

# Кластерный анализ иммунологических показателей сыворотки крови пациентов с болезнью Паркинсона

Т.П. Ключник<sup>1</sup>, А.Н. Симонов<sup>1</sup>, Л.В. Андросова<sup>1</sup>, Н.В. Пономарёва<sup>2</sup>, С.Н. Иллариошкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научный центр неврологии», Москва, Россия

**Введение.** Исследование биологических особенностей пациентов, в том числе их иммунных реакций, в рамках отдельных нозологических форм является важным шагом в направлении персонализированной диагностики и лечения. Особый интерес в этом плане представляет болезнь Паркинсона (БП) как одно из наиболее распространенных возрастзависимых нейродегенеративных заболеваний.

**Целью** исследования явилось определение иммунофенотипов пациентов с БП при помощи кластерного анализа.

**Материалы и методы.** Объектом математического анализа служила база данных 46 пациентов с БП. В качестве классифицирующих признаков использовали уровень функционально связанных воспалительных маркеров: энзиматическая активность лейкоцитарной эластазы (ЛЭ), функциональная активность  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha 1$ -ПИ), уровень аутоантител к S-100b и основного белка миелина.

**Результаты.** Использование нескольких алгоритмов кластерного анализа данных позволило получить для анализируемых иммунологических маркеров устойчивые решения из двух кластеров. Для пациентов 1-го кластера характерен высокий уровень активности ЛЭ и низкий уровень функциональной активности  $\alpha 1$ -ПИ, что свидетельствует о недостаточности антипротеолитической емкости сыворотки крови и является неблагоприятным прогностическим фактором в плане дальнейшего развертывания в ткани мозга патологического процесса, ассоциированного с воспалением. Для пациентов 2-го кластера характерно повышение в сыворотке крови функциональной активности  $\alpha 1$ -ПИ, уровня аутоантител к S-100b и снижение активности ЛЭ по сравнению с 1-м кластером, что свидетельствует о дисрегуляции воспалительной реакции, связанной с недостаточной дегрануляционной активностью нейтрофилов, а повышенный уровень аутоантител к нейроантигену S100b характеризует наиболее тяжёлые поражения нервной системы.

**Заключение.** Результаты кластерного анализа позволили выделить два иммунофенотипа у пациентов с БП, что свидетельствует о том, что фенотипически сходная картина может определяться различными спектрами иммунных показателей. Полученные данные послужат основой для разработки иммунологического подхода к персонализированной диагностике и терапии.

**Ключевые слова:** болезнь Паркинсона, кластерный анализ, лейкоцитарная эластаза,  $\alpha 1$ -протеиназный ингибитор, аутоантитела к S-100b и основному белку миелина.

**Адрес для корреспонденции:** 115522, Россия, Москва, Каширское шоссе, 34. ФГБНУ НЦПЗ. E-mail: simonov1951@rambler.ru. Симонов А.Н.

**Для цитирования:** Ключник Т.П., Симонов А.Н., Андросова Л.В., Пономарёва Н.В., Иллариошкин С.Н. Кластерный анализ иммунологических показателей сыворотки крови пациентов с болезнью Паркинсона. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии* 2019; 13(3): 5–10.

DOI: 10.25692/ACEN.2019.3.1

## Cluster analysis of immunological serum markers in patients with Parkinson's disease

Tatyana P. Klyushnik<sup>1</sup>, Anatoly N. Simonov<sup>1</sup>, Lyubov V. Androsova<sup>1</sup>, Natalia V. Ponomareva<sup>2</sup>, Sergey N. Illarioshkin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Center for Mental Health, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Research Center of Neurology, Moscow, Russia

**Introduction.** The study of patients' biological features, including their immune responses, in specific diseases, is an important step towards personalized diagnosis and treatment. Parkinson's disease (PD) is thus of particular interest as one of the most common age-related neurodegenerative diseases.

**Study aim** – to determine the immunophenotypes of patients with PD using cluster analysis.

**Materials and methods.** Mathematical analysis was conducted on a database of 46 patients with PD. The levels of the following functionally related inflammatory markers were used as the classification characteristics: the enzymatic activity of leukocyte elastase (LE), the functional activity of  $\alpha 1$ -proteinase inhibitor ( $\alpha 1$ -PI), the auto-antibody levels to S-100b and myelin basic protein.

**Results.** Based on the immunological markers, the use of multiple algorithms in the cluster analysis of the PD database allowed to obtain two consistent clusters. The patients in cluster 1 were characterized by a high level of LE activity and a low level of functional  $\alpha 1$ -PI activity, which indicates insufficient serum antiproteolytic capacity and is an unfavourable prognostic indicator for further development of the inflammation-associated pathological process in the brain tissue. The patients in cluster 2 were characterized by increased functional  $\alpha 1$ -PI activity in the serum, increased S-100b antibody levels and a decreased LE activity as compared

with cluster 1, which indicates dysregulation of the inflammatory response, associated with insufficient neutrophil degranulation, whereas elevated autoantibody levels to the neural antigen S100b characterize the most severe lesions in the nervous system.

**Conclusion.** The results of the cluster analysis enable the identification of two immunophenotypes in patients with PD, indicating that a phenotypically similar presentation can be due to a different spectrum of immune markers. The obtained data will serve as a basis for development of an immunological approach to personalized diagnosis and treatment.

**Keywords:** Parkinson's disease, cluster analysis, leukocyte elastase,  $\alpha$ 1-proteinase inhibitor, autoantibodies to S-100b and myelin basic protein.

**For correspondence:** 115522, Russia, Moscow, Kashirskoe shosse, 34. Research Center for Mental Health. E-mail: simonov1951@rambler.ru. Simonov A.N.

**For citation:** Klyushnik T.P., Simonov A.N., Androsova L.V., Ponomareva N.V., Illarionov S.N. [Cluster analysis of immunological serum markers in patients with Parkinson's disease]. *Annals of clinical and experimental neurology* 2019; 13(3): 5–10. (In Russ.)

DOI: 10.25692/ACEN.2019.3.1

## Введение

Нейродегенеративные заболевания — чрезвычайно гетерогенная группа относительно медленно развивающихся болезней с преимущественным поражением серого вещества центральной нервной системы, в большинстве случаев характеризующихся образованием аномальных клеточных и/или внеклеточных включений (депозитов) с последующей гибелью нейронов по механизму апоптоза [1–2]. Для большинства нейродегенеративных заболеваний отсутствуют радикальные методы лечения, которые позволили бы остановить патологический процесс и тем более обеспечить полное восстановление. Поэтому ранняя диагностика заболеваний и своевременно начатое лечение играют важнейшую роль в возможности повлиять на ход заболевания и улучшить качество жизни больного.

Болезнь Паркинсона (БП) представляет собой нейродегенеративное заболевание, которое особенно распространено у лиц старше 60 лет. Ведущими двигательными симптомами БП являются гипокинезия, тремор покоя и мышечная ригидность, обусловленные гибелью дофаминергических пигментированных нейронов компактной части черной субстанции в ножках мозга, дегенерацией дофаминергического nigrostriatalного пути, депонированием в черной субстанции ионов железа в высоких концентрациях [3–5]. БП характеризуется накоплением в клетках мозга  $\alpha$ -синуклеина и с патохимической точки зрения относится к группе синуклеинопатий [6–9].

В последние годы получены экспериментальные и клинические данные, свидетельствующие о вовлеченности воспаления в патогенез нейродегенеративных заболеваний, в частности в патогенез БП [6, 10, 11]. Воспалительные реакции являются многокомпонентными, и в их разветвлении принимают участие разнообразные молекулы. Прежде всего, это медиаторные молекулы — провоспалительные цитокины IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 и TNF- $\alpha$  [12, 13]. Их роль заключается в передаче сигналов между клетками. В воспалении также принимают участие острофазные белки, к которым относится С-реактивный белок, и транспортные белки: альбумин, церулоплазмин, трансферрин. Отдельные классы острофазных белков составляют ингибиторы протеаз:  $\alpha$ 1-протеазный ингибитор ( $\alpha$ 1-ПИ),  $\alpha$ 1-макроглобулин, а также факторы свертывания крови и фибринолиза (фибриноген), комплемент. Цитокининодуцированный синтез острофазных белков происходит в печени, данные белки участвуют в осуществлении комплекса реакций, направленных на удаление повреждающего фактора, локализацию очага повреждения, восстановление нарушенной

структуры и функции. Ряд белков острой фазы ( $\alpha$ 1-анти-трипсин, антихимотрипсин,  $\alpha$ 2-макроглобулин) обладают антипротеазной активностью. Их важная функция состоит в ингибировании активности протеаз, поступающих из гранулоцитов в воспалительные экссудаты. Эти протеазы, среди которых лейкоцитарная эластаза (ЛЭ), могут быть отнесены к третьей группе молекул, принимающих участие в воспалении. Их роль заключается в увеличении проницаемости сосудистой стенки (в случае заболеваний мозга — сосудов гематоэнцефалического барьера) для проникновения фагоцитов в очаг воспаления [14]. При этом в качестве биологических маркеров БП, ассоциированных с воспалением, могут рассматриваться не только «классические» медиаторы воспаления — цитокины, но и белки азурофильных гранул нейтрофилов, в первую очередь ЛЭ.

**Целью** данного исследования явилось определение ряда воспалительных (активность ЛЭ,  $\alpha$ 1-ПИ) и аутоиммунных (аутоантитела к S-100b и основному белку миелина) маркеров в сыворотке крови пациентов с БП, а также кластерный анализ этих иммунологических показателей для выявления отдельных иммунофенотипов.

## Материалы и методы

В обследование были включены 46 пациентов с БП (12 мужчин и 34 женщины) в возрасте 58,3 $\pm$ 10,6 года (39–78 лет), проходившие лечение в ФГБНУ НЦН. Диагноз ставился на основании стандартных международных критериев «Критерии банка головного мозга общества болезни Паркинсона Великобритании» (UK Parkinson's Disease Society Brain Bank)<sup>1</sup>. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом при ФГБНУ НЦН.

Имунологические 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 750g в течение 15 мин при 22°C, затем отбирали сыворотку, которая использовалась для анализа сразу после получения либо хранилась при +2–8°C не более суток или в замороженном состоянии при температуре от –18 до –24°C в течение месяца до проведения анализа.

Энзиматическую активность ЛЭ определяли ферментативным спектрофотометрическим методом с использованием специфического субстрата N-терт-бутоксикарбонил-аланин- $\beta$ -нитрофенилового эфира и оценивали в нмоль/мин $\times$ мл; чувствительность метода 40 нмоль/мин $\times$ мл [15].

<sup>1</sup> URL: <https://www.parkinsons.org.uk/professionals/resources>

Функциональную активность  $\alpha 1$ -ПИ определяли спектрофотометрическим методом и оценивали в ИЕ/мл (ингибиторные единицы/мл); чувствительность метода 5 ИЕ/мл [16].

Уровень аутоантител к нейроантигенам S100b и основному белку миелина в сыворотке крови определяли методом стандартного твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) и оценивали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

Статистическую обработку данных осуществляли в лаборатории доказательной медицины и биостатистики ФГБНУ НЦПЗ. В качестве основного подхода для выявления иммунофенотипов в изучаемой базе использовали кластерный анализ: иерархический агломеративный метод и итерационный алгоритм k-средних [17–19]. Проблему неоднородности единиц измерения признаков решали при помощи предварительной стандартизации переменных с вычислением стандартизованного вклада (Z-вклада) по формуле:

$$Z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{\sigma},$$

где  $x_i$  — значение данного наблюдения;  $\bar{x}$  — среднее;  $\sigma$  — стандартное отклонение.

В качестве основных статистических программ использовали Rv.3.2.4 и STATAv.12.1.

#### Уровень функционально связанных воспалительных маркеров в норме и у пациентов с БП

Levels of the functionally related inflammatory markers in healthy people and in PD patients

Группа / Group	n	Показатель / Indicator	ЛЭ, нмоль/мин×мл / LE, nmol/min×ml	$\alpha 1$ -ПИ, ИЕ/мл / $\alpha 1$ -PI, IU/ml	Аутоантитела, ед. опт. пл. / Autoantibodies, optimal area units	
					к S100b / to S100b	к основному белку миелина / to myelin basic protein
Норма / Healthy controls [20]	80	M	213,0	33,5	0,68	0,73
		Q1	196,8	30,2	0,61	0,62
		Q3	229,6	36,7	0,75	0,81
Все пациенты с БП / All patients with PD	46	Me	236,6	33,5	0,74	0,72
		Q1	205,2	30,2	0,65	0,61
		Q3	256,2	36,7	0,84	0,89
		Min	157,7	17,2	0,4	0,5
		Max	332,6	66,5	1,13	1,27
Кластер 1 / Cluster 1	12	M	262,71	28,77	0,65	0,76
		Me	253,0	26,65	0,69	0,71
		$\sigma$	31,32	10,16	0,14	0,19
		Min	218,20	17,20	0,40	0,51
		Max	330,50	54,50	0,81	1,08
Кластер 2 / Cluster 2	34	M	228,57	47,75	0,77	0,76
		Me	227,90	46,90	0,78	0,73
		$\sigma$	37,95	9,43	0,15	0,19
		Min	157,70	25,90	0,50	0,50
		Max	332,60	66,50	1,13	1,27

Примечание. M — среднее; Me — медиана; Q1 — 25% квартиль; Q3 — 75% квартиль;  $\sigma$  — стандартное отклонение; Min — минимум; Max — максимум.  
Note. M — mean; Me — median; Q1 — 25% quartile; Q3 — 75% quartile;  $\sigma$  — standard deviation; Min — minimum; Max — maximum.

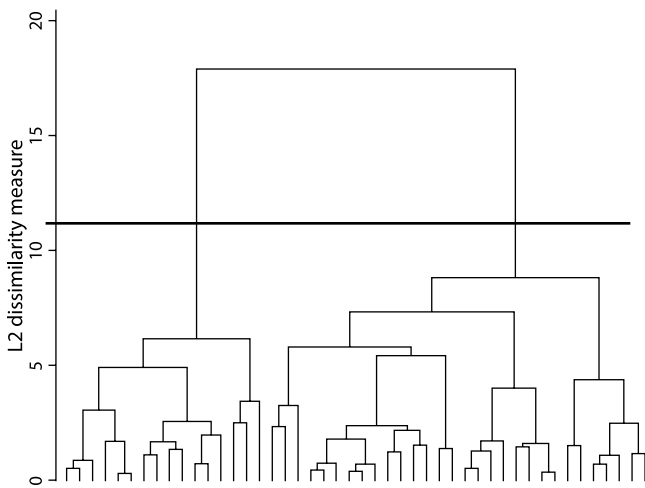
#### Результаты

У пациентов с БП наблюдалась значительная активация иммунной системы (таблица), характеризующаяся повышением активности маркеров воспаления и уровня аутоантител к нейроантигенам в значительной части наблюдений (33%). Вместе с тем исследуемые иммунобиохимические показатели пациентов с БП имели весьма широкий разброс данных.

На дендрограмме (рис. 1) представлены все кластеры, полученные в процессе работы алгоритма кластеризации, а также их вложенность относительно друг друга. Горизонтальная линия обрезает дендрограмму на уровне максимального разделения кластеров, выделяя два кластера.

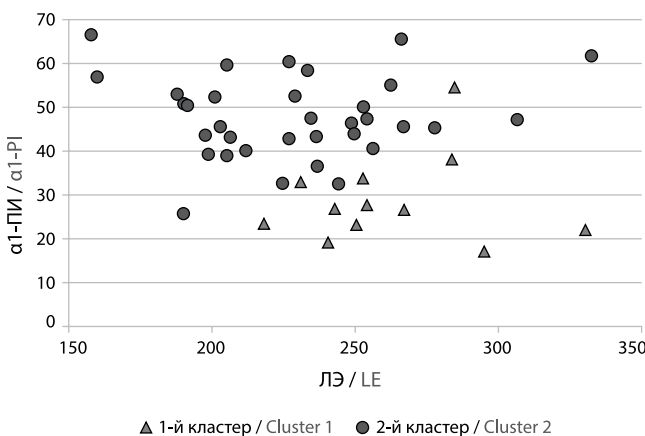
Итерационный метод k-средних основан на минимизации суммарного квадратичного отклонения точек кластеров от центров этих кластеров. При этом число кластеров неизвестно, и его необходимо задать. В данном случае на основе визуального анализа дендограммы число кластеров полагается равным 2. Основные характеристики кластеров, полученных по методу k-средних, приведены в таблице.

Для оценки различий полученных кластеров использовали многомерный аналог теста Стьюдента — критерий Хотеллинга. Полученное на основе данных значение критерия Хотеллинга оказалась равным 109,32, что соответствует достигнутому уровню значимости  $p$ -value=2,8E-21. Такое



**Рис. 1. Дендрограмма иерархической классификации пациентов.**  
По оси абсцисс — объединяемые объекты, по оси ординат — близость кластеров

**Fig. 1. Tree diagram of the hierarchical classification of patients.**  
X-axis — grouped objects, Y-axis — cluster proximity



**Рис. 2. Распределение кластеров в координатах ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ**

**Fig. 2. Cluster distribution in LE and  $\alpha 1$ -PI coordinates**

значение  $p$ -value намного меньше выбранного уровня значимости  $\alpha=0,05$ , поэтому нулевую гипотезу об отсутствии различий в исследуемых группах по совокупности их признаков (ЛЭ,  $\alpha 1$ -ПИ, аутоантитела к S-100b, основному белку миелина) необходимо отвергнуть.

Пациенты распределились на два неравных кластера (рис. 2): в 1-й кластер вошли 12 человек (4 мужчин и 8 женщин), во 2-й — 34 человека (8 мужчин и 26 женщин). По возрасту пациенты в этих группах не различались ( $p=0,466$ ). Такое распределение пациентов по кластерам позволило сравнить их иммунобиохимические показатели.

Наиболее существенные различия касались соотношения ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ, отражающего протеазно-ингибиторный дисбаланс. Для пациентов 1-го кластера был характерен высокий уровень протеолитической активности ЛЭ и низкий уровень функциональной активности  $\alpha 1$ -ПИ. Средний коэффициент соотношения активности ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ для 1-го кластера составляет 9,5, для контрольной группы (норма в таблице) — 6,3. Второй кластер, напротив, характеризуется

значительным повышением функциональной активности  $\alpha 1$ -ПИ по сравнению с контролем, при этом функциональная активность ЛЭ остается в контрольном диапазоне. Средний коэффициент соотношения активности ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ для 2-го кластера — 4,8. Таким образом, для пациентов, составляющих 1-й кластер, средний коэффициент смещен вправо, а для пациентов 2-го кластера — влево по отношению к контрольному диапазону. Смещение вправо свидетельствует о преобладании протеолитических реакций и высокой функциональной активности нейтрофилов в ходе развертывания воспалительной реакции. Смещение этого коэффициента влево (на фоне высокого уровня активации иммунной системы, включая присоединение аутоиммунного компонента) свидетельствует о сниженной дегрануляционной активности нейтрофилов. Можно предположить, что недостаточная дегрануляционная активность нейтрофилов является фактором, определяющим те или иные осложнения воспалительного процесса.

## Обсуждение

В настоящей работе путем использования нескольких алгоритмов кластерного анализа экспериментальных данных получены устойчивые решения (совпадение кластеров, вывлеченных разными методами, более чем на 70%) из двух кластеров для анализируемых иммунологических маркеров у пациентов с таким распространенным и социально значимым нейродегенеративным заболеванием, как БП.

Этот результат позволяет выдвинуть гипотезу о существовании в группе обследованных пациентов с БП двух иммунофенотипов, а также попытаться интерпретировать результаты кластерного анализа с биологических позиций. Выявленные иммунофенотипы характеризуются различными соотношениями активности ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ, и эта вариативность определяется различной активностью ЛЭ и  $\alpha 1$ -ПИ. Функциональная роль  $\alpha 1$ -ПИ заключается в ингибировании активности протеаз, в первую очередь ЛЭ, что ограничивает ее деструктивный потенциал. Повышение активности ЛЭ в крови в ходе развития воспалительного ответа является результатом дегрануляции активированных нейтрофилов — главного клеