

Конформационные переходы в сывороточных белках крови человека при различном эмоциональном состоянии

Б. А. Ройтуб, А. В. Крыжановский, Л. А. Крыжановская

На современном этапе развития биохимии, биофизики и молекулярной биологии существенное значение приобретает разработка методов, которые дали бы возможность получить представление о структурно-молекулярных сдвигах при исследовании белков крови человека в условиях нарушения функций центральной нервной системы. Одним из подходов к разработке таких методов явилось исследование изменений комплекса физико-химических свойств белков сыворотки крови под влиянием факторов, вызывающих обратимую денатурацию, в частности нагревания в мягких условиях. Наступающие при этом изменения, как известно, определяются в значительной мере структурной изменчивостью, конформационной гибкостью белковых молекул, т. е. их способностью с большей или меньшей легкостью совершать переходы от одной конформации к другой [1, 3, 8]. Сравнительное исследование физико-химических свойств (электрокинетических, оптических, реактивных) белков нативной и прогретой сыворотки крови при воздействии на них ионизирующей радиации (в модельных опытах) позволило обнаружить такие скрытые изменения их конформации, не выявляемые при иных методических приемах [10, 11].

Такой подход позволил установить, что между изменениями функционального состояния центральной нервной системы и конформации белков плазмы существует определенная корреляция, опосредованная изменениями внутренней среды, в частности концентрации и соотношения биологически активных веществ (адреналина, норадреналина, ацетилхолина, аммиака и др.), взаимодействующих с белками плазмы. Показано также, что эти взаимодействия обуславливают дальнейшее поведение белковой макромолекулы, реактивность ее функциональных групп, лабильность или устойчивость ее структуры к воздействию теплового фактора [11].

В настоящей работе в качестве своеобразной модели длительно поддерживающегося эмоционального состояния человека исследованы больные, страдавшие маниакальной либо депрессивной фазой маниакально-депрессивного психоза (МДП) различной выраженности.

Согласно концепции школы В. П. Протопопова (В. П. Протопопов, П. В. Бирюкович, И. А. Полищук и др.), основу аффективных расстройств при МДП составляет патологический очаг застойного возбуждения в подкорке (таламо-лимбико-гипоталамо-ретикулярных образованиях). В маниакальной фазе возбуждение иррадирует на кору головного мозга, в депрессивной — вызывает в коре торможение по механизму отрицательной индукции. МДП отличается многообразными соматовегетативными и обменными нарушениями.

Задачей данной работы явилось изучение сдвигов конформации сывороточных белков крови при различном эмоциональном состоянии человека, вызванном введением фармакологических веществ (адреналина и хлоралгидрата), а также при МДП.

Методика

Исследовали кровь у 46 человек. В первой серии опытов изучали влияние прогревания на изменение содержания белков крови здоровых людей в исходном состоянии (23 человека — контроль), а также после введения адреналина (8 человек) и хлоралгидрата (15 человек); во второй серии — сдвиги, происходящие в белках крови при маниакальной (8 человек) и депрессивной фазах (15 человек) МДП.

В основу методических приемов, определяющих конформационное состояние белкового комплекса, нами положено исследование влияния теплового фактора (нагрева-

ние при 56°C в течение 30 мин) на изменение ряда показателей физико-химических свойств белков сыворотки крови: содержание альбуминов и глобулинов (метод двойного электрофореза нативной и прогретой сыворотки [12]); содержания сульфгидрильных групп [19]; взаимодействия сывороточных белков крови с адреналином [10]; поглощения белками света в ультрафиолетовой (УФ) части спектра. Данные обрабатывали статистически с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Из результатов, представленных в табл. 1, видно, что прогревание сыворотки крови, полученной из крови здоровых людей, вызывает достоверное уменьшение содержания альбуминов (Р составляет 0,031) и β_1 -глобулинов (Р составляет 0,004), достоверное повышение α_2 -глобулиновых фракций (Р составляет 0,006). Введение адреналина (подкожно 0,3 мл 0,1 %-ного раствора) через 10—30 мин вызывало у большинства обследуемых незначительное учащение пульса (74→90, 60→78, 60→66 и т. д.), некоторые сдвиги артериального давления (105/65→110/60, 100/55→95/50, 100/60→120/50 и т. д.), у некоторых — легкий тремор пальцев, побледнение кожных покровов. Изменений количественного состава белков крови после введения этой дозы адреналина не отмечали. Однако прогревание сыворотки после введения адреналина вызывает (см. табл. 1) достоверное повышение содержания альбумина (Р составляет 0,047) и достоверное уменьшение уровня β_2 - и γ -глобулинов (Р составляет 0,003).

