

ОЦЕНКА УРОВНЯ СУБПОПУЛЯЦИИ МОНОЦИТОВ CD14⁺/CD16⁺ У БОЛЬНЫХ ЮНОШЕСКИМИ ДЕПРЕССИЯМИ

Васильева Е.Ф., Секирина Т.П., Сарманова З.В., Зозуля С.А.,
Омельченко М.А., Ключник Т.П.

ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

Резюме. В настоящее время моноциты крови разделяют по крайней мере на две фенотипически различные субпопуляции: «классические» моноциты с фенотипом CD14⁺⁺/CD16⁻ и «неклассические» (провоспалительные) с фенотипом CD14⁺/CD16⁺. Установлено, что моноциты CD14⁺/CD16⁺, наряду с нейтрофилами крови и микроглиальными клетками мозга, которые являются аналогом моноцит/макрофагальной системы в мозге, участвуют в развитии скрытого, или так называемого системного, воспаления рассматривают как одно из звеньев нейродегенеративного процесса неинфекционного воспаления в организме человека, нарушения функций моноцитов, лежащего в основе нейровоспалительной гипотезы развития шизофрении. В связи с этим целью настоящего исследования было изучение количества провоспалительных моноцитов у больных юношескими депрессиями по уровню экспрессии рецепторов CD14⁺/CD16⁺, а также активности лейкоцитарной эластазы и α 1-протеиназного ингибитора. Представлялось также интересным определить механизмы их взаимодействия в патогенезе иммуновоспаления, в частности, выявить возможную связь моноцитов CD14⁺CD16⁺ с активностью лейкоцитарной эластазы и α 1-протеиназного ингибитора у больных юношескими депрессиями на ранней стадии заболевания. Было обследовано 27 больных мужского пола в возрасте 17-23 лет. Диагностическая оценка заболевания проводилась в соответствии с критериями МКБ-10, согласно которой у всех больных в структуре психопатологических расстройств выявлялась депрессия с синдромом аттенуированных психотических симптомов (Attenuated Psychotic Syndrome). В качестве контроля обследовали 12 психически здоровых мужчин соответствующего возраста. Моноциты получали общепринятым способом адгезии к пластиковой поверхности из мононуклеарных клеток, выделенных из периферической венозной крови больных и здоровых центрифугированием в градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho = 1,077$). Изучали в крови больных и здоровых уровень моноцитов с фенотипом CD14⁺/CD16⁺, энзиматическую активность лейкоцитарной эластазы и функциональную активность α 1-протеиназного ингибитора эластазы. В ходе проведенного клинико-лабораторного исследования выявлено повышение более чем в два раза уровня провоспалительной субпопуляции моноцитов CD14⁺/CD16⁺ у больных по сравнению с его уровнем у здоровых индивидумов, которое сопровождалось увеличением активности лейкоцитарной эластазы и α 1-протеиназного ингибитора. Выявлена положительная корреляционная связь между повышением экспрессии поверхностных рецепторов CD14⁺/CD16⁺ на моноцитах и увеличением активности лейкоцитарной эластазы.

Эти результаты подтверждают участие моноцитов CD14⁺/CD16⁺ в развитии скрытого или неинфекционного иммунного воспаления, а также определяют механизмы возможного взаимодействия

Адрес для переписки:

Васильева Елена Федоровна
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»
115522, Россия, Москва, Каширское ш., 34.
Тел.: 8 (905) 779-72-37.
Факс: 8 (495) 109-03-67 (доб. 9705).
E-mail: el_vasilyeva@mail.ru

Address for correspondence:

Vasilyeva Elena F.
Mental Health Research Center
115522, Russian Federation, Moscow, Kashirskoe highway, 34.
Phone: 7 (905) 779-72-37.
Fax: 7 (495) 109-03-67 (add. 9705).
E-mail: el_vasilyeva@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Ф. Васильева, Т.П. Секирина, З.В. Сарманова, С.А. Зозуля, М.А. Омельченко, Т.П. Ключник «Оценка уровня субпопуляции моноцитов CD14⁺/CD16⁺ у больных юношескими депрессиями» // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 2. С. 257-268.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-257-268
© Васильева Е.Ф. и соавт., 2019

For citation:

E.F. Vasilyeva, T.P. Sekirina, Z.V. Sarmanova, S.A. Zozulya, M.A. Omelchenko, T.P. Klyushnik "Estimation of CD14⁺/CD16⁺ monocyte subpopulation levels in patients with juvenile depressions", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 2, pp. 257-268.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-2-257-268
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-2-257-268

моноцитов и нейтрофилов в развитии иммунного воспаления у больных юношескими депрессиями с синдромом аттенуированных психотических симптомов.

Ключевые слова: юношеские депрессии, «классические» моноциты CD14⁺/CD16⁻, провоспалительные моноциты CD14⁺/CD16⁺, лейкоцитарная эластаза, α1-протеиназный ингибитор, иммунное воспаление

ESTIMATION OF CD14⁺/CD16⁺ MONOCYTE SUBPOPULATION LEVELS IN PATIENTS WITH JUVENILE DEPRESSIONS

Vasilyeva E.F., Sekirina T.P., Sarmanova Z.V., Zozulya S.A., Omelchenko M.A., Klyushnik T.P.

Mental Health Research Center, Moscow, Russia Federation

Abstract. At present, two major subpopulations of blood monocytes have been identified which are phenotypically different: “classical” CD14⁺/CD16⁻ monocytes and “non-classical” (pro-inflammatory) CD14⁺/CD16⁺ cells. The CD14⁺/CD16⁺ monocytes have been shown to participate in latent, or so-called systemic non-infectious inflammation in humans, along with blood neutrophils and microglial cells. The latter represent an analogue of monocyte/macrophage system in the brain. Monocyte functional disorders are considered a pathogenetic link in neurodegenerative process underlying neuroinflammatory hypothesis in schizophrenia development. In this connection, the aim of present research was to study the amounts of pro-inflammatory monocytes, in terms of expression levels of CD14⁺/CD16⁺ receptors, as well as activity of leukocyte elastase, and α1-proteinase inhibitor in the patients with juvenile depression. Of interest was also to determine the mechanisms of their interactions in pathogenesis of immune suppression, in particular, to identify a possible connection of pro-inflammatory monocytes with activity of the leukocyte elastase and α1-proteinase inhibitor in patients with juvenile depression at the early stage of disease. Twenty-seven male patients (17 to 23 years old) were observed. Clinical diagnostics of the disease was carried out in accordance with ICD-10 criteria, thus showing depression with a syndrome of attenuated psychotic symptoms in all the patients (Attenuated Psychotic Syndrome) in the structure of psychopathological disorders. 12 mentally healthy age- and gender-matched persons were examined as controls. Monocytes were obtained by a conventional method by adhesion of mononuclear cells to plastic surface after preceding isolation of mononuclear cell fraction from peripheral venous blood of the patients and healthy controls in a Ficoll-Urografin density gradient ($\rho = 1.077$). The levels of monocytes with CD14⁺/CD16⁺ phenotype, enzymatic activity of leukocyte elastase, and functional activity of α1-proteinase inhibitor were studied in blood samples of the patients and healthy controls. The clinical and laboratory study showed a more than two-fold increase in the levels of pro-inflammatory CD14⁺/CD16⁺ monocyte subpopulations in the patients compared with appropriate values in healthy controls. The increase was accompanied by elevation of leukocyte elastase, and α1-proteinase inhibitor activity. A positive correlation was found between the increase of surface receptors CD14⁺/CD16⁺ expression on monocytes, and elevation of the leukocyte elastase activity.

