

## ЗНАЧИМОСТЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ БЕЛКОВ И ДНК В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА В ОЦЕНКЕ ТЯЖЕСТИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

© 2021 г. Т. Н. Федорова<sup>1</sup>, \*, А. А. Логвиненко<sup>1</sup>, Д. С. Бережной<sup>1</sup>, В. В. Полещук<sup>1</sup>,  
О. А. Музычук<sup>1</sup>, А. А. Шабалина<sup>1</sup>, С. Н. Иллариошкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Научный центр неврологии”, Москва, Россия

Поступила в редакцию 31.07.2020 г.

После доработки 16.12.2020 г.

Принята к публикации 23.01.2021 г.

Окислительный стресс (ОС) играет важную роль в каскаде событий, приводящих к дегенерации дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона (БП). Определенный вклад в этот процесс вносят окислительные повреждения белков и нуклеиновых кислот. Активные формы кислорода и азота подвергают нитрованию белки с образованием стабильного соединения 3-нитротирозина (3-НТ), характеризующего развитие нитрозильного стресса, а также нуклеиновые кислоты с образованием продукта окисления ДНК 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG). Продукты окисления белков и ДНК регистрируются в биологических жидкостях пациентов с БП, однако данные об их количественном содержании в зависимости от тяжести заболевания, являются противоречивыми. Целью данной работы явилось сопоставление уровня продуктов окислительного повреждения белков и ДНК в крови пациентов с тяжестью заболевания и оценка их диагностического значения. В периферической крови 134 пациентов с БП, находящихся на 1-4 стадиях заболевания по функциональной шкале Hoehn-Yahr, было измерено содержание 3-нитротирозина (3-НТ) и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG). Повышение уровня 3-НТ в плазме крови отмечается у всех обследованных пациентов. При этом у пациентов, находящихся на 2-й, 3-й и 4-й стадиях заболевания повышение уровня 3-НТ относительно контроля составило в среднем 58%, а у пациентов, находящихся на 1-й стадии заболевания (с впервые установленным диагнозом и не получавших лечения) — на 30%, что статистически значимо отличается от данных, полученных у пациентов на более поздних этапах заболевания. Следовательно, повышение продукта окислительного метаболизма белков 3-НТ в плазме крови пациентов с БП является весьма ранним и достаточно универсальным биомаркером БП, степень выраженности которого нарастает по мере прогрессирования нейродегенеративного процесса. Повышение уровня 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина относительно нормы регистрируется в сыворотке крови у всех обследованных пациентов. При этом у пациентов, находящихся на 1-й, 2-й и 3-й стадиях заболевания это повышение было в среднем на 60%, а у наиболее тяжелых пациентов, находящихся на 4-й стадии заболевания, содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина было повышено относительно нормы уже на 183%, что в три раза превышало соответствующие значения в других подгруппах больных. Таким образом, в данном исследовании обнаружено системное увеличение содержания как 3-нитротирозина, так и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в крови пациентов. При этом особую значимость представляют данные о повышении продуктов окисления белков и ДНК у пациентов с впервые поставленным диагнозом, находящихся на первой стадии заболевания и не получавших ранее патогенетической терапии, что может быть важным фактором в ранней диагностике заболевания. Идентификация биомаркеров окислительного повреждения белков и нуклеиновых кислот на ранних стадиях БП является важным шагом в направлении улучшения существующих диагностических критериев, а также выявления лиц, подверженных риску заболевания. Значительное повышение содержания 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в сыворотке крови пациентов, находящихся на 4-й стадии заболевания, свидетельствует о связи данного показателя с тяжестью заболевания и может представить дополнительную ценность с точки зрения объективной оценки прогрессирования заболевания. В целом, понимание патогенетических факторов, ответственных за гибель дофаминергических нейронов, включающих окислительные повреждения липидов, белков и нуклеиновых кислот может иметь большое значение для разработки комплексных нейропротекторных подходов к лечению БП и оценке эффективности проводимого лечения.

