrointestinal. Endosc. - 2010. - 71. - P. - 71-78.

Прохорова Т.А.<sup>1</sup>, Бокша И.С.<sup>2</sup>, Савушкина О.К.<sup>3</sup>, Терешкина Е.Б.<sup>4</sup>, Воробьева Е.А.<sup>5</sup>, Помыткин А.Н.<sup>6</sup>, Каледа В.Г.<sup>7</sup>, Бурбаева Г.Ш.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Научный сотрудник, <sup>2</sup>доктор биологических наук, <sup>3</sup>кандидат биологических наук, <sup>4</sup>кандидат биологических наук, <sup>5</sup>кандидат биологических наук, <sup>6</sup>врач-психиатр, <sup>7</sup>доктор медицинских наук, <sup>8</sup>доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ Научный центр психического здоровья

### АКТИВНОСТЬ ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТРОМБОЦИТАХ БОЛЬНЫХ ШИЗОФРЕНИЕЙ

*Аннотация*

Цель работы – оценка ферментативной активности глутаматдегидрогеназы (ГДГ) в тромбоцитах больных шизофренией (n=70) по сравнению с контрольной группой (n=34) и выявление возможной связи клинического состояния больных и активности тромбоцитарной ГДГ. Выяснено, что активность ГДГ у больных до лечения достоверно ниже, чем в контрольной группе. Обнаружены достоверные различия в активности ГДГ до начала лечения между подгруппами больных с первым приступом (ПП) эндогенного психоза, больных с хроническим течением заболевания и контрольной группой, причем у больных с ПП до лечения найдены достоверные корреляции активности ГДГ с баллами PANSS. У больных с хроническим течением таких связей нет. У больных с ПП активность ГДГ, определенная до лечения, достоверно связана с баллами по PANSS после лечения: чем выше активность ГДГ в тромбоцитах больных с ПП, тем ниже баллы по PANSS после лечения. Определение исходных значений активности тромбоцитарной ГДГ может иметь практическую ценность для прогноза эффективности антипсихотической фармакотерапии у пациентов с ПП.

**Ключевые слова:** глутаматдегидрогеназа, тромбоциты, шизофрения.

Prochorova T.A.<sup>1</sup>, Boksha I.S.<sup>2</sup>, Savushkina O.K.<sup>3</sup>, Tereshkina E.B.<sup>4</sup>, Vorobyeva E.A.<sup>5</sup>, Pomytkin A.N.<sup>6</sup>, Kaleda V.G.<sup>7</sup>, Burbaeva G.Sh.<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Research Scientist, <sup>2</sup>PhD in Biology, Doctor of Natural Sciences, <sup>3</sup>PhD in Biology, <sup>4</sup>PhD in Biology, <sup>5</sup>PhD in Biology, <sup>6</sup>Clinical psychiatrist, <sup>7</sup>MD, <sup>8</sup>PhD in Biology, Doctor of Natural Sciences, Professor, Mental Health Research Centre

### GLUTAMATE DEHYDROGENASE ACTIVITY IN PLATELETS OF PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA

*Abstract*

Aim – evaluation of glutamate dehydrogenase (GDH) enzymatic activity in platelets of patients with schizophrenia (n=70) in comparison with control group (n=34) and elucidation of possible link between their platelet GDH activity and clinical psychopathological condition. GDH activity in patients before antipsychotic treatment was significantly lower, than in control group. Significant differences were revealed in GDH activity before the treatment between subgroups of patients with first episode psychosis (FEP), chronic patients, and control group, wherein before the treatment course GDH activity correlated with PANSS in FEP patients. No links were found in patients with chronic schizophrenia. Besides, significant links between GDH activity determined before the treatment course and PANSS scores after the treatment were found in FEP patients: the higher were levels of platelet GDH activity in FEP patients, the lower were their PANSS scores after the treatment. **Conclusion** – initial (baseline) levels of platelet GDH activity can have value for prognosis of antipsychotic pharmacotherapy efficacy in patients with FEP.

