

УДК 577.217:616.895.8

ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ *NRF2* И *HMOX1* В УСЛОВИЯХ СИСТЕМНОГО ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ ПСИХОЗОМ

© 2020 г. Г. В. Шмарина^{1,3,5, *}, М. Д. Орлова¹, Е. С. Ершова^{1,5}, Е. М. Жесткова²,
А. В. Мартынов¹, Н. Н. Вейко¹, М. С. Конькова¹, О. А. Долгих¹, А. Д. Филев^{1,4}, С. В. Костюк^{1,5}

¹Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова, Москва, 115478 Россия

²Психиатрическая клиническая больница № 4 им. П.Б. Ганнушкина, Москва, 107076 Россия

³Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского, Москва, 125212 Россия

⁴Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В.А. Неговского
Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии, Москва, 107031 Россия

⁵Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, 119991 Россия

*e-mail: sakmarariver@yahoo.com

Поступила в редакцию 09.02.2019 г.

После доработки 28.03.2019 г.

Принята к публикации 04.04.2019 г.

Была исследована транскрипционная активность генов *NRF2* и *HMOX1* у пациентов с острым психозом на фоне системного оксидативного стресса. В исследовании принимали участие пациенты с клиникой первого эпизода параноидной формы шизофрении, пациенты с впервые развившимся острым психозом, вызванным чрезмерным употреблением алкоголя, и здоровые добровольцы. Уровень системного оксидативного стресса оценивали по содержанию 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-oxodG) в мононуклеарных клетках (МНК) периферической крови и в составе внеклеточной (вк)ДНК, выделенной из образцов плазмы. У пациентов обеих групп было обнаружено существенное (на два порядка) повышение уровня 8-oxodG в составе вкДНК и выраженное (в 5–8 раз) повышение содержания 8-oxodG в МНК периферической крови. На фоне системного оксидативного стресса МНК пациентов с алкоголизмом демонстрировали статистически значимое повышение экспрессии белка *NRF2* и выраженный рост транскрипционной активности генов *NRF2* и *HMOX1*. МНК пациентов с параноидной формой шизофрении, напротив, характеризовались низким уровнем транскрипционной активности генов *NRF2* и *HMOX1* и, как следствие, низкой экспрессией белка *NRF2*. Полученные результаты свидетельствуют о нарушении механизмов антиоксидантной защиты у пациентов с клиникой первого эпизода параноидной формы шизофрении.

Ключевые слова: оксидативный стресс, *NRF2*, *HMOX1*, KEAP1, внеклеточная ДНК, 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин, шизофрения, алкоголизм.

DOI: 10.31857/S0016675820010105

Окислительный стресс играет роль как в патогенезе шизофрении [1], так и в развитии реакции организма человека на чрезмерное потребление алкоголя [2]. Острые психозы представляют собой группу гетерогенных синдромов с неопределенными нейробиологическими механизмами [3]. Считается, что проявлению первого эпизода психоза предшествует развитие системного провоспалительного и проокислительного статуса [3–6]. Первый эпизод психоза, как эндогенного, так и вызванного чрезмерным потреблением алкоголя, может быть, по крайней мере частично, следствием дисбаланса гомеостаза, вызванного окислительным стрессом и провоспалительными фактора-

ми. Метаанализ воспалительных и окислительных маркеров выявил высокий уровень провоспалительных цитокинов и маркеров окислительного стресса у пациентов с первым эпизодом эндогенного и экзогенного психоза по сравнению с контролем [3, 7–10].

В условиях окислительного стресса, вызванного внешним воздействием, в том числе при алкогольной интоксикации, а также при патологии, сопровождающейся развитием окислительного стресса, может возрастать уровень окислительных повреждений клеток [11]. При гибели клеток с окислительными нерепарируемыми повреждениями ДНК фрагменты окисленной внеклеточ-

ной ДНК (вкДНК) могут накапливаться в циркуляции [12]. При окислительном стрессе подвергаются окислительной модификации все основания ДНК, но основными продуктами окисления ДНК ядер клеток являются тимидингликоль и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин [11, 12]. В составе вкДНК содержание маркера окисления ДНК – 8-oxodG может достигать 300 и более на 1 млн нуклеотидов [13].

Сигнальный каскад, сопряженный с транскрипционным фактором NRF2, является важной составляющей адаптационных механизмов, контролирующих экспрессию антиоксидантов и ферментов детоксикации [14]. В нормальных физиологических условиях NRF2 пребывает в неактивном состоянии за счет связывания с белком цитоскелета KEAP1 [15]. Окислительный стресс приводит к освобождению NRF2, который перемещается в ядро, где связывается с регуляторным элементом ARE (antioxidant response elements), контролирующим транскрипцию генов, кодирующих ферменты детоксикации и цитопротекторные белки. В частности, регуляторный элемент ARE повышает транскрипционную активность гена *HMOX1*, кодирующего гемоксигеназу-1 (HO-1) [16]. Цель данной работы состояла в исследовании транскрипционной активности генов *NRF2* и *HMOX1* у пациентов с острым психозом на фоне системного оксидативного стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 62 пациента (мужчины, 19–65 лет), госпитализированных в 14-ю психиатрическую больницу г. Москвы (филиала ПКБ № 1 им. Н.А. Алексеева) с острым психозом. У 40 пациентов (40.4 ± 9.8 лет) методами клинического, патопсихологического, психометрического обследований впервые были обнаружены проявления параноидной формы шизофрении (Группа 1). Диагноз F20.0 по МКБ-10 был подтвержден в процессе динамического наблюдения в течение года. При отборе пациентов в данную группу были использованы диагностические критерии пятой редакции Диагностического и статистического руководства по психическим расстройствам (DSM-V), а также показатели валидированных международных психометрических шкал (PANSS, NGS-A, SAS). Таким образом, в Группу 1 были включены пациенты с клиникой первого эпизода параноидной формы шизофрении, ранее не получавшие соответствующего лечения. Пациенты с сопутствующими психическими расстройствами, зависимостью от наркотиков и психотропных препаратов, с органическими психическими расстройствами, с умственной отсталостью, с тяжелыми соматическими и хроническими неврологическими заболеваниями, а также паци-

енты, ранее принимавшие антипсихотики, исключались из исследования.

У 22 пациентов (42.2 ± 5.9 лет) психические и поведенческие расстройства были вызваны чрезмерным употреблением алкоголя (Группа 2). В исследование были включены пациенты с впервые развившимся острым психозом, вызванным чрезмерным употреблением алкоголя, у которых при динамическом наблюдении в течение года не было выявлено шизофрении или других психических расстройств. При отборе исключались пациенты с сопутствующими психическими расстройствами, имеющие зависимость от наркотических препаратов, пациенты с умственной отсталостью, лица, имеющие хронические соматические заболевания, а также пациенты с повторным эпизодом психотического расстройства, вызванного чрезмерным употреблением алкоголя.

В группу контроля были включены условно здоровые мужчины в возрасте от 18 до 63 лет ($n = 25$), не имеющие соматической или неврологической патологии, не состоящие в родстве с исследуемыми пациентами, с лицами с диагнозом “шизофрения” и с пациентами наркологических диспансеров.

От всех участников было получено добровольное информированное согласие на проведение исследований. Данное исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБНУ “МГНЦ”.

Забор крови из локтевой вены в пробирку с антикоагулянтом Li-гепарин у пациентов с острым психозом проводили в первый день госпитализации до начала терапии. Образцы крови доставляли в лабораторию в течение часа.

Выделение фрагментов циркулирующей внеклеточной ДНК из 1 мл гепаринизированной плазмы крови проводили методом фенольной экстракции. Клетки крови осаждали центрифугированием при 400 g, полученную плазму смешивали с 10%-ным лаурилсаркозилатом натрия, 0.2 М EDTA и стандартным раствором РНКазы с концентрацией 0.075 мг/мл (Sigma, США), затем инкубировали в течение 45 мин и обрабатывали стандартным раствором протеинкиназы К (0.2 мг/мл; Promega, США) в течение 24 ч при 37°C. После двух циклов отмывки с насыщенным фенольным раствором фрагменты ДНК осаждали добавлением двух объемов этанола в присутствии 2 М ацетата аммония. Затем осадок дважды отмывали добавлением 75%-ного этанола, высушивали и растворяли в воде. Для определения концентрации вкДНК применяли флуоресцирующий краситель PicoGreen (Sigma). Флуоресценцию регистрировали на приборе Perkin Elmer LS-55. Для исключения влияния возможных примесей на интенсивность флуоресценции вкДНК в комплексе с красителем показатели флуоресценции оценивали дважды: в интактном образце и после исчерпывающего гидролиза вкДНК ДНКазой I.

Относительная стандартная ошибка определения концентрации вкДНК в плазме определяется в основном процедурой выделения ДНК и составляет $12 \pm 5\%$ от измеряемой величины.

Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли стандартным методом градиентного центрифугирования.

Уровень 8-oxodG и уровень белка NRF2 в мононуклеарах периферической крови анализировали в фиксированных клетках методом проточной цитофлуориметрии с использованием соответствующих антител. Клетки фиксировали в 3.7%-ном растворе формальдегида 10 мин при 37°C, пермеабелизовали 0.1%-ным раствором Тритона X100 (Merck, Германия) в PBS (ПанЭко, Россия) с последующей отмывкой и блокированием 1%-ным раствором альбумина в PBS. Фиксированные клетки инкубировали в течение двух часов при 18°C с антителами к NRF2, меченными FITC (BS-1074R-FITC; Bioss, США), а также в течение ночи с первичными антителами к 8-oxodG (8-OHdG; SC-66036, Santa Cruz Biotechnology, США) при 4°C, затем, после отмывки PBS, в течение одного часа инкубировали с вторичными антителами при 18°C (m-IgGkBP-FITC; SC-516140, Santa Cruz Biotechnology) и анализировали на проточном цитофлуориметре PartecCyFlow® ML (Partec, Германия).

Выделение РНК из лимфоцитов проводилось с использованием набора RNAeasyPlus MiniKit (Qiagen) по протоколу производителя. Концентрацию РНК определяли с помощью красителя Quant-iT RiboGreen RNA reagent (Molecular Biology, Германия) на планшетном ридере (EnSpire equipment, Финляндия). Реакцию обратной транскрипции осуществляли с помощью реактивов фирмы “Силекс” (Россия) согласно стандартной методике. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в реальном времени проводили с использованием соответствующих праймеров (Синтол) и интеркалирующего красителя SybrGreen на приборе StepOnePlus (Applied Biosystems, США). В качестве референсного использовался ген *TBP*. Праймеры, использованные в работе: *TBP* (референсный ген) (F: 5'-GCCGAAACGCCGAATAT-3'; R: 5'-CCGTGGTTCGTGGCTCTCT-3'); *NRF2* (F: 5'-TCCAGTCAGAAACCAGTGGAT-3'; R: 5'-GAATGTCTGCGCSAAAAGCTG-3'); *HMOX1 (HO-1)* (F: 5'-TCCTGGCTCAGCCTCAAATG-3'; R: 5'-CGTTAAACACC-TCCCTCC-3'). Уровень экспрессии генов анализировали в нескольких повторах, обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения прибора и калибровочного графика с применением серии разведений разных экспериментальных образцов и сравнения эффективности. Ошибка определения (разброс значений) при использовании серийных разведений составила 1.2%. Данные, полученные с использо-

ванием программного обеспечения прибора, и результаты, полученные при сравнении концентраций на основе калибровочных кривых, совпадают. В серии опытов получена хорошая воспроизводимость результатов, ошибка составила ~2%.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Excel Microsoft Office, Statistica 6.0, StatGraph. При анализе предполагаемых различий между выборками исходили из нуль-гипотезы об отсутствии различий, которую проверяли с помощью расчета *U*-критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$. При проведении корреляционного анализа параметров антиоксидантной защиты рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 приведены результаты исследования концентрации вкДНК в образцах плазмы пациентов с острым психозом и группы здорового контроля. У пациентов с параноидной шизофренией (Группа 1) было обнаружено значимое повышение уровня вкДНК по сравнению со здоровыми добровольцами. В то же время для пациентов с острым психозом, вызванным употреблением алкоголя (Группа 2), статистически значимых межгрупповых различий выявить не удалось, хотя значение медианы концентрации вкДНК в группе было максимальным и существенно превосходило соответствующий показатель в группе здоровых добровольцев.

Степень окислительных повреждений вкДНК оценивали по уровню 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-oxodG; см. табл. 1). У пациентов обеих групп было обнаружено существенное (на два порядка) повышение уровня 8-oxodG, что свидетельствует о развитии системного оксидативного стресса.

Исследование уровня 8-oxodG в мононуклеарных клетках выявило повышение данного параметра у пациентов с шизофренией по сравнению с группой здорового контроля (рис. 1,а). Так, уровень 8-oxodG в МНК больных шизофренией составил 3.36 ± 0.59 vs 0.42 ± 0.04 отн. ед. в группе контроля ($p = 0.00014$). Повышенное содержание 8-oxodG было также обнаружено в МНК пациентов с алкоголизмом: 2.06 ± 0.82 отн. ед. Однако значимых различий с контролем, равно как и с группой больных шизофренией, обнаружено не было ($p_1 = 0.2392$ и $p_2 = 0.1885$ соответственно).

Анализ уровня экспрессии белка NRF2 в МНК участников исследования выявил существенное повышение данного показателя у больных алкоголизмом (см. рис. 1,б). Так, согласно данным проточной цитометрии средний уровень экспрессии NRF2 у этой группы пациентов составил

Таблица 1. Концентрация вкДНК и уровень 8-oxodG в составе вкДНК у пациентов с острым психозом

Показатель	Контроль	Группа 1		Группа 2		
	(n = 25)	n = 40	p1	n = 22	p1	p2
Концентрация вкДНК, нг/мл	391 47–1441	475 5–11550	0.0487	507 11–3775	0.1028	0.7401
8-oxodG в составе вкДНК в пересчете на 1 млн нуклеотидов	3.1 0.6–173.9	261.0 6.0–5995.0	<0.0001	352.6 5.0–3506.2	<0.0001	0.2305

Примечание. p1 – при сравнении с группой здорового контроля; p2 – при сравнении Группы 1 с Группой 2. Данные представлены в виде медиан, минимальное–максимальное значения. Для статистического анализа результатов использовали критерий U Манна–Уитни. Группа 1 – больные параноидной шизофренией (первый эпизод); Группа 2 – пациенты с психическими и поведенческими расстройствами, вызванными употреблением алкоголя.

3.92 ± 0.31 vs 1.72 ± 0.07 отн. ед. в группе контроля ($p = 0.0027$). В то же время у пациентов с шизофренией наблюдалось статистически значимое снижение данного параметра как по сравнению с

группой контроля, так и по сравнению с больными алкоголизмом (1.37 ± 0.10 отн. ед.; оба $p < 0.001$).

Аналогичные результаты были получены при исследовании уровня транскрипционной активности гена *NRF2* методом ПЦР в реальном времени (рис. 2,а). У пациентов с шизофренией было обнаружено приблизительно двукратное снижение транскрипционной активности гена *NRF2* (0.51 ± 0.07 vs 1.07 ± 0.03 отн. ед. в группе контроля; $p < 0.0001$). Напротив, у больных алкоголизмом было выявлено значительное (в 2.8 раза) повышение транскрипционной активности данного гена (2.86 ± 0.28 отн. ед.; оба $p < 0.001$).

При исследовании транскрипционной активности гена *HMOX1*, кодирующего гемоксигеназу HO-1, было выявлено существенное повышение данного параметра у пациентов с алкоголизмом: 2.07 ± 0.171 vs 1.00 ± 0.03 отн. ед. в группе контроля ($p = 0.0011$; см. рис. 2,б). У больных шизофренией было выявлено умеренное, но статистически значимое снижение транскрипционной активности данного гена *HMOX1* (0.75 ± 0.06 отн. ед.; оба $p < 0.01$).

В табл. 2 представлены результаты корреляционного анализа между параметрами, характеризующими состояние механизмов антиоксидантной защиты в МНК периферической крови. Как видно из приведенных данных, уровень экспрессии белка NRF2 высоко коррелировал с уровнем транскрипционной активности генов *NRF2* и *HMOX1*. В то же время ни один из перечисленных выше параметров не коррелировал с содержанием 8-oxodG в мононуклеарных клетках.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования было показано, что при психических расстройствах как экзогенного (вызванных чрезмерным употреблением алкоголя), так и эндогенного происхождения (связанных с дебютом шизофрении) развивается

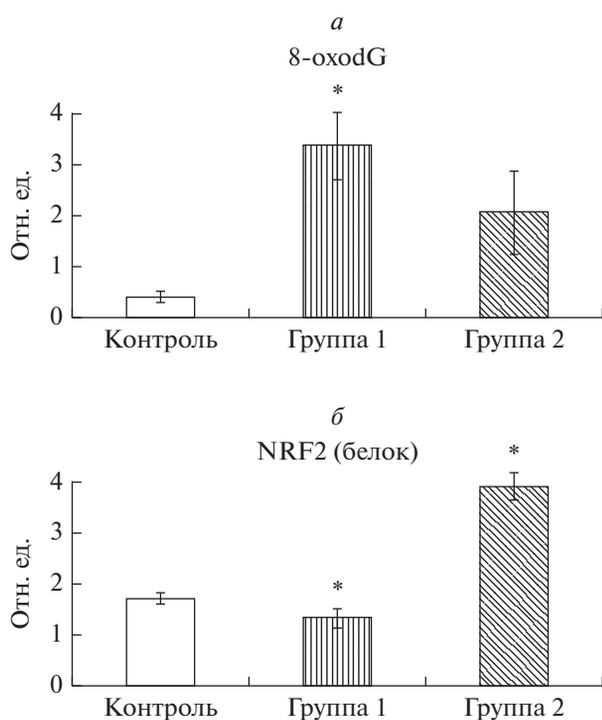


Рис. 1. Содержание 8-oxodG (а) и экспрессия белка NRF2 (б) в мононуклеарах пациентов с острым психозом по сравнению с контрольной группой здоровых доноров. Измерение обоих параметров проводили методом проточной цитофлуориметрии. Для рис. 1, 2: результаты представлены как среднее \pm ошибка среднего; статистический анализ проводили с использованием критерия U Манна–Уитни. * $p < 0.05$, по сравнению с контрольной группой. Группа 1 – больные параноидной шизофренией (первый эпизод); Группа 2 – пациенты с психическими и поведенческими расстройствами, вызванными употреблением алкоголя.

выраженный оксидативный стресс. Так, у обследованных нами пациентов Группы 1 и Группы 2 было обнаружено существенное (на два порядка) повышение уровня 8-oxodG в составе вкДНК и выраженное (в 5–8 раз) повышение содержания 8-oxodG в МНК периферической крови (см. табл. 1 и рис. 1).

Следует отметить, что развитие острого психоза сопровождалась также повышением уровня вкДНК в плазме крови. Уровень вкДНК существенно повышается при острой коронарной недостаточности, сепсисе, онкологических заболеваниях, преэклампсии [17–19]. Циркулирующая ДНК считается основным аутоантигеном при системной красной волчанке [20] и важным участником патогенеза волчаночного нефрита [21]. В настоящее время известно, что только небольшое количество вкДНК попадает в кровоток из солидных органов, таких как печень или почки, большая часть вкДНК имеет гематопоэтическое происхождение. В частности, стабильным источником низкомолекулярной фрагментированной вкДНК могут быть дифференцирующиеся эритробласты [22, 23]. Быстрый подъем уровня вкДНК в циркуляции при патологических процессах и физической нагрузке происходит в результате активации нейтрофилов, выбрасывающих в качестве “ловушек” сети ядерной и/или митохондриальной ДНК [23]. Циркулирующая ДНК может воздействовать на многие клетки организма, усиливая окислительный стресс, стимулируя синтез провоспалительных цитокинов и индуцируя стерильное воспаление [24].

На фоне системного оксидативного стресса МНК пациентов с алкоголизмом демонстрировали статистически значимое повышение экспрессии белка NRF2 и выраженный рост транскрипционной активности генов *NRF2* и *HMOX1* (см. рис. 1 и 2). Полученные результаты являются проявлением нормальной физиологической реакции: повышение уровня окислительного стресса активирует сигнальные каскады, отвечающие за антиоксидантный ответ в клетках. Транскрипционный фактор NRF2 – ключевой белок антиоксидантного ответа. NRF2 в нормальных клетках

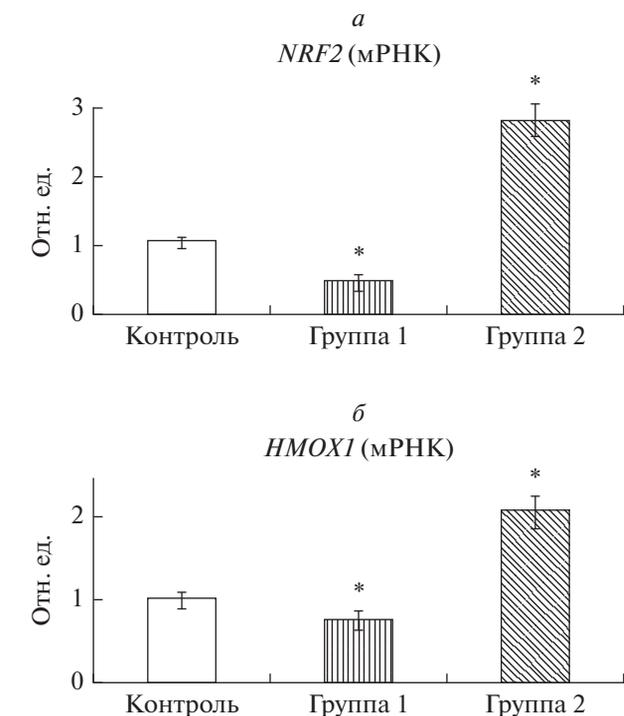


Рис. 2. Уровень экспрессии генов *NRF2* (а) и *HMOX1* (б) мононуклеарными клетками пациентов с острым психозом по сравнению с контрольной группой здоровых доноров. Количественное измерение уровня экспрессии генов проводилось методом ПЦР в реальном времени, в качестве гена внутреннего стандарта использовали ген *TBP*.

присутствует в инактивированном состоянии – в комплексе с белком цитоскелета KEAP1 и находится преимущественно в цитоплазме [25–27]. Схематично активация NRF2 в условиях оксидативного стресса показана на рис. 3.

У пациентов с клиникой первого эпизода параноидной формы шизофрении, напротив, было отмечено статистически значимое снижение экспрессии белка-регулятора антиоксидантной защиты NRF2 и угнетение транскрипционной активности генов *NRF2* и *HMOX1* по сравнению с

Таблица 2. Корреляционный анализ параметров антиоксидантной защиты в МНК периферической крови (все участники исследования; $n = 87$)

Показатель	NRF2 (белок)		<i>NRF2</i> (мРНК)		<i>HOMX1</i> (мРНК)	
	<i>R</i> *	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>R</i>	<i>p</i>
8-oxodG	0.009	0.951	0.269	0.297	-0.073	0.877
NRF2 (белок)	–		0.901	<0.001	0.755	<0.001
NRF2 (мРНК)	0.901	<0.001	–		0.880	<0.001

* Коэффициент корреляции Спирмена.

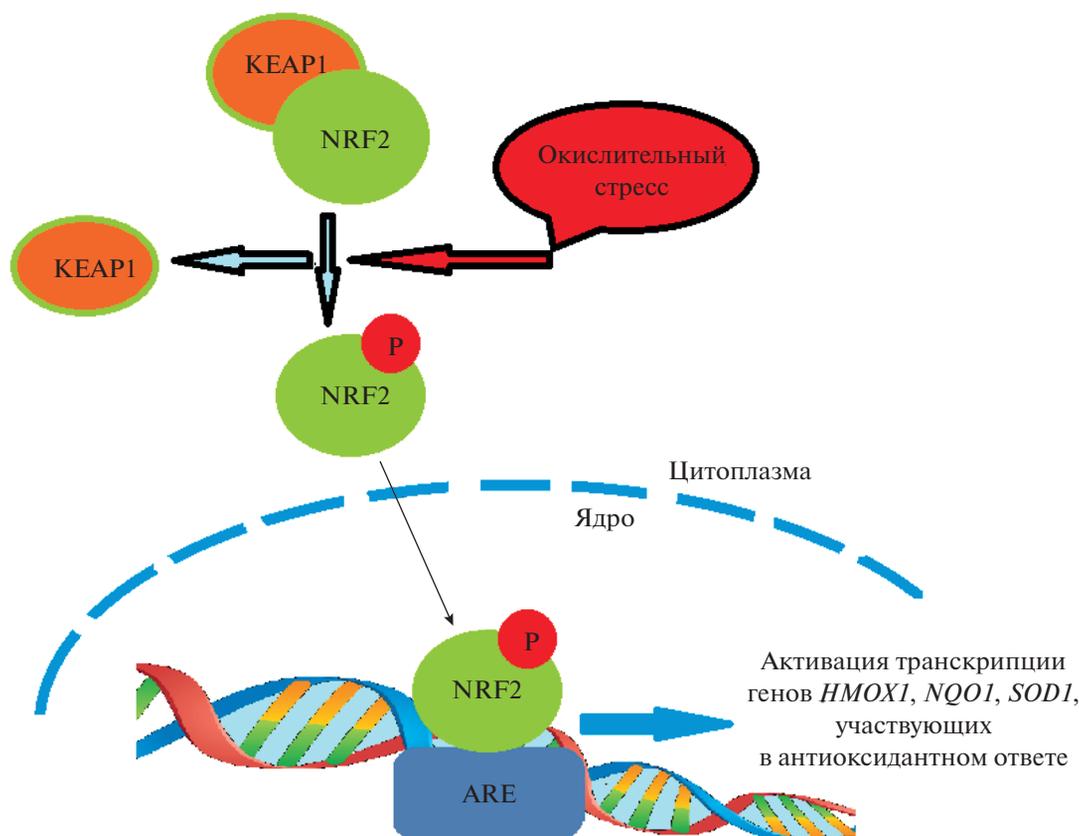


Рис. 3. Схема, показывающая активацию NRF2 при действии окислительного стресса. NRF2 в нормальных клетках присутствует в инактивированном состоянии – в комплексе с белком цитоскелета KEAP1 и находится преимущественно в цитоплазме. При модификации белка KEAP под действием активных форм кислорода NRF2 выходит из связи с KEAP и перемещается в ядро, где взаимодействует с ARE (antioxidant response elements) генов, кодирующих ферменты детоксикации и цитопротекторные белки, в том числе NADPH хиноноксидоредуктазу-1 (NQO1), гемоксигеназу-1 (HO-1).

соответствующими параметрами МНК здорового контроля и больных алкоголизмом. Таким образом, в МНК периферической крови пациентов с параноидной шизофренией в условиях оксидативного стресса, связанного с развитием острого психоза, происходит угнетение транскрипционной активности гена *NRF2* и снижение уровня экспрессии одноименного белка-регулятора антиоксидантной защиты. Полученные данные важны как для понимания этиопатогенеза психических расстройств, так и для выбора препаратов при терапии острых психозов разного происхождения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 17-29-06017офи_м, и в рамках государственного задания Минобрнауки России.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национально-го комитета по исследовательской этике и Хель-

синской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики.

От каждого из включенных в исследование участников было получено информированное добровольное согласие.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Patel S., Sharma D., Kalia K., Tiwari V. Crosstalk between endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in schizophrenia: The dawn of new therapeutic approaches // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017. V. 83. P. 589–603. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.08.025>
2. Zhang L., Jin Y.P. Toxic effects of combined treatment of 1,2-dichloroethane and ethanol on mouse brain and the related mechanisms // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2019. Jan 21:e22294. <https://doi.org/10.1002/jbt.22294>

3. *Fraguas D., Díaz-Caneja C.M., Ayora M. et al.* Oxidative stress and inflammation in first-episode psychosis: a systematic review and meta-analysis // *Schizophr. Bull.* 2018. <https://doi.org/10.1093/schbul/sby125>
4. *Kahn R.S., Sommer I.E.* The neurobiology and treatment of first-episode schizophrenia // *Mol. Psychiatry.* 2015. V. 20. P. 84–97. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.66>
5. *Leza J.C., Garcia-Bueno B., Bioque M. et al.* Inflammation in schizophrenia: a question of balance // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2015. V. 55. P. 612–626. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.05.014>
6. *Meyer U., Schwarz M.J., Muller N.* Inflammatory processes in schizophrenia: a promising neuroimmunological target for the treatment of negative/cognitive symptoms and beyond // *Pharmacol. Ther.* 2011. V. 132. P. 96–110. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.06.003>
7. *Flatow J., Buckley P., Miller B.J.* Meta-analysis of oxidative stress in schizophrenia // *Biol. Psychiatry.* 2013. V. 74. P. 400–409. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.03.018>
8. *Miller B.J., Buckley P., Seabolt W. et al.* Meta-analysis of cytokine alterations in schizophrenia: clinical status and antipsychotic effects // *Biol. Psychiatry.* 2011. V. 70. P. 663–671. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.04.013>
9. *Goldsmith D.R., Rapaport M.H., Miller B.J.* A meta-analysis of blood cytokine network alterations in psychiatric patients: comparisons between schizophrenia, bipolar disorder and depression // *Mol. Psychiatry.* 2016. V. 21. P. 1696–1709. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.3>
10. *Capuzzi E., Bartoli F., Crocarno C. et al.* Acute variations of cytokine levels after antipsychotic treatment in drug-naïve subjects with a first-episode psychosis: a meta-analysis // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017. V. 77. P. 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.03.003>
11. *Rodriguez G.P., Song J.B., Crouse G.F.* In vivo bypass of 8-oxodG // *PLoS Genet.* 2013. V. 9(8). e1003682. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003682>
12. *Ermakov A.V., Konkova M.S., Kostyuk S.V. et al.* Oxidized extracellular DNA as a stress signal in human cells // *Oxid. Med. Cell Longev.* 2013. V. 2013. P. 649–747. <https://doi.org/10.1155/2013/649747>
13. *Loseva P., Kostyuk S., Malinovskaya E. et al.* Extracellular DNA oxidation stimulates activation of NRF2 and reduces the production of ROS in human mesenchymal stem cells // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2012. V. 12 (Suppl. 1). P. 85–97. <https://doi.org/10.1517/14712598.2012.688948>
14. *Ahmed S.M., Luo L., Namani A. et al.* Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation // *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 2017. V. 1863(2). P. 585–597. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.11.005>
15. *Kensler T.W., Wakabayashi N.* Nrf2: friend or foe for chemoprevention? // *Carcinogenesis.* 2010. V. 31. P. 90–99. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp231>
16. *Li Y., Zhu Z., Zhang T., Zhou Y.* Ligustrazine attenuates inflammation and oxidative stress in a rat model of arthritis via the Sirt1/NF-κB and Nrf-2/HO-1 pathways // *Arch. Pharm. Res.* 2018. <https://doi.org/10.1007/s12272-018-1089-0>
17. *Tong Y.K., Lo Y.M.* Diagnostic developments involving cell-free (circulating) nucleic acids // *Clin. Chim. Acta.* 2006. V. 363. P. 187–196.
18. *Tsang J.C., Lo Y.M.* Circulating nucleic acids in plasma/serum // *Pathology.* 2007. V. 39. P. 197–207.
19. *Peters D.L., Pretorius P.J.* Origin, translocation and destination of extracellular occurring DNA – A new paradigm in genetic behavior // *Clin. Chim. Acta.* 2011. V. 412. P. 806–819. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.01.026>
20. *Decker P., Singh-Jasuja H., Haager S. et al.* Nucleosome, the main autoantigen in systemic lupus erythematosus, induces direct dendritic cell activation via a MyD88-independent pathway: consequences on inflammation // *J. Immunol.* 2005. V. 174. P. 3326–3334.
21. *Fenton K.A., Rekvig O.P.* A central role of nucleosomes in lupus nephritis // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2007. V. 1108. P. 104–113.
22. *Lui Y.Y., Chik K.W., Chiu R.W. et al.* Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation // *Clin. Chem.* 2002. V. 48. P. 421–427.
23. *Hahn S., Giaglis S., Buser A. et al.* Laboratory cell-free nucleic acids in (maternal) blood: any relevance to (reproductive) immunologists? // *J. Reprod. Immunol.* 2014. V. 104–105. P. 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2014.03.007>
24. *Nadeau-Vallée M., Obari D., Palacios J. et al.* Sterile inflammation and pregnancy complications: a review // *Reproduction.* 2016. V. 152. P. R277–R292.
25. *Bryan H.K., Olayanju A., Goldring C.E., Park B.K.* The Nrf2 cell defence pathway: Keap1-dependent and -independent mechanisms of regulation // *Biochem. Pharmacol.* 2013. V. 85. P. 705–717. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.11.016>
26. *Zhang Y., Xiang Y.* Molecular and cellular basis for the unique functioning of Nrf1, an indispensable transcription factor for maintaining cell homeostasis and organ integrity // *Biochem. J.* 2016. V. 473. P. 961–1000. <https://doi.org/10.1042/BJ20151182>
27. *O'Connell M.A., Hayes J.D.* The Keap1/Nrf2 pathway in health and disease: from the bench to the clinic // *Biochem. Soc. Trans.* 2015. V. 43. P. 687–689. <https://doi.org/10.1042/BST20150069>