Таблица 1. Изменение разности значений относительного содержания¹ белковых фракций в прогретой (56°C в течение 30 мин) и нативной сыворотке крови при исследуемом эмоциональном состоянии человека (по результатам статистического анализа), %

Фракция	Статистический показатель	Эмоциональное состояние					
		нормальное	после введения адреналина	после введения хлоралгидрата	маниакальное	депрессивное	
Альбумины	M	-4,33	+2,71	-4,19	+1,17	+2,11	
	t	-2,41	+2,40	-4,94	+0,38	+1,23	
	P	0,031	0,047	0,001	0,715	0,225	
Глобулины:							
	α_1	M	+1,71	+0,57	+1,86	+0,97	+2,23
		t	+0,89	+0,08	+0,75	+0,46	+0,97
P		0,388	0,938	0,466	0,659	0,349	
α_2	M	+12,52	+7,39	+15,85	+10,94	+4,70	
	t	+3,20	+1,75	+3,17	+2,29	+1,67	
	P	0,006	0,124	0,006	0,056	0,117	
β_1	M	-9,91	-5,00	-8,93	-7,92	-0,127	
	t	-3,35	-1,51	-2,38	-1,73	-0,06	
	P	0,004	0,173	0,032	0,128	0,969	
β_2	M	-0,19	-7,91	-4,35	-5,162	-6,90	
	t	+0,07	-4,37	-2,10	-1,60	-6,88	
	P	0,945	0,003	0,054	0,154	0,001	

¹ Содержание альбуминов и глобулинов определяли по площади, занимаемой каждой белковой фракцией на денситографической кривой.

Таким образом, если изменения в белках сыворотки крови после введения адреналина не выявляются в нативной сыворотке, то фактор прогревания сыворотки значительно повышает чувствительность электрофоретического метода исследования.

В отличие от нативной сыворотки, прогревание которой вызывает уменьшение содержания альбуминов, β_1 -глобулинов и повышение α_2 -глобулинов, в сыворотке крови, взятой у человека после введения в организм малых доз адреналина, прогревание повышает содержание,

альбуминов и снижает содержание β_2 - и γ -глобулинов. После введения хлоралгидрата (30—50 мл 2 %-ного раствора) существенных изменений концентрации белков исследуемых фракций, как и после введения адреналина, не обнаружено. Однако прогревание сыворотки вызывает достоверное уменьшение альбуминов (P составляет 0,001) и β_1 -глобулинов (P составляет 0,032), повышение содержания фракций α_2 -глобулинов (P составляет 0,006) по сравнению с их содержанием в нативной сыворотке. При сравнении изменений содержания белковых фракций, вызванных прогреванием сыворотки крови людей в нормальном эмоциональном состоянии и в состоянии после введения хлоралгидрата, выявить отличий не удалось.

Таблица 2. Изменение некоторых физико-химических показателей в условиях различного эмоционального состояния человека

Показатель ($M \pm m$)	Нормальное состояние	Маниакальное состояние	Депрессивное состояние
Концентрация сульфгидрильных групп, мкмоль/100 мл	44,05 \pm 2,3	29,29 \pm 4,3	14,37 \pm 3,4
Экстинкция света на длине волны 425 нм при прохождении через комплекс сыворотки с адреналином	0,417 \pm 0,057	0,652 \pm 0,097	0,408 \pm 0,057

