

КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ СЫВОРОТКИ КРОВИ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Андросова Л.В.¹, Симонов А.Н.¹, Пономарева Н.В.², Ключник Т.П.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

² ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Резюме. Определение воспалительных маркеров в крови условно здоровых людей представляет интерес в связи с возможностью выявления заболеваний на ранних (доклинических) стадиях, а также скрытых форм патологических процессов. Уровень воспаления может служить дополнительным критерием при формировании контрольных групп в клинических и биологических исследованиях.

Цель исследования – определить некоторые воспалительные и аутоиммунные маркеры в группе условно здоровых людей и провести кластерный анализ полученных данных.

Обследовано 100 условно здоровых людей (без клинических признаков инфекций, соматических, неврологических или психических заболеваний) в возрасте от 19 до 88 лет. В сыворотке крови определяли уровни IL-10, TNF α , IL-6 и аутоантител к S100b и ОБМ с помощью ELISA, спектрофотометрически определяли ферментативную активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) и функциональную активность α 1-протеиназного ингибитора (α 1-ПИ). Протеазно-ингибиторный индекс (ПИИ) рассчитывали как отношение ЛЭ к α 1-ПИ. В качестве основного подхода для статистической обработки данных использовали кластерный анализ, а также метод Шапиро–Уилка, Краскела–Уоллиса и ANOVA.

Все обследуемые по иммунологическим показателям были разделены на три кластера. Выделенные кластеры статистически значимо отличались друг от друга по активности ЛЭ, протеазно-ингибиторному индексу (ПИИ) и уровню IL-10 и TNF α .

Показатели одного из этих кластеров (43% обследованных) в наибольшей степени приближены к средним показателям, определенным для общей выборки, что дает основание рассматривать иммунные показатели этого кластера как нормативные, соответствующие «фоновому» состоянию иммунитета у здоровых людей.

Сочетание иммунологических показателей двух других кластеров (30 и 27% обследуемых, соответственно) отражает различные варианты воспалительных реакций. Эти кластеры характеризуются разнонаправленными изменениями активности ЛЭ и протеазно-ингибиторного индекса, относительно нормативных значений, что может свидетельствовать о различных вариантах латентной воспалительной реактивности, реализующейся у пациентов, составивших эти кластеры.

Полученные кластеры не различались по возрасту исследуемых ($p = 0,3476$), что позволяет исключить значимое влияние возраста на определяемые иммунные показатели, и по гендерным признакам ($p = 0,7233$). Выделенные кластеры статистически не различались по функциональной активности α 1-ПИ и по уровню аутоантител к нейроспецифическому белку S100b и ОБМ.

Адрес для переписки:

Андросова Любовь Васильевна
ФГБНУ «Научный центр психического здоровья»
115522, Россия, Москва, Каширское ш., 34.
Тел.: 8 (903) 261-14-30.
E-mail: androsL@mail.ru

Address for correspondence:

Androsova Lyubov V.
Mental Health Research Center
115522, Russian Federation, Moscow,
Kashirskoye highway, 34.
Phone: 7 (903) 261-14-30.
E-mail: androsL@mail.ru

Образец цитирования:

Л.В. Андросова, А.Н. Симонов, Н.В. Пономарева,
Т.П. Ключник «Кластерный анализ маркеров
воспаления сыворотки крови условно здоровых
людей» // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 2.
С. 293–302.
doi: 10.15789/1563-0625-CAO-2134

© Андросова Л.В. и соавт., 2021

For citation:

L.V. Androsova, A.N. Simonov, N.V. Ponomareva,
T.P. Klyushnik "Cluster analysis of blood serum inflammation
markers of conditionally healthy people", *Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2021, Vol. 23, no. 2,
pp. 293–302.
doi: 10.15789/1563-0625-CAO-2134

DOI: 10.15789/1563-0625-CAO-2134

Таким образом, группа условно здоровых людей неоднородна по маркерам воспаления. Воспалительные реакции различной степени выраженности выявлялись примерно в половине случаев. Вероятно, это может указывать на наличие скрытого патологического процесса и требует подробного клинического обследования.

Ключевые слова: условно здоровые люди, маркеры воспаления, кластерный анализ

CLUSTER ANALYSIS OF BLOOD SERUM INFLAMMATION MARKERS OF CONDITIONALLY HEALTHY PEOPLE

Androsova L.V.^a, Simonov A.N.^a, Ponomareva N.V.^b, Klyushnik T.P.^a

^a Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

^b Research Center of Neurology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Determination of inflammatory markers in blood of conventionally healthy people is of interest due to opportunity of detecting diseases at early (preclinical) stages, as well as latent forms of pathological processes. The level of inflammation may serve as an additional criterion to forming control groups in clinical and biological studies. The aim of the study is to identify some inflammatory and autoimmune markers in a group of conventionally healthy people and to conduct a cluster analysis of the data obtained. The study involved 100 apparently healthy people (without clinical signs of infections, somatic, neurological or mental diseases) aged 19 to 88 years. The levels of IL-10, TNF α , IL-6 and autoantibodies to S100b and MBP were determined in blood serum using ELISA. Enzymatic activity of leukocyte elastase (LE) and functional activity of the α 1-proteinase inhibitor (α 1-PI) were determined spectrophotometrically. Protease inhibitory index (PII) was calculated as the ratio of LE to α 1-PI. Cluster analysis, as well as the Shapiro–Wilk, Kruskal–Wallis, and ANOVA methods were used as the main approach to statistical data processing. All the subjects were divided into three clusters, according to their immunological parameters. The selected clusters were statistically significantly different from each other, in terms of LE activity, protease-inhibitory index (PII), as well as IL-10 and TNF α levels. The indices of a distinct cluster (43% of total cohort) are most close to average indices assessed for the general sample, which gives ground to consider the values of immune indicators from this cluster as physiological norm, corresponding to the background immunity state in healthy people. Combination of immunological parameters in two other clusters (30 and 27% of the subjects, respectively) may reflect different variants of inflammatory reactions. These clusters are characterized by multidirectional changes in LE activity and protease-inhibitory index, compared to the standard values, thus suggestive for different variants of latent inflammatory reactivity, which are realized in the patients presented in these clusters. The obtained clusters did not differ by age of the subjects ($p = 0.3476$), which makes it possible to exclude a significant influence of age on the determined immune parameters, and by gender characteristics ($p = 0.7233$). The selected clusters did not differ statistically in the functional activity of α 1-PI and in the level of autoantibodies to S100b and MBP.

Thus, the group of conditionally healthy people is heterogeneous in terms of inflammation markers. Inflammatory reactions of varying severity were detected in about half of the cases. Probably, this may indicate the presence of a latent pathological process and requires a detailed clinical examination.

Keywords: conditionally healthy people, markers of inflammation, cluster analysis

Исследование выполнено в рамках финансирования темы НИР АААА-А18-118041990026-5 по программе Президиума РАН №44 «Фундаментальные механизмы возрастной нейропластичности и разработка новых подходов к диагностике и лечению возраст-зависимых заболеваний мозга».

Введение

С современных позиций воспаление рассматривается как универсальная реакция организма на различные повреждающие воздействия. При воспалении микробного происхождения

оно играет ограничительную роль и направлено на гибель/элиминацию инфекционного агента. При «стерильном воспалении», когда внешний инфекционный агент отсутствует, повреждение вызывается продуктами деструкции собственных тканей организма. Исследования последних лет показали, что инфекционное воспаление, вызываемое микроорганизмами, в последующем часто становится стерильным, т.е. протекает без выявления вызвавшего его микроорганизма. Примером могут служить синдром системного воспалительного ответа (ССВО) как результат сепсиса; гломерулонефрит, пиурия, эндометриоз, хрони-

ческая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), саркоидоз и др. [13].

Хроническое стерильное воспаление рассматривается как основа прогрессирования многих системных заболеваний человека, протекающих без микробного компонента. Показано, что хроническое стерильное воспаление ассоциировано с нейродегенеративными, неврологическими и психическими заболеваниями, сахарным диабетом 2-го типа, некоторыми видами опухолей, ожирением, атеросклерозом и др. [7, 16, 17, 20].

Развитие воспаления является функцией врожденного иммунитета. В качестве индукторов воспаления выступают либо патоген-ассоциированные молекулярные паттерны – PAMPs (pathogen-associated molecular patterns), либо молекулярные паттерны, ассоциированные с повреждением – DAMPs (damage-associated molecular patterns). PAMPs представляют собой стереотипные и консервативные в эволюции молекулы микроорганизмов, присущие одновременно большому систематическим группам микробов (липид А липополисахаридов, липотейхоевые кислоты, пептидогликаны, остатки D-маннозы и L-фукозы, формилметиониловые пептиды, флагеллин, двуспиральные и односпиральные РНК вирусов). DAMPs включают в себя внутриклеточные белковые молекулы или их фрагменты, белки внеклеточного матрикса, различные небелковые компоненты, образующиеся при деструкции тканей организма (белки теплового шока, фрагменты гиалуронаны, МНС – ассоциированные белки (белки главного комплекса гистосовместимости), актин цитоскелета, нуклеопротеины, бета-амилоид, внеклеточный АТФ, мочевиная кислота, сульфат гепарина, ДНК и др). Молекулы-индукторы распознаются образ-распознающими рецепторами (pattern recognition receptors, PRR), следствием чего является синтез провоспалительных цитокинов и запуск воспалительных реакций [10, 13, 19].

В связи с универсальным характером воспалительных реакций и их активацией в ответ на разнообразные механические и физические раздражители, представляет значительный интерес определение воспалительных маркеров в крови условно здоровых людей. Этот вопрос имеет медицинский аспект, связанный, в частности, с потенциальной возможностью выявления заболеваний на ранних (доклинических) этапах, а также латентных, скрытых форм течения патологических процессов. Помимо этого, уровень воспаления, предположительно, может служить дополнительным критерием при формировании контрольных групп в клинико-биологических исследованиях, ставящих своей целью сравнение различных биологических параметров в норме и при патологических состояниях.

В связи с вышесказанным **целью настоящего исследования** явилось определение ряда воспалительных и аутоиммунных маркеров в группе условно здоровых людей и проведение кластерного анализа совокупности полученных иммунологических показателей. Определялась концентрация цитокинов – TNF α , IL-6, IL-10, энзиматическая активность протеолитического фермента лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) – маркера активации нейтрофилов, функциональная активность его ингибитора – α 1-протеиназного ингибитора (α 1-ПИ), а также уровень аутоантител к антигенам S100b и основному белку миелина (ОБМ).

Выбор указанных воспалительных маркеров определялся тем, что участие цитокинов и нейтрофилов является общей характеристикой инфекционного и стерильного воспаления, а уровень аутоантител к антигенам S100b и ОБМ характеризует активацию приобретенного (специфического звена) иммунитета. Цитокины, являясь типичными индуцибельными медиаторами, регулирующими развитие системных и местных воспалительных реакций с участием различных типов иммунных клеток, осуществляют также связь неспецифических (врожденных) и специфических (приобретенных) иммунных реакций [14]. Циркулирующие в кровотоке цитокины инициируют процесс воспаления и стимулируют секрецию белков острой фазы; активация нейтрофилов и повышение энзиматической активности их протеолитических ферментов, в первую очередь, лейкоцитарной эластазы (ЛЭ), является важнейшей составляющей воспалительных реакций. В качестве ингибитора ЛЭ выступает острофазный белок – альфа-1 протеазный ингибитор, синтезируемый печенью. Показано, что соотношение протеаз и их ингибиторов в значительной мере определяет течение и исход воспалительной реакции [3, 12].

Материалы и методы

Обследованы 100 условно здоровых людей в возрасте от 19 до 88 лет (средний возраст $45,9 \pm 17,9$ лет, 41 мужчин и 59 женщин) в ФГБНУ «Научном центре неврологии», где они проходили неврологическое и ЭЭГ обследование. Критериями исключения было наличие неврологической или психической патологии, включая сердечно-сосудистые, эндогенные заболевания, эпилепсию, наличие психиатрических или неврологических заболеваний в анамнезе, а также острой воспалительной, или аутоиммунной патологии, выявленной в течение 1-2-х месяцев, предшествующих обследованию.

Иммунологические показатели определяли в сыворотке периферической крови, забор которой осуществляли из вены в сухую пробирку в тот

же день, когда проводилось нейрофизиологическое обследование. Форменные элементы осаждали центрифугированием при 750 g в течение 15 минут при 22 °С, затем отбирали сыворотку, которая использовалась для анализа либо сразу после получения, либо хранилась при +2 – +8 °С не более суток или в замороженном состоянии при температуре от -18 до -24 °С в течение месяца до проведения анализа.

Интерлейкины: IL-10 (пг/мл), TNF α (пг/мл), IL-6 (пг/мл) определяли иммуноферментным методом с использованием наборов АО «Вектор-Бест».

Энзиматическую активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ) определяли ферментативным спектрофотометрическим методом с использованием специфического субстрата N-tert-бутокси-карбонил-аланин- β -нитрофенилового эфира (BOC-Ala-ONp), и оценивали в нмоль/мин \times мл (чувствительность метода 40 нмоль/мин \times мл) [5].

Функциональную активность α 1-протеазного ингибитора (α 1-ПИ) определяли спектрофотометрическим методом и оценивали в ИЕ/мл (ингибиторные единицы/мл) (чувствительность метода 5 ИЕ/мл) [11].

Вычислялся также протеазно-ингибиторный индекс (ПИИ), представляющий собой соотношение активности ЛЭ к функциональной активности α 1-ПИ, характеризующий направленность воспалительного процесса.

Уровень аутоантител (аАТ) к нейроантигенам S100b и основному белку миелина (ОБМ) в сыворотке крови определяли методом стандартного твердофазного иммуноферментного анализа (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA) и оценивали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл).

Выбранные иммунные показатели характеризуют состояние как клеточного, так и гуморального звена иммунитета

Статистическая обработка

В качестве основного подхода использовали кластерный анализ, а также метод Шапиро–Уилка и проверка однородности распределений кластеров при помощи дисперсионного анализа (ДА) в случае нормального распределения, и по методу Краскела–Уоллиса для показателей имеющих отличное от нормального распределение. Использовали уровень достоверности: $p < 0,05$.

Кластерный анализ [6, 15, 18] представляет собой общее название множества математических методов (порядка 100), направленных на формирование отдаленных друг от друга групп относительно близких между собой объектов по данным о расстояниях или связях (мерах близости) между ними в ситуации, когда отсутствует априорная информация относительно принадлежности объектов к группам. Важное условие корректного

использования кластерного анализа состоит в том, что переменные или признаки (в данном исследовании – иммунологические показатели) должны измеряться в сравнимых шкалах. Из-за неоднородности единиц измерения признаков становится невозможно корректно рассчитать расстояния между точками. Эта проблема решается при помощи предварительной стандартизации переменных. Наиболее распространенный способ стандартизации – вычисление Z-вклада или стандартизованного вклада по формуле 1.

$$Z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{\sigma}, \quad (1)$$

где x_i – значение данного наблюдения; \bar{x} – среднее; σ – стандартное отклонение.

В данном исследовании использовали два метода кластеризации: иерархический агломеративный метод, результаты которого оформлены в виде дендограммы и итеративный алгоритм k-средних. Для оценки числа кластеров в выборке здоровых людей использовали пакет NbClust(...) из статистической программы R.

В качестве классифицирующих признаков использовали определяемые маркеры воспаления (энзиматическую активность ЛЭ, функциональную активность α 1-ПИ, протеазно-ингибиторный индекс (ПИИ)), уровень аАТ к S100b и ОБМ, а также возраст обследуемых.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены средние показатели анализируемых иммунных маркеров для группы условно здоровых людей. Принимая во внимание репрезентативность выборки ($n = 100$), эти показатели, вероятно, следует рассматривать как нормативные. Вместе с тем, обращает внимание широкий разброс значений определяемых иммунных маркеров и наличие значений, выходящих за пределы нормативного диапазона (среднее \pm стандартное отклонение).

Широкий разброс полученных данных послужил основанием для проведения кластерного анализа. Возраст обследуемых был также включен в качестве кластеризующего признака в связи с тем, что этот показатель может оказывать влияние на уровень иммунных маркеров.

Поскольку экспериментальные иммунологические параметры существенно отличаются по измерительным шкалам, предварительно они были стандартизованы в соответствии с формулой 1.

Кластерный анализ воспалительных маркеров здоровых людей

Оценка числа кластеров при помощи пакета NbClust() показала, что наиболее вероятное число кластеров равно 3.

ТАБЛИЦА 1. ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ В ОБЩЕЙ ГРУППЕ УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ (СРЕДНЕЕ ± СТАНДАРТНОЕ ОТКЛОНЕНИЕ; МИНИМУМ-МАКСИМУМ)

TABLE 1. IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN THE GENERAL GROUP OF CONDITIONALLY HEALTHY PEOPLE (M±SD; min-max)

Иммунологические параметры Immunological parameters	Общая группа Total group (n = 100)
Активность ЛЭ, нмоль/мин × мл LE activity, nmol/min × ml	231,8±49,2 136-347,8
Функциональная активность α1-ПИ, ИЕ/мл Functional activity of α1-PI, IU/ml	39,4±9,8 11,2-62,1
ПИИ PII	6,36±2,8 2,88-24,49
аАТ к S100b, ед. опт. пл aAB to S100b, unit of OD	0,76±0,19 0,40-1,35
аАТ к ОБМ, ед. опт. пл aAB to MBP, unit of OD	0,79±0,18 0,4-1,34
TNFα, пг/мл TNFα, pg/ml (n = 92)	7,3±21,3 0,0-175,0
IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml (n = 87)	2,86±6,09 0,0-55,1
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml (n = 91)	4,01±7,04 0,0-49,5

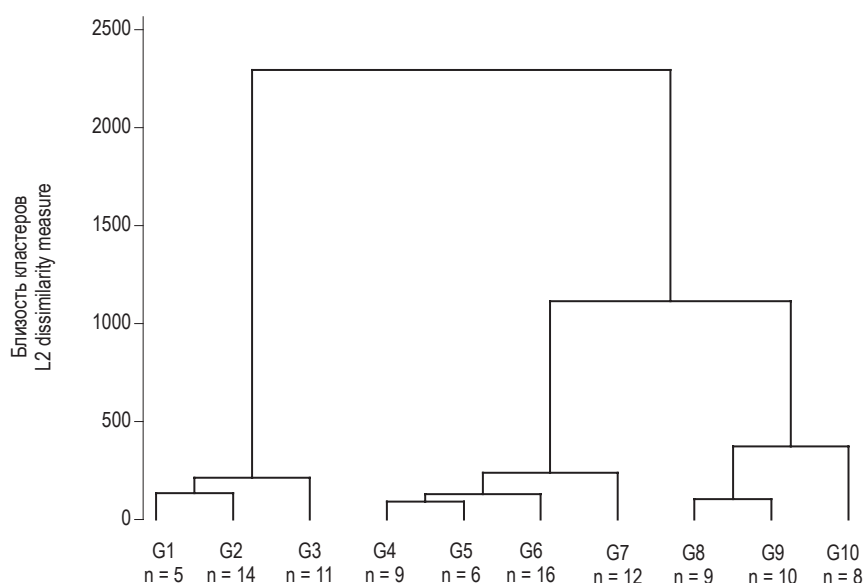


Рисунок 1. Дендрограмма иерархической классификации условно здоровых людей

Примечание. По оси абсцисс – объединяемые объекты, по оси ординат – близость кластеров.

Figure 1. Dendrogram of hierarchical classification of conditionally healthy people

Note. On the abscissus axis-the objects to join, on the ordinate axis-the proximity of clusters.

На рисунке 1 представлена дендрограмма, которая показывает степень близости кластеров по иммунологическим показателям, а также наглядно демонстрирует в графическом виде последовательность их объединения (снизу вверх).

Количество уровней дендрограммы соответствует числу шагов слияния кластеров. Дендрограмма показывает все кластеры, созданные в процессе работы алгоритма кластеризации, а также их вложенность относительно друг друга.

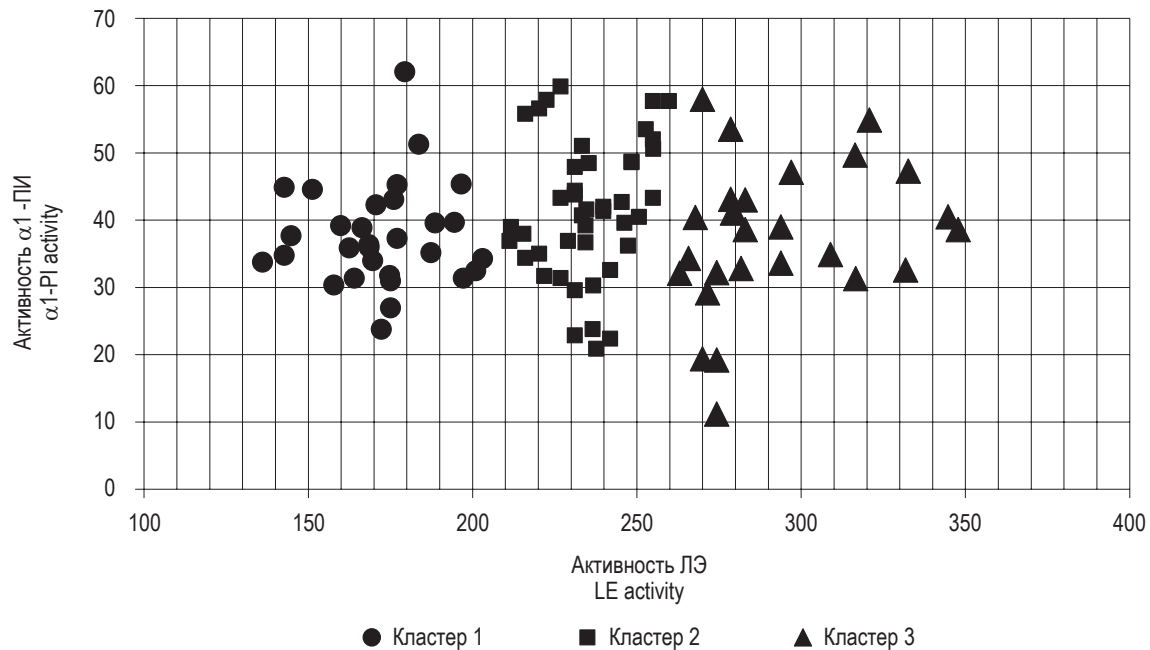


Рисунок 2. Распределение кластеров в координатах активности ЛЭ и α 1-ПИ

Примечание. По оси абсцисс – активность ЛЭ в нмоль/мин*мл, по оси ординат – функциональная активность α 1-ПИ в ИЕ/мл. ● – кластер 1, ■ – кластер 2, ▲ – кластер 3.

Figure 2. Distribution of clusters in the coordinates of LE and α 1-Pi activity

Note. On the abscissa, LE activity in nmol/min*ml; on the ordinate axis, functional activity of α 1-Pi in IU/ml. ●, cluster 1; ■, cluster 2; ▲, cluster 3.

На рисунке 2 приведена диаграмма распределения полученных кластеров (1, 2 и 3) в пространстве показателей ЛЭ и α 1-ПИ. Эта двумерная диаграмма, как пример, наилучшим образом отображает полученные кластеры.

Приведенные рисунки свидетельствуют, что выборка условно здоровых людей по совокупности иммунологических показателей отчетливо разделяется на три кластера (рис. 2).

В таблице 2 приведены основные статистические характеристики кластеров, результаты проверки нормальности распределений (метод Шапиро–Уилка) и проверка однородности распределений кластеров при помощи дисперсионного анализа (ДА) – в случае нормального распределения (ЛЭ, α 1-ПИ и ОБМ) и по методу Краскала–Уоллиса – для показателей, имеющих отличное от нормального распределение (S100b, ПИИ, IL-10, TNF α и IL-6).

Обсуждение

Из приведенных в таблице данных следует, что такие иммунные показатели, как активность ЛЭ, протеазно-ингибиторный индекс, уровень IL-10 и TNF α статистически значимо различаются в полученных кластерах. При этом показатели второго кластера в наибольшей степени приближены к средним показателям, определенным для общей

выборки (таблица 1), что дает основание рассматривать именно иммунные показатели этого кластера как нормативные, соответствующие «фоновому» состоянию иммунитета у здоровых людей. Этот кластер составили 43 обследованных. Отметим, что несмотря на широкий диапазон возраста в общей группе обследованных, полученные кластеры не различались по этому параметру (Kruskal–Wallis test: $H(2, N = 100) = 2,113621$, $p = 0,3476$), что позволяет исключить значимое влияние возраста (в рамках указанного диапазона) на определяемые иммунные показатели. Эти группы не отличались по гендерным признакам (Kruskal–Wallis test: $H(2, N = 100) = 0,6478717$, $p = 0,7233$). Выделенные кластеры статистически не различались также по функциональной активности α 1-ПИ и по уровню аутоантител к антигенам S100b и ОБМ.

При анализе иммунологических показателей двух других кластеров (первого и третьего) можно предположить, что их совокупность отражает иммунную дисрегуляцию и наличие латентных воспалительных реакций. Основанием для такого предположения служат изменения в активности ЛЭ, дисбаланс в протеазно-ингибиторной системе, а также отклонения в уровне некоторых цитокинов.

Наиболее яркие различия полученных кластеров касаются энзиматической активности ЛЭ,

ТАБЛИЦА 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ КЛАСТЕРОВ

TABLE 2. CLUSTER CHARACTERISTICS

Показатели Parameters	Активность ЛЭ, нмоль/мин × мл LE activity, nmol/min × ml	Активность α1-ПИ, ИЕ/мл Activity of α1-PI, IU/ml	аАТ к S100b, ед. опт. пл aAB to S100b, unit of OD	аАТ к ОБМ, ед. опт. пл aAB to MBP, unit of OD	ПИИ PII	IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	TNFα, пг/мл TNFα, pg/ml	IL-6, пг/мл IL-6, pg/ml
Кластер 1 / Cluster 1								
Среднее Mean	172,06	37,70	0,79	0,82	4,73	3,51	10,47	3,97
Медиана Median	173,45	36,20	0,74	0,76	4,65	0,00	2,60	0,00
Стандартное отклонение Standard deviation	17,71	7,59	0,21	0,19	1,03	9,68	32,91	10,29
Минимум Minimum	136,00	23,80	0,40	0,45	2,89	0,00	0,00	0,00
Максимум Maximum	203,00	62,10	1,35	1,30	7,24	49,50	175,00	55,10
Количество Number (n)	30	30	30	30	30	30	30	29
Кластер 2 / Cluster 2								
Среднее Mean	235,31	41,57	0,77	0,79	6,05	3,27	5,65	2,44
Медиана Median	234,40	41,40	0,75	0,78	5,72	0,00	3,35	3,10
Стандартное отклонение Standard deviation	12,86	10,25	0,18	0,18	1,77	4,76	11,01	1,71
Минимум Minimum	211,20	20,90	0,40	0,40	3,79	0,00	0,00	0,00
Максимум Maximum	259,80	59,90	1,08	1,34	11,37	16,60	60,60	5,40
Количество Number (n)	43	43	43	43	43	36	36	33
Кластер 3 / Cluster 3								
Среднее Mean	292,55	37,73	0,71	0,76	8,67	5,69	5,80	2,13
Медиана Median	281,70	38,60	0,67	0,68	7,75	4,40	2,80	3,00
Стандартное отклонение Standard deviation	25,46	10,78	0,18	0,18	3,87	5,98	14,59	1,85
Минимум Minimum	263,00	11,20	0,45	0,51	4,66	0,00	0,00	0,00
Максимум Maximum	347,80	58,00	1,22	1,12	24,49	17,20	74,90	4,70
Количество Number (n)	27	27	27	27	27	25	26	25
Шапиро–Уилка, p Shapiro–Wilk, p	0,12	0,33	0,02	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00
ДА, p ANOVA, p	0,00	0,15		0,40				
Kruskal–Wallis_prob			0,12		0,00	0,02	0,04	0,68

являющейся маркером активации нейтрофилов, а также соотношений в протеазно-ингибиторной системе, вовлеченной в развитие воспалительных реакций. Первый и третий кластеры характеризуются разнонаправленными изменениями активности ЛЭ и протеазно-ингибиторного индекса, относительно нормативных значений, что может свидетельствовать о различных вариантах латентной воспалительной реактивности, реализующейся у пациентов, составивших эти кластеры (30 и 27 человек соответственно). Необходимо отметить, что подобные изменения активности ЛЭ, а также ПИИ различной направленности по отношению к контролю, характеризуют различные этапы течения шизофрении, аффективных психозов, нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, Паркинсона, синдром мягкого когнитивного снижения и др.) [7, 8, 9], а также таких заболеваний как саркоидоз легких и хроническая сердечно-сосудистая недостаточность [2, 4].

Что касается цитокинов, их изменения не являются столь значительными для 1 и 3 кластеров по сравнению с нормативными и далеки от уровня, характерного для системных воспалительных реакций [13, 14]. Помимо этого, даже в рамках выделенных кластеров отмечается широкая вариабельность их значений. Вероятно, это связано с низким содержанием цитокинов в сыворотке крови, а также значительными методическими сложностями их определения иммуноферментными методами. Так, сыворотка крови здоровых людей может содержать гетерофильные антитела, способные перекрестно связываться с компонентами иммуноферментной системы, способствуя ложноположительным реакциям, а также ингибиторные молекулы [1].

Заключение

Таким образом можно заключить, что обследованная в настоящей работе группа условно здоровых людей является неоднородной по уровню ряда анализируемых воспалительных маркеров. С помощью кластерного анализа она разделяется на три подгруппы (кластера), значительно различающиеся по активности ЛЭ, протеазно-ингибиторному индексу и концентрации некоторых цитокинов. Один из этих кластеров, в который входит 43% обследованных, может быть определен как оптимальный для иммунологической нормы. Иммунологические показатели этого кластера характеризуют физиологическое, «фоновое» состояние иммунитета. Совокупность иммунологических показателей двух других кластеров позволяет предположить наличие у лиц, составивших эти кластеры (30 и 27 человек соответственно), различных вариантов латентных воспалительных реакций. Эти варианты определяются разнонаправленными изменениями активности ЛЭ и ПИИ по отношению к соответствующим нормативным показателям. Результаты исследования свидетельствуют, что эти иммунные показатели, характеризующие преимущественно активацию нейтрофилов, могут являться наиболее значимыми для детекции возможных латентных воспалительных реакций.

Благодарности

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов и выражают благодарность научному сотруднику ФГБНУ НЦПЗ И.Н. Отман за постановку иммуноферментного анализа по определению аутоантител к S-100b и ОБМ.

Список литературы / References

1. Арсентьева Н.А., Тотолян Арег А. Методические сложности при определении содержания некоторых цитокинов в периферической крови практически здоровых лиц // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 5. С. 763-774. [Arsentieva N.A., Totolian Areg A. Methodological issues of determining concentrations of some cytokines in peripheral blood from healthy individuals. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 5, pp. 763-774. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-763-774.
2. Белова Л.А., Арабидзе Г.Г., Кухарчук В.В., Чихладзе Н.М., Огородникова О.Г., Шапкина Л.С. Активность химотрипсиноподобных протеиназ у больных ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией, неспецифическим аортоартериитом // Терапевтический архив, 2000. № 11. С. 36-39. [Belova L.A., Arabidze G.G., Kukharchuk V.V., Chikhladze N.M., Ogorodnikova O.G., Shapkina L.S. Activity of chymotrypsin-like proteinases in patients with ischemic heart disease, arterial hypertension, nonspecific aortoarteritis. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*, 2000, no. 11, pp. 36-39. (In Russ.)]
3. Белова Л.А., Оглоблина О.Г., Саталкин А.А., Дюгеев А.Н., Фомин М.Д., Кашина Л.Г., Кухарчук В.В. Дисбаланс протеиназно-ингибиторной системы при акушерском сепсисе и септическом шоке // Клиническая лабораторная диагностика, 2003. № 7. С. 13-16. [Belova L.A., Ogloblin O.G., Satalkin A.A., Dugeev A.N., Fomin M.D., Kashina L.G., Kukharchuk V.V. Imbalance of the proteinase-inhibitory system in obstetric sepsis and septic shock. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2003, no. 7, pp 13-16. (In Russ.)]

4. Волель Б., Макух Е., Лебедева М., Попова Е., Шоломова В., Андросова Л., Мухин Н., Бекетов В., Бровко М., Ключник Т., Клинико-лабораторные маркеры астенического синдрома у больных саркоидозом // Врач, 2016. № 7. С. 74-76. [Volel B., Makukh E., Lebedeva M., Popova E., Sholomova V., Androsova L., Mukhin N., Beketov V., Brovko M., Klyushnik T. Clinical and laboratory markers of asthenic syndrome in patients with sarcoidosis. *Vrach = Doctor*, 2016, no. 7, pp. 74-76. (In Russ.)]
5. 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 leukocyte elastase from complex with 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.)]
6. Дюран Б., Оделл П. Кластерный анализ. Пер. с англ. М.: Статистика, 1977. 128 с. [Dyuran B., Odell P. Cluster Analysis]. Moscow: Statistika, 1977. 128 p.
7. Ключник Т.П., Андросова Л.В., Михайлова Н.М., Колыхалов И.В., Зозуля С.А., Дупин А.М. Системные воспалительные маркеры при возрастном когнитивном снижении и болезни Альцгеймера // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, 2017. Т. 117, № 7. С. 74-79. [Klyushnik T.P., Androsova L.V., Mikhailova N.M., Kolykhalov I.V., Zozulya S.A., Dupin A.M. Systemic inflammatory markers in age-related cognitive decline and Alzheimer's disease. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*, 2017, Vol. 117, no. 7, pp. 74-79. (In Russ.)]
8. Ключник Т.П., Андросова Л.В., Зозуля С.А., Отман И.Н., Никитина В.Б., Ветлугина Т.П. Сравнительный анализ воспалительных маркеров при эндогенных и непсихотических психических расстройствах // Сибирский вестник психиатрии и наркологии, 2018. Т. 2, № 99. С. 64-69. [Klyushnik T.P., Androsova L.V., Zozulya S.A., Otman I.N., Nikitina V.B., Vetlugina T.P. Comparative analysis of inflammatory markers in endogenous and non-psychotic mental disorders. *Sibirskiy vestnik psikiatrii i narkologii = Siberian Bulletin of Psychiatry and Narcology*, 2018, Vol. 2, no. 99, pp. 64-69. (In Russ.)]
9. Ключник Т.П., Симонов А.Н., Андросова Л.В., Пономарева Н.В., Иллариошкин С.Н. Кластерный анализ иммунологических показателей сыворотки крови пациентов с болезнью Паркинсона // Анналы клинической и экспериментальной неврологии, 2019. Т. 13, № 3. С. 5-10. [Klyushnik T.P., Simonov A.N., Androsova L.V., Ponomareva N.V., Illarioshkin S.N. Cluster analysis of immunological serum markers in patients with Parkinson's disease. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy nevrologii = Annals of Clinical and Experimental Neurology*, 2019, Vol. 13, no. 3, pp. 5-10. (In Russ.)]
10. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунология образраспознающих рецепторов (Интегральная иммунология). М.: Либроком, 2009. 256 с. [Lebedev K.A., Ponyakina I.D. Immunology of the image recognition receptors (Integral immunology)]. Moscow: Librokom, 2009. 256 p.
11. Нартикова В.Ф., Пасхина Т.С. Унифицированный метод определения активности альфа-1-антитрипсина и альфа-2-макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // Вопросы медицинской химии, 1979. Т. 25, № 4. С. 494-499. [Nartikova V.F., Pashkina T.S. A unified method for determining the alpha-1-antitrypsin and alpha-2-macroglobulin activity in human blood serum (plasma). *Voprosy meditsinskoy khimii = Problems of Medical Chemistry*, 1979, Vol. 25, no. 4, pp. 494-499. (In Russ.)]
12. Парамонова Н.С., Гурина Л.Н., Волкова О.А., Карчевский А.А., Синица Л.Н. Состояние эластаза-ингибиторной системы у детей в норме и при отдельных патологических состояниях: монография. Под ред. Н.С. Парамоновой. Гродно: ГРГМУ, 2017. 132 с. [Paramonova N.S., Gurina L.N., Volkova O.A., Karchevsky A.A., Sinitza L.N. The state of the elastase-inhibitory system in children is normal and in certain pathological conditions: Monograph. Ed. N.S. Paramonova.] Grodno: State Medical University, 2017. 132 p.
13. Поташнев М.П. Иммунные механизмы стерильного воспаления // Иммунология, 2015. Т. 36, № 5. С. 312-318. [Potapnev M.P. Immune mechanisms of sterile inflammation. *Immunologiya = Immunologiya*, 2015, Vol. 36, no. 5, pp. 312-318. (In Russ.)]
14. Симбирцев А.С., Тотолян А.А. Цитокины в лабораторной диагностике // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение, 2015. № 2. С. 82-98. [Simbirtsev A.S., Totolyan A.A. Cytokines in laboratory diagnostics. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Education*, 2015, no. 2, pp. 82-98. (In Russ.)]
15. Azzalini A., Menardi G. Clustering via nonparametric density estimation: the R package pdfCluster. *Journal of statistical software, Foundation For Open Access Statistics*, 2014, Vol. 57, Iss. 11. Available at: <http://hdl.handle.net/10.18637/jss.v057.i11>.
16. Deng X., Yang G., Zheng X., Yang Y., Qin H., Liu Z.X., Deng H., Liu S.M. Plasma mtDNA copy numbers are associated with GSTK1 expression and inflammation in type 2 diabetes. *Diabet. Med.*, 2020, Vol. 37, no. 11, pp. 1874-1878.
17. Guzzardi M.A., Iozzo P. Fatty heart, cardiac damage, and inflammation. *Rev. Diabet. Stud.*, 2011, Vol. 8, no. 3, pp. 403-417.

18. Matioli L.C., Santos S.R., Kleina M., Leite E.A. A new algorithm for clustering based on kernel density estimation. *J. Appl. Stat.*, 2018, Vol. 45, no. 2, pp. 347-366.
19. Seong S-Y., Matzinger P. Hydrophobicity: an ancient damage-associated molecular pattern that initiates innate immune responses. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004, Vol. 4, no. 6, pp. 469-478.
20. Singh N., Baby D., Rajguru J.P., Patil P.B., Thakkannavar S.S., Pujari V.B. Inflammation and cancer. *Ann. Afr. Med.*, 2019, Vol. 18, no. 3, pp. 121-126.

Авторы:

Андросова Л.В. — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории нейроиммунологии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

Симонов А.Н. — к.б.н., руководитель лаборатории доказательной медицины и биostatистики ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

Пономарева Н.В. — д.м.н., руководитель лаборатории возрастной физиологии мозга и нейрокибернетики, отдел исследований мозга ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

Клюшник Т.П. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории нейроиммунологии, директор ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия

Authors:

Androsova L.V., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Neuroimmunology, Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

Simonov A.N., PhD (Biology), Head, Laboratory of Evidence-based Medicine and Biostatistics, Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

Ponomareva N.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Age-related Brain Physiology and Neurocybernetics, Brain Research Department, Research Center of Neurology, Moscow, Russian Federation

Klyushnik T.P., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Neuroimmunology, Director, Mental Health Research Center, Moscow, Russian Federation

Поступила 23.09.2020
Принята к печати 09.01.2021

Received 23.09.2020
Accepted 09.01.2021