**Key words:** glutamate dehydrogenase, platelets, schizophrenia

#### Введение

Шизофрения – тяжелое эндогенное психическое расстройство, этиология которого до конца не ясна. Существует много гипотез, пытающихся объяснить патогенез шизофрении, среди них нейрохимические гипотезы, предполагающие возникновение дисбаланса активности нейромедиаторных систем, занимают центральное место.

В патогенезе шизофрении, наряду с другими нейромедиаторными системами, участвует глутаматергическая система. Так, в мозге больных шизофренией выявлены изменения концентрации глутамата (Глу), активности и концентрации его рецепторов и переносчиков по сравнению с психически здоровыми лицами, а также описаны психотомиметические эффекты сильных антагонистов глутаматных рецепторов NMDA типа. На этих фактах была основана «глутаматергическая» гипотеза патогенеза шизофрении [2, 10, 11, 12], предполагающая снижение активности Глу-зависимого проведения нервных импульсов в мозге больных главным образом из-за недостаточной активности рецепторов NMDA типа.

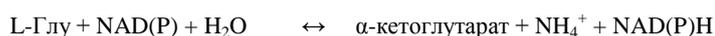
Однако, проведение глутаматного нейромедиаторного сигнала зависит не только от количества и активности непосредственно компонентов глутаматергической системы (рецепторов и переносчиков Глу), но и от интенсивности работы ферментов, метаболизирующих этот нейромедиатор.

Поэтому концентрация глутамата в синапсах определяется равновесием между транспортом Глу, связыванием Глу специфическими рецепторами и метаболизмом Глу ферментами. Концентрация Глу может изменяться вследствие нарушения метаболизма Глу соответствующими ферментами.

В результате наших исследований аутопсийного мозга человека был выявлен ряд особенностей метаболизма Глу при шизофрении в сравнении с психически здоровыми лицами. Эти особенности заключаются в повышении количества ключевых ферментов метаболизма Глу – глутаминсинтетазы, белка подобного глутаминсинтетазе, изоферментов глутаматдегидрогеназы (ГДГ) и изменении регуляторных связей, контролируемых соотношением этих ферментов [5, 6].

Нейрохимические исследования мозга направлены на выяснение патогенеза шизофрении, но важен также поиск таких биохимических изменений в крови больных шизофренией, которые помогли бы правильно подобрать антипсихотическую терапию и прогнозировать ее эффективность. В этом случае особое внимание обращают на себя тромбоциты крови, которые являются, по данным ряда авторов [3], биохимической моделью, отражающей процессы, происходящие в нервной ткани. В тромбоцитах найден ряд компонентов глутаматной системы – рецепторы и переносчики Глу (Глу-зависимые ионные каналы). Более того, в тромбоцитах больных шизофренией обнаружены «аномалии» работы глутаматергической системы – сверхчувствительность глутаматных рецепторов к Глу [3]. Представляется важным найти в тромбоцитах периферической крови и другие, кроме глутаминазы, ферменты глутаматного обмена и оценить их в качестве «периферических маркеров» метаболизма Глу при шизофрении.

Как отмечено выше, одним из ключевых ферментов метаболизма Глу является глутаматдегидрогеназа (ГДГ, КФ 1.4.1.3). ГДГ катализирует обратимое окислительное дезаминирование L-Глу с образованием  $\alpha$ -кетоглутарата, используя в качестве коферментов NAD/NADP:



В мозге человека этот фермент представлен тремя изоформами (ГДГ I, ГДГ II и ГДГ III), которые различаются локализацией и силой ассоциации с мембранами [5].

В экстрактах тромбоцитов человека количество иммунореактивной ассоциированной с мембраной изоформы ГДГ III оказалось ниже порога обнаружения методом ECL-иммуноблоттинга [6]. Однако удалось обнаружить два легко растворимых изофермента ГДГ I и ГДГ II [4, 7]. Эти ферменты были выявлены по иммунореактивности с использованием антител к ГДГ мозга человека. В тромбоцитах было обнаружено присутствие ГДГ не только по ее иммунореактивности, но зарегистрирована и ферментативная активность ГДГ.

Цель настоящей работы – оценка уровня ГДГ (по ферментативной активности) в тромбоцитах больных шизофренией по сравнению с контрольными случаями и выявление возможной связи клинического состояния больных и тромбоцитарной активности ГДГ.

#### Материалы и Методы

Проведено обследование группы больных шизофренией (n=70) (среднее значение возраста 28,37±7,37 лет, медиана 27 лет), госпитализированных в ФГБНУ Научный центр психического здоровья в состоянии обострения психотической симптоматики. Из них 35 пациентов с первым приступом и 35 – с хроническим течением заболевания.

Больные обследовались традиционным клинико-психопатологическим методом с использованием: общей шкалы позитивных и негативных симптомов (PANSS), включающей “подшкалы” – позитивной (PANSSpos), негативной (PANSSneg) и общей психопатологической симптоматики (PANSSpsy). Психометрическая оценка больных осуществлялась дважды: до начала лечения и по окончании курса терапии.

Курс антипсихотической терапии проводили в течение 1 месяца (или дольше – до улучшения состояния) препаратами рисполепт (рисперидон), азалептин, зипрекса (оланзапин), клопиксол, галоперидол, этаперазин.

**Контрольную группу** составляли лица без психической патологии (n=34). Все обследованные - лица мужского пола в возрасте 18-59 лет (среднее значение возраста 39,61±11,28 лет, медиана 39 лет). Критериями исключения из исследования являлись органические заболевания центральной нервной системы, острые и хронические соматические заболевания.

Выделение тромбоцитов из периферической крови и приготовление экстрактов проводили как описано ранее [7].

Активность ГДГ определяли до начала курса лечения и по его окончании спектрофотометрически по методу [9] с модификациями. Изменение поглощения NADH регистрировалось при 340 nm, для расчета ферментативной активности исходили из значения коэффициента молярной экстинкции NADH  $6,22 \cdot 10^{-3} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  в расчете на 1 мг белка.

Концентрацию белка определяли по методу Лоури.

Для статистического анализа применялся модуль “непараметрический анализ” программы Statistica 6.0 (StatSoft). Для оценки достоверности различий, изменений параметров и связей между ними применялся метод ранговых парных корреляций (с вычислением R - коэффициента корреляции Спирмена), критерий Краскела-Уоллиса, U-тест Манна-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

#### Результаты

Как видно из описания группы больных и контрольной группы, они не отличались по гендерному признаку, но различались по возрасту. Однако, в обеих группах не было выявлено корреляции между уровнем активности ГДГ и возрастом, что позволило нам провести сравнение активности ГДГ между группами.

Было обнаружено, что активность ГДГ в тромбоцитах больных до лечения достоверно ниже, чем в контрольной группе (U-тест Манна-Уитни  $p < 0,001$ ). В результате лечения активность ГДГ достоверно не изменилась. Полученные результаты приведены в таблице.

Таблица – Тромбоцитарная активность ГДГ в контрольной группе и у больных шизофренией до и после антипсихотической терапии

	Среднее значение, U/мг белка	Медиана, U/мг белка
Группа больных шизофренией до лечения	1,61±0,62	1,67
Группа больных шизофренией после лечения	1,72±0,53	1,60
Контрольная группа	2,01±0,44	2,01

Выявлена отрицательная корреляционная связь между клиническим состоянием больных до лечения: PANSStot и PANSSpsy - и тромбоцитарной активности ГДГ ( $R = -0,24$ ,  $p < 0,05$  и  $R = -0,23$ ,  $p < 0,04$  соответственно), т.е. чем тяжелее клиническое состояние, оцененное по шкалам PANSStot и PANSSpsy, тем ниже тромбоцитарная активность ГДГ у этих больных. При этом между PANSSpos, PANSSneg и активностью ГДГ не было выявлено корреляции. После лечения никаких корреляций между активностью ГДГ и баллами по PANSS не было.

Далее мы разделили группу больных на 2 подгруппы: больные с первым психотическим приступом и больные с хроническим течением заболевания. Как и в общей группе, у больных с первым приступом активность ГДГ в тромбоцитах была ниже, чем в контрольной группе до и после лечения ( $p < 0,004$  и  $p < 0,006$  соответственно). То же самое наблюдалось и у больных с хроническим течением ( $p < 0,002$  и  $p < 0,005$ ).

Критерий Краскел-Уоллиса показал достоверные различия в активности ГДГ до начала лечения между всеми тремя группами (больные с первым приступом, больные с хроническим течением заболевания и контрольная группа):  $H(2, N=100) = 9,61$ ,  $p = 0,01$ . Эти различия между группами по активности ГДГ сохранялись и после лечения:  $H(2, N=96) = 8,63$ ,  $p = 0,01$ .

Различия между подгруппами больных были выявлены при оценке корреляционной зависимости между баллами по PANSS и активностью тромбоцитарной ГДГ.

У больных с первым приступом до лечения была обнаружена довольно тесная отрицательная связь активности тромбоцитарной ГДГ и PANSStot ( $R = -0,40$ ,  $p < 0,008$ ), PANSSneg ( $R = -0,48$ ,  $p < 0,003$ ), PANSSpsy ( $R = -0,37$ ,  $p < 0,03$ ). В подгруппе больных с хроническим течением такой связи не было.

После лечения в обеих группах не было выявлено корреляций активности ГДГ и баллов по PANSS.

В то же время важно отметить, что в группе больных с первым приступом были выявлены корреляционные связи активности тромбоцитарной ГДГ, определенной до лечения, с баллами по PANSS после лечения: PANSStot ( $R = -0,38$ ,  $p < 0,04$ ), PANSSneg ( $R = -0,38$ ,  $p < 0,04$ ) и PANSSpsy ( $R = -0,37$ ,  $p < 0,04$ ), тогда как у больных с хроническим течением шизофрении не было выявлено таких связей.

Т.о., чем выше активность ГДГ в тромбоцитах больных с первым приступом, тем ниже баллы по PANSStot, PANSSneg и PANSSpsy после лечения.

#### Обсуждение результатов

В результате проведенных исследований показано, что активность тромбоцитарной ГДГ у больных шизофренией в состоянии обострения как в общей группе, так и в подгруппах больных с первым психотическим приступом и у больных с хроническим течением достоверно ниже, чем в контрольной группе.

Наиболее значимые результаты были получены при изучении больных с первым приступом. В этой подгруппе до лечения была обнаружена довольно тесная отрицательная связь тромбоцитарной активности ГДГ и баллов PANSStot ( $R = -0,44$ ,  $p < 0,008$ ), PANSSneg ( $R = -0,48$ ,  $p < 0,003$ ), PANSSpsy ( $R = -0,37$ ,  $p < 0,03$ ). Также были выявлены связи, которые могут иметь прогностическое

значение: корреляции активности ГДГ до лечения с баллами по PANSStot ( $R = -0,38$   $p < 0,038$ ), PANSSneg ( $R = -0,38$   $p < 0,037$ ) и PANSSpsy ( $R = -0,37$   $p < 0,04$ ) после лечения. Т.о., чем выше активность ГДГ в тромбоцитах больных с первым приступом, тем лучше клиническая картина после лечения: ниже баллы по PANSStot, PANSSneg и PANSSpsy.

Как указывалось во Введении, ранее в экстрактах тромбоцитов человека нам удалось обнаружить два изофермента ГДГ I и ГДГ II [1, 4, 7], причем экстракция проводилась детергентом – додецилсульфатом натрия – и образцы обрабатывались кипячением, согласно стандартному протоколу. ГДГ I и ГДГ II были выявлены методом ECL-иммуноблоттинга с использованием иммунозондов – антител к ГДГ мозга человека. При оценке количества ГДГ по иммунореактивности учитывалась сумма изоформ ГДГ I и ГДГ II. Этим же методом были исследованы тромбоциты 60 больных хронической шизофренией и 60 добровольцев без психической патологии, и количество ГДГ в тромбоцитах больных до лечения достоверно не отличалось от уровня в контрольной группе [8].

При оценке ферментативной активности тромбоцитарной ГДГ в настоящей работе использован мягкий способ экстракции детергентом – лаурилмальтозидом (n-додецил-бета-D-мальтозидом), позволяющий сохранять ферментативную активность. В этом случае мы видим иную картину: активность ГДГ в контрольной группе выше, чем у больных.

Очевидно, додецилсульфат Na и додецилмальтозид по-разному экстрагируют изоферменты ГДГ из тромбоцитов, по-разному способствуя диссоциации изоформ, в частности, из тромбоцитарных митохондрий.

Нужно отметить, что метод определения ферментативной активности ГДГ не является таким трудоемким и дорогостоящим, как ECL-иммуноблоттинг, и для проведения клинических анализов следует отдать предпочтение более простому и недорогому методу определения ферментативной активности.

В заключение отметим, что исходные значения активности тромбоцитарной ГДГ могут иметь ценность для прогноза эффективности антипсихотической фармакотерапии у пациентов с первым приступом эндогенного психоза.

#### Литература

1. Бурбаева Г.Ш., Бокша И.С., Каледа В.Г. и др. Белок, подобный глутаминсинтетазе, глутаматдегидрогеназа и цитохром с-оксидаза в тромбоцитах больных при первом психотическом приступе в связи с лечением. // Ж. неврол. психиатрии им. С.С. Корсакова. - 2011. - Т 111. - N 9. – С. 61-66.
2. Bartha R., Williamson P.C., Drost D.J. Measurement of glutamate and glutamine in the medial prefrontal cortex of never-treated schizophrenic patients and healthy controls by proton magnetic resonance spectroscopy. Arch. Gen. Psychiatry // 1997. – Vol. 54. – P. 959-965.
3. Berk M. Plein H., Belsham B. Thr specificity of platelet glutamate receptor supersensitivity in psychotic disorder. // Life Sci. – 2000. – Vol. 66. – N 25. –P. 2427-2432.
4. Burbaeva G. Sh., Boksha I.S., Tereshkina E.B. et al Glutamate dehydrogenase immunoreactivity in platelets in schizophrenia. // World J. Biol. Psychiatry. –2001.- V.3S1.-P. 32.
5. Burbaeva G.Sh., Turishcheva M.S., Vorobyeva E.A. et al Diversity of glutamate dehydrogenase in human brain. Progress in Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry // 2002.- Vol. 26. - P. 427-435.
6. Burbaeva G.Sh., Boksha I.S., Turishcheva M.S. et al. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat . – 2003. – Vol. 27. – P. 675-680.
7. Burbaeva G.Sh., Boksha I.S., Tereshkina E.B., et al. Effect of olanzapine treatment on platelet glutamine synthetase-like protein and glutamate dehydrogenase immunoreactivity in schizophrenia. // World J Biol Psychiatry . - 2006. – Vol. 7. - N 2. – P. 75-81.
8. Burbaeva G. Sh., Boksha I. S., Turishcheva M. S. et al Platelet cytochrome c-oxidase activity in patients with acute schizophrenia in the course of their treatment with risperidone. // Health . – 2011. – Vol. 3. – N 1. – P. 13-19.
9. Fischer H.F. L-glutamate dehydrogenase from bovine liver. // In: Meister A (ed) Methods in enzymology. Academic Press New York. – 1985. – Vol. 113. – P. 16-27.
10. Gluck M.R., Thomas R.G., Davis K.L., Haroutunian V. Implications for altered glutamate and GABA metabolism in the dorsolateral prefrontal cortex of aged schizophrenic patients. // Am. J. Psychiatry . - 2002. – Vol. 159. - P. 1165-1173.
11. Krystal J. H., Belger A., D'Souza D.C. et al Therapeutic implications of the hyperglutamatergic effects of NMDA antagonists. // Neuropsychopharmacology . - 1999. – Vol. 21, P. 143-157.
12. Tamminga C.A., Frost D.O. Changing concepts in the neurochemistry of schizophrenia. // Am. J. Psychiat. - 2001. – Vol. 158. – P. 1365-1366.

#### References

1. Burbaeva GSh, Boksha IS, Kaleda VG et al. Glutamine synthetase-like protein, glutamate dehydrogenase, and cytochrome c-oxidase in platelets of patients with the first episode psychosis in the course of treatment.// Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.- 2011. – Vol. 111. – N 9. – P. 61-66.
2. Bartha R., Williamson P.C., Drost D.J. Measurement of glutamate and glutamine in the medial prefrontal cortex of never-treated schizophrenic patients and healthy controls by proton magnetic resonance spectroscopy. Arch. Gen. Psychiatry // 1997. – Vol. 54. – P. 959-965.
3. Berk M. Plein H., Belsham B. Thr specificity of platelet glutamate receptor supersensitivity in psychotic disorder. // Life Sci. – 2000. – Vol. 66. – N 25. –P. 2427-2432.
4. Burbaeva G. Sh., Boksha I.S., Tereshkina E.B. et al Glutamate dehydrogenase immunoreactivity in platelets in schizophrenia. // World J. Biol. Psychiatry. –2001.- V.3S1.-P. 32.
5. Burbaeva G.Sh., Turishcheva M.S., Vorobyeva E.A. et al Diversity of glutamate dehydrogenase in human brain. Progress in Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry // 2002.- Vol. 26. - P. 427-435.
6. Burbaeva G.Sh., Boksha I.S., Turishcheva M.S. et al. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in the prefrontal cortex of patients with schizophrenia. // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat . – 2003. – Vol. 27. – P. 675-680.
7. Burbaeva G.Sh., Boksha I.S., Tereshkina E.B., et al. Effect of olanzapine treatment on platelet glutamine synthetase-like protein and glutamate dehydrogenase immunoreactivity in schizophrenia. // World J Biol Psychiatry . - 2006. – Vol. 7. - N 2. – P. 75-81.
8. Burbaeva G. Sh., Boksha I. S., Turishcheva M. S. et al Platelet cytochrome c-oxidase activity in patients with acute schizophrenia in the course of their treatment with risperidone. // Health . – 2011. – Vol. 3. – N 1. – P. 13-19.
9. Fischer H.F. L-glutamate dehydrogenase from bovine liver. // In: Meister A (ed) Methods in enzymology. Academic Press New York. – 1985. – Vol. 113. – P. 16-27.
10. Gluck M.R., Thomas R.G., Davis K.L., Haroutunian V. Implications for altered glutamate and GABA metabolism in the dorsolateral prefrontal cortex of aged schizophrenic patients. // Am. J. Psychiatry . - 2002. – Vol. 159. - P. 1165-1173.
11. Krystal J. H., Belger A., D'Souza D.C. et al Therapeutic implications of the hyperglutamatergic effects of NMDA antagonists. // Neuropsychopharmacology . - 1999. – Vol. 21, P. 143-157.
12. Tamminga C.A., Frost D.O. Changing concepts in the neurochemistry of schizophrenia. // Am. J. Psychiat. - 2001. – Vol. 158. – P. 1365-1366.