

УДК 577.1+615.074

*И.А. Черенков, В.Г. Сергеев, И.Л. Иванова, Е.С. Заколюкина, М.В. Попова***ИЗМЕНЕНИЯ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА***

Исследованы уровень альфа-синуклеина в плазме крови и эритроцитах, а также ряд биохимических показателей крови (содержание холестерина, уратов и глюкозы в плазме; количество эритроцитов и содержание гемоглобина) у пациентов с болезнью Паркинсона и в группе лиц, не страдающих нейродегенеративными заболеваниями (контрольная группа). Определены корреляционные взаимосвязи между уровнем альфа-синуклеина (в плазме и эритроцитах) и биохимическими показателями плазмы крови. Биохимические параметры крови пациентов с болезнью Паркинсона, определяемые клиническими лабораторно-биохимическими методами, не имели достоверных отличий от таковых в контрольной группе. При сравнительном анализе первичных данных выявлена тенденция к повышению уровня холестерина, снижению количества эритроцитов и уровня гемоглобина в крови пациентов с болезнью Паркинсона. Обнаружено, что уровень альфа-синуклеина как в плазме крови, так и в эритроцитах у пациентов с болезнью Паркинсона ниже, чем у контрольной группы. При этом содержание альфа-синуклеина в эритроцитах значительно выше, чем в плазме крови – как в контрольной группе, так и в группе пациентов с болезнью Паркинсона. Отмечена существенная перестройка корреляционных связей альфа-синуклеина с биохимическими показателями крови у пациентов с болезнью Паркинсона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, альфа-синуклеин, холестерин, ураты, корреляционный анализ.

Болезнь Паркинсона является одной из наиболее распространенных нейродегенеративных патологий. Причиной характерных моторных нарушений при этой болезни является гибель дофаминергических нейронов черной субстанции среднего мозга. Клинические проявления болезни наблюдаются, когда количество дофаминергических нейронов в черной субстанции снижается на 60–80 % по отношению к показателям здоровых людей. Тяжесть заболевания коррелирует с количеством погибших клеток [1; 2]. Существует острая проблема поиска молекулярно-биохимических маркеров болезни Паркинсона, пригодных для ранней (до появления моторных нарушений) скрининговой диагностики [2; 3].

В качестве одного из маркеров предлагается рассматривать альфа-синуклеин, играющий важную роль в молекулярных и клеточных механизмах нейродегенерации и нейровоспаления в области черной субстанции [3; 4]. В клинических исследованиях рассмотрены изменения уровня альфа-синуклеина в крови, ликворе и слюне пациентов с болезнью Паркинсона. Показано высокое содержание альфа-синуклеина в эритроцитах, которые могут участвовать в депонировании и транспорте альфа-синуклеина в крови [5]. Подробно исследована молекулярная организация альфа-синуклеина – в его составе обнаружены мембраносвязывающие домены, сходные по аминокислотному составу с аполипопротеинами [6]. Однако данные о направлениях и динамике изменений концентрации данного белка в биологических жидкостях противоречивы [1; 7-9], и очевидно, что показатель уровня альфа-синуклеина в крови не может быть единственным и надежным маркером болезни Паркинсона, отражающим динамику заболевания [3; 7-9].

Представляется целесообразным поиск комплекса биохимических показателей, в совокупности формирующих некий «молекулярно-биохимический паттерн» болезни Паркинсона, который может быть отражением перестройки обмена веществ, ассоциированной с заболеванием [2]. Например, описана взаимосвязь особенностей обмена холестерина и риска развития болезни Паркинсона [10-12]. Уровень солей мочевой кислоты в крови предлагается рассматривать как потенциальный биомаркер данной патологии [13]. По нашему мнению, перспективным является исследование корреляционных взаимосвязей уровня альфа-синуклеина с биохимическими показателями крови.

Цель исследования – изучение уровня альфа-синуклеина в плазме крови, мембранах эритроцитов и корреляционное сопоставление этих показателей с биохимическими параметрами крови у пациентов с болезнью Паркинсона и относительно здоровых людей соответствующего возраста.

* Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации по теме «Патофизиологические механизмы функциональных и нейродегенеративных нарушений центральной нервной системы» и гранта РФФИ № 10-04-00246-а «Возрастные изменения в экспрессии микроглиальных провоспалительных белков и нейронального шаперона *GRP78* как предрасполагающие факторы болезни Паркинсона».

Материалы и методы исследований

Для исследования использована кровь пациентов с болезнью Паркинсона ($n = 17$) и относительно здоровых лиц ($n = 10$), полученная на основе информированного согласия в Центре экстрапиримидной патологии ГКБ № 9 г. Ижевска. В крови подсчитывали количество эритроцитов, определяли уровень гемоглобина, глюкозы, холестерина, мочевой кислоты. Уровень альфа-синуклеина в плазме крови и эритроцитах определяли с помощью набора для иммуноферментного анализа (Invitrogen, США). На основании полученных первичных данных рассчитывали относительные показатели – соотношения «синуклеин плазмы/синуклеин эритроцитов» (СП/СЭ), «синуклеин эритроцитов/количество эритроцитов» (СЭ/КЭ). Достоверность различий оценивали по критерию Манна-Уитни. Средствами программы MS Excel 2010 проводили корреляционный анализ.

Результаты и их обсуждение

Биохимические параметры крови пациентов с болезнью Паркинсона, определяемые стандартными клиническими лабораторно-биохимическими методами, не имеют достоверных отличий от таковых в контрольной группе. При сравнительном анализе первичных данных выявлена тенденция к повышению уровня холестерина, снижению количества эритроцитов и уровня гемоглобина в крови больных.

Одной из задач исследования стало определение концентрации альфа-синуклеина в крови людей контрольной группы и у пациентов с болезнью Паркинсона. Обнаружено достоверное снижение уровня альфа-синуклеина в плазме крови у пациентов с болезнью Паркинсона ($P < 0,05$). Среднее значение этого показателя в группе больных составило 8,03 нг/мл, а в контроле – 10,17 нг/мл. Уровень синуклеина в эритроцитах как в группе больных, так и в контрольной группе оказался заметно выше, чем в плазме: 122,8 нг/мл в контрольной группе и 99,7 нг/мл у пациентов болезнью Паркинсона (рис. 1). Интересно, что соотношение СП/СЭ в обеих группах оказалось практически одинаковым: 0,08 у пациентов с болезнью Паркинсона и 0,09 в контрольной группе. Возможным объяснением данного явления может быть наличие динамического обменного распределения альфа-синуклеина между плазмой и эритроцитами. С учетом физико-химических свойств альфа-синуклеина [6] данный белок может находиться в крови либо в составе мембран форменных элементов, либо в составе липопротеинов плазмы. Исследования *in vitro* показали, что альфа-синуклеин связывается с богатыми холестерином рафтами плазматических мембран клеток. Включение синуклеина в такого рода агрегаты зависит от содержания в рафтах свободных жирных кислот [11].

