

УДК 616.89 - 008.454: 612.396.398 - 07.

©Коллектив авторов

### **ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПСИХИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ (ДЕПРЕССИЯ, ДЕПЕРСОНАЛИЗАЦИЯ)**

**Е.Е. ДУБИНИНА, М.Г. МОРОЗОВА, Н.В. ЛЕОНОВА, Н.Л. ГАМПЕР,  
И.Б. СОЛИТЕРНОВА, Ю.Л. НУЛЛЕР, Г.Б. БУТОМА, С.В. КОВРУГИНА**

Психоневрологический научно-исследовательский институт им. В.М.Бехтерева  
193019 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.3  
тел.: 567-90-79, тел/факс.: 567-79-27

В плазме крови больных с психическими расстройствами (депрессия, деперсонализационный синдром) проведен сравнительный анализ спонтанного и металл-катализируемого окисления белков по уровню карбонильных производных, образованию битирозиновых шивок, степени фрагментации, электрофорезу. Параллельно у этих же больных определяли содержание кортикостероидов (кортизол, кортизон, кортикостерон, 11-дезоксикортизол, 11-дезоксикортикостерон, тестостерон) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выявлено повышение интенсивности окислительной модификации белков у больных с нарушением психики по сравнению со здоровыми людьми. У больных с деперсонализационным синдромом окисленные белки содержат высокий уровень битирозина, у них более выражена степень фрагментации по сравнению с депрессивными больными. Для обеих групп больных характерны разнонаправленные изменения в содержании кортизола (снижение при деперсонализации и повышение при депрессии) и кортикостерона (повышение при деперсонализации и снижение при депрессии).

Обсуждается роль окислительной модификации белков в нарушении функциональной активности опиоидной и кортикостероидной систем.

**Ключевые слова:** окислительный стресс, окислительная модификация белков, битирозин, кортикостероиды, депрессия, деперсонализация.

**ВВЕДЕНИЕ.** Интенсивность свободнорадикальных процессов, состояние антиоксидантной системы (АОС) в первую очередь зависят от характера метаболических процессов в различных тканях. Большое значение имеют не только абсолютные величины активности про- и антиоксидантных систем, но и их соотношение между собой, буферная емкость антиоксидантной защиты. Некоторые ткани (мозг, сетчатка, легкие) обладают повышенной

чувствительностью к окислительному стрессу, что связано с особенностью их химического строения и метаболизма. Повышенная чувствительность мозговой ткани обусловлена высокой степенью насыщения кислородом (1/5 от общего количества кислорода в организме), преобладанием полиненасыщенных жирных кислот, присутствием “активной формы” железа и низкой активностью отдельных звеньев ферментативной антиоксидантной (АОЗ), в частности, каталазы [1-3]. При патологических состояниях в мозговой ткани создаются условия для интенсивной генерации радикальных продуктов, повышения окислительной деструкции белков, липидов, что приводит к нарушению структуры и функции клеточных мембран [4-8]. Интенсификация процессов окислительной модификации компонентов клеточной мембраны мозга может являться причиной изменений, связанных со способностью мембран генерировать, проводить и воспроизводить нервный импульс, нарушением рецепторных, медиаторных и энергетических систем. Возможно, это является одним из патогенетических звеньев развития психических расстройств у больных. Нами были проанализированы интенсивность окислительной деструкции белков плазмы крови (спонтанной и металл-катализируемой) у больных с психическими нарушениями (депрессия, деперсонализация). Для этих заболеваний характерно нарушение функциональной активности в опиоидной и кортикостероидной системах [9]. Непосредственный контроль за изменением опиоидной системы и состоянием опиоидных рецепторов в мозговой ткани человека крайне затруднен. Однако хорошо известно, что у больных с депрессией наблюдаются нарушения в гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системе (ГТАКС) [10, 11]. Исходя из этого, мы использовали нейроэндокринные показатели для косвенной оценки состояния эндорфиновой системы у больных. С этой целью проводилось исследование уровня кортикостероидов плазмы крови и параллельно прослеживалась возможная связь между характерными для данного психического заболевания изменениями гормонального спектра и свободно-радикальными процессами.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 11 человек, страдающих депрессией, в возрасте от 19 до 40 лет, из них 7 женщин и 4 мужчин. Длительность заболевания - около года. С синдромом деперсонализации обследовано 7 человек в возрасте от 22 до 47 лет, из них 4 женщины и 3 мужчин. Длительность заболевания от 1 года до 5 лет. Сравнение проводили с группой практически здоровых людей в возрасте от 20 до 48 лет.

