

МАРКЕРЫ ДИСФУНКЦИИ АПОПТОЗА ПРИ ШИЗОФРЕНИИ

© 2013 г. А. С. Бояджян*, А. С. Чавушян, Р. В. Захарян, Г. М. Мкртчян

Институт молекулярной биологии Национальной академии наук Республики Армения, Ереван, 0014

Поступила в редакцию 09.02.2013 г.

Принята к печати 19.03.2013 г.

Согласно современным воззрениям, с этиопатогенезом шизофрении связаны нарушения апоптоза и его генетической регуляции, что проявляется как на уровне головного мозга, так и на уровне периферической крови. Исследование этого явления только начинается, и молекулярно-клеточные механизмы, лежащие в основе аномалий процесса апоптотической гибели клеток при шизофрении, не известны. В настоящей работе определяли содержание маркеров апоптоза – белков аннексина-А5 и фиколина-Н – в сыворотке крови хронических и первичных больных шизофренией, а также у здоровых лиц, с целью проверки предположения о взаимосвязи между шизофренией и однонуклеотидной заменой (функциональным полиморфизмом) rs11575945 (–1С/Т) в консенсусной последовательности “Козак” регуляторного участка гена аннексина-А5. Использовали методы твердофазного иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции с аллель-специфичными праймерами. Показано, что патогенез шизофрении характеризуется гиперфункцией апоптоза, которая гораздо более выражена у первичных, не принимавших нейролептики, больных, чем у хронических, принимавших типичный нейролептик галоперидол. Показано также, что полиморфизм rs11575945 гена аннексина-А5 ассоциирован с шизофренией, а его минорный аллель обуславливает более высокие уровни белка аннексина-А5 в крови и является одним из факторов риска развития данного заболевания.

Ключевые слова: аннексин-А5, апоптоз, полиморфизм rs11575945 гена аннексина-А5, фиколин-Н, шизофрения.

MARKERS OF APOPTOTIC DYSFUNCTION IN SCHIZOPHRENIA, by *A. S. Boyajyan**, *A. S. Chavushyan*, *R. V. Zakharyan*, *G. M. Mkrtychyan* (Institute of Molecular Biology, National Academy of Sciences of the Republic of Armenia, Yerevan, 0014 Armenia; *e-mail: aboyajyan@sci.am). According to modern concepts, alterations of the apoptosis processes and its genetic regulation are involved in etiopathogenesis of schizophrenia. This is observed on the levels of both the brain and peripheral blood. However, studies in this aspect are on initial stage of development, and molecular and cellular mechanisms of abnormalities of apoptosis in schizophrenia are not clear. In the present study we determined the levels of apoptotic markers, annexin-A5 and ficolin-H proteins, in the serum of patients with chronic and first-episode schizophrenia and healthy controls. The potential association of functional single nucleotide polymorphism rs11575945 (–1C/T) of “Kozak” consensus sequence in the regulatory region of the annexin-A5 gene with schizophrenia was examined. In this study the enzyme linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction with allele-specific primers were used. The results suggest that the pathogenesis of schizophrenia is characterized by increase rate of apoptosis, which is more pronounced in case of first-episode neuroleptic-free patients than in case of chronic patients treated with typical neuroleptic haloperidol. It was also shown that rs11575945 polymorphism of the annexin-A5 gene is associated with schizophrenia, and its minor allele is responsible for higher levels of the annexin-A5 protein in the blood and represent one of the risk factors for this disease.

Keywords: annexin-A5, apoptosis, polymorphism rs11575945 of annexin-A5 gene, ficolin-H, schizophrenia.

DOI: 10.7868/S0026898413040022

Аномальный апоптоз наблюдается при многих заболеваниях [1], в том числе и психических [2]. В одной из современных гипотез этиологии и патогенеза шизофрении (“neurodevelopmental hypothesis”) предполагается, что процессы апоптоза и

его генетической регуляции нарушаются и на ранних этапах формирования мозга, и во взрослом организме больных [3]. Предполагается также, что как пре-, так и постнатальные, а также генетически обусловленные нарушения процессов

Принятые сокращения. OR – отношение шансов; CI – доверительный интервал.

* Эл. почта: aboyajyan@sci.am

апоптоза могут быть в числе факторов, которые ответственны за развитие шизофрении [4] и определяют характерные для данной патологии дефекты синаптической пластичности [5], нейродегенеративные изменения [6] и дисфункцию иммунной системы [7–10]. Эта дисфункция проявляется и на уровне ЦНС, и на системном уровне; она характеризуется, в частности, развитием аутоиммунных и воспалительных реакций [7–10], имеющих непосредственную связь с апоптозом [11, 12]. Нарушения процесса апоптоза при шизофрении наблюдаются на уровне головного мозга [13–16] и на уровне периферической крови [17]. Однако все эти исследования находятся на начальном этапе, и молекулярно-клеточные механизмы, лежащие в основе аномалий при апоптотической гибели клеток при шизофрении, не ясны.

В последние годы в работах по изучению нарушений апоптоза и их взаимосвязи с нарушениями иммунного ответа организма большое внимание уделяется белку аннексину-А5. Этот белок способен связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами, включая фосфатидилсерин, который уже на ранних этапах апоптоза переходит с внутреннего на наружный мембранный слой клетки, претерпевающей апоптоз. Мембраносвязанная форма аннексина-А5 – важнейший модулятор процесса фагоцитоза апоптотических клеток и воспалительных реакций, направленных на удаление гибнущих клеток. Повышение уровня этого белка индуцирует развитие аутоиммунных и воспалительных реакций [18–21]. Показано, что связанный с мембраной апоптотических клеток аннексин-А5 является лигандом C1q-белка [22], инициирующего классический каскад комплемента, который при шизофрении переходит в гиперактивированное состояние [23]. Растворимая форма аннексина-А5 рассматривается как маркер апоптоза. Ее источником служат апоптотические клетки и их фрагменты. Повышение содержания растворимой формы аннексина-А5 в крови свидетельствует о гиперфункции апоптоза (его ускорении), и, напротив, низкое, по сравнению с нормой, содержание этого белка в крови свидетельствует о гипофункции апоптоза (его замедлении) [18–21].

Данные по изучению содержания аннексина-А5 в крови при шизофрении представлены лишь в одной работе [24], в которой обнаружили повышение содержания этого белка в сыворотке крови небольшой когорты больных (39 индивидов), принимавших атипичные нейролептики.

Фиколины – это мультивалентные сывороточные белки, распознающие микробные и апоптотические клетки. Нарушения на уровне экспрессии генов этих белков наблюдаются при патоген-

езе многих заболеваний, характеризующихся, в частности, дисфункцией апоптоза [25]. Фиколин-Н способен, связываясь с поверхностью апоптотических клеток, активировать комплемент по лектиновому пути, а также действовать как опсонин [26]. Ранее показано, что для больных шизофренией характерна гиперактивация и лектинового каскада комплемента [23]. Однако литературных данных относительно фиколина-Н при этой патологии до настоящего времени нет.

В настоящей работе определяли содержание аннексина-А5 и фиколина-Н в сыворотке крови хронических больных шизофренией, принимавших типичный нейролептик – галоперидол, в сравнении с первичными больными, не принимавшими нейролептики, и со здоровыми лицами. Приведены результаты корреляционного анализа данных. Изучено также, имеется ли взаимосвязь между шизофренией и однонуклеотидной (–1С/Т) функциональной заменой (полиморфизм rs11575945) в консенсусной последовательности “Козак” регуляторного участка гена аннексина-А5, играющей ключевую роль в инициации трансляции [27]. Определяли зависимость между уровнями аннексина-А5 в крови и генотипами полиморфизма rs11575945. Небольшая часть результатов данной работы по содержанию аннексина-А5, полученная при изучении меньшей выборки субъектов исследования, ранее опубликована [28].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Субъекты исследования – больные параноидной формой шизофрении, диагностированные врачами Психиатрического медицинского центра Министерства здравоохранения Республики Армения (МЗ РА) на основе критериев Международной классификации болезней (МКБ-10; код: F20.0). Контрольную группу физически и психически здоровых лиц составили доноры Медицинского центра Эребуни МЗ РА. В целом, исследовали 225 хронических больных, принимавших типичный нейролептик галоперидол, 25 первичных больных, не принимавших нейролептики, и 225 здоровых лиц (контрольная группа). В группу хронических больных вошло 154 мужчин и 71 женщина. Средний возраст ($M \pm \delta$) в этой группе – 44.2 ± 9.8 лет, средняя продолжительность заболевания – 19.5 ± 7.2 лет, а возраст первой манифестации заболевания – 26.4 ± 8.3 лет. Во вторую группу первичных больных вошло 17 мужчин и 8 женщин, средний возраст – 26.4 ± 9.2 лет, средняя продолжительность заболевания – 26.4 ± 9.2 лет. В контрольную группу вошло 154 мужчин и 71 женщина, средний воз-

раст — 42.6 ± 9.2 лет. У 94 хронических и 10 первичных больных имелась наследственная предрасположенность к данному заболеванию (семейная история). У 116 хронических и 18 первичных больных шизофренией, а также у 146 здоровых лиц наблюдалась никотиновая зависимость (курение табачных сигарет). Здоровые лица прошли предварительную психиатрическую проверку, подтвердившую отсутствие какого-либо психического заболевания или наследственной отягощенности им. О наличии/отсутствии у субъектов исследования наследственной отягощенности по шизофрении или по другим психическим заболеваниям судили на основании устного опроса, истории болезни, а также информации, имеющейся в базе данных Психиатрического медицинского центра МЗ РА. Все субъекты не принимали никаких лекарственных препаратов, как минимум, за месяц до начала исследования. Никто из них не страдал неврологическими, эндокринными, острыми или хроническими инфекционными, аутоиммунными, аутовоспалительными, онкологическими или другими серьезными заболеваниями и не подвергался хирургическому вмешательству, как минимум, за 12 мес. до взятия крови. Все субъекты исследования — этнические армяне, проживающие на территории Армении.

Все участники были проинформированы врачами о предстоящем исследовании и дали согласие на взятие крови. Исследование одобрено Комитетом по этике Института молекулярной биологии НАН РА (международный номер регистрации 00004079).

Кровь забирали утром натощак из локтевой вены и охлаждали во льду. Часть крови помещали в пробирки без антикоагулянта и использовали для получения сыворотки, другую часть — в пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта EDTA. Для получения сыворотки кровь центрифугировали при 3000 g в течение 10 мин и отбирали надосадочный раствор. ДНК из крови выделяли по обычному методу с использованием смеси фенола и хлороформа [29]. Образцы сыворотки и ДНК хранили при -30°C . Все исследуемые образцы анализировали в двух повторах.

Концентрацию аннексина-A5 и фиколина-H в сыворотке крови определяли, используя метод твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) и коммерческие наборы реагентов (“Uscn Life Science Inc.”, США, и “Nucult Biotech Inc.”, Нидерланды, соответственно) согласно инструкциям производителей.

Полиморфизм rs11575945 гена аннексина-A5 определяли путем генотипирования образцов ДНК хронических больных и здоровых лиц при помощи полимеразной цепной реакции с аллель-специ-

фичными праймерами (PCR-SSP) [30]. Олигонуклеотидные праймеры конструировали на основе базы данных Международного биотехнологического центра (GenBank, www.ncbi.nlm.nih.gov, GeneID:308). Получены и использованы следующие праймеры: специфичный для С-аллеля — CCTGACCTGAGTAGTCGCC; для Т-аллеля — CCTGACCTGAGTAGTCGCT; константный праймер — GCCACGTCACCAGCTGTTGC. В качестве контрольных праймеров использовали последовательности TGCCCAAGTGGAGCACCCAA и GCATCTTGCTCTGTGCAGAT. В десятой части произвольно отобранных образцов генотипирование проводили дважды для проверки воспроизводимости данных, и было показано, что повторы всех произвольно выбранных образцов одинаковы. Электрофорез продуктов амплификации ДНК проводили в 2%-ном агарозном геле с использованием 0.045 М Трис-боратного буфера, pH 8.0, содержащего 0.001 М EDTA и бромистый этидий (0.7 мкг/мл). Полосы в геле визуализировали при помощи контактной УФ-лампы.

Статистическую обработку данных проводили на основе порядковой статистики и U-теста Манна–Уитни, используя программный пакет GraphPad Prism 3.03 (GraphPad Software Inc.) и SPSS 13.0 (SPSS Inc.). При одновременном сравнении трех групп достоверность различий определяли на основании однофакторного дисперсионного анализа (H-тест Крускала–Уоллиса). Множественные сравнения между группами проводили на основе критерия Данна (Q-тест). В корреляционном анализе использовали метод Спирмена. Значения $p < 0.05$ были приняты как статистически значимые. При обработке данных генотипирования распределение генотипов rs11575945 в исследуемых группах проверяли на соответствие закону Харди–Вайнберга. Частоту встречаемости генотипов, аллелей и носителей мутантных аллелей в исследуемых группах рассчитывали, основываясь на данных электрофореза (по числу и местоположению соответствующих полос в геле). Значимость различий по отмеченным параметрам между больными и здоровыми определяли по χ^2 -критерию Пирсона, рассчитывая отношение шансов (OR), 95%-ный доверительный интервал (CI) и доверительную вероятность Пирсона (p). Значения $p < 0.05$ были приняты как статистически значимые. Статистическую мощность исследования определяли как описано ранее [31], проводя соответствующее вычисление в программе Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно полученным данным, концентрация аннексина-А5 в сыворотке крови хронических больных и первичных больных шизофренией в среднем в 2.3 раза ($p < 0.0001$, U-тест; $p < 0.001$, Q-тест) и 3.53 раза ($p < 0.0001$, U-тест; $p < 0.001$, Q-тест), соответственно, статистически значимо превышает аналогичный параметр в группе здоровых лиц. При этом, содержание аннексина-А5 в сыворотке крови первичных больных в 1.52 раза статистически значимо больше, чем его содержание в сыворотке крови хронических больных ($p < 0.0001$, U-тест; $p < 0.001$, Q-тест). Результаты этой части исследований представлены на рис. 1 и находятся в соответствии с нашими, ранее полученными, данными [28].

Что касается фиколина-Н, то содержание этого белка в сыворотке крови хронических больных и первичных больных шизофренией в среднем в 1.7 раза ($p < 0.0001$, U-тест; $p < 0.001$, Q-тест) и 1.93 раз ($p < 0.0001$, U-тест; $p < 0.001$, Q-тест) соответственно статистически значимо больше аналогичного параметра в группе здоровых лиц. При этом уровень фиколина-Н в сыворотке крови первичных больных в 1.13 раз статистически значимо выше, чем его уровень в сыворотке крови хронических больных ($p < 0.0002$, U-тест; $p < 0.001$, Q-тест) (рис. 2).

Корреляционный анализ показывает положительную корреляцию и между уровнями аннексина и фиколина-Н в крови больных шизофренией. У здоровых лиц такой корреляции нет.

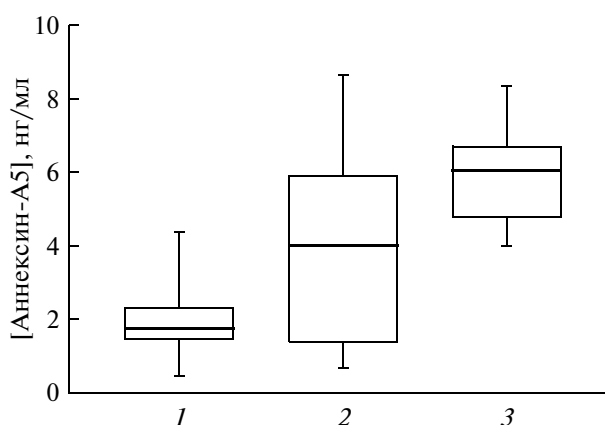


Рис. 1. Содержание аннексина-А5 в сыворотке крови здоровых лиц (1), хронических больных шизофренией, принимавших галоперидол (2), и первичных больных, не принимавших нейролептики (3). Данные представлены в виде диаграмм размаха “прямоугольники-отрезки” (box-whiskers), где прямоугольники отображают интерквартильные расстояния (размах от 25-го до 75-го перцентиля), вертикальные отрезки вне прямоугольников – размах от 10-го до 90-го перцентиля. Медиана отмечена горизонтальной линией. $P < 0.0001$ (H-тест).

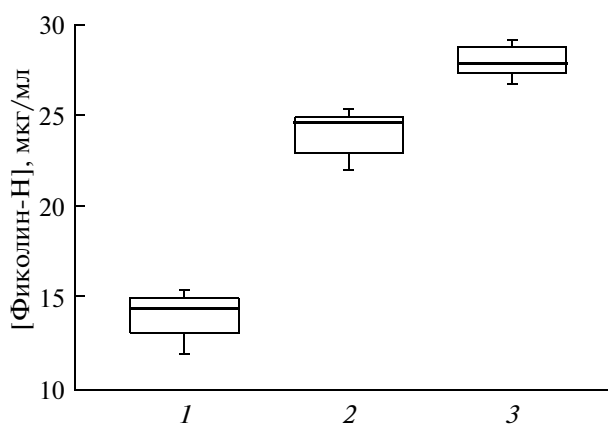


Рис. 2. Содержание фиколина-Н в сыворотке крови здоровых лиц (1), хронических больных шизофренией, принимавших галоперидол (2), и первичных больных, не принимавших нейролептики (3). Данные представлены в форме, указанной в подписи к рис. 1.

Абсолютная и относительная (в долях единицы) частота встречаемости генотипов, аллелей и носителей мутантных аллелей (Нм) полиморфизма rs11575945 гена аннексина-А5 в группах больных шизофренией и здоровых лиц

Группа	Генотип			Аллель		Нм*
	СС	СТ	ТТ	С	Т	Т
Больные	54 (0.24)	125 (0.56)	46 (0.2)	233 (0.52)	217 (0.48)	171 (0.76)
Здоровые лица	131 (0.58)	82 (0.36)	12 (0.06)	344 (0.76)	106 (0.24)	94 (0.42)
<i>P</i>					<0.0001	<0.0001

Примечание. Под частотой встречаемости мутантного аллеля (НмТ) подразумевается число носителей генотипов, содержащих одну или две копии аллеля Т.

Нами не обнаружено достоверных различий в содержании аннексина-А5 и фиколина-Н у мужчин и женщин, а также у зависимых и не зависимых от никотина лиц в исследуемых группах. Также не наблюдается какой-либо взаимосвязи между возрастом субъектов исследования, возрастом первой манифестации болезни, длительностью заболевания (в группе хронических больных) и уровнями исследованных белков.

В таблице представлены результаты генотипирования полиморфизма rs11575945 гена аннексина-А5. Распределение его генотипов в группах больных и здоровых лиц соответствует уравнению Харди–Вайнберга ($p > 0.05$). Частота встречаемости минорного Т аллеля у больных в два раза статистически значимо выше этого параметра у здоровых (0.48 против 0.24, $p < 0.0001$, OR = 3.02, 95%CI: 2.27–4.02). Соответственно число носителей отмеченного аллеля в группе больных также статистически значимо выше, чем аналогичный параметр в группе здоровых (0.76 против 0.42, $p < 0.0001$, OR = 4.41, 95%CI: 2.94–6.62). Статистическая мощность данного исследования составит 99.9%.

В группе больных шизофренией содержание аннексина-А5 в сыворотке носителей мутантного аллеля rs11575945*Т гена аннексина-А5 в среднем в 3.77 раза больше, чем в сыворотке гомозиготных по rs11575945 СС индивидов ($p < 0.0001$, U-тест). Аналогичная тенденция наблюдается и в группе здоровых.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исходя из полученных данных, мы пришли к заключению, что для больных шизофренией характерна гиперфункция апоптоза, которая гораздо более выражена у первичных больных, не принимавших нейролептики, чем у хронических больных, принимавших типичный нейролептик – га-

лоперидол. Наблюдаемое нами различие в содержании апоптотических маркеров между первичными и хроническими больными может отражать воздействие ряда факторов, связанных с хроническим течением данного заболевания, а также компенсаторные реакции организма. Мы полагаем, что эти различия обусловлены не воздействием галоперидола, который принимали хронические больные, поскольку, как свидетельствуют исследования *in vitro*, галоперидол индуцирует, а не подавляет апоптоз [32]. Это заключение подкреплено также ранее опубликованными литературными данными, в которых, при определении в сыворотке крови больных шизофренией таких маркеров апоптоза, как Fas-рецептор и Fas-лиганд, показано, что нейролептики не влияют на указанные параметры [17].

Более высокие уровни аннексина-А5 и фиколина-Н в крови больных шизофренией могут быть результатом интенсификации процессов запрограммированной гибели клеток, циркулирующих в центральном кровотоке, или/и могут отражать нарушения на уровне нейронального апоптоза вследствие повышения при этой болезни проницаемости гематоэнцефалического барьера [33]. Положительная корреляция между уровнями аннексина-А5 и фиколина-Н у больных и отсутствие такой корреляции в норме свидетельствует о том, что наблюдаемые изменения в содержании этих двух белков при шизофрении обусловлены патологическими процессами и, скорее всего, отражают взаимосвязь между нарушениями на уровне иммунного ответа и апоптоза [11, 12].

Результаты генотипирования полиморфизма rs11575945 гена аннексина-А5 однозначно свидетельствуют о том, что имеется взаимосвязь между этой мутацией и шизофренией, что позволяет рассматривать минорный аллель rs11575945*Т гена аннексина-А5 как фактор риска развития бо-

лезни. Следует отметить, что в ранее опубликованной работе показана взаимосвязь с шизофренией функционального полиморфизма другого представителя семейства аннексинов — аннексина-A7 [34].

Как результаты настоящей работы, так и ранее опубликованные данные других авторов свидетельствуют о том, что минорный аллель rs11575945*Т гена аннексина-A5, а не стандартный аллель этого гена, коррелирует с более высоким уровнем синтеза белка в крови [27]. Таким образом, очевидно, что повышение уровня белка аннексина-A5 в крови больных шизофренией обусловлено не только интенсификацией процессов апоптоза при данной патологии, но и связано с большей частотой встречаемости минорного аллеля полиморфизма rs11575945 у больных, чем у здоровых лиц.

Авторы выражают благодарность администрации и врачам Психиатрического медицинского центра и Медицинского центра “Эребуни” МЗ РА за содействие в проведении настоящего исследования.

Работа получила финансовую поддержку Государственного комитета науки Республики Армения (11-1f151).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Holcik M. 2005. *Apoptosis in Health and Disease: Clinical and Therapeutic Aspects*. UK: Cambridge University Press.
- Olney J.W. 2003. Excitotoxicity, apoptosis and neuropsychiatric disorders. *Curr. Opin. Pharmacol.* **3**, 101–109.
- Fatemi S.H., Folsom T.D. 2009. The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. *Schizophr. Bull.* **35**, 528–548.
- Jarskog L.F., Glantz L.A., Gilmore J.H., Lieberman J.A. 2005. Apoptotic mechanisms in the pathophysiology of schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* **29**, 846–858.
- Glantz L.A., Gilmore J.H., Lieberman J.A., Jarskog L.F. 2006. Apoptotic mechanisms and the synaptic pathology of schizophrenia. *Schizophr. Res.* **81**, 47–63.
- Pérez-Neri I., Ramírez-Bermúdez J., Montes S., Ríos C. 2006. Possible mechanisms of neurodegeneration in schizophrenia. *Neurochem. Res.* **31**, 1279–1294.
- Коляскина Г.И. Иммунологические исследования при шизофрении. 1990. *Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. Иммунология.* **25**, 169–198.
- Rothermundt M., Arolt V., Bayer T.A. 2001. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia. *Brain Behav. Immun.* **15**, 319–339.
- Щербакова И.В., Сиряченко Т.М., Мазаева Н.А., Краснолобова С.А., Лидеман Р.Р., Ключник Т.П. 2003. Сопоставление некоторых показателей врожденного и приобретенного иммунитета при разных формах течения шизофрении. *Журн. неврол. психиатр им. С.С. Корсакова.* **103**, 69–72.
- Müller N., Schwarz M.J. 2010. Immune system and schizophrenia. *Curr. Immunol. Rev.* **6**, 213–220.
- Haanen C., Vermes I. 1995. Apoptosis and inflammation. *Mediators Inflamm.* **4**, 5–15.
- Mahoney J.A., Rosen A. 2005. Apoptosis and autoimmunity. *Curr. Opin. Immunol.* **17**, 583–588.
- Jarskog L.F., Gilmore J.H., Selinger E.S., Lieberman J.A. 2000. Cortical bcl-2 protein expression and apoptotic regulation in schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* **48**, 641–650.
- Benes F.M., Walsh J., Bhattacharyya S., Sheth A., Berretta S. 2003. DNA fragmentation decreased in schizophrenia but not in bipolar disorder. *Arch. Gen. Psychiatry.* **60**, 359–364.
- Jarskog L.F., Selinger E.S., Lieberman J.A., Gilmore J.H. 2004. Apoptotic proteins in the temporal cortex in schizophrenia: high Bax/Bcl-2 ratio without caspase-3 activation. *Am. J. Psychiatry.* **161**, 109–115.
- Glantz L.A., Gilmore J.H., Overstreet D.H., Salimi K., Lieberman J.A., Jarskog L.F. 2010. Pro-apoptotic Par-4 and dopamine D2 receptor in temporal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and major depression. *Schizophr. Res.* **118**, 292–299.
- Djordjević V.V., Ristić T., Lazarević D., Cosić V., Vlahović P., Djordjević V.B. 2012. Schizophrenia is associated with increased levels of serum Fas and FasL. *Clin. Chem. Lab. Med.* **50**, 1049–1054.
- Gerke V., Moss S.E. 2002. Annexins: from structure to function. *Physiol. Rev.* **82**, 331–371
- Boersma H.H., Kietselaer B.L., Stolk L.M., Bennagmouch A., Hofstra L., Narula J., Heidendal G.A., Reutelingsperger C.P. 2005. Past, present, and future of annexin A5: from protein discovery to clinical applications. *J. Nucl. Med.* **46**, 2035–2050.
- Munoz L., Frey B., Pausch F., Baum W., Mueller R., Brachvogel B., Poschl E., Rodel F., von der Mark K., Herrmann M., Gaipl U. 2007. The role of annexin A5 in the modulation of the immune response against dying and dead cells. *Curr. Med. Chem.* **14**, 271–277.
- Gaipl U.S., Munoz L.E., Rodel F., Pausch F., Frey B., Brachvogel B., von der Mark K., Poschl E. 2007. Modulation of the immune system by dying cells and the phosphatidylserine-ligand annexin A5. *Autoimmunity.* **40**, 254–259.
- Martin M., Leffler J., Blom A.M. 2012. Annexin A2 and A5 serve as new ligands for C1Q on apoptotic cells. *J. Biol. Chem.* **287**, 33733–33744.
- Mayilyan K.R., Weinberger D.R., Sim R.B. 2008. The complement system in schizophrenia. *Drug News Perspect.* **21**, 200–210.
- Francesconi L.P., Ceresér K.M., Mascarenhas R., Stertz L., Gama C.S., Belmontede-Abreu P. 2011. Increased annexin-V and decreased TNF-alpha serum levels in chronic-medicated patients with schizophrenia. *Neurosci. Lett.* **502**, 143–146.