*Ключевые слова:* болезнь Паркинсона, периферическая кровь, окислительные повреждения, белки, ДНК, 3-нитротирозин, 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин, стадия заболевания

DOI: 10.31857/S1027813321020059

Болезнь Паркинсона (БП) является распространенным нейродегенеративным заболеванием, характеризующимся прогрессирующей дегенераци-

ей дофаминергических нейронов в области компактной части черной субстанции (ЧС) и наличием внутринейрональных включений, состоящих из не-

\* Адресат для корреспонденции: 125367 Россия, Москва, Волоколамское ш., д. 80; тел. (495) 490-24-09; e-mail: tnf51@bk.ru.

правильно свернутых и агрегированных форм пресинаптического белка  $\alpha$ -синуклеина [1, 2].

Решающую роль в каскаде событий, приводящих к дегенерации дофаминергических нейронов, играет окислительный стресс (ОС), возникающий в условиях нарушения окислительно-восстановительного баланса, необходимого для нормального функционирования клетки. [3–7]. Гибель нейронов в области ЧС обусловлена не только развитием ОС, определенный вклад в этот процесс вносят окислительные повреждения белков и нуклеиновых кислот [2]. Уязвимость мозга к активным формам кислорода (АФК) и азота в этой области обусловлена наличием нейронов, чувствительных к окислительным повреждениям [8] за счет особенностей метаболизма, низкой активности антиоксидантных (АО) ферментов и более высокого уровня белков, ДНК и окисленных липидов [9].

АФК, преимущественно  $O_2^{\cdot-}$ , генерируемые в условиях ОС, реагируют с оксидом азота (NO) с образованием пероксинитрита ( $OONO^{\cdot-}$ ), одного из наиболее разрушительных реактивных радикалов [10]. Предполагается, что изменения метаболизма дофамина при БП могут быть результатом пероксинитрит-опосредованной инактивации фермента тирозин-гидроксилазы, участвующего в синтезе дофамина [11].

Поскольку  $ONOO^{\cdot-}$  является нестабильным промежуточным соединением, он атакует наиболее уязвимую аминокислоту тирозин (Тир), в основном в составе белков, образующих нейрональный цитоскелет, а также  $\alpha$ -синуклеина [12, 13], что обуславливает нарушение их структуры и функции [14]. Прогрессирующее нитрование белков приводит к образованию стабильного соединения 3-нитротирозина (3-НТ), характеризующего развитие нитрозильного стресса [15, 16].

Было обнаружено, что уровень 3-НТ увеличивается в мозге пациентов с БП [17]. По данным Eve et al. [18] повышение 3-НТ коррелирует с гиперэкспрессией нейрональной pNOS в мозге (преимущественно в базальных ганглиях) пациентов с БП [19]. Посттрансляционная модификация  $\alpha$ -синуклеина 3-НТ значительно изменяет его биохимические, биофизические и клеточные свойства, приводит к олигомеризации и влияет на клиренс агрегатов  $\alpha$ -синуклеина [20], и этот процесс вовлечен в возникновение и прогрессирование нейродегенеративных заболеваний [21–24]. Протеомное исследование показало, что нитрование N-концевого остатка Тир-39, присутствующего в белке  $\alpha$ -синуклеина, избирательно увеличивалось в 7 раз [20].

Активные формы кислорода ( $OH^{\cdot}$  радикал) и азота также могут подвергаться повреждению нуклеиновые кислоты с образованием продукта окисления ДНК 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG) [25–28]. В исследованиях post mortem

показано увеличение содержания 8-ОН-dG не только в структурах ЧС, но и в других областях мозга пациентов с БП [29–31].

Учитывая, что ключевой этиологический фактор БП до сих пор не установлен, а его развитие связывают с биохимическими нарушениями как в ЦНС, так и на периферии [3, 6], отдельный интерес представляют маркеры системных окислительных повреждений. Наличие 3-НТ и 8-ОН-dG регистрируются не только в ткани мозга, но и в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), крови и моче пациентов с БП [32, 33]. Однако данные литературы, характеризующие показатели окисляемости белков и ДНК, измеряемые в биологических жидкостях пациентов с БП, являются противоречивыми. В ряде исследований показано, что повышение содержания 3-НТ в сыворотке крови пациентов с БП отмечается только у больных, находящихся на ранних стадиях заболевания (1 и 2), в то время как у пациентов на более поздних стадиях (3 и 4) содержание 3-НТ было сопоставимо с контролем [34, 35]. В другом исследовании авторы регистрировали повышенный уровень 3-НТ в плазме крови без учета стадии заболевания в общей популяции пациентов [36].

Значительное повышение 8-ОН-dG выявлено в моче пациентов с БП относительно группы контроля [37, 39, 36]. Мета-анализ, проведенный Zexu Wei [7], также показал, что содержание в крови больных 8-ОН-dG и нитрита было повышено относительно контрольной группы; однако в ЦСЖ повышения уровня 8-ОН-dG выявлено не было, что по предположению авторов связано с небольшим размером выборки.

В работе Chiung-Mei Chen et al. [40] повышение уровня 8-ОН-dG, коррелирующее со стадией заболевания, регистрировали в лейкоцитах крови пациентов с БП. Однако в другом исследовании уровень 8-ОН-dG в крови был увеличен относительно контроля, стадия заболевания при этом не учитывалась [38]. В работе Kikuchi A. [41] окисляемость нуклеиновых кислот в сыворотке крови характеризовалась только повышением соотношения продуктов окисления ДНК/РНК (8-ОНdG/8-ОНG). Представленные данные литературы свидетельствуют о том, что оценка содержания продуктов окислительного повреждения белков и нуклеиновых кислот в крови пациентов как биомаркеров, коррелирующих с тяжестью заболевания, остается актуальным вопросом.

Исходя из вышеизложенного, целью данной работы явилось сопоставление уровня продуктов окислительного повреждения белков и ДНК в крови пациентов с БП с тяжестью заболевания по неврологической шкале, и оценка их диагностического значения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего в исследовании приняли участие 134 пациента с БП. Оценка степени тяжести БП проводилась по функциональной шкале Hoehn M., Yahr M., в соответствии с которой выделяли 4 стадии заболевания: 1 – гемипаркинсонизм, 2 – умеренные симптомы двустороннего паркинсонизма, 3 – присоединение постуральной неустойчивости, 4 – выраженная постуральная неустойчивость. В соответствии с данной шкалой среди пациентов было выделено 25 человек с 1-й стадией заболевания, 38 – со 2-й, 51 – с 3-й и 20 – с 4-й стадией заболевания. Следует отдельно подчеркнуть, что в группу с 1-й стадией заболевания вошли пациенты с впервые установленным диагнозом, не получавшие ранее противопаркинсонической терапии. Все пациенты на более тяжелых стадиях получали стандартное противопаркинсоническое лечение – препараты с действующим веществом Леводопа + Бенсеразид. Среди пациентов мужчин было 61 и женщин – 73, возраст больных составил от 31 до 78 лет, средний возраст –  $58.03 \pm 0.88$  лет. Все пациенты находились на стационарном или амбулаторном обследовании и лечении в отделении нейродегенеративных и наследственных заболеваний нервной системы и в научно-консультативном отделении ФГБНУ НЦН. Диагноз БП установлен на основании признаков для критериев Банка головного мозга Великобритании/QSBB. Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц, соответствующих основной группе по полу и возрасту.

Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина определяли в сыворотке крови 71 пациента иммуноферментным методом с использованием стандартного набора реагентов Human 8-Hydroxydeoxyguanosine ELISA Kit (CSB-E10140h) фирмы Cusabio. Определение 8-ОН-dG данным набором ИФА основано на методе конкурентного связывания тестируемого соединения.

Содержание 3-нитротирозина определяли в плазме крови 63 пациентов иммуноферментным методом с использованием стандартного набора реагентов Nitrotyrosine ELISA TEST KIT (HK501) фирмы Hycultbiotech, в основе которого лежит “сэндвич” метод твердофазного ИФА.

Кровь у пациентов брали утром натощак при помощи вакуумной системы для забора крови в пробирки с антикоагулянтом ЭДТА, рекомендованным производителем набора для определения 3-НТ, и в пробирки для последующего получения сыворотки для определения 8-ОН-dG. После центрифугирования при 3000 об./мин в течение 10 мин образцы плазмы переносили в пробирки Eppendorf и помещали в морозильную камеру при  $-80^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа.

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием пакета программ Statistica 7.0. Проверка на нормальность

распределения осуществлялась при помощи критерия Колмогорова–Смирнова. Дальнейший анализ осуществляли с помощью непараметрических критериев: дисперсионный анализ – тест Краскела–Уоллиса, оценка достоверности межгрупповых различий – тест Данна. Все данные в статье представлены в виде среднего и ошибки среднего.