Забор крови у обследуемых больных осуществляли в утреннее время натощак. В качестве антикоагулянта использовали раствор гепарина. В плазме крови определяли степень спонтанного и металл-катализируемого окисления (МКО) белков по методу Левина [12] в нашей модификации [13]. Метод оценки окислительной модификации белков основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДНФГ) с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Для инициации окислительной модификации белков использовали среду Фентона: 0,1 М фосфатный буфер (рН 7,4),  $Fe^{+2}$  ( $10^{-3}M$ ), ЭДТА ( $10^{-3} M$ ) комплекс, который готовили *ex tempore*, и  $H_2O_2$  ( $3 \times 10^{-4} M$ ) [14]. Для регистрации окислительной модификации белков проводили предварительно их осаждение с помощью 20% раствора ТХУ. К денатурированным белкам приливали 1,0 мл 0,1 М 2,4-ДНФГ, растворенного в 2 М HCl. Инкубацию осуществляли при комнатной температуре

в течение 1 часа, затем пробы центрифугировали при 3000 g в течение 20 минут. Осадок промывали 3 раза смесью этанол : этилацетат (1:1) для экстракции липидов и 2,4-ДНФГ, который не прореагировал с карбонильными группами окисленных белков. Полученный осадок высушивали для удаления растворителей и затем растворяли в 8 М мочеvine. Мочевину приливали к осадку в объеме 3,0 мл. Для лучшего растворения осадка добавляли одну каплю 2 М HCl. Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали на спектрофотометре СФ-46 при длинах волн 274 нм и 363 нм. Степень окислительной модификации белков выражали в единицах оптической плотности, отнесенных на 1 г белка или 1 мл плазмы.

Окислительную модификацию белков также оценивали по образованию битирозиновых сшивок при длине волны 415 нм (длина волны возбуждения - 325 нм) [15]. Измерения проводились на спектрофлуориметре Hitachi. В качестве системы, генерирующей активные формы кислорода (АФК), использовали среду Фентона, где в присутствии солей железа и  $H_2O_2$  идет образование  $OH^\bullet$ . Контрольная проба содержала 0,95 мл фосфатного буфера (pH 7,4; 1/15 М) и 0,05 мл сыворотки. Опытная проба содержала 0,85 мл фосфатного буфера, 0,05 мл сыворотки, 0,05 мл смеси 1мМ растворов ЭДТА и  $FeSO_4$  (0,1мМ) и 0,05 мл раствора  $H_2O_2$ . Пробы инкубировали при 37°C в течение 2 и 24 часов. Перед измерением образцы разводили в 5 раз.

С целью оценки степени фрагментации окисленных белков плазмы крови использовали надосадочную жидкость, полученную после осаждения белков. К 0,05 мл плазмы, разбавленной физиологическим раствором в соотношении 1:10, добавляли при анализе спонтанной окислительной модификации белков 0,1 М фосфатный буфер, а при анализе металл-катализируемой - среду Фентона. Общий объем пробы был 1,0 мл. После 15 минутной инкубации при 25°C окисленные белки осаждали 20% ТХУ и центрифугировали при 3000g. В надосадочной жидкости определяли кислоторастворимые пептиды в ультрафиолетовой области спектров при длинах волн 254, 272 и 280 нм [16].

Анализ структурных изменений окисленных белков осуществляли с использованием метода электрофоретического разделения в полиакриламидном геле (ПААГ). Электрофорез плазмы белков проводили по методу Laemmli [17] в градиенте ПААГ с додецилсульфатом натрия (ДДС-Na). Плазму крови обрабатывали трис-HCl буфером (0,125 М, pH 6,8), содержащим 2% ДДС-Na и 5%  $\beta$ -меркаптоэтанола с использованием установки "Mini-Protein" (BioRad).

Определение кортикостероидов (кортизола, кортизона, кортикостерона, 11-дезоксикортикостерона, 11-дезоксикортизола и тестостерона) в плазме крови осуществляли с помощью микроколоночной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием преформированного градиента ацетонитрила в воде и твердофазной экстракции в качестве подготовки проб [18].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 5,0 Windows (StatSoft, Inc. 1995).

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Известно, что в результате окислительной модификации белков наблюдается образование карбонильных производных, которые в присутствии 2,4-ДНФГ образуют 2,4-ДНФГгидразоны, регистрируемые при длине волны 363-370 нм [12]. Нами была произведена запись дифференциальных спектров поглощения 2,4-ДНФГгидразонов бычьего сывороточного альбумина

(Serva) после его инкубации в среде Фентона. В результате мы обнаружили дополнительный пик при длине волны 270-274 нм. Возможно, мы регистрируем алифатические альдегиды основных аминокислотных остатков [19]. При анализе спонтанной окислительной деструкции белков плазмы крови больных с депрессивным синдромом было обнаружено статистически достоверное повышение уровня 2,4-ДНФгидразонов только при длине волны 270 нм (табл.1). У пациентов с синдромом деперсонализации на этой длине волны наблюдается тенденция к повышению интенсивности окислительной модификации белков (21%). Во всех обследованных группах больных не было выявлено никаких различий в уровне 2,4-ДНФгидразонов белков плазмы крови при общепринятой длине волны - 363 нм.