***NRF2* and *HMOX1* Gene Expression Against the Background of Systemic Oxidative Stress in Patients with Acute Psychosis**

G. V. Shmarina^{a, c, e, *}, M. D. Orlova^a, E. S. Ershova^{a, e}, E. M. Jestkova^b, A. V. Martynov^a, N. N. Veiko^a, M. S. Konkova^a, O. A. Dolgikh^a, A. D. Filev^{a, d}, and S. V. Kostyuk^{a, e}

^a*Bochkov Research Centre for Medical Genetics, Moscow, 115478 Russia*

^b*Gannushkin Psychiatric Hospital № 4, Moscow, 107076 Russia*

^c*Gabrichesky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, 125212 Russia*

^d*Negovsky Research Institute of General Reanimatology of Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, Moscow, 107031 Russia*

^e*Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: sakmarariver@yahoo.com*

This study's aim was to evaluate *NRF2* and *HMOX1* gene expression against the background of systemic oxidative stress in patients with acute psychosis. The study included 40 patients with the newly developed paranoid schizophrenia, 22 subjects with new-onset acute psychosis associated with excessive alcohol consumption, and 25 healthy volunteers. The signs of systemic oxidative stress were assessed by 8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG) contents in peripheral blood lymphocytes (PBL) and in cell-free (cf)DNA samples obtained from plasma specimens of the patients and healthy controls. The patients of both groups demonstrated a significant (a hundredfold) increase in 8-oxodG content in cfDNA samples and a marked (5–8 fold) elevation of 8-oxodG concentrations in PBL. Against the background of systemic oxidative stress there was a statistically significant increase in *NRF2* protein expression as well as marked elevation of *NRF2* and *HMOX1* gene transcriptional activity in PBL obtained from alcoholic patients. In contrast, the subjects with newly developed paranoid schizophrenia demonstrated decrease in expression of *NRF2*, the master-regulator of antioxidant defenses, as well as reduction of *NRF2* and *HMOX1* gene transcriptional activity compared to both healthy controls and alcoholic patients. In conclusion, against the background of systemic oxidative stress associated acute psychosis development, PBL of patients with paranoid schizophrenia was characterized with reduced *NRF2* gene transcriptional activity and decrease *NRF2* protein expression.

Keywords: oxidative stress, *NRF2*, *HMOX1*, KEAP1, cell-free DNA, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine, schizophrenia, alcoholism.