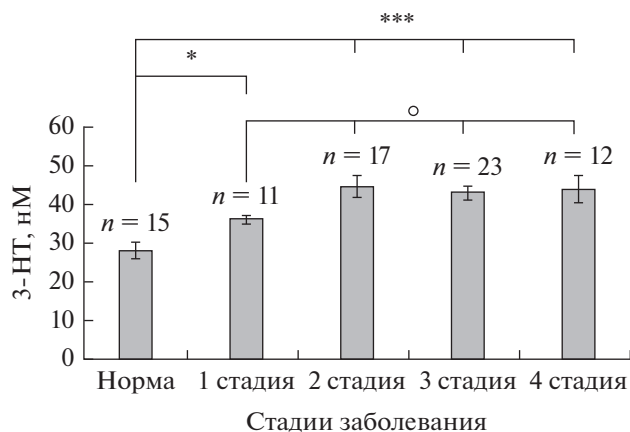
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Уровень 3-нитротирозина в плазме крови у пациентов, находящихся на 2-й ( $44.6 \pm 2.6$  нМ), 3-й ( $43.1 \pm 1.9$  нМ) и 4-й ( $44.2 \pm 3.6$  нМ) стадиях заболевания, был статистически значимо повышен относительно нормы ( $27.8 \pm 2.2$  нМ), соответственно, на 60.4%, 55%, 61%, что в среднем по всем группам составило 58% (рис. 1). У пациентов на 1-й стадии заболевания, т.е. у больных с впервые установленным диагнозом и не получавших лечения, уровень 3-нитротирозина ( $36.1 \pm 1.1$  нМ) был также статистически значимо повышен относительно нормы – на 30%, что, однако, оказалось существенно ( $p < 0.05$ ) ниже, чем в остальных сопоставляемых группах пациентов с более развернутыми стадиями БП (рис. 1).

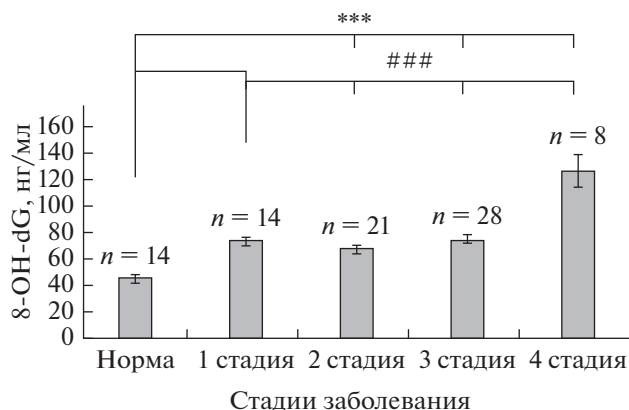
Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в сыворотке крови у пациентов, находящихся на 1-й ( $73.7 \pm 2.8$  нг/мл), 2-й ( $66.8 \pm 3.07$  нг/мл) и 3-й ( $74.7 \pm 2.3$  нг/мл) стадиях заболевания, было статистически значимо повышено относительно нормы ( $44.7 \pm 2.6$  нг/мл), соответственно, на 64.9%, 49.4% и 66.9% (рис. 2). Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина у больных, находящихся на 4-й стадии заболевания, было также статистически значимо повышено ( $126.6 \pm 12.9$  нг/мл) относительно нормы – на 183%, но при этом уровень этого повышения был значимо больше (на 72%, 89% и 70%) относительно пациентов, находящихся на 1-й, 2-й и 3-й стадиях, соответственно (рис. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время ОС рассматривается как основной патогенетический механизм гибели нейронов при БП. Вместе с тем, окислительные повреждения затрагивают не только липидные компоненты клеточных мембран, но и белки и нуклеиновые кислоты. По данным литературы, стабильным маркером окислительного повреждения белков является 3-нитротирозин [15, 16]. Устойчивое нарушение окислительного баланса нуклеиновых кислот характеризует продукт окисления ДНК – 8-гидрокси-2-дезоксигуанозин [27, 28]. Окислительные повреждения липидов и ДНК могут приводить к прогрессирующему повреждению нейронов при БП. Так генерация 3-нитротирозина в белках  $\alpha$ -синуклеина является одним из патологических факторов, вызывающих



**Рис. 1.** Содержание 3-нитротирозина (3-НТ, нМ) в плазме крови пациентов с 1-й, 2-й, 3-й и 4-й стадиями БП. \*\*\*  $p < 0.001$ , \*  $p < 0.05$ : достоверность различий по сравнению с группой нормы, ○  $p < 0.05$ : достоверность различий по сравнению с 1-й стадией.