Статистически достоверные изменения при обеих длинах волн выявлены при анализе МКО белков плазмы крови у пациентов с депрессией. У пациентов с синдромом деперсонализации различия достоверны только при длине волны 363 нм.

Таблица 1. Окислительная модификация белков плазмы крови у пациентов с психическими расстройствами

Группы обследуемых людей	Спонтанная окислительная модификация белков				Металл-катализируемая окислительная модификация белков			
	270 нм		363 нм		270 нм		363 нм	
	на 1 мл плазмы	на 1 мг белка	на 1 мл плазмы	на 1 мг белка	на 1 мл плазмы	на 1 мг белка	на 1 мл плазмы	на 1 мг белка
1. Здоровые (n=16)	4,08 ±0,13	55,50 ±1,92	6,04 ±0,21	83,60 ±3,26	35,10 ±1,85	478,00 ±28,70	35,40 ±0,58	489,00 ±9,90
2. Синдром деперсонализации (n=5)	4,84 ±0,45	67,30 ±6,52	5,88 ±0,35	81,80 ±5,57	39,30 ±2,61	545,00 ±36,40	40,20 ±0,98	558,00 ±16,70
3. депрессивный синдром (n=8)	6,05 ±0,18	83,40 ±3,28	6,62 ±0,42	87,90 ±5,41	41,20 ±1,17	565,00 ±9,40	41,00 ±1,60	563,00 ±15,20
P <sub>1-2</sub>					<0,05 <0,05			
P <sub>1-3</sub>	<0,05 <0,05				<0,05 <0,05 <0,05 <0,05			

Образование битирозина происходит с разной интенсивностью у обследованных больных. Через 2 часа инкубации плазмы крови с системой Фентона у пациентов с синдромом деперсонализации наблюдается повышение уровня битирозиновых сшивок на 227%, а у пациентов с депрессией - только на 141% по сравнению с контрольными пробами без реактива Фентона. Через 24 часа инкубации у больных с деперсонализацией уровень битирозина возрастает до 361%, а при депрессии отмечается тенденция к снижению по сравнению со здоровыми людьми (рис.1).

Окислительная модификация белков связана с изменением их структурной организации, сопровождающейся фрагментацией с образованием низкомолекулярных компонентов, либо агрегацией белковых молекул [20]. Проведенный нами анализ надосадочной жидкости позволил выявить повышение уровня продуктов фрагментации белков за счет МКО по сравнению со спонтанной окислительной деструкцией белков плазмы крови у всех обследованных людей (табл.2). Нами были обнаружены статистически