25. Zhang X.L., Ali M.A. 2008. Ficolins: structure, function and associated diseases. *Adv. Exp. Med. Biol.* **632**, 105–115.
26. Kuraya M., Ming Z., Liu X., Matsushita M., Fujita T. 2005. Specific binding of L-ficolin and H-ficolin to apoptotic cells leads to complement activation. *Immunobiology.* **209**, 689–697.
27. González-Conejero R., Corral J., Roldán V., Martínez C., Marín F., Rivera J., Iniesta J.A., Lozano M.L., Marco P., Vicente V. 2002. A common polymorphism in the annexin V Kozak sequence (–1C > T) increases translation efficiency and plasma levels of annexin V, and decreases the risk of myocardial infarction in young patients. *Blood.* **100**, 2081–2086.
28. Бояджян А.С., Мкртчян Г.М., Чавушян А.С., Захарян Р.В., Хоецян А.Г., Геворкян А.П. 2012. Уровни аннексина-А5 в крови больных шизофренией. *Психиатрия (Москва).* **1–2**, 124–126.
29. Sambrook J., Russell D.W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd ed.)*. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press.
30. Bunce M., O'Neill C.M., Barnardo M.C., Krausa P., Browning M.J., Morris P.J., Welsh K.I. 1995. Phototyping: comprehensive DNA typing for HLA-A, B, C, DRB3, DRB4, DRB5&DQB1 by PCR with 144 primer mixes utilizing sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens.* **46**, 355–367.
31. Lalouel J.M., Rohrwasser A. 2002. Power and replication in case-control studies. *Am. J. Hypertens.* **15**, 201–205.
32. Noh J.S., Kang H.J., Kim E.Y., Sohn S., Chung Y.K., Kim S.U., Gwag B.J. 2000. Haloperidol-induced neuronal apoptosis: role of p38 and c-Jun-NH2-terminal protein kinase. *J. Neurochem.* **75**, 2327–2334.
33. Schoknecht K., Shalev H. 2012. Blood–brain barrier dysfunction in brain diseases: clinical experience. *Epilepsia.* **53**, 7–13.
34. Liu C.M., Fann C.S., Chen C.Y., et al. 2011. ANXA7, PPP3CB, DNAJC9, and ZMYND17 genes at chromosome 10q22 associated with the subgroup of schizophrenia with deficits in attention and executive function. *Biol. Psychiatry.* **70**, 51–58.