Как известно, маниакально-депрессивный психоз всегда реализуется в единстве церебральных и соматических расстройств. Так, показана связь между симпатикотоническим синдромом при МДП и состоянием аффективности: и в маниакальной, и в депрессивной фазах этот синдром выражен тем полнее, чем с большей аффективностью протекает заболевание [2, 4, 5]. Данные о различиях экскреции катехоламинов при маниакальном и депрессивном состояниях не полностью согласуются у разных авторов [4, 9, 13, 18, 20]. По данным Ушеренко [14], при маниакальном состоянии повышена экскреция с мочой не только норадреналина, но и дофамина, ДОФА и конечного продукта их превращения — ванилилминдальной кислоты (ВМК), что свидетельствует об усиленном биосинтезе медиаторного звена катехоламинов и интенсивном их распаде при окислительном дезаминировании. При аффективной депрессии наряду с повышением экскреции адреналина и норадреналина отмечается некоторое снижение ДОФА и дофамина, экскреция ВМК — повышена. Так как маниакальное состояние с клинической точки зрения напоминает возбуждение и, по литературным данным [5, 14], сопровождается значительными нарушениями метаболизма катехоламинов, возникла необходимость сопоставить эти данные с картиной изменчивости белков, полученной при введении адреналина в организм практически здоровых людей.

Как было отмечено (см. табл. 1), по сравнению с нормальным эмоциональным состоянием при введении адреналина в сыворотку повышается содержание альбуминов и снижается — β_2 - и γ -глобулинов. При маниакальном состоянии при прогревании не наблюдается снижение концентрации альбуминов, сохраняется тенденция, как и при введении адреналина, к снижению концентрации β_2 - и γ -глобулинов. Так, при маниакальном состоянии прогревание вызывает снижение на 5,16 % γ -глобулинов (вероятность составляет \approx 85 %), тогда как при нормальном состоянии вероятность снижения составляет около 5 %. При депрессивном состоянии (см. табл. 1) прогревание сыворотки снижает концентрацию β_2 - и γ -глобулинов (достоверно $P < 0,001$). Обращает на себя внимание однонаправленность изменений концентрации β_2 - и γ -глобулинов при депрессивном и маниакальном состояниях. При депрессивном состоянии после прогревания сыворотки более выражена тенденция к повышению концентрации альбуминов.

Важным показателем изменчивости конформации белков, как известно, является концентрация сульфгидрильных групп. При маниакальном и депрессивном состояниях отмечается достоверное ($P < 0,007$ и $P < 0,001$ соответственно) снижение по сравнению с нормальным эмоциональным состоянием концентрации сульфгидрильных групп (табл. 2, 3). При депрессивном состоянии снижение SH-групп более выражено (в 2 раза), чем при маниакальном.

Таблица 3. Изменение разности значений некоторых физико-химических показателей при исследуемых эмоциональных состояниях человека (по результатам статистического анализа)

Исследуемый показатель	Статистический показатель	Вычитаемая пара значений исследуемых показателей		
		при нормальном и депрессивном состояниях	при нормальном и маниакальном состояниях	при маниакальном и депрессивном состояниях
Концентрация сульфгидрильных групп, мкмоль/100 мл	M	29,680	14,770	14,910
	t	7,250	3,000	2,700
	P	0,001	0,007	0,014
Экстинкция света на длине волны 425 нм при прохождении через комплекс сыворотки с адреналином	M	0,009	—0,235	0,244
	t	0,120	2,170	2,260
	P	0,906	0,045	0,035

Исследование содержания белка у больных в маниакальных и депрессивных фазах и коэффициента корреляции между значениями общего содержания белка и концентрации SH-групп показало, что изменения концентрации SH-групп в сыворотке крови не связаны с изменениями общего содержания белка, а являются, по-видимому, следствием качественных изменений, происходящих в результате нарушения конформации белковых молекул.

В литературе накапливаются данные, указывающие на важную связь с функциональным состоянием центральной нервной системы не только количества медиатора в крови, но и взаимодействия медиатора с белками [6, 7]. С этой точки зрения нарушение конформации белков, ведущее к изменению архитектоники функциональных групп, расположенных на внешней сфере белковой глобулы, должно в какой-то мере найти отражение и в изменении связывающей способности белков по отношению к адреналину.

Результаты изменения экстинкции света на длине волны 425 нм (см. табл. 2) показали, что при маниакальном состоянии снижение экстинкции комплексом сыворотки с адреналином, прибавленным в условиях *in vitro*, достоверно повышено по сравнению со снижением этого показателя при нормальном эмоциональном состоянии (P составляет 0,045). При депрессивном же состоянии изменений экстинкции белково-адреналиновым комплексом по сравнению с нормальным эмоциональным состоянием не обнаружено (P составляет 0,906). Повышение экстинкции света при маниакальном состоянии после добавления и нативной сыворотке адреналина может быть обусловлено снижением растворимости белковых молекул, что в свою очередь усиливает рассеивание света. Такое снижение растворимости белковых комплексов под влиянием адреналина, вероятно, связано с более легкой демаскировкой гидрофобных групп сывороточных белков при маниакальном состоянии, чем при нормальном эмоциональном состоянии.