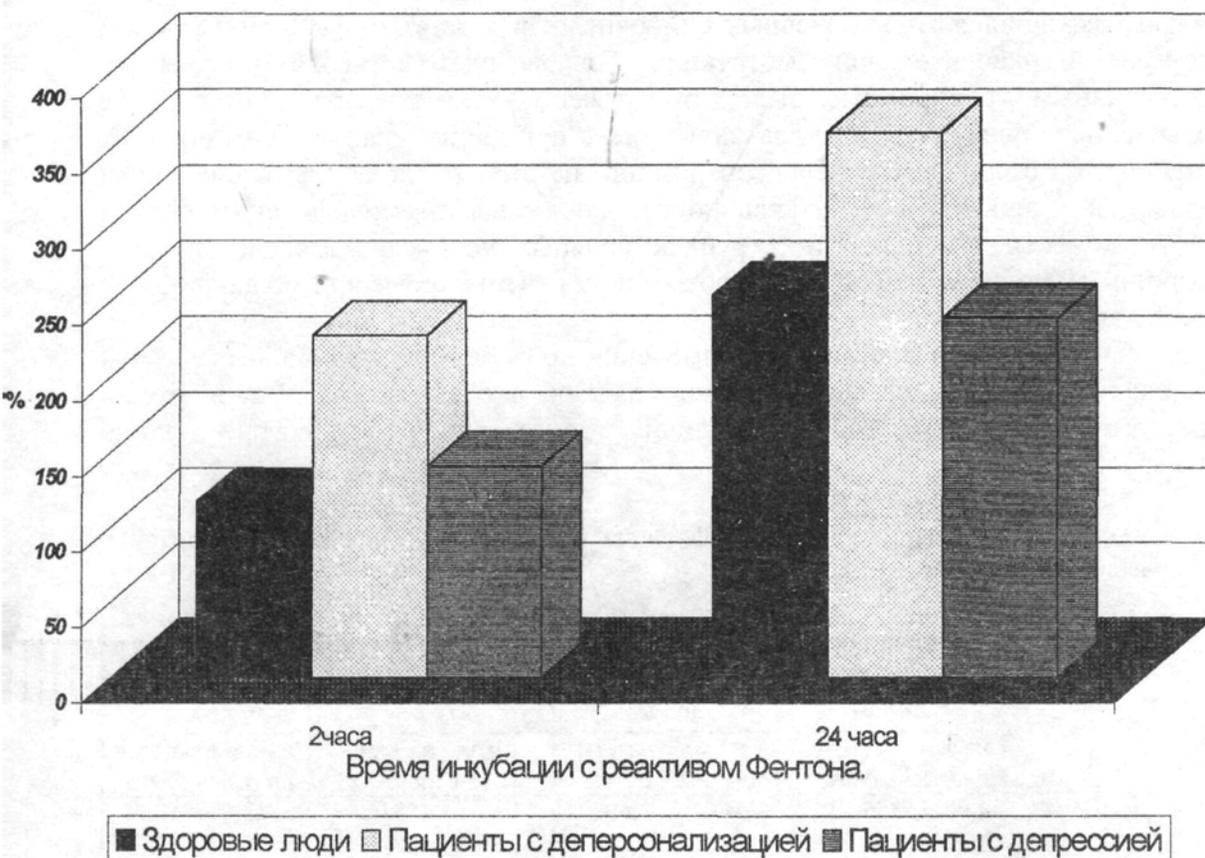


Рисунок 1.

Образование битирузина в плазме крови больных с расстройствами психики.

достоверные различия при анализе продуктов фрагментации окисленных белков после их спонтанного и МКО при всех длинах волн у больных с синдромом деперсонализации. У больных с депрессивным синдромом достоверные различия по сравнению со здоровыми были зарегистрированы только при длинах волн 270 и 280 нм.

Электрофореграммы окисленных белков плазмы крови здоровых людей и больных с психическими нарушениями отличаются друг от друга (рис.2). Окисление белков за счет системы  $Fe/H_2O_2$  у здоровых людей приводит к увеличению низкомолекулярных фракций в диапазоне от 50 до 14 кДа. При депрессии на электрофореграммах более выражена фракция 20 кДа. При деперсонализации преобладают низкомолекулярные фрагменты в пределах от 20 до 14 кДа.

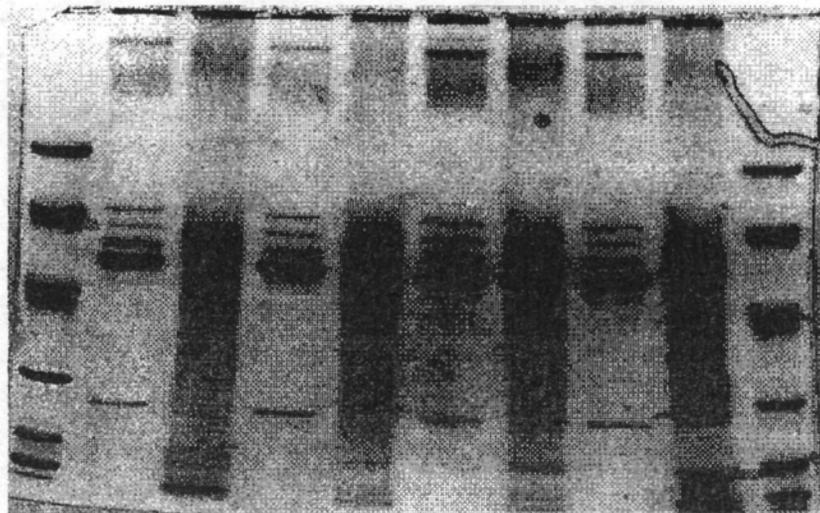


Рисунок 2.  
 Электрофорез белков плазмы крови здоровых людей и больных с нарушениями психики (депрессия, деперсонализация).

Таблица 2. Степень фрагментации окисленных белков плазмы крови у пациентов с психическими расстройствами

Группы обследуемых людей	Спонтанное окисление *			Металл-катализируемое окисление*		
	254 нм	270 нм	280 нм	254 нм	270 нм	280 нм
1. Здоровые (n = 16)	1,600 ±0,015	0,171 ±0,004	0,075 ±0,009	1,830 ±0,011	0,356 ±0,006	0,201 ±0,003
2. Синдром деперсонализации (n = 5)	1,670 ±0,021	0,203 ±0,013	0,097 ±0,001	1,880 ±0,012	0,381 ±0,009	0,233 ±0,008
3. Депрессивный синдром (n = 8)	1,610 ±0,009	0,191 ±0,006	0,087 ±0,004	1,840 ±0,010	0,375 ±0,004	0,219 ±0,002
P <sub>1-2</sub>	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,02
P <sub>1-3</sub>		<0,05	<0,05		<0,05	<0,005
P <sub>2-3</sub>	<0,05			<0,01		

\*- Достоверные различия между металл-катализируемым и спонтанным окислением белков плазмы крови во всех группах обследуемых людей (p < 0,001).

Было установлено, что из 6 определяемых показателей кортикостероидов (кортизол, кортизон, кортикостерон, 11-дезоксикортизол, 11-дезоксикортикостерон и тестостерон) наиболее информативными являются кортизол, кортизон и кортикостерон. У пациентов с синдромом деперсонализации обнаружено статистически достоверное снижение уровня кортизола и повышение кортикостерона. У больных с депрессией наблюдается статистически достоверное повышение уровня кортизола и снижение кортикостерона. На фоне высокого содержания кортизола не отмечается повышения его неактивного метаболита кортизона. Таким образом, у больных с изучаемыми нами психическими расстройствами выявлена разная направленность метаболизма кортикостероидов (рис.3). Содержание других кортикостероидов остается фактически одинаковым во всех обследованных группах людей.

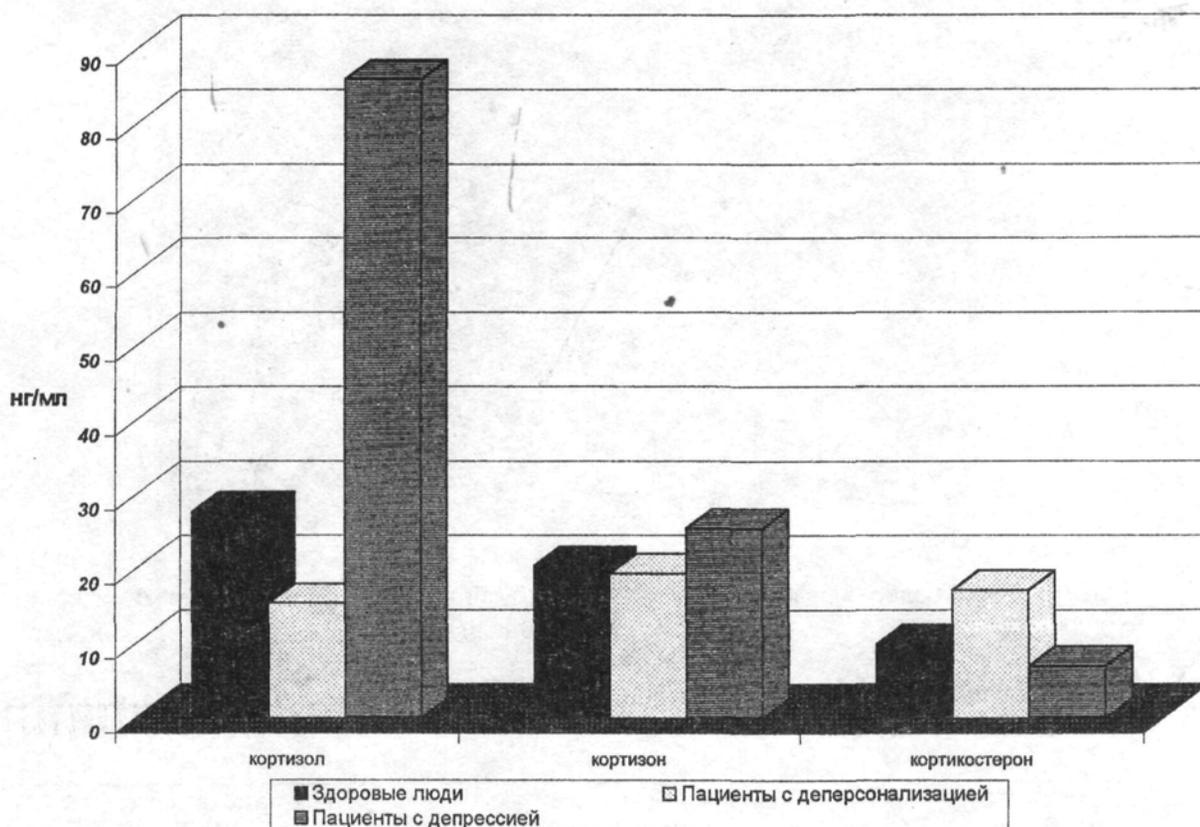


Рисунок 3.

Содержание кортикостероидов в плазме крови больных с расстройствами психики.

**ОБСУЖДЕНИЕ.** Известно, что депрессия характеризуется как состояние хронического стресса. В свою очередь деперсонализация развивается в ответ на резко выраженную стрессорную ситуацию чаще эмоционального характера, когда организм в качестве защитной реакции в ответ на мощное стрессорное воздействие использует "психическую анестезию". Это состояние характеризует переживания больного как притупление или отсутствие эмоций и чувственного компонента ощущений и восприятия внешнего мира [9]. В том и в другом случае мы имеем дело со стрессорной реакцией организма разной степени выраженности, которая сопровождается изменением гормонального статуса и развитием состояния окислительного стресса. Известно, что при стрессе создаются условия для интенсивной выработки свободно-радикальных продуктов. Именно они могут выполнять ключевую роль в развитии нарушений со стороны ГГАКС, серотонинергической и симпатoadренергической систем: Причиной этих изменений может быть окислительная деструкция компонентов клеточных мембран и соответственно рецепторного аппарата или нарушение метаболизма самих гормонов и нейротрансмиттеров, вызванное усилением свободно-радикальных процессов.