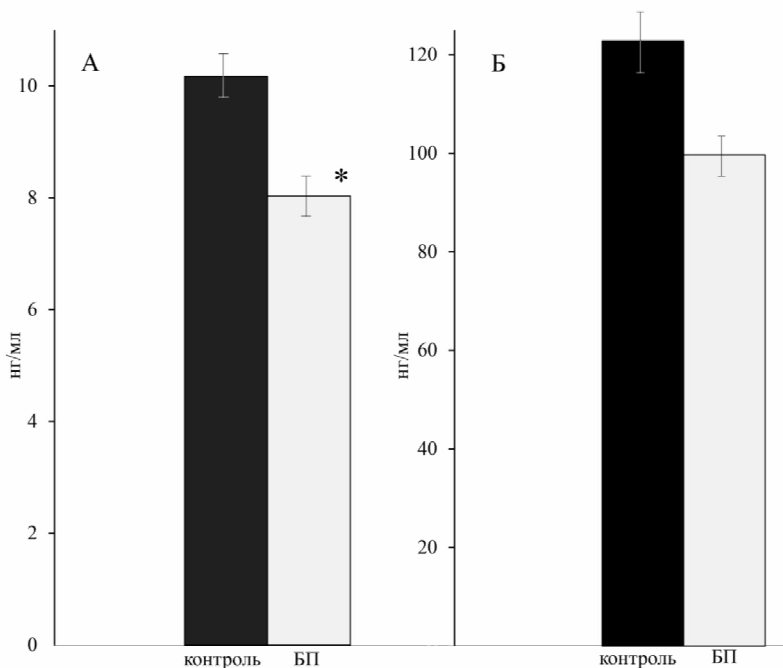


Рис. 1. Уровень альфа-синуклеина в крови лиц контрольной группы (контроль) и пациентов с болезнью Паркинсона (БП): А – в плазме крови; Б – в эритроцитах. *Различия достоверны. $P < 0,05$.

Что касается влияния холестерина на распределение альфа-синуклеина между эритроцитами и плазмой, обращает на себя внимание отрицательная корреляция между значением коэффициента распределения (СП/СЭ) и уровнем холестерина ($r = -0,51$) в контрольной группе. Однако в группе пациентов с болезнью Паркинсона эта связь существенно ослабевает ($r = -0,07$). При этом в контрольной группе обнаруживается слабая положительная корреляция между уровнями альфа-синуклеина плазмы и альфа-синуклеина эритроцитов, а в группе пациентов с болезнью Паркинсона она становится более выраженной (рис. 2).

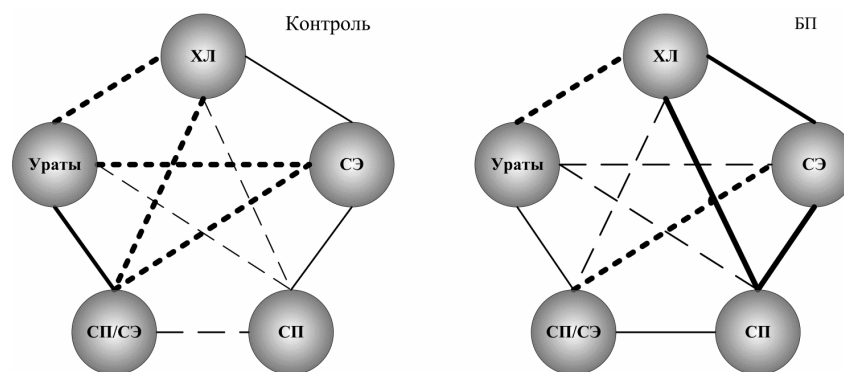


Рис. 2. Корреляционные взаимосвязи биохимических показателей крови в контрольной группе (контроль) и у пациентов с болезнью Паркинсона (БП).

Сплошные линии отражают положительные корреляции, пунктирные – отрицательные. Толщина линий соответствует силе связи. ХЛ – уровень холестерина в плазме крови; СЭ – уровень альфа-синуклеина в эритроцитах; СП – уровень альфа-синуклеина в плазме крови; СП/СЭ – соотношение уровней альфа-синуклеина в плазме крови и в эритроцитах.

В группе пациентов с болезнью Паркинсона уровень альфа-синуклеина плазмы коррелирует с уровнем холестерина ($r = 0,75$), в контрольной группе данная связь слабая отрицательная ($r = -0,18$). Уровень альфа-синуклеина эритроцитов у больных заметно коррелирует с уровнем холестерина в плазме крови ($r = 0,68$), в контрольной группе данная связь выражена слабее ($r = 0,45$). Показано, что молекула альфа-синуклеина имеет сродство к холестерину, связываясь с ним 67–78-м аминокислотными остатками; эта область молекулы альфа-синуклеина обеспечивает его включение в состав биомембран и образование агрегатов [2; 12]. У трансгенных мышей терапия статинами, снижающими уровень холестерина, уменьшала агрегацию альфа-синуклеина [12]. В то же время эпидемиологические исследования показали, что повышенный уровень холестерина у человека ассоциирован со снижением риска развития болезни Паркинсона [11].