These results confirm participation of CD14⁺/CD16⁺ monocytes in development of latent, or non-infectious immune inflammation, and determine the mechanisms of possible interaction between monocytes and neutrophils in development of immune inflammation in the patients suffering from juvenile depressions with Attenuated Psychotic Syndrome.

Keywords: juvenile depression, “classical” CD14⁺/CD16⁻ monocytes, pro-inflammatory CD14⁺/CD16⁺ monocytes, leukocyte elastase, α1-proteinase inhibitor, immune inflammation

Введение

В клинко-биологических исследованиях, направленных на изучение заболеваний, основу которых составляет скрытое, или так называемое системное стерильное, воспаление, обнаружена активация моноцитов и макрофагов [3, 23] и увеличение продукции ими провоспалительных цитокинов [15]. Скрытое воспаление

отличается от острого воспаления, которое является ответом на вирусную или бактериальную инфекцию или реакцией на повреждение ткани тем, что протекает практически бессимптомно. Скрытое воспаление также называют иммунным, неинфекционным или стерильным воспалением, так как основной причиной его появления являются эндогенные факторы, такие как ци-

токины, продуцируемые Т-хелперами 2-го типа (Th2-цитокины), ростовые факторы, высокие концентрации глюкозы, модифицированные липопротеиды и некоторые другие [3]. Иммунное воспаление инициируется также экзогенными факторами: к ним относят геномный стресс, гипоксический стресс, пищевой стресс и др. Все эти факторы стимулируют тщательно управляемый иммунный ответ, который индуцирует рекрутирование клеток, отвечающих на воспаление [23]. Если токсические компоненты не элиминируются, то происходит развитие патологического процесса, который лежит в основе патофизиологии многих болезней человека, включая и психические заболевания [8].

В иммунологических исследованиях было установлено, что одними из основных клеток врожденного иммунитета, участвующих в системном иммунном воспалении наряду с нейтрофилами [27], являются моноциты и тканевые макрофаги [15], а также глиальные клетки, которые являются аналогом моноцит/макрофагальной системы в мозге [18].

Уже в конце прошлого века в исследованиях ряда авторов было выявлено, что популяция моноцитов является гетерогенной. В начале этих исследований сообщалось о делении моноцитов на два подтипа по размеру и плотности: большие и малые, различающиеся по их фагоцитирующей и провоспалительной активности [12].

В настоящее время установлено, что моноциты различаются также по уровню экспрессии рецепторов, представленных на их поверхности. Известно, что на поверхности моноцитов/макрофагов находятся наиболее значимые в функциональном отношении мембранные молекулы, так называемые Toll-подобные (TL) рецепторы [12], которые распознают консервативные структурные компоненты бактерий, вирусов и грибов. Эти рецепторы играют основную роль во врожденном иммунитете. Они в основном локализованы на клеточной мембране, но могут находиться и внутри клетки. На моноцитах/макрофагах экспрессируются все разновидности TL-рецепторов: от TLR1 до TLR11 [17], с помощью которых макрофаги и моноциты распознают фактически все основные группы патогенов. При этом с мембранным рецептором TLR4 функционально связан один из основных маркеров моноцитов и макрофагов – молекула CD14, которая взаимодействует с комплексом бактериальных и грибковых липополисахаридов (ЛПС), липопротеидов и др. либо с микробными нуклеиновыми кислотами или белками (флагеллин, профилин) [21].

К другой группе рецепторов, представленных на моноцитах/макрофагах, относят Fc-рецепторы (молекулы, распознающие Fc-участок молекул

иммуноглобулинов, обычно в связанном с антигеном состоянии). Эти рецепторы обеспечивают распознавание и фагоцитоз моноцитами и макрофагами опсонизированных антителами клеток (в том числе патогенных). На моноцитах присутствует полный набор Fcγ-рецепторов – FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16) [11].

По современным представлениям, в организме человека определяется по меньшей мере два подтипа моноцитов, которые различаются фенотипически по экспрессии рецепторов CD14 и CD16 [30]. Преобладающим подтипом являются так называемые «классические» моноциты (“classical” monocytes), экспрессирующие на своей поверхности высокий уровень CD14 и не экспрессирующие CD16 (CD14⁺⁺/CD16⁻). По данным некоторых авторов, у здоровых молодых индивидуумов они составляют свыше 93% от всех моноцитов периферической крови. При этом 3% моноцитов экспрессируют на своей поверхности CD16 и очень низкий уровень CD14 – это так называемые «неклассические» моноциты (“nonclassical” monocytes, CD14⁺/CD16⁺ [20]. У людей старшего возраста или у пациентов с хроническим воспалением процент субпопуляции моноцитов с фенотипом CD14⁺⁺/CD16⁻ снижается, при этом субпопуляция моноцитов с фенотипом CD14⁺/CD16⁺ может увеличиваться до 20%.

К настоящему времени накоплено достаточно большое количество сообщений, характеризующих функции, которые осуществляют разные подтипы моноцитов. Так, некоторые исследователи показали, что «классические» моноциты с фенотипом CD14⁺⁺/CD16⁻ выполняют функцию фагоцитов, но не принимают участие в воспалительных процессах [21]. Моноциты с фенотипом CD14⁺/CD16⁺ являются антигенпрезентирующими клетками и осуществляют воспалительные реакции, продуцируя провоспалительные цитокины TNFα [13, 24] и IL-1β [22]. При этом в ряде работ было показано, что избыток TNFα в крови является пусковым фактором для развития системного воспаления [26, 30].