Результаты измерения экстинкции при прохождении УФ-света через раствор белков сыворотки крови представлены в табл. 4. Из этой таблицы видно, что при нормальном эмоциональном состоянии прогревание сыворотки вызывает достоверное повышение белками экстинкции света длиной волн 265 нм (P составляет 0,006); 270 нм (P составляет

0,007) и 290 нм (Р составляет 0,033). При депрессивном состоянии повышение экстинкции наблюдается (как и в норме), на длине волны 265 нм (Р составляет 0,025) и 290 нм (Р составляет 0,025). В отличие от нормы на длине волны 270 нм отмечается тенденция к повышению экстинкции (Р составляет 0,060) и достоверное ее повышение на длине волны 275 нм (Р составляет 0,024) и 280 нм (Р составляет 0,023). Маниакальное состояние в отличие от депрессивного и нормального эмоционального состояний не характеризуется изменениями экстинкции при прогревании сыворотки.

Таблица 4. Изменение разности значений экстинкции света определенной длины волны, прошедшего через прогретую и нативную сыворотку крови человека при исследуемом эмоциональном состоянии

Длина волны света, нм	Статистический показатель	Эмоциональное состояние		
		нормальное	маниакальное	депрессивное
265	M±m	0,040±0,012	0,058±0,040	0,066±0,026
	t	3,19	1,42	8,56
	P	0,096	0,215	0,0250
270	M±m	0,038±0,012	0,047±0,050	0,097±0,047
	t	3,15	0,95	2,08
	P	0,007	0,386	0,060
275	M±m	0,022±0,013	0,098±0,047	0,100±0,039
	t	1,67	2,08	2,53
	P	0,117	0,092	0,024
280	M±m	0,007±0,017	0,68±0,051	0,019±0,045
	t	0,42	1,34	2,61
	P	0,681	0,238	0,023
290	M±m	0,023±0,01	0,026±0,027	0,065±0,025
	t	2,37	0,98	2,57
	P	0,033	0,372	0,025

Таким образом, при маниакальном состоянии наблюдается сдвиг термоустойчивости белков в направлении термостабильности (нет достоверных изменений экстинкции при прогревании сыворотки) по сравнению с нормальным психическим состоянием, тогда как при депрессивном состоянии отмечается обратная картина — сдвиг термоустойчивости в направлении термоллабильности (изменение экстинкции происходит на большем диапазоне длины волн). Изменение экстинкции света на длине волны 280 нм обычно связывают с изменением реактивности ароматических и гетероциклических молекул (тирозина, фенилаланина и триптофана). Описанные выше изменения, происходящие в маниакальной и депрессивной фазах маниакально-депрессивного психоза, еще раз подтверждают точку зрения В. П. Протопопова на патогенез МДП. Обнаруженные изменения конформации белков крови имели односторонний (по показателям электрофоретических свойств белка и количеству сульфгидрильных групп) и разнонаправленный (по показателям оптических свойств белка) характер. Наблюдался сдвиг теплоустойчивости белков в сторону термостабильности при маниакальной фазе психоза и в сторону термоллабильности при депрессивной фазе психоза (по показателям оптических свойств). Следовательно, речь идет об изменениях при МДП, происходящих на молекулярном уровне.

Полученные нами результаты созвучны результатам, полученным другими исследователями, подтверждающими патогенетическое единство маниакального и депрессивного состояний. В механизме конформационных изменений, по-видимому, важную роль играет взаимодействие белков с метаболитами центральной нервной системы. Имеются также данные о связывании белков с АКГГ, стероидными гормонами. При МДП, как ни при каком другом психозе, психическое тесно переплетается с соматическим, и известные всем клиницистам «старение» депрес-

сивных и «омоложение» маниакальных больных не может не быть связано с глубокими трофическими изменениями, происходящими на определенной физиологической основе. Таким образом, при МДП наряду с изменениями психопатологической симптоматики происходят изменения конформации белков крови.

CONFORMATIONAL TRANSITIONS IN HUMAN BLOOD SERUM PROTEINS UNDER DIFFERENT EMOTIONAL STATES

B. A. Roitrub, A. V. Kryzhanovsky, L. A. Kryzhanovskaya

Conformation of blood serum proteins has been studied in examinees with different emotional states induced by administration of pharmacological agents (adrenaline and chloral hydrate) and in patients with manic-depressive psychosis. A shift of proteins is found to be thermostable at manic phases of psychosis and thermolabile at depressive ones. It is shown that manic-depressive psychosis causes changes not only in psychopathological symptomatology, but also in conformation of blood proteins.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Александров В. Я. Молекулярные аспекты генотипического приспособления организма к температуре среды // Успехи соврем. биологии.— 1969.—67, № 3.— С. 383—390.
2. Анохина Н. П. Нейрохимические механизмы психических заболеваний.— М.: Медицина, 1979.—320 с.
3. Белцер В. А. Макроструктура и денатурационные превращения белков. // Укр. биохим. журн.— 1962.—34, № 2.— С. 290—298.
4. Бирюкович П. В., Зелинский С. П., Недбайлова Т. Н. Эндокринные нарушения при эндогенных психозах.— Киев: Здоров'я, 1971.—218 с.
5. Бирюкович П. В., Синицкий В. Н., Ушеренко Л. С. Циркулярная депрессия.— Киев: Наук. думка, 1979.—322 с.
6. Каркищенко И. Н. Катехоламинергическая регуляция эмоционального поведения // Катехоламинергические нейроны.— М., 1979.— С. 75—85.
7. Клийман А. Г., Мадиссон А. Р. О связывании катехоламинов белками плазмы в зависимости от температуры // Вопросы эндокринологии.— Тарту, 1974.— С. 164—165.
8. Кошланд Д. Катализ в живой природе и пробирке // Горизонты биохимии.— М.: Мир, 1964.— С. 202—217.
9. Крыжановская Л. А., Ушеренко Л. С. Экскреция катехоламинов, ДОФА и ваниллин-миндальной кислоты у здоровых людей и депрессивных больных в пресенильном возрасте // Физиол. журн.— 1978.—24, № 4.— С. 511—518.
10. Ройтруб Б. А. Феномен связывания адреналина с белками сыворотки крови как показатель функционального состояния центральной нервной системы // Докл. АН УССР.— 1965.— № 8.— С. 1092—1095.
11. Ройтруб Б. А. Конформационные переходы в белках крови при различных функциональных состояниях нервной системы.— Киев: Наук. думка, 1975.—190 с.
12. Сельков Е. Л. Изменение состава фракции белков сыворотки крови при хронической неспецифической пневмонии и бронхоэктатической болезни // Экспериментальная трудоспособности и трудоустройство инвалидов.— 1959.— № 2.— С. 136—146.
13. Утевский А. М. Роль катехоламинов в регуляции функций организма // Проблемы нейроэндокринной регуляции.— М.; Л.: Наука, 1966.— С. 93—104.
14. Ушеренко Л. С. Экскреция катехоламинов в динамике маниакально-депрессивного психоза (МДП) и при лечении психотропными средствами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Киев, 1971.—26 с.
15. Bein H. G. Biochemical disorders as a factor underlying the depressive syndrome // Depression in everyday practice: Bern etc. 1974.— P. 36—42.
16. Gordon A. T. The biochemistry of depression // J. Int. Med. Res.— 1977.—5, suppl. 4.— P. 81—84.
17. Halaris A. E., De Met E. M. Noradrenaline metabolism in a manic-depressive patient // Lancet.— 1978.—1, N 8065.— P. 670.
18. Hullin R. P. Biochemistry of affective disorders // Ibid.— Suppl. 1.— P. 140—145.
19. Kolthoff G. M., Analtasi A., Tan B. H. Reactivity of Sulfhydryl and Disulfide in Proteins. II. Reactive disulfide as related to viscosity and optical rotation in denatures bovine serum albumin // J. Amer. Chem. Soc.— 1958.—80, N 3.— P. 3235—3240.
20. Schildkraut J. J. Current status of the catecholamine hypothesis of affective disorders // Psychopharmacology: A generation of progress.— New York: Raven press, 1978.— P. 1223—1234.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 19.12.85