Нарушение структуры клеточных мембран и изменение функциональной активности рецепторного аппарата за счет свободно-радикальных продуктов в первую очередь связано с окислительной деструкцией белков и липидов. Выявленное нами повышение интенсивности окислительной модификации белков

плазмы крови исследуемых больных фактически отражает общую направленность свободно-радикальных процессов и, в частности, окисления белков во всем организме, в том числе в мозговой ткани. Учитывая большую и очень разнообразную функциональную нагрузку белков в тканях, их окислительная модификация может носить в отличие от перекисидации липидов более избирательный и специфический характер при различных патологических состояниях.

Проведенный нами сравнительный анализ спонтанного окисления и МКО по уровню карбонильных производных, образованию битирозиновых сшивок, степени выраженности фрагментации, по результатам электрофоретического разделения окисленных белков и уровню кислоторастворимых пептидов показал четкие различия между здоровыми людьми и больными с депрессивным и деперсонализационным синдромами. Не исключено, что в зависимости от характера психических нарушений окислительной деструкции подвергаются разные белки.

Специфические нарушения в метаболизме кортикостероидов, возможно, связаны с избирательной окислительной модификацией белков. Высокий уровень кортизола в плазме крови больных с депрессией может быть обусловлен окислительной деструкцией белков рецепторного аппарата клеток. Известно, что именно состояние рецепторов кортикостероидов играет ключевую роль в развитии депрессии [21]. Повышение уровня кортизола может быть также вызвано нарушением превращения его в неактивный кортизон за счет снижения активности цитохромом P450, 11- $\beta$ -гидроксилазы при состояниях окислительного стресса.

С другой стороны, анализ содержания кортикостероидов позволяет сделать вывод о нарушении в процессе стероидогенеза и сдвиге его в сторону синтеза глюкокортикоидов. Во-первых, снижен уровень кортикостерона; во-вторых, отсутствует повышение содержания кортизона на фоне высокого содержания кортизола. Известно, что у глюкокортикоидов и минералокортикоидов имеются общие рецепторы, поэтому интенсивное превращение кортизола в неактивный кортизон обеспечивает в норме сохранение рецепторного аппарата для минералокортикоидов [22].

Секреция кортикостероидов непосредственно связана с эндорфиновой системой, снижение функциональной активности которой выявлено у депрессивных больных [23]. Существует мнение, что причиной снижения активности опиоидной системы может быть дисфункция ее рецепторного аппарата [24-27], возможно, обусловленная окислительной модификацией белков. Не исключено, что в условиях окислительного стресса у депрессивных больных более интенсивно окислительной деструкции подвергаются сами нейропептиды и нуклеиновые кислоты, кодирующие рецепторные белки. Показано, что лечение крыс антидепрессантами приводит к повышению содержания мРНК белков рецепторного аппарата кортикостероидов и увеличению их рецепторно-связывающей способности [28].

В условиях окислительного стресса, если он носит затяжной характер, усиливается протеолитический распад окисленных белков и нейропептидов. Косвенным подтверждением этого предположения является обнаруженный нами более низкий процент образования битирозиновых сшивок у больных с депрессией по сравнению с пациентами с деперсонализацией. По данным

литературы, снижение уровня  $\beta$ -эндорфина, обусловлено более интенсивным его окислением и распадом [23, 24].

При деперсонализации мы также сталкиваемся с состоянием окислительного стресса, но оно вызвано резко выраженным стрессорным воздействием. В этом состоянии организм включает все возможные защитные механизмы, одним из проявлений которых является состояние аналгезии. Известно, что существует опиод-опосредованная аналгезия, зависимая и независимая от надпочечников [29, 30]. При деперсонализации мы имеем дело именно с этим типом аналгезии, так как введение налоксона больным приводило к улучшению их состояния и снятию синдрома деперсонализации, повышению уровня кортизола [9]. Другим подтверждением этого положения является повышение содержания кортикостерона. Известно, что кортикостерон является критическим фактором при опиод-зависимых формах аналгезии, вызванной стрессом [31]. Кортикостерон необходим для активации триптофангидроксилазы - скорость-лимитирующего фермента синтеза серотонина; это обеспечивает серотонинергическую передачу сигналов, определяющих на уровне спинного мозга торможение болевых сигналов [32].