Уровень солей мочевой кислоты в плазме крови контрольной группы коррелирует с уровнем альфа-синуклеина в эритроцитах, обнаруживая обратную связь с относительно высоким коэффициентом корреляции, у пациентов с болезнью Паркинсона эта связь ослабевает. Соотношение СП/СЭ в контрольной группе положительно коррелирует с уровнем уратов в плазме крови (рис. 2). Известно, что повышенный уровень солей мочевой кислоты в крови снижает риск развития болезни Паркинсона. Это дало основание для предположения о нейропротекторной роли уратов при данной патологии [13]. По нашим данным, состояние системы «ураты–синуклеин» в крови больных можно охарактеризовать как потерю взаимодействия между уратами и альфа-синуклеином. Интересной представляется устойчивая взаимосвязь «ураты–холестерин» – в обеих группах она характеризуется достоверным отрицательным коэффициентом корреляции.

Обобщая полученные результаты, можно представить сравнительную схему корреляционных связей некоторых биохимических показателей крови и уровня альфа-синуклеина в контроле и у пациентов с болезнью Паркинсона (рис. 2).

Заключение

Уровень альфа-синуклеина в плазме крови пациентов с болезнью Паркинсона достоверно ниже, чем у лиц, не страдающих нейродегенеративными заболеваниями. Содержание данного белка в эрит-

роцитах существенно выше, чем в плазме крови, как у больных, так и у лиц контрольной группы. При этом соотношение «альфа-синуклеин плазмы/альфа-синуклеин эритроцитов» в обеих исследованных группах относительно постоянно. При болезни Паркинсона происходит качественное изменение взаимоотношений уровней холестерина и альфа-синуклеина в крови, что выражается в изменении корреляционных взаимосвязей исследованных показателей. Это позволяет высказать предположение о непосредственном взаимодействии холестерина и альфа-синуклеина в крови и возможной роли подобных взаимодействий в патогенезе болезни Паркинсона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Steece-Collier K., Maries E., Kordower J.H. Etiology of Parkinson's disease: Genetics and environment revisited // PNAS. 2002. Vol. 99, N 22. P. 13972-13974.
2. Scherzer C.R., Eklund A.C., Morse L. J. et al. Molecular markers of early Parkinson's disease based on gene expression in blood // PNAS. 2007. Vol. 104, N 3. P. 955-960.
3. Пчелина С.Н. Альфа-синуклеин как биомаркер болезни Паркинсона // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2011. Т. 5, № 11. С. 46-52.
4. Сергеева Т.Н., Сергеев В.Г., Чучков В.М. Клеточные механизмы хронического нейровоспаления // Морфологические ведомости. 2014. № 4. С. 31-36.
5. Barbour R., Kling K., Anderson J.P., et al. Red blood cells are the major source of alpha-synuclein in blood // Neurodegener. Dis. 2008. № 5 (2). P. 55-59.
6. Jao C. C., Der-Sarkissian A., Chen J., Langen R. Structure of membrane-bound α -synuclein studied by site-directed spin labeling // PNAS. 2004. Vol. 101, N 22. P. 8331-8336.
7. Waragai M., Sekiyama K., Sekigawa A. et al. α -Synuclein and DJ-1 as potential biological fluid biomarkers for Parkinson's disease // Int. J. Mol. Sci. 2010. N 11. P. 4257-4266.
8. Devic I., Hwang H., Edgar J.S. et al. Salivary α -synuclein and DJ-1: potential biomarkers for Parkinson's disease // Brain. 2011. Vol. 134. P. 1-5.
9. Hong Z., Shi M., Chung K.A. et al. DJ-1 and α -synuclein in human cerebrospinal fluid as biomarkers of Parkinson's disease // Brain. 2010. Vol. 133. P. 713-726.
10. Huang X., Chen H., Miller W.C. Lower low density lipid cholesterol levels are associated with Parkinson's disease // Mov. Disord. 2007. Vol. 22 (3). P. 377-381.
11. de Lau L.M.L., Koudstaal P.J., Hofman A., Breteler M.M.B. Serum cholesterol levels and the risk of Parkinson's disease // Am. J. Epidemiol. 2006. Vol. 164. P. 998-1002.
12. Koob A.O., Ubhi K., Paulsson J.F., Kelly J. et al. Lovastatin ameliorates α -synuclein accumulation and oxidation in transgenic mouse models of α -synucleinopathies // Exp Neurol. 2010. Vol. 221 (2). P. 267-274.
13. Cipriani S., Chen X., Schwarzschild M.A. Urate: a novel biomarker of Parkinson's disease risk, diagnosis and prognosis // Biomark. Med. 2010. Vol. 4 (5). P. 701-712.

