

© Коллектив авторов, 2013  
УДК 616.891:612.017.1

Т.В. Давыдова<sup>1</sup>, Л.А. Ветрилэ<sup>1</sup>, Т.П. Ветлугина<sup>2</sup>, Т.И. Невидимова<sup>2</sup>,  
Н.А. Бохан<sup>2</sup>, Е.И. Батухтина<sup>2</sup>, В.Г. Фомина<sup>1</sup>, И.А. Захарова<sup>1</sup>

## **Антитела к нейромедиаторам как возможные нейроиммунные маркеры риска формирования зависимости от психоактивных веществ**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»  
Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт психического здоровья»  
Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 634014, Томск, ул. Алеутская, 4

*В сыворотке крови больных опишной наркоманией был обнаружен повышенный уровень аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину по сравнению с контрольной группой здоровых людей того же возраста. В группе больных в стадии острой абстиненции выявлено снижение уровня антител к дофамину, норадреналину и серотонину по сравнению с группой больных в период постабстинентных расстройств. В группе риска по формированию зависимости от психоактивных веществ уровень аутоантител к дофамину и норадреналину был ниже по сравнению с контрольной группой.*

**Ключевые слова:** антитела к нейромедиаторам, дофамин, норадреналин, серотонин, опишная наркомания, абстиненция

T.V. Davydova, L.A. Vetrile, T.P. Vetlugina, T.I. Nevidimova,  
N.A. Bokhan, E.I. Batukhtina, V.G. Fomina, I.A. Zakharova

## **Antibodies to neurotransmitters as possible neuroimmune risk markers of formation dependence to psychoactive substances**

<sup>1</sup> The Institute for General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

<sup>2</sup> Mental Health Research Institute of Siberian Branch of RAMS, 4, Aleutskaya str., Tomsk, 634014, Russia

*In the sera of patients with opioid addiction has been found elevated levels of autoantibodies to the neurotransmitters dopamine, norepinephrine and serotonin in comparison with a control group of healthy people of the same age. In the group of patients with acute withdrawal was showed a reduction of antibody to dopamine, noradrenaline and serotonin in the blood serum when compared with patients in the period of postabstinent disorders. In the group of patients with risk for the formation of substance dependence in serum was observed decrease in autoantibodies to dopamine and norepinephrine compared with the control group.*

**Key words:** antibodies to neurotransmitters, dopamine, noradrenaline, serotonin, opioid narcomania, abstinence

Поиск новых молекулярных маркеров для ранней диагностики наркомании и предрасположенности к ее развитию является одной из актуальнейших задач современной медицины. На сегодняшний день в научной литературе сформировалось мнение, что наркомания является заболеванием мозга, формирующимся на основе взаимодействия генетических, биологических и психосоциальных факторов [1]. Известно, что в механизмах действия психоактивных веществ (наркотики, алкоголь и др.), способных вызывать развитие синдрома зависимости есть общее звено. Ключевую роль в

механизмах развития зависимости от психоактивных веществ в частности наркомании, играет значительная перестройка в дофаминовой и, как показано в последнее время, норадреналиновой нейромедиации в мезолимбических структурах мозга, участвующих в формировании мотиваций и влечения [1, 7]. Особый интерес в настоящее время представляет изучение нейроиммунных механизмов формирования наркомании. Исследования последних лет свидетельствуют, что специфические антитела модулируют функции физиологически активных соединений, таких как нейромедиаторы, нейропептиды, гормоны [2]. Установлена тесная взаимосвязь между нарушением функции нейромедиаторных систем и индукцией аутоантител к ним при различных формах патологии ЦНС [2]. Показана возможность

**Для корреспонденции:** Давыдова Татьяна Викторовна,  
д-р мед. наук, гл. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ  
«НИИОПП» РАМН. E-mail: niiorp@mail.ru

образования аутоантител к нейромедиаторам (дофамину, норадреналину, серотонину) при алкоголизме и опийной наркомании в клинике и эксперименте [2, 3]. В связи с этим несомненный интерес представляет поиск молекулярных маркеров зависимости от психоактивных веществ среди антител к нейромедиаторам, а именно аутоантител к дофамину, норадреналину и серотонину, которые могут отражать особенности состояния нейрорегуляторных систем, участвующих в механизмах предрасположенности и развития болезней зависимости.