Сравнительный анализ структуры природных и синтетических опиатных пептидов свидетельствует о том, что последовательность аминокислот, которые обеспечивают взаимодействие с опиатными рецепторами, может существенно варьировать [33, 34]. Общим является наличие N-концевого тирозина. Возможно, у больных с деперсонализацией за счет более выраженной окисляемости тирозина происходит образование битирозиновых сшивок эндогенных опиоидов, у которых меняется характер связывания со специфическими рецепторами. Образовавшиеся агрегаты нейропептидов за счет битирозиновых сшивок могут быть более устойчивы к протеолитическому расщеплению. Не исключено, что также как и при депрессии наблюдается окислительная модификация рецепторного аппарата эндогенных опиоидов, но при деперсонализации характер и степень выраженности окислительных превращений белков рецепторного аппарата и самих нейропептидов обеспечивает более прочную связь между ними, что обуславливает возникновение эффекта аналгезии. Изменения в характере связи опиоидов со своими рецепторами, вызванные состоянием окислительного стресса, приводят к глубоким метаболическим изменениям, вызванным влиянием опиоидных пептидов, серотонина и кортикостероидов (схема). Одним из наиболее хорошо известных механизмов действия опиоидов является торможение активности аденилатциклазы и снижение уровня цАМФ, что приводит к соответствующим изменениям в процессе синтеза минерало- и глюкокортикоидов. Известно, что распределение в синтезе кортикостероидов зависит от экспрессии специфических стероидогенных ферментов P450, 17 $\alpha$ -гидроксилазы/17, 20-лиазы (P450c17) и 3 $\beta$ -гидростероидной дегидрогеназы/изомеразы (3 $\beta$ HSD) [35]. В присутствии P450c17, 3 $\beta$ HSD преобладает синтез глюкокортикоидов. В отсутствие P450c17 при наличии других ферментов стероидогенеза преобладает синтез минералокортикоидов. Активация синтеза P450c17 на стадии транскрипции связана с протеинкиназой A. Снижение уровня цАМФ при деперсонализации приводит к сдвигу в синтезе кортикостероидов в сторону минералокортикоидов и, в частности, кортикостерона. Выявленное нами повышение уровня кортикостерона у больных с синдромом деперсонализации носит адаптационный характер, так как это

обеспечивает включение дополнительных механизмов, в частности, серотонинергической системы, способствующих развитию состояния анальгезии.

### Окислительный стресс, ц-АМФ и деперсонализация



Таким образом, при депрессии и деперсонализации мы сталкиваемся с разной степенью выраженности состояния окислительного стресса, обусловленного разной степенью тяжести и продолжительности стрессового воздействия на организм. При деперсонализации реакция окислительного стресса более выражена, что проявляется в более глубоких нарушениях окислительной деструкции белков и состояния АОЗ [36].

При депрессии окислительный стресс, как и общая стрессорная реакция организма, носит хронический характер. Возможно, в этих условиях окисленные белки и пептиды больше подвержены протеолизу. Все эти изменения проявляются на фоне нарушения ГТАКС, которые являются специфическими для каждого изучаемого психического нарушения.

### ЛИТЕРАТУРА.

1. Halliwell B. (1992). Free Radicals in the Brain. Aging, Neurological and Mental Disorders. Springer-Verlag, Berlin, pp. 21-40.
2. Nistico G., Ciriolo M.R., Fiskin K., Jannone M., de Martino A., Rotilio G. (1992). Free Radic. Biol. Med. 12, (3), 177-181.

3. Левадная О.В., Донченко Г.В., Валуцина В.М., Корж Е.В., Хиль Ю.Н. (1998). Укр. биох. журнал, **70**, (6), 53-58.
4. Гуляева Н.Б., Ерин А.Н. (1995). Нейрохимия, **12**, (2), 3-15.
5. Evans P.H. (1993). Brit. Med. Bull., **49**, №3, 557-587.
6. Yotz M.E., Kunig G., Riederer P., Youdim M.B.H. (1994). Pharmacol. Ther., **63**, 37-122.
7. Halliwell B. (1989). Acta Neurol. Scand., **126**, 23-33.
8. Федорова Т.Н., Болдырев А.А., Ганнушкина И.В. (1999). Биохимия, **64**, 94-98.
9. Нуллер Ю.Л., Морозова М.Г., Дубинина Е.Е., Кушниц О.Н., Гампер Н.Л. (1999). Обзорение психиатрии и медицинской психологии им. В.М.Бехтерева, №2, 56-59.
10. Nemeroff C.B., Widerlov G., Bissette G., Walleus H., Karlsson J., Eklund K., Kilts C.D., Loosen P.T. (1984). Science, **226**, 1342-1344.
11. Modell S., Yassouridis A., Huber J., Holsboer F. (1997). Neuroendocrinology, **65**, 216-222.
12. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amici A., Climent J., Lenz A.G., Ahn B.W., Shaltiel S., Stadtman E.R. (1990). Meth. Enzymol., **186**, 464-478.
13. Дубинина Е.Е., Бунмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. (1995). Вопр. мед. химии, **41**, №1, 24-26.
14. Halliwell B., Gutteridge M.C. (1990). Meth. Enzymol., **186**, 1-85.
15. Davies K.J.A. (1987). J. Biol. Chem., **262**, 9895-9901.
16. Wolff S.P., Dean R.T. (1986). Biochem. J., **234**, 399-403.
17. Laemmli U.K. (1970). Nature, **227**, 680-685.
18. Gamper N.L., Velicanova L.I., Korolyova H.M. (1996). In: Proc. Int. Symp. on Capillary Chromatography: Riva Del Garda. 1655-1663.
19. Jones L.A., Holmes J.C., Seligman R.B. (1956). Anal. Chem., **28**, 191-198.
20. Davies K.J.A., Delsignore M.E. (1987). J. Biol. Chem., **262**, 9908-9913.
21. Modell S., Yassouridis A., Huber J., Holsboer F. (1997). Neuroendocrinology, **65**, 216-222.
22. Stewart P.M., Krozowski Z.S. (1999). In: Vitamins and Hormones. Ed. by G. Litwack. Acad. Press. San Diego, London, Boston, N.Y., Sydney, Tokyo, Toronto, **57**, 249-324.
23. Gold M.S., Pottash A.L.C., Sweeney D., Martin D., Extein J. (1982). Ann. N.Y. Acad. Sci., 140-150.
24. Kline N.S., Li C.H., Lenmann H.E., Lajtha A., Laski E., Cooper T. (1977). Arch. Gen. Psychiatry, **43**, 1111-1113.
25. Snyder S.H. (1978). Am. J. Psychiatry, **135**, 645-652.
26. Gold M.S., Pottash A.L.C., Sweeney D.R., Kleber H.D., Redmond D.E. (1979). Am. J. Psychiatry, **136**, 982-983.
27. Extein J., Pottash A.L.C., Gold M.S. (1982). Anna. N.Y. Acad. Sci., 113-119.
28. Brady L.S., Gold P.W., Herkenham M., Lynn A.B., Whitfield H.J. (1992). Brain Res., **572**, 117-125.
29. Terman G.W., Liebskind J.C. (1986). Ann. N.Y. Acad. Sci., **467**, 300-308.
30. Филаретов Ф.А., Подвигина Т.Т., Филаретова Л.П. (1994). Адаптация как функция гипофизарно-адренкортикальной системы. Санкт-Петербург. Наука. с. 29-31.