Поступила в редакцию 10.06.15

I.A. Cherenkov, V.G. Sergeev, I. L. Ivanova, E.S. Zakolyukina, M.Yu. Popova

CHANGES IN CORRELATION RELATIONS OF BIOCHEMICAL PARAMETERS OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

The level of alpha-synuclein within blood plasma and red blood cells was tested, as well as a number of biochemical parameters of blood (level of cholesterol, urates and glucose in blood plasma; number of red blood cells and hemoglobin) in patients with Parkinson's disease and a control group of individuals not suffering from neurodegenerative diseases. Correlation relationships between α -synuclein level (in plasma and red blood cells) and biochemical parameters of plasma were determined. Biochemical parameters of the blood of patients with Parkinson's disease defined by clinical laboratory and biochemical methods were not significantly different from those in the control group. Comparative analysis of primary data showed a trend to an increase in cholesterol levels, decline in the number of red blood cells and hemoglobin level in the blood of patients with Parkinson's disease. It was found that α -synuclein level both in blood plasma and red blood cells from patients with Parkinson's disease is lower than from the control group. Furthermore, the red blood cells contain much more synuclein than the blood plasma does, which refers both to the control group and Parkinson's disease patients. We observed significant alterations in correlation relationships of alpha-synuclein with biochemical parameters of blood in Parkinson's disease patients.

Keywords: Parkinson's disease, alpha-synuclein, cholesterol, urate, correlation analysis.

Черенков Иван Анатольевич,
кандидат биологических наук, доцент кафедры
анатомии и физиологии человека и животных
ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет»
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1 (корп. 1)
E-mail: ivch75@yandex.ru

Cherenkov I.A.,
Candidate of Biology, Associate Professor
at Department of Anatomy and Physiology
of Human and Animals
Udmurt State University
Universitetskaya st., 1/1, Izhevsk, Russia, 426034
E-mail: ivch75@yandex.ru

Сергеев Валерий Георгиевич,
доктор биологических наук, профессор кафедры
анатомии и физиологии человека и животных
ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет»,
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1 (корп. 1)
E-mail: cellbio@yandex.ru

Sergeev V.G.,
Doctor of Biology, Professor at Department
of Anatomy and Physiology of Human and Animals
Udmurt State University
Universitetskaya st., 1/1, Izhevsk, Russia, 426034
E-mail: cellbio@yandex.ru

Иванова Ирина Леонидовна,
кандидат медицинских наук, доцент кафедры
неврологии и медицинской генетики
ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская
академия»
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281
E-mail: urairiva@yandex.ru

Ivanova I.L.,
Candidate of Medicine, Associate Professor
at Department of Neurology and Medical Genetics
Izhevsk State Medical Academy
Communarov st., 281, Izhevsk, Russia, 426034
E-mail: urairiva@yandex.ru

Заколюкина Елена Сергеевна, магистрант
ФГБОУ ВПО «Удмуртский государственный университет»
426034, Россия, г. Ижевск, ул. Университетская, 1 (корп. 1)
E-mail: alena-immun@yandex.ru

Zakolyukina E.S., master degree student
Udmurt State University
Universitetskaya st., 1/1, Izhevsk, Russia, 426034
E-mail: alena-immun@yandex.ru

Попова Мария Васильевна, врач-невролог
БУЗ «Городская клиническая больница № 9»
426063, Россия, г. Ижевск, ул. Промышленная, 52
E-mail: popova1.87@mail.ru

Popova M.V., Neurologist
City Clinical Hospital N 9
Promishlennaya st., 52, Izhevsk, Russia, 426034
E-mail: popova1.87@mail.ru