В недавно проведенных модельных экспериментах на мышах, направленных на изучение механизмов участия моноцитов в развитии системного воспаления, продемонстрировано взаимодействие провоспалительных моноцитов с другими клетками крови, в частности с нейтрофилами. А именно выявлено снижение уровня циркулирующих провоспалительных моноцитов и цитокинов у мышей, дефицитных по лейкоцитарной эластазе (ЛЭ) [28].

В 90-е годы прошлого века появилась теория развития шизофрении, в основе которой лежит взаимодействие макрофагов и Т-лимфоцитов

[25]. В настоящее время существует достаточно большое количество исследований, свидетельствующих о вовлеченности иммунной системы в генез эндогенных психозов. В частности, в исследованиях, направленных на изучение состояния иммунного статуса у больных шизофренией и больных с риском развития эндогенных психозов, выполненных в ФГБНУ НЦПЗ, выявлено повышение по сравнению с контролем уровня продуцируемого моноцитами провоспалительного цитокина IL-1 β [6, 7], а также обнаружено значительное повышение активности показателей иммунного воспаления: ЛЭ – протеолитического фермента нейтрофилов, выделяющегося из клетки при развитии воспаления и функциональной активности α 1-протеиназного ингибитора (α 1-ПИ) – белка острой фазы воспаления [2, 4, 5]. Известно, что повышение энзиматической активности ЛЭ в острой стадии заболевания в большинстве случаев сопровождается повышением функциональной активности α 1-ПИ, который, связываясь с ЛЭ, снижает ее уровень в крови, что способствует ограничению и обратному развитию воспалительного процесса [5].

Данные, касающиеся участия моноцитов в патогенезе психопатологических расстройств, представлены сообщениями об активации микроглии мозга, которая является аналогом моноцит/макрофагальной системы в мозге, а также о повышении количества циркулирующих моноцитов у пациентов с биполярными расстройствами, большими депрессивными расстройствами и шизофренией [8, 14]. Эти данные были подтверждены авторами в соответствующих модельных экспериментах на животных, в которых также была выявлена активация микроглии и циркулирующих моноцитов и показано влияние активированной микроглии на развитие и функции нейронов в областях мозга, связанных с развитием депрессивных и шизофреноподобных состояний [8, 14]. В другом исследовании показано, что активирование микроглии и макрофагов головного мозга может оказывать пагубное воздействие на патологию головного мозга в процессе стимулирования воспалительных процессов при неврологических заболеваниях [16]. Исследований, посвященных изучению уровня провоспалительных моноцитов с помощью их фенотипирования по специфическим антигенам CD14 и CD16 и патогенетических механизмов взаимодействия субпопуляции провоспалительных моноцитов с другими клетками иммунной системы у больных шизофренией на ранней стадии психопатологического процесса, в доступной нам литературе не найдено.

Целью настоящего исследования было изучение количества провоспалительных моноци-

тов по уровню экспрессии рецепторов CD14⁺/CD16⁺, а также активности ЛЭ и α 1-ПИ и определение механизмов их взаимодействия в патогенезе иммуновоспаления, в частности выявление возможной связи моноцитов CD14⁺CD16⁺ с активностью ЛЭ и α 1-ПИ у больных юношескими депрессиями на ранних этапах заболевания.

Материалы и методы

Обследовали 27 больных мужского пола юношеского возраста (от 17 до 23 лет; в среднем 19,8 \pm 0,4 лет), впервые госпитализированных в клиническое отделение ФГБНУ «Научный центр психического здоровья». Критериями включения в исследование были: депрессивное расстройство, юношеский возраст, длительность заболевания не более двух лет, отсутствие ранее перенесенных психотических приступов. Критерии невключения: наличие сопутствующей психической (органическое психическое расстройство, алкоголизм, наркомания, умственная отсталость) и клинически значимой соматической или неврологической патологии. Согласно критериям МКБ-10 у всех больных в структуре психопатологических расстройств выявлялась депрессия с синдромом аттенуированных психотических симптомов (Attenuated Psychotic Syndrome) в виде повторяющихся ослабленных, подпороговых или коротких, ограниченных во времени, интермиттирующих психотических симптомов (DSM-V, глава III). Контрольную группу составили 12 психически и соматически здоровых мужчин соответствующего возраста.

Проведение данной работы соответствовало Хельсинкской декларации 1964 г., принятой на 18-й ассамблее Всемирной ассоциации врачей (Хельсинки, Финляндия, июнь) с поправками, принятыми в 1975 г. на 29-й ассамблее Всемирной ассоциации врачей (Токио, Япония, октябрь), и этическим стандартам Локального Этического комитета ФГБНУ «Научный центр психического здоровья». Все обследованные дали письменное информированное согласие на взятие крови и участие в исследовании.

Моноциты в составе мононуклеарных клеток (МНК) выделяли из периферической венозной крови больных и здоровых центрифугированием в градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho = 1,077$, ПанЭко) по стандартной методике. Полученную взвесь МНК разводили в среде 1640 с глутаматом (ПанЭко) до концентрации 5 млн/мл, наслаивали в чашки Петри диаметром 60 мкм (Nuncclon, Delta, Дания) и инкубировали в CO₂ инкубаторе при 37 °С в течение 1 часа. Затем сливали надосадочную жидкость, а прикрепившиеся клетки (моноциты) открепляли со дна чашки Петри с помощью охлажденного раствора

Версена (ПанЭко) в течение 20 мин. Полученные клетки отмывали средой 1640 с добавлением 10% FCS (Serva, США). Моноциты разводили до концентрации 1 млн/мл в среде 1640 и использовали для проведения фенотипирования методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США): CD16-FITC – антитела к антигену дифференцировки 16, меченные fluorescein isothiocyanate и CD14-PE – антитела к антигену дифференцировки 14, меченные phycoerythrin. Цитофлуориметрический анализ выполняли на проточном лазерном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, США). Использовались единые настройки прибора для всех проб; в каждом из образцов анализировали не менее 3000 моноцитов. Для исключения дребеса порог устанавливали по FS и CD45PC5. Популяцию моноцитов выделяли по CD14 в комбинации с боковым светорассеянием (SSC) [10, 19].

По уровню экспрессии рецепторов CD14 и CD16 моноциты распределяли на две субпопуляции CD14⁺⁺/CD16⁻ («классические» моноциты) и CD14⁺/CD16⁺ («неклассические» провоспалительные моноциты). Количество моноцитов в каждой из субпопуляций выражали в процентах по отношению к общему количеству моноцитов, которое принимали за 100%.

Энзиматическую активность ЛЭ определяли ферментативным спектрофотометрическим методом (спектрофотометр Ultrospec 5300 (Amersham)) с использованием специфического хромогенного субстрата N-терт-бутокси-

карбонил-L-аланин-паранитрофенилового эфира (BOC-Ala-ONP) (ICN Biomedical Inc.) и оценивали в нмоль/мин/мл (чувствительность метода 40 нмоль/мин/мл) [1]. Измерение проводили с помощью компьютерной программы SWIFT 1000 Reaction Kinetics (version 2.03, Biochrom Ltd).

Функциональную активность α 1-ПИ определяли спектрофотометрическим методом, основанным на взаимодействии этого ингибитора с трипсином при использовании в качестве субстрата N- α -бензоил-L-аргинин этиловый эфир гидрохлорид (BAEE) (ICN Biomedical Inc.), и оценивали в ингибиторных единицах/мл (ИЕ/мл) (чувствительность метода 5 ИЕ/мл) [9]. Измерение проводили с помощью компьютерной программы SWIFT 1000 Reaction Kinetics (version 2.03, Biochrom Ltd).

Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2007). Проверку нормальности распределения величин показателей проводили по W-критерию Шапиро–Уилка. Так как изучаемые выборки данных имели нормальное распределение, результаты во всех таблицах представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение. Достоверность различий между показателями независимых выборок проводили с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты

На рисунке 1 на примере отдельно взятого здорового индивидуума (А) и больного (Б) показано

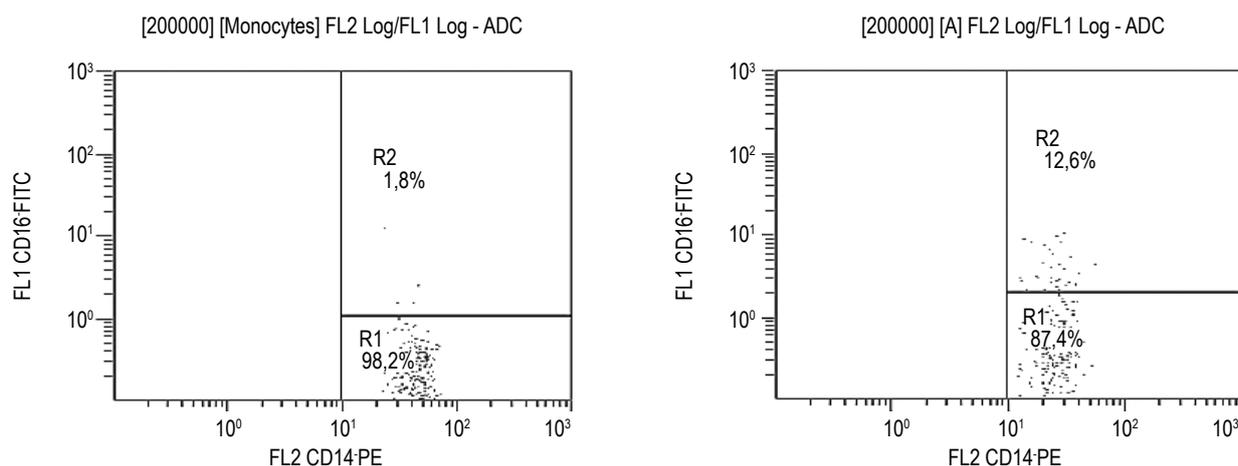


Рисунок 1. (А) Распределение моноцитов на субпопуляции по CD14/CD16 у отдельно взятого здорового индивидуума и (Б) – отдельно взятого больного

Примечание. Регион R1 – субпопуляция «классических» моноцитов CD14/CD16; R2 – субпопуляция провоспалительных моноцитов CD14/CD16.

Figure 1. (A) Distribution of monocytes into a subpopulations according to CD14/CD16 in a single healthy individual and (B) in a single patient

Note. Region R1, a subpopulation of “classical” monocytes CD14/CD16; Region R2, a subpopulation of pro-inflammatory monocytes CD14/CD16.

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО МОНОЦИТОВ С ФЕНОТИПОМ CD14⁺⁺/CD16⁻ И CD14⁺/CD16⁺ В ОБЩЕЙ ГРУППЕ БОЛЬНЫХ И В ГРУППЕ ЗДОРОВЫХ

TABLE 1. THE NUMBER OF MONOCYTES WITH THE PHENOTYPE CD14⁺⁺/CD16⁻ AND CD14⁺/CD16⁺ IN THE GENERAL GROUP OF PATIENTS AND IN THE CONTROL GROUP

Группы обследованных Survey groups	Фенотип моноцитов Phenotype of monocytes	M±SD	Максимум Maximum	Минимум Minimum
Больные Patients (n = 27)	CD14 ⁺⁺ /CD16 ⁻ «классические» “classical”	92,2±4,1	98,3	81,7
	CD14 ⁺ /CD16 ⁺ провоспалительные pro-inflammatory	7,9±4,1*	18,3	1,7
Здоровые Control (n = 12)	CD14 ⁺⁺ /CD16 ⁻ «классические» “classical”	95,2±1,6	97,4	92,6
	CD14 ⁺ /CD16 ⁺ провоспалительные pro-inflammatory	4,7±1,5	8,0	3,0

Примечание. * – $p < 0,05$ – достоверная разница значений CD14⁺/CD16⁺ в сравнении с группой контроля; здесь и во всех последующих таблицах и на рисунках уровень субпопуляций моноцитов представлен в процентах от общего количества моноцитов.

Note. *, $p < 0.05$, significant difference in CD14⁺/CD16⁺ values compared to the control group; here and in all other tables and pictures, the level of subpopulations of monocytes is represented as a percentage of the total number of monocytes.

ТАБЛИЦА 2. УРОВЕНЬ CD14⁺/CD16⁺ МОНОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ВЫСОКИМ (ПОДГРУППА 1) И НОРМАЛЬНЫМ (ПОДГРУППА 2) ЗНАЧЕНИЯМИ ПОКАЗАТЕЛЯ

TABLE 2. CD14⁺/CD16⁺ MONOCYTE LEVEL IN PATIENTS WITH A HIGH (SUBGROUP 1) AND NORMAL (SUBGROUP 2) INDICATOR VALUES

Подгруппы больных Subgroups of patients	M±SD	Максимум Maximum	Минимум Minimum
Подгруппа 1 Subgroup 1 (n = 13)	11,1±2,8*	18,3	8,1
Подгруппа 2 Subgroup 2 (n = 14)	4,6±1,8	7,3	1,7

Примечание. * – $p < 0,001$ – достоверная разница значений CD14⁺/CD16⁺ в сравнении с группой контроля.

Note. *, $p < 0.001$, significant difference in CD14⁺/CD16⁺ values compared to the control group.

распределение моноцитов по экспрессии рецепторов CD14/CD16 на «классические» и провоспалительные.

В таблице 1 представлены результаты определения количества «классических» CD14⁺⁺/CD16⁻ и провоспалительных CD14⁺/CD16⁺ моноцитов в общей группе больных и здоровых индивидуумов. Из таблицы 1 видно, что уровень CD14⁺/CD16⁺ моноцитов у больных был достоверно выше, чем в контроле ($p < 0,05$).

На рисунке 2 представлено распределение здоровых и больных в общей группе по уровню провоспалительных моноцитов CD14⁺/CD16⁺. Можно видеть, что все значения показателя у здоровых находятся ниже его среднего значения у больных, тогда как больные распределились неравномерно в диапазоне от минимального уровня CD14⁺/CD16⁺ моноцитов, равного 1,7%, до максимального – 18%. Поэтому для получения выборок больных с более равномерным распределением

значений изучаемого показателя был предпринят способ дихотомического распределения больных в общей группе по двум подгруппам. А именно в подгруппу 1 вошли больные с высоким уровнем CD14⁺/CD16⁺ (выше значения M+2SD) по отношению к его среднему значению у здоровых; в подгруппу 2 – больные с уровнем, соответствующим значению показателя в контрольной группе. В результате такого подхода больные распределились практически поровну в обозначенные подгруппы со статистически выраженным различием между ними (p < 0,001).

Оценка результатов, полученных в двух подгруппах больных, представлена в таблице 2, из которой видно, что в подгруппе 1 с высоким уровнем CD14⁺/CD16⁺ его значение было более чем в два раза выше по сравнению с его уровнем в контроле (p < 0,001).

Результаты определения активности ЛЭ и α1-ПИ в двух сформированных по уровню CD14⁺/CD16⁺ подгруппах больных представлены в таблице 3. Можно видеть, что в первой подгруппе больных с высокой экспрессией на моноцитах рецепторов CD14⁺/CD16⁺ выявлялись достоверно более высокие уровни активности ЛЭ и α1-ПИ по сравнению с их значениями в контроле (p < 0,001). В подгруппе 2 выявлялось также более высокое значение ЛЭ по сравнению с контролем (p < 0,001). Следует добавить, что в подгруппе 1 с высоким уровнем провоспалительных моноцитов CD14⁺/CD16⁺ значение ЛЭ было достоверно

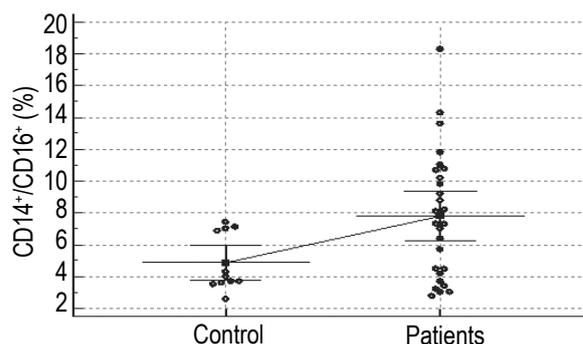


Рисунок 2. Распределение здоровых и больных в общей группе по уровню CD14⁺/CD16⁺ моноцитов

Примечание. Здесь и на всех последующих рисунках: ° – обозначение значения показателя у отдельно взятого здорового индивидуума и больного.

Figure 2. Distribution of healthy individual and patients in the general group according to the level of CD14⁺/CD16⁺ monocytes
Note. Here and in all other pictures: °, designation of the indicator value for a single healthy individual and patient.

более высоким по сравнению с его величиной у больных в подгруппе 2 с нормальным уровнем CD14⁺/CD16⁺ (p < 0,05).

На рисунках 3 и 4 представлены результаты распределения больных по уровню активности, соответственно, ЛЭ и α1-ПИ в подгруппах с высоким (подгруппа 1) и нормальным (подгруппа 2) уровнем моноцитов с фенотипом CD14⁺/CD16⁺. Как видно из рисунка 3, значения активности ЛЭ у всех больных в подгруппе 1 (EI₁) находи-

ТАБЛИЦА 3. ЗНАЧЕНИЯ ЛЭ И α1-ПИ В ПОДГРУППАХ БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ CD14⁺/CD16⁺ МОНОЦИТОВ И В ГРУППЕ ЗДОРОВЫХ

TABLE 3. THE VALUES OF LEUKOCYTE ELASTASE AND α1-PI IN SUBGROUPS OF PATIENTS WITH DIFFERENT LEVEL OF CD14⁺/CD16⁺ MONOCYTES AND IN THE GROUP OF CONTROL

Группы обследованных Survey groups	Значения показателей Indicator values (M±SD)	
	ЛЭ (нмоль/мин/мл) Leukocyte elastase (nmol/min/ml)	α1-ПИ (ИЕ/мл) α1-PI (IU/ml)
Больные (подгруппа 1) Patients (subgroup 1) (n = 11)	253,4±30,2*#	43,6±11,5#
Больные (подгруппа 2) Patients (subgroup 2) (n = 14)	230,0±26,1#	38,9±12,7
Здоровые Control (n = 12)	178,2±25,0	30,2±3,3

Примечание. * – p < 0,05 – достоверная разница значений ЛЭ между 1 и 2 подгруппами больных;
– p < 0,001 – достоверная разница значений ЛЭ и α1-ПИ по сравнению с контролем.

Note. *, p < 0.05, significant difference in the leukocyte elastase values between subgroup 1 and subgroup 2; #, p < 0.001, a significant difference in leukocyte elastase and α1-PI values in compared to the control group.

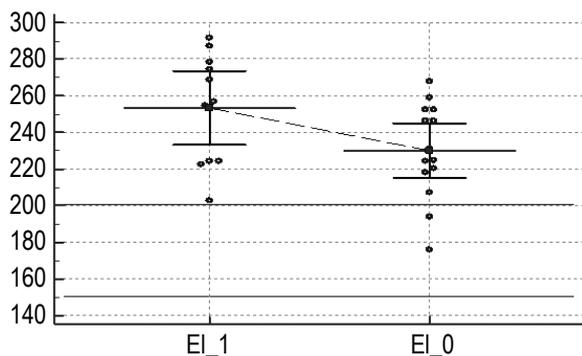


Рисунок 3. Распределение больных по активности ЛЭ в подгруппах с разным уровнем CD14⁺/CD16⁺ моноцитов
Примечание. Распределение больных по уровню ЛЭ: EI_1 – в подгруппе 1; EI_0 – в подгруппе 2; горизонтальными линиями обозначены верхняя и нижняя границы активности ЛЭ в контрольной группе.

Figure 3. Distribution of patients according to the activity of le in subgroup with different level of CD14⁺/CD16⁺ monocytes
Note. Distribution of patients according to leukocyte elastase level: EI_1, in the subgroup 1; EI_0, in a subgroup 2; the horizontal lines indicate upper and lower limits of leukocyte elastase activity in the control group.

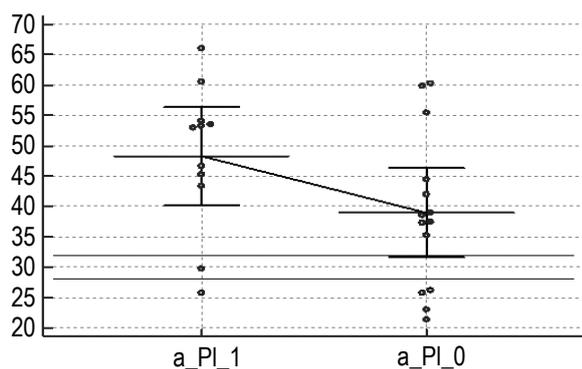


Рисунок 4. Распределение больных по активности α1-ПИ в подгруппах с разным уровнем CD14⁺/CD16⁺ моноцитов

Примечание. Распределение больных по уровню α1-ПИ в подгруппе 1 (a_PI_1) и в подгруппе 2 (PI_0); горизонтальными линиями обозначены верхняя и нижняя границы активности α1-ПИ в контрольной группе.

Figure 3. Distribution of patients according to the activity of α1-PI in subgroups with different level of CD14⁺/CD16⁺ monocytes
Note. Distribution of patients according to α1-PI level in the subgroup 1 (a_PI_1) and in the subgroup 2 (a_PI_0); the horizontal lines indicate upper and lower limits of α1-PI level activity in the control group.

лись выше верхней границы значения показателя в контроле, равного 203 нмоль/мин/мл.

Как видно из рисунка 4, распределение больных по уровню активности α1-ПИ в 2-х подгруппах больных: a_PI_1 (подгруппа 1) и a_PI_0 (подгруппа 2) существенно не различалось между собой. Однако в подгруппе 1 пропорция больных

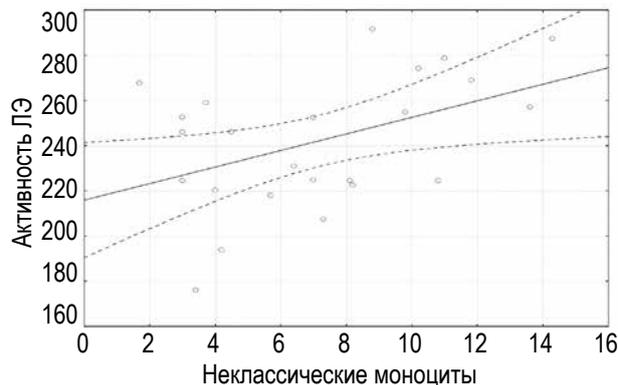


Рисунок 5. Корреляция по Pearson's между активностью ЛЭ и уровнем провоспалительных CD14⁺/CD16⁺ моноцитов в общей группе больных

Примечание. Коэффициент корреляции Пирсона – $r = 0,45$; 95% доверительный интервал для r – от 0,056 до 0,72; уровень достоверности – $p = 0,028$.

Figure 5. Pearson's correlation between leukocyte elastase activity and the level of pro-inflammatory monocytes CD14⁺/CD16⁺ in the general group of patients

Note. Pearson's correlation coefficient is $r = 0.45$; 95% confidence interval for r , from 0.056 to 0.72; confidence level, $p = 0.028$.

со значением α1-ПИ, превышающем значение верхней границы нормы для этого показателя, равного 33,5 ИЕ/мл, была высокой и составляла 82%.

Для подтверждения обнаруженных зависимостей между изучаемыми показателями провели корреляционный анализ, который позволил выявить в общей группе больных положительную корреляционную связь между уровнем экспрессии провоспалительных CD14⁺/CD16⁺ моноцитов и активностью ЛЭ ($p < 0,05$). Полученная корреляционная кривая представлена на рисунке 5.

Обсуждение

У больных юношескими депрессиями с синдромом аттенуированных психотических симптомов впервые выявлено значительное повышение количества провоспалительных моноцитов с фенотипом CD14⁺/CD16⁺ по сравнению с их уровнем у здоровых. С нашей точки зрения, представленные результаты могут свидетельствовать о наличии скрытого иммунного воспаления у больных юношескими депрессиями, что согласуется с результатами, полученными в многочисленных исследованиях других системных заболеваний, в которых сообщается о значительном повышении у больных уровня провоспалительных моноцитов с фенотипом CD14⁺/CD16⁺ [13, 22, 24, 29, 26]. Следует отметить, что при моделировании скрытого иммунного воспаления в экспериментальных исследованиях, направленных на изучение механизмов изменения уровня

CD14⁺/CD16⁺ моноцитов, выявлено снижение уровня циркулирующих провоспалительных моноцитов у мышей, дефицитных по ЛЭ [28]. В связи с этим представлялось интересным изучить возможную связь между уровнем провоспалительных моноцитов CD14⁺/CD16⁺ и показателями иммунного воспаления: ЛЭ и ее ингибитором α 1-ПИ [2, 4, 5] у обследованных больных. Так как изученная группа больных была гетерогенной по количеству провоспалительных моноцитов, перед проведением анализа все больные были распределены дихотомически в две подгруппы по отношению к среднему уровню CD14⁺/CD16⁺ моноцитов в контроле. Это позволило выявить подгруппу больных, в которой уровень провоспалительных моноцитов CD14⁺/CD16⁺ был существенно выше (более чем в два раза) его значения в контроле. Во второй подгруппе больных количество моноцитов CD14⁺/CD16⁺ не отличалось от его контрольного значения. В результате проведенного анализа в подгруппе больных с высоким уровнем провоспалительных моноцитов CD14⁺/CD16⁺ был отмечен достоверно более высокий уровень активности показателей иммунного воспаления: ЛЭ и α 1-ПИ по сравнению с их значениями у здоровых. В подгруппе с нормальным уровнем моноцитов с фенотипом CD14⁺/CD16⁺ подобный эффект обнаружен не был. Следует добавить, что отмеченная статистически значимая связь между уровнем провоспалительных моноцитов CD14⁺/CD16⁺ и активностью ЛЭ была подтверждена выявлением в общей группе больных положительной корреляционной связи между этими показателями. Полученные результаты свидетельствуют о возможном взаимодействии моноцитов и нейтрофилов в развитии психопатологических расстройств у больных юношескими депрессиями,

а также согласуются с данными исследований, в которых показано, что повышение активности ЛЭ и α 1-ПИ у больных юношескими депрессиями связано с развитием иммунного воспаления при этой патологии [2, 4, 5].

Заключение

Таким образом, выявленное у обследованных нами больных с юношескими депрессиями с синдромом аттенуированных психотических симптомов существенное повышение количества провоспалительных моноцитов CD14⁺/CD16⁺ по сравнению с его значением в контроле свидетельствует о развитии скрытого системного иммунного воспаления в генезе психопатологических расстройств у этих больных уже на ранней стадии их проявления. Обнаруженная нами положительная связь между количеством моноцитов CD14⁺/CD16⁺ и уровнем лейкоцитарной эластазы подтверждает существование возможной взаимосвязи между моноцитами и нейтрофилами и, с нашей точки зрения, определяет один из механизмов развития нейроиммуновоспаления у больных с этой патологией.

Благодарности

Авторы выражают признательность и благодарность Марине Петровне Рыковой, доктору медицинских наук, ведущему научному сотруднику, и Антроповой Евгении Николаевне, кандидату биологических наук, ведущему научному сотруднику ГНЦ РФ «Института медико-биологических проблем» за помощь в разработке метода фенотипирования моноцитов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Яровая Г.А. Выявление лейкоцитарной эластазы человека из комплекса с плазменным α 1-протеиназным ингибитором по ее энзиматической активности с синтетическим субстратом // Вопросы медицинской химии, 1994. Т. 40, № 3. С. 20-25. [Dotsenko V.L., Neshkova E.A., Yarovaya G.A. Detection of human leukocyte elastase from the complex with a plasma α 1-proteinase inhibitor by its enzymatic activity with a synthetic substrate. *Voprosy meditsinskoy khimii = Problems of Medical Chemistry*, 1994, Vol. 40, no. 3, pp. 20-25. (In Russ.)]
2. Каледа В.Г., Ключник Т.П., Сарманова З.В., Отман И.Н., Дупин А.М. Корреляция клинических и иммунологических показателей при первом приступе юношеского эндогенного психоза // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2009. Т. 109, № 1. С. 16-19. [Kaleda V.G., Klyushnik T.P., Sarmanova Z.V., Otman I.N., Dupin A.M. Correlation of clinical and immunological parameters at the first attack of juvenile endogenous psychosis. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2009, Vol. 109, no. 1, pp. 16-19. (In Russ.)]
3. Кжышковска Ю.Г., Грачев А.Н. Маркеры моноцитов и макрофагов для диагностики иммунопатологий // Патогенез, 2012. Т. 10, № 1. С. 14-19. [Kzhyshkowska Yu.G., Gratchev A.N. [Monocyte and macrophage markers for diagnostics of immunopathologies. *Patogenez = Pathogenesis*, 2012. Vol. 10, no. 1. pp. 14-19. (In Russ.)]
4. Ключник Т.П., Зозуля С.А., Андросова Л.В., Сарманова З.В., Отман И.Н., Дупин А.М., Абрамова Л.И., Стояров С.А., Шипилова Е.С., Борисова О.А. Иммунологический мониторинг эндогенных при-

ступообразных психозов // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2014. Т. 114, № 2-1. С. 37-41. [Klyushnik T.P., Zozulya S.A., Androsova L.V., Sarmanova Z.V., Otman I.N., Dupin A.M., Abramova L.I., Stolyarov S.A., Shipilova E.S., Borisova O.A. Immunological monitoring of endogenous attack-like psychoses. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2014, Vol. 114, no. 2-1, pp. 37-41. (In Russ.)]

5. Ключник Т.П., Омельченко М.А., Сарманова З.В., Зозуля С.А., Отман И.Н., Дупин А.М., Каледа В.Г. Возможность использования иммунологических показателей для оценки риска манифестации эндогенных психозов у больных с непсихотическими расстройствами юношеского возраста // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2014. Т. 114, № 10-1. С. 97-101. [Klyushnik T.P., Omelchenko M.A., Sarmanova Z.V., Zozulya S.A., Otman I.N., Dupin A.M., Kaleda V.G. Possibilities of the use of immunological indicators for the assessment of the risk of manifestation of endogenous psychoses in patients with nonpsychotic disorders of the juvenile age. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2014, Vol. 114, no. 10-1, pp. 97-101. (In Russ.)]

6. Коляскина Г.И., Андросова Л.В., Секирина Т.П., Кушнер С.Г., Каледа В.Г. Система интерлейкинов у больных шизофренией // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2004. Т. 104, № 2. С. 43-47. [Kolyaskina G.I., Androsova L.V., Sekirina T.P., Kushner S.G., Kaleda V.G. The system of interleukins in patients with schizophrenia. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2004, Vol. 104, no. 2, pp. 43-47. (In Russ.)]

7. Коляскина Г.И., Секирина Т.П., Васильева Е.Ф., Кушнер С.Г., Петракова Л.Н., Бархатова А.Н., Омельченко М.А. Особенности иммунной системы и риск развития эндогенного психоза в юношеском возрасте // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2014. Т. 114, № 3-1. С. 46-49. [Kolyaskina G.I., Sekirina T.P., Vasilyeva E.F., Kushner S.G., Petrakova L.N., Barkhatova A.S., Omelchenko M.A. Features of the immune system and the risk of endogenous psychosis at juvenile age. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii imeni S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2014, Vol. 114, no. 3-1, pp. 46-49. (In Russ.)]

8. Костюкова А.Б., Мосолов С.Н. Нейровоспалительная гипотеза шизофрении и некоторые новые терапевтические подходы // Современная терапия психических расстройств, 2013. № 4. С. 8-17. [Kostyukova A.B., Mosolov S.N. Neuroinflammatory hypothesis of schizophrenia and new therapeutical approaches. *Sovremennaya terapiya psikhicheskikh rasstroystv = Modern Therapy for Mental Disorders*, 2013, no. 4, pp. 8-17. (In Russ.)]

9. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности альфа1-анти-трипсина и альфа2-макроглобулина активности в сыворотке крови человека (плазмы) // Вопросы медицинской химии, 1979. Т. 25, № 4. С. 494-499. [Nartikova V.F., Paschina T.S. A unified method for determination of the alpha1-antitrypsin activity and alpha2-macroglobulin activity in human blood serum (plasma). *Voprosy meditsinskoy khimii = Problems of Medical Chemistry*, 1979, Vol. 25, no. 4, pp. 494-499. (In Russ.)]

10. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект) // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 3. С. 255-268. [Khaidukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan Areg A. Standardized technology "Investigation of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorimeters-analyzers" (Project). *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 3, pp. 255-268. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-3-255-268.

11. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunology]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.

12. Akiyama Y., Miller P.J., Thurman G.B., Neubauer R.H., Oliver C., Favilla T., Beman J.A., Oldham R.K., Stevenson H.C. Characterization of a human blood monocyte subset with low peroxidase activity. *J. Clin. Invest.*, 1983, Vol. 72, pp. 1093-1105.

13. Belge K.U., Dayyani F., Horelt A., Siedlar M., Frankenberger M., Frankenberger B., Espevik T., Ziegler-Heitbrock L. The proinflammatory CD14⁺CD16⁺DR⁺⁺ monocytes are a major source of TNF. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 168, pp. 3536-3542.

14. Beumer W., Gibney S.M., Drexhage R.C., Pont-Lezica L., Doorduyn J., Klein H.C., Steiner J., Connor T.J., Harkin A., Versnel M.A., Drexhage H.A. The immune theory of psychiatric diseases: a key role for activated microglia and circulating monocytes. *J. Leukoc. Biol.*, 2012, Vol. 92, no. 5, pp. 959-975.

15. Capobianco A., Rovere-Querini P. Endometriosis, a disease of the macrophage. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, p. 9.

16. Eder C. Ion channels in monocytes and microglia/brain macrophages: promising therapeutic targets for neurological diseases. *J. Neuroimmunol.*, 2010, Vol. 224, no. 1-2, pp. 51-55.

17. Hansson G.K., Edfeldt K. Toll to be paid at the gateway to the vessel wall. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, Vol. 25, no. 6, pp. 1085-1087.

18. Lopez-Castejon G., Denes A., Brough D. NLRP3-inflammasome activating DAMPs stimulate an inflammatory response in glia in the absence of priming which contributes to rain inflammation after injury. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, p. 288.

19. Luider J.I., Cyfra M., Johnson P., Auer I. Impact of the new Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-color flow cytometer on a regional flow cytometry clinical laboratory service. *Lab. Hematol.*, 2004, Vol. 10, pp. 102-108.

20. Merino A., Buendia P., Martin-Malo A., Aljama P., Ramirez R., Carracedo J. Senescent CD14⁺CD16⁺ monocytes exhibit proinflammatory and proatherosclerotic activity. *J. Immunol.*, 2011, Vol. 186, no. 3, pp.1809-1815.
21. Randhawa A.K., Hawn T.R. Toll-like receptors: their roles in bacterial recognition and respiratory infections. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, 2008, Vol. 6, no. 4, pp. 479-495.
22. Rodríguez N., Morer A., González-Navarro E.A., Serra-Pages C., Boloc D., Torres T., García-Cerro S., Mas S., Gassó P., Lázaro L. Inflammatory dysregulation of monocytes in pediatric patients with obsessive-compulsive disorder. *J. Neuroinflammation*, 2017, Vol. 14, no. 1, p. 261.
23. Rubartelli A., Lotze M.T., Latz E., Manfredi A. Mechanisms of sterile inflammation. *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 4, p. 398.
24. Schlitt A., Heine G.H., Blankenberg S., Espinola-Klein C., Dopheide J.F., Bickel C., Lackner K.J., Iz M., Meyer J., Darius H., Rupprecht H.J. CD14⁺CD16⁺ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF-alpha levels. *Thromb. Haemost.*, 2004, Vol. 92, no. 2, pp. 419-424.
25. Smith R.S., Maes M. The macrophage-T-lymphocyte theory of schizophrenia: additional evidence. *Med. Hypotheses*, 1995, Vol. 45, pp. 135-141.
26. Thomas G., Tacke R., Hedrick C.C., Hanna R.N. Nonclassical patrolling monocyte function in vasculature. *Thromb. Haemost.*, 2015, Vol. 35, no. 6, pp. 1306-1315.
27. Tian X., Sun H., Casbon A.J., Lim E., Francis K.P., Hellman J., Prakash A. Inflammasome mediates dormant neutrophil recruitment following sterile lung injury and protects against subsequent bacterial pneumonia in mice. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 31, no. 8, p. 1337.
28. Wen G., An W., Chen J., Maguire E.M., Chen Q., Yang F., Pearce S.W.A., Kyriakides M., Zhang L., Ye S., Nourshargh S., Xiao Q. Genetic and pharmacologic inhibition of the neutrophil elastase inhibits experimental atherosclerosis. *J. Am Heart Assoc.*, 2018, Vol. 7, no. 4, pii: e008187. doi: 10.1161/JAHA.117.008187.
29. Zhu M., Lei L., Zhu Z., Li Q., Guo D., Xu J., Chen J., Sha H., Zhang X., Yang X., Song B., Li B., Yan Y., Xiong Y. Excess TNF- α in the blood activates monocytes with the potential to directly form cholesteryl ester-laden cells. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*, 2015, Vol. 47, no. 11, pp. 899-907.
30. Ziegler-Heitbrock L. The CD14⁺CD16⁺ blood monocytes: their role in infection and inflammation. *J. Leukoc. Biol.*, 2007, Vol. 81, no. 3, pp. 584-592.

Авторы:

Васильева Е.Ф. — к.б.н., старший научный сотрудник
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»,
Москва, Россия

Секирина Т.П. — к.б.н., ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»,
Москва, Россия

Сарманова З.В. — к.м.н., научный сотрудник ФГБНУ
«Научный центр психического здоровья», Москва,
Россия

Authors:

Vasilyeva E.F., PhD (Biology), Senior Research Associate,
Mental Health Research Center, Moscow, Russia Federation

Sekirina T.P., PhD (Biology), Leading Research Associate,
Mental Health Research Center, Moscow, Russia Federation

Sarmanova Z.V., PhD (Medicine), Research Associate, Mental
Health Research Center, Moscow, Russia Federation

Зозуля С.А. — к.б.н., ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»,
Москва, Россия

Zozulya S.A., PhD (Biology), Leading Research Associate,
Mental Health Research Center, Moscow, Russia Federation

Омельченко М.А. — к.м.н., ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»,
Москва, Россия

Omelchenko M.A., PhD (Medicine), Leading Research
Associate, Mental Health Research Center, Moscow, Russia
Federation

Клюшник Т.П. — профессор, директор ФГБНУ
«Научный центр психического здоровья» ФГБНУ
«Научный центр психического здоровья», Москва,
Россия

Klushnik T.P., Professor, Director, Mental Health Research
Center, Moscow, Russia Federation

Поступила 30.06.2018

Отправлена на доработку 19.09.2018

Принята к печати 24.09.2018

Received 30.06.2018

Revision received 19.09.2018

Accepted 24.09.2018