**Рис. 2.** Содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (8-ОН-dG, нг/мл) в сыворотке крови пациентов с 1-й, 2-й, 3-й и 4-й стадиями БП. \*\*\*  $p < 0.001$ : достоверность различий по сравнению с группой нормы; ###  $p < 0.001$ : достоверность различий по сравнению с 4-й стадией.

гибель дофаминергических нейронов по пути апоптоза при БП [24, 42, 43]. При этом нарушение окислительного гомеостаза, приводящее повреждению белков и ДНК, может затрагивать не только нервную ткань, но и носить системный характер [44]. Согласно “прионной гипотезе” БП, начальные стадии заболевания связаны с возникновением агрегатов α-синуклеина и повреждениями как раз на периферии – в кишечнике и периферической нервной системе [44]. В связи с этим, изменение маркеров ОС в крови может отображать патогенетические каскады, как первичные, так и вторичные по отношению к патологии в мозге.

Данные литературы, отражающие количественное содержание как 3-нитротирозина, так и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в крови пациентов с БП, являются противоречивыми. В связи с этим в нашей работе мы оценили изменение содержания продуктов окислительного повреждения белков и ДНК крови пациентов с БП в зависимости от тяжести заболевания.

В полученных нами результатах повышение уровня 3-НТ в плазме крови относительно нормы отмечается у всех обследованных пациентов, находящихся на 1-й, 2-й, 3-й и 4-й стадиях заболевания. Следует добавить, что у пациентов на 2-й, 3-й и 4-й стадиях заболевания повышение 3-НТ было выше в среднем на 58%, в то время как у пациентов, находящихся на 1-й стадии заболевания (с впервые установленным диагнозом и не получавших лечения) – лишь на 30%, что статистически значимо отличается от данных, полученных у пациентов на более далеко зашедших этапах заболевания. Следовательно, повышение уровня 3-НТ в плазме крови пациентов является весьма ранним и достаточно универсальным биомаркером БП,

степень выраженности которого нарастает по мере прогрессирования нейродегенеративного процесса. Наши данные частично согласуются с работой Bolner R. et al. [36], в которой повышенный уровень 3-НТ в плазме крови зарегистрирован в общей выборке пациентов с БП без учета стадии заболевания. В других исследованиях [12, 35] повышение содержания 3-НТ в сыворотке крови пациентов с БП авторы связывают только с ранними стадиями заболевания (1 и 2), в то время как у пациентов, находящихся на более поздних стадиях (3 и 4), содержание 3-НТ было сопоставимо с контролем. По нашим же данным, процесс окислительного повреждения белков сопутствует всем стадиям заболевания и усиливается параллельно с развитием патологии в мозге.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что повышенный относительно нормы уровень 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина регистрируется в сыворотке крови у всех обследованных пациентов. При этом у пациентов, находящихся на 1-й, 2-й и 3-й стадиях заболевания это повышение составляло в среднем 60%, а у пациентов на 4-й стадии заболевания содержание 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина было повышено относительно нормы уже на 183%, что в три раза превышало соответствующие значения в других подгруппах больных. Следовательно, процесс окислительного повреждения ДНК был значительно более выражен у пациентов с наиболее тяжелой стадией заболевания. Наши данные согласуются с работой Zexu Wei [7], в которой показано повышение содержания 8-ОН-dG в крови при БП, однако это исследование было проведено в общей популяции больных без учета стадии заболевания. В работе Chen et al. [40] повышение уровня 8-ОН-dG в лейкоцитах крови пациентов с БП коррелиро-

вало со стадией заболевания, что совпадает с нашими данными по сыворотке крови. Сопоставление этих данных позволяет предполагать наличие системных окислительных повреждений ДНК при развитии БП.