31. *Mac Lennan A.J., Drugan R.C., Hyson R.L., Maier S.F.* (1982). *Science*, **215**, 1530-1532.
32. *Kovacs G.L., Telegdy G., Lissak K.* (1976). *Psychoneuroendocrinology*, **1**, 219.
33. *Харченко Е.П., Соколова Т.В., Калихевич В.Н. и др.* (1987). Докл.АН СССР, **297**, №5, 1264-1267.
34. *Шестак К.П., Сергеева М.Г., Зайцев С.В., Харченко Е.П. и др.* (1990). Укр. биохим. журнал, **62**, (2), 23-29.
35. *Mesiano S., Coulter C.L., Jatte R.B.* (1993). *J.Clin.Endocrinology a. Metabolism*. **77**, 1184-1189.
36. *Dubinina E.E., Nuller J.L., Morozova M.G., Kovrugina S.V., Gamper N.L. et all.* (1998). *J.Neurochem.*, **71**, (Suppl.) 1, 23.

Поступила 10.12.1999.

**OXIDATIVE MODIFICATION BLOOD PLASMA PROTEINS  
IN PATIENTS WITH MENTAL DISORDERS  
(DEPRESSION AND DEPERSONALIZATION)**

E.E.DUBININA, M.G.MOROZOVA, N.V.LEONOVA, N.L.GAMPER, I.B.SOLITERNOVA,  
JUL.NULLER, G.B.BUTOMA, S.V.KOVRUGINA.

Department of Biochemistry, Psychoneurological Bekhterev Institute  
Bekhterev Str. 3, St.Petersburg 193019 Russia; tel.: 567-90-79, fax: 567-79-27.

We determined the oxidative modification of proteins (spontaneous and metal-catalysing oxidation, MKO) and the level of corticosteroids in patients with the depersonalization and depression. For detecting oxidative modification of plasma proteins we measured the concentration of protein carbonyl groups formed with 2,4-dinitrophenylhydrazine 2,4-dinitrophenylhydrazone derivatives; the formation of dityrosine by fluorescence method; protein aggregation and fragmentation. Polyacrylamide gel electrophoresis with sodium dodecyl sulfate (SDS)-PAGE in the presence  $\beta$ -mercaptoethanol was used to determine the aggregation or fragmentation of proteins by oxygen radicals ( $\text{OH}^{\bullet}$ ). Acid-soluble peptides were analysed as products of the fragmentation oxidative modification proteins.

The level of the corticosteroids was determined using HPLS.

The increase of the concentration of protein carbonyl groups in blood plasma of patients with mental disorders. In patients with depersonalization we determined the increase of the bityrosyl cross-link, and different degrees of fragmentation compared with depressive patients.

The cortisol level was decreased and corticosterone was increased in the blood plasma of patients with depersonalization. In depressive patients the cortisol level was increased and corticosterone was decreased is' discussed.

We discussed the role oxidative modification proteins in the disturbance of the corticosteroid and opioid receptors functions in the patients with mental disorders.

**Key words:** oxidative modification proteins, dityrosine, oxidative stress, corticosteroids, depression, depersonalization.