*Цель работы* — изучение содержания аутоантител к дофамину, норадреналину, серотонину в сыворотках крови здоровых людей, лиц группы риска по формированию зависимости от психоактивных веществ, и лиц, страдающих опийной наркоманией.

### Методика

Обследовано 114 больных опийной наркоманией (86 мужского и 28 женского пола) в состоянии острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств (отмена наркотика от нескольких суток до нескольких недель), 14 больных опийной наркоманией (11 мужского и 3 женского пола) на этапе формирования терапевтической ремиссии (несколько месяцев реабилитации), 17 чел. (12 мужского и 5 женского пола) в возрасте 18—28 лет с эпизодическим употреблением наркотиков (преимущественно каннабиноидов и амфетаминов), которых мы относили к группе риска по формированию зависимости от психоактивных веществ. Контролем служили 57 здоровых людей того же возраста (30 мужского и 27 женского пола), не употреблявших психоактивные вещества. Группы риска и контроля составили студенты средних специальных и высших учебных заведений. Исследование проведено на базе отделения аддиктивных состояний и лаборатории клинической психонейроиммунологии НИИПЗ СО РАМН. Клиническая верификация осуществлялась психиатрами-наркологами в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Критериями включения больных в группу обследованных явились верифицированный диагноз, письменное информированное согласие пациента на участие в исследовании. Критериями исключения были наличие эндогенных психических расстройств и умственной отсталости, неврологической патологии, соматических расстройств в стадии обострения. Для групп сравнения критериями включения были письменное информированное согласие добровольца на участие в исследовании, возраст и пол, сопоставимые с основной группой. Критериями исключения были наличие психических расстройств, неврологической патологии, соматических расстройств в стадии обострения.

Кровь для исследования у больных и лиц групп сравнения брали однократно.

Антитела к нейромедиаторам дофамину, норадреналину, серотонину определяли методом твердофазного ИФА (ELISA) на полистироловых 96-луночных планшетах, сенсibilизированных тест-антигеном. В качестве тест-антигенов использовали конъюгаты нейромедиатора с бычьим сывороточным альбумином (БСА). Конъюгированные антигены дофамин-БСА и серотонин-БСА синтезировали с использованием диазотированного белка [6]. Конъюгат норадреналин-БСА синтезировали с помощью глутарового альдегида [5]. Тест-антиген вносили в объеме 100 мкл в лунки планшета (Costar, USA) в конечной концентрации 0,3 мкг/лунку. Через 18 ч инкубации при 4°С планшеты 4—5 раз промывали физиологическим раствором с 0,05% твином-20. Тестируемые сыворотки вносили в объеме 100 мкл в 0,05 М фосфатно-солевом буферном растворе рН 7,4 с 0,05% твином-20 в конечном разведении 1:50. После инкубации в течение 1 ч при 37°С планшеты промывали 3—4 раза физиологическим раствором с 0,05% твином-20 и обрабатывали вторичными антителами к IgG человека, меченные пероксидазой хрена («МЕДГАМАЛ» ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН), в разведении 1:2000. После часовой инкубации в термостате при 37°С планшеты промывали 3—4 раза физиологическим раствором с 0,05% твином-20 и в лунки добавляли по 100 мкл субстратной смеси, содержащей равные объемы 0,2 М раствора  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  и 0,1 М раствора лимонной кислоты, 8 мг о-фенилдиамина, 8 мкл 33%-ного раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$ . После часовой инкубации в темноте при комнатной температуре реакцию останавливали 6 н.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Содержание антител в каждой лунке оценивали по оптической плотности сыворотки при  $\lambda=492$  нм с использованием считывающего устройства «Mini-reader» («ImmunoChem-2100», USA) и выражали в условных единицах активности, показателем, представляющим отношение оптической плотности сыворотки крови каждого больного к среднему значению сывороток крови здоровых доноров.

Полученные данные статистически обрабатывали по алгоритмам программы «Statistica 6.0» с проверкой соответствия распределения эмпирических данных нормальному закону по критерию Колмогорова—Смирнова и проверкой равенства генеральных дисперсий в сравниваемых выборках. При сравнении нескольких независимых выборок, в которых распределение эмпирических данных соответствовало нормальному закону, применяли однофакторный дисперсионный анализ «ONE WAY ANOVA» с последующим сравнением средних значений в рядах дисперсионного комплекса по тесту Стьюдента—Ньюма-

Выявление аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину в сыворотках крови здоровых лиц и больных наркоманией

Группа обследованных лиц	Количество обследованных лиц	Уровень (К, усл. ед.) аутоантител к нейромедиаторам		
		Дофамину	Норадреналину	Серотонину
Здоровые лица (контроль)	57	0,97±0,03	0,95±0,03	0,96±0,02
Больные наркоманией в состоянии острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств	114	** 1,21±0,04	** 1,23±0,04	** 1,27±0,04
Больные наркоманией в стадии ремиссии	14	* 1,35±0,09	1,14±0,09	* 1,16±0,11

Примечание. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  по сравнению с группой здоровых лиц

на—Кеулса. Критические значения уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принимались равными 0,05. Данные представлены в виде  $M \pm SEM$ , где  $M$  — среднее,  $SEM$  — стандартная ошибка среднего.

### Результаты и обсуждение

В сыворотках крови обследованных групп обнаружены аутоантитела к дофамину, норадреналину и серотонину. Между группами больных с опийной наркоманией, группой риска и здоровыми людьми выявлены различия в содержании аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину. Достоверность межгрупповых различий по антителам к дофамину составила  $F(3,196)=10,794$ ,  $p < 0,000001$ ; по антителам к норадреналину она равнялась  $F(3,191)=15,138$ ,  $p < 0,000000$ ; по антителам к серотонину она была  $F(3,198)=16,733$ ,  $p < 0,000000$  (однофакторный дисперсионный анализ).

Результаты проведенного исследования представлены в таблице. Как видно из таблицы, общая группа

больных опийной наркоманией в острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств, не получавших наркотики в течение от суток до нескольких недель, характеризуется увеличением содержания аутоантител ко всем исследуемым нейромедиаторам. Однако у пациентов в острой абстиненции (отмена наркотиков в течение нескольких суток) уровень аутоантител к дофамину, норадреналину и серотонину не был высоким и составлял  $0,94 \pm 0,06$  усл.ед.,  $1,05 \pm 0,09$  усл.ед.,  $0,89 \pm 0,06$  усл.ед. соответственно. В период постабстинентных расстройств, когда длительность отмены наркотических веществ составляла недели, уровень антител к дофамину норадреналину и серотонину был существенно выше и равнялся  $1,26 \pm 0,04$ ,  $1,27 \pm 0,04$ ,  $1,33 \pm 0,04$  усл.ед. соответственно (рис. 1).

В период формирования ремиссии, когда отмечается сокращение психопатологической симптоматики, сохранялось повышенное содержание антител к исследуемым нейромедиаторам по сравнению со здоровыми лицами (таблица).

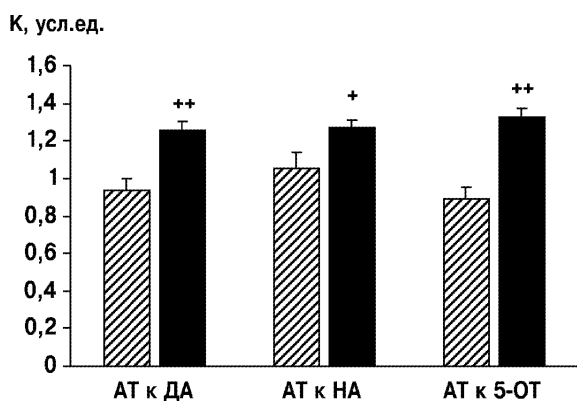


Рис. 1. Уровень аутоантител к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину в сыворотках крови больных наркоманией в острой абстиненции и в период постабстинентных расстройств. По оси ординат — уровень аутоантител в условных единицах активности. Столбики с косой штриховкой — больные в острой абстиненции; темные столбики — в период постабстинентных расстройств. +  $p < 0,05$  по сравнению с острой абстиненцией; ++  $p < 0,01$  по сравнению с острой абстиненцией

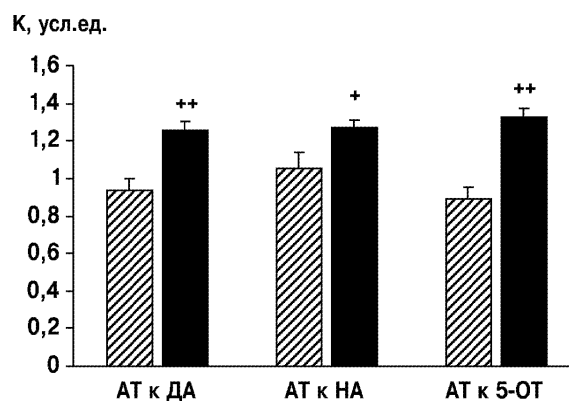


Рис. 2. Аутоантитела к нейромедиаторам дофамину, норадреналину и серотонину в сыворотке крови здоровых людей и лиц группы риска по формированию зависимости от психоактивных веществ. По оси ординат: уровень аутоантител (К, условные единицы активности).

Светлые столбики — контроль (здоровые лица); темные столбики — группа риска.

\*  $p < 0,05$  по сравнению с группой здоровых лиц.

Особый интерес представляют данные, полученные в группе риска по формированию зависимости от психоактивных веществ. В этой группе было обнаружено достоверное уменьшение содержания аутоантител к дофамину и норадреналину в сыворотках крови (рис. 2). Уровень антител к серотонину также был ниже в группе риска по формированию зависимого поведения, однако, он не достигал статистически значимого уровня по сравнению с контрольной группой здоровых лиц подростково-юношеского возраста.

Таким образом, аутоантитела к нейромедиаторам дофамину, норадреналину, серотонину при опийной наркомании можно рассматривать как продукт дисрегуляции нейроиммунных взаимодействий, которые являются посредниками и модуляторами механизмов развития болезни зависимости, в частности наркомании [2].

По-видимому, сниженный уровень антител к норадреналину в группе риска может соответствовать низкому уровню медиатора норадреналина в мезолимбических структурах мозга и повышенной потребности в стимуляции его выработки психоактивными веществами. Наряду с другими физиологическими факторами уровень антител к норадреналину в сыворотке крови может позволить оценить риск эпизодического употребления наркотиков [4] и, возможно, риск развития зависимости от психоактивных веществ.

Выявленные различия в содержании антител к нейромедиаторам, в особенности антител к норадреналину и дофамину, у больных опийной наркоманией на различных стадиях ее развития могут служить нейроиммунными маркерами прогноза течения заболевания.

Работа поддержана грантом РГНФ №12-06-00673

### Список литературы

1. *Анохина И.П.* Дисрегуляторные расстройства дофаминовой нейромедиаторной системы при алкоголизме и наркоманиях и их коррекция антидепрессантами // Дисрегуляторная патология. — М.: Медицина, 2002. — С. 329—341.
2. *Евсеев В.А.* Антитела к нейромедиаторам в механизмах нейроиммунопатологии. — М.: Изд. РАМН. — 2007. — 144 с.
3. *Мягкова М.А., Морозова В.С., Михайлов М.А.* и др. Сравнительное определение нейроиммунных показателей для диагностики заболеваний зависимости // Патогенез. — 2012. — Т. 10, №3. — С. 59—60.
4. *Невидимова Т.И., Давыдова Т.В., Ветрилэ Л.А.* и др. Иммунофизиологические факторы риска эпизодического употребления наркотиков лицами подростково-юношеского возраста // Патогенез. — 2012. — Т. 10, №3. — С. 60.
5. *Melmon K.L., Wenstein Y., Bourne H.R.* et al. The pharmacological effects of conjugates of pharmacologically active amines to complex or simple carries: a new class of drug // Mol. Pharmacol. — 1976. — Vol. 12, №5. — P. 701—710.
6. *Peskar B., Spector S.* Serotonin: Radioimmunoassay // Science. — 1973. — Vol. 179, №80. — P. 1340—1341.
7. *Weinshenker D., Schroder J.* There and back again: a tale of norepinephrine and drug addiction // Neuropsychopharmacology. — 2007. — Vol. 32. — P. 1432—1451.

Поступила 06.03.13

### Сведения об авторах:

*Ветрилэ Лучия Александровна*, канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Ветлугина Тамара Парфеновна*, д-р биол. наук, проф., Засл. деят. науки РФ, зав. лаб. клинической психонейроиммунологии ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Невидимова Татьяна Ивановна*, д-р мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Бохан Николай Александрович*, д-р мед. наук, проф., Засл. деят. науки РФ, рук. отделения аддиктивных состояний ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Батухтина Елена Ивановна*, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинической психонейроиммунологии ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН

*Фомина Валентина Гавриловна*, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Захарова Ирина Александровна*, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. нейроиммунопатологии ФГБУ «НИИОПП» РАМН