Таким образом, результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что окислительные повреждения белков и нуклеиновых кислот в крови пациентов с БП проявляются на всех стадиях заболевания, начиная с 1-й. Эти результаты существенно дополняют данные о постепенном снижении активности антиоксидантной системы при БП, полученные нами ранее [45], и свидетельствуют в пользу самостоятельной роли системных повреждений в патогенезе данного заболевания. В этом исследовании мы обнаружили системное увеличение содержания как 3-нитротирозина, так и 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в крови пациентов. Отдельный интерес представляют данные о наличии продуктов окисления белков и ДНК в крови пациентов с впервые поставленным диагнозом на 1-й стадии заболевания, не получавших ранее патогенетической терапии, поскольку они показывают значение этих параметров в ранней диагностике заболевания. Идентификация биомаркеров окислительного повреждения белков и нуклеиновых кислот на ранних стадиях БП является важным шагом в направлении улучшения существующих диагностических критериев, а также выявления лиц, подверженных риску заболевания. Значительное повышение содержания 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в сыворотке крови пациентов, находящихся на 4-й стадии, свидетельствует о связи данного показателя с тяжестью заболевания и может представить дополнительную ценность с точки зрения прогноза его развития.

В целом, понимание патогенетических факторов, ответственных как за развитие нейродегенерации, так и системных повреждений при БП, включая окислительные повреждения липидов, белков и нуклеиновых кислот, имеет большое значение для разработки комплексных протекторных подходов к лечению БП и оценки эффективности проводимого лечения.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено в рамках гос. задания Научного центра неврологии, номер темы АААА-А19-119111290050-6.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

*Этическое одобрение.* Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального комитета по

исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям.

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

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Spillantini M.G., Crowther R.A., Jakes R., Hasegawa M., Goedert M.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95(11). P. 6469–6473.
2. *Olanow C.W.* // Mov. Disord. 2015. V. 30(1). P. 37–44.
3. *Lin M.T., Beal M.F.* // Nature. 2006. V. 443. P. 787.
4. *Blesa J., Trigo-Damas I., Quiroga-Varela A., Jackson-Lewis V.R.* // Front. Neuroanat. 2015. V. 9. P. 91.
5. *Kim G.H., Kim J.E., Rhie S.J., Yoon S.* // Exp. Neurobiol. 2015. V. 24. P. 325–340.
6. *Palocz J., Varga Z.V., Hasko G., Pacher P.* // Antioxid. Redox Signal. 2018. V. 29. P. 75–108.
7. *Wei Z., Li X., Li X., Liu Q., Cheng Y.* // Front. Mol. Neurosci. 2018. V. 11. P. 236.
8. *Niedzielska E., Smaga I., Gawlik M., Moniczewski A., Stankowicz P., Pera J., Filip M.* // Mol. Neurobiol. 2016. V. 53. P. 4094–4125.
9. *Jami M.-S., Salehi-Najafabadi Z., Ahmadinejad F., Hoedt E., Chaleshtori M.H., Ghatrehsamani M., Neubert T.A., Larsen J.P., Møller S.G.* // Neurochem. International. 2015. V. 90. P. 134–141.
10. *Fernández E., García-Moreno J.-M., Martín de Pablos A., Chacón J.* // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 19. P. 912–918.
11. *Ara J., Przedborski S., Naini A. B., Jackson-Lewis V., Trifiletti R.R., Horwitz J., Ischiropoulos H.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 7659–7663.
12. *Fernandez E., Garcia-Moreno J.M., Martin De Pablos A., Chacon J.* // Antioxid. Redox Signal. 2014. V. 21(15). P. 2143–2148.
13. *Sengupta S., Bhattacharjee A.* // J. Proteomics Genomics. 2016. V. 1. P. 105.
14. *Zhan X., Wang X., Desiderio D.M.* // Mass Spectrometry Reviews. 2015. V. 34. P. 423–448.
15. *Seeley K.W., Fertig A.R., Dufresne C.P., Pinho J.P.* // Int. J. Mol. Sci. 2014. V. 15. P. 6265–6285.
16. *Cruz D.F., Fardilha M.* // Porto Biomed. J. 2016. V. 1. P. 129–135.
17. *Danielson S.R., Andersen J.K.* // Free Radic. Biol. Med. 2008. V. 44(10). P. 1787–1794.
18. *Eve D.J., Nisbet A.P., Kingsbury A.E., Hewson E.L., Daniel S.E., Lees A.J., Marsden C.D., Foster O.J.* // Brain Res. Mol. Brain Res. 1998. V. 63. P. 62–71.
19. *Gatto E.M., Riobó N.A., Carreras M.C., Cheriñavsky A., Rubio A., Satz M.L., Poderoso J.J.* // Nitric Oxide: Biology and Chemistry. 2000. V. 4(5). P. 534–539.
20. *Gonos E.S., Kapetanou M., Sereikaite J., Bartosz G., Naparko K., Grzesik M., Sadowska-Bartosz I.* // Aging (Albany NY). 2018. V. 10(5). P. 868–901.
21. *McCormack A.L., Mak S.K., Di Monte D.A.* // Cell. Death Dis. 2012. V. 3. P. 315.
22. *Duda J.E., Giasson B.I., Chen Q., Gur T.L., Hurtig H.I., Stern M.B., Gollomp S.M., Ischiropoulos H., Lee V.M.,*

- Trojanowski J.Q.* // American J. Pathology. 2000. V. 157(5). P. 1439–1445.
23. *Reynolds M.R., Berry R.W., Binder L.I.* // Biochemistry. 2007. V. 46(25). P. 7325–7336.
24. *Burai R., Ait-Bouziad N., Chiki A., Lashuel H.A.* // J. Am. Chem. Soc. 2015. V. 137(15). P. 5041–5052.
25. *Yermilov V., Rubio J., Ohshima H.* // FEBS Lett. 1995. V. 376. P. 207–210.
26. *Dizdaroglu M., Jaruga P., Birincioğlu M., Rodriguez H.* // Free Radic. Biol. Med. 2002. V. 32. P. 1102–1115.
27. *Collins A.R., Cadet J., Möller L., Poulsen E.H., Viña J.* // Arch. Biochem. Biophys. 2004. V. 423. P. 57–65.
28. *Surendran S., Rajasankar S.* // Neurol. Sci. 2010. V. 31. P. 531–540.
29. *Sanchez-Ramos J.R., Overvik E., Ames B.N.* // Neurodegeneration. 1994. V. 3. P. 197–204.
30. *Alam Z.I., Jenner A., Daniel S.E., Lees A.J., Cairns N., Marsden C.D., Jenner P., Halliwell B.* // J. Neurochem. 1997. V. 69. P. 1196–1203.
31. *Nakabeppu Y., Tsuchimoto D., Yamaguchi H., Sakumi K.* // J. Neurosci. Res. 2007. V. 85. P. 919–934.
32. *Zhang J., Perry G., Smith M.A., Robertson D., Olson S.J., Graham D.G., Montine T.J.* // Am. J. Pathol. 1999. V. 154(5). P. 1423–1429.
33. *Abe T., Isobe C., Murata T., Sato C., Tohgi H.* // Neurosci. Lett. 2003. V. 336(2). P. 105–108.
34. *Fernandez E., Garcia-Moreno J.M., Martin de Pablos A., Chacon J.* // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 19. P. 912–918.
35. *Garcia-Moreno J.M., Martin de Pablos A., Garcia-Sanchez M.I., Mendez-Lucena C., Damas-Hermoso F., Rus M., Chacon J., Fernandez E.* // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 18. P. 1296–1302.
36. *Bolner A., Micciolo R., Bosello O., Nordera G.P.* // Clin. Lab. 2016. V. 62. P. 105–112.
37. *Sato S., Mizuno Y., Hattori N.* // Neurol. 2005. V. 64. P. 1081–1083.
38. *Bogdanov M., Matson W.R., Wang L., Matson T., Saunders-Pullman R., Bressman S.S., Flint Beal M.* // Brain. 2008. V. 131(2). P. 389–96.
39. *Seet R.C.S., Lee C.Y. J., Lim E.C.H., Tan J.J.H., Quek A.M.L., Chong W.L., Looi W.F., Huang S.H., Wang H., Chan Y.H., Halliwell B.* // Free Radic. Biol. Med. 2010. V. 48(4). P. 560–566.
40. *Chen C.-M., Liu J.-L., Wu Y.-R., Chen Y.-C., Cheng H.-S., Cheng M.-L., Chiu D.T.-Y.* // Neurobiol. Dis. 2009. V. 33(3). P. 429–35.
41. *Kikuchi A., Takeda A., Onodera H., Kimpara T., Hisanaga K., Sato N., Nunomura A., Castellani R.J., Perry G., Smith M.A., Itoyama Y.* // Neurobiol. Dis. 2002. V. 9. P. 244–248.
42. *Jenner P.* // Ann. Neurol. 2003. V. 53(3). P. 26–36.
43. *Blanchard-Fillion B., Prou D., Polydoro M., Spielberg D., Tsika E., Wang Z., Hazen S.L., Koval M., Przedborski S., Ischiropoulos H.* // J. Neurosci. 2006. V. 26. P. 6124–6130.
44. *Borghammer P., Van Den Berge N.* // J. Parkinsons Dis. 2019. V. 9. P. 281–295.
45. *Fedorova T.N., Logvinenko A.A., Poleshchuk V.V., Illarioshkin S.N.* // Neurochem. J. 2017. V. 11. P. 340–345.

## Significance of Oxidative Damage to Proteins and DNA in Blood Patients with Parkinson's Disease in Assessing the Severity of the Disease

T. N. Fedorova<sup>a</sup>, A. A. Logvinenko<sup>a</sup>, V. V. Poleshchuk<sup>a</sup>,  
O. A. Muzychuk<sup>a</sup>, A. A. Shabalina<sup>a</sup>, and S. N. Illarioshkin<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Research Center of Neurology, Moscow, Russia

Oxidative stress (OS) plays an important role in the cascade of events leading to the dopaminergic neuron degeneration in Parkinson's disease (PD). Oxidative damage to proteins and nucleic acids contributes to this process. Reactive oxygen and nitrogen species cause protein nitration, and form a stable compound 3-nitrotyrosine (3-NT), which characterizes the development of nitrazyl stress, as well as nucleic acids which form the product of DNA oxidation, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH-dG). Protein and DNA oxidation products are found in biological fluids of PD patients, however, data on their quantitative content depending on the severity of the disease is contradictory. The aim of this work was to evaluate the role of oxidative damage to proteins and DNA in blood of patients with PD in the disease progression. The content of 3-nitrotyrosine (3-HT) and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OH -dG) was measured in the peripheral blood of 134 PD patients on different disease stages (1-4) according to the Hoehn-Yahr functional scale. An increase in the level of 3-NT in blood plasma was observed in all examined patients. At the same time, in patients on the 2nd, 3rd and 4th stages of the disease, the increase in 3-NT relative to the control averaged 58%; and 30% in patients on the 1st stage, which is statistically significantly different from the data obtained at more advanced stages of the disease. Therefore, an increase in the product of oxidative metabolism of 3-NT proteins in the blood plasma of PD patients is an early PD biomarker, the expression of which increases with the progression of the neurodegenerative process. An increase in the level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine relative to norm was shown in the blood serum of all patients examined. In patients at the 1st, 2nd and 3rd stages of the disease, this increase averaged 60%, and in the most severe cases on the 4th stage of the disease - 183% relative to the control values, which is three times higher than the corresponding values in other compared subgroups. Thus, the level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine is a biomarker of the most severe disease stages. In this study, we found a systemic increase in the content of both 3-nitrotyrosine and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in the pa-

tients' blood. At the same time, data on the increase in the protein and DNA oxidation products in the blood of first diagnosed patients are of particular importance. The identification of biomarkers of oxidative damage to proteins and nucleic acids in the early stages of PD is an important step towards improving existing diagnostic criteria, as well as identifying individuals at risk. A significant increase in the content of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in blood serum of patients on the 4th stage of the disease indicates the connection of this indicator to the disease severity. In general, understanding the pathogenetic factors responsible for the death of dopaminergic neurons, including oxidative damage to lipids, proteins, and nucleic acids, may be of great importance for the development of complex neuroprotective approaches to the treatment of PD and the assessment of the treatment effectiveness.

*Keywords: Parkinson disease, peripheral blood, 3-Nitrotyrosine, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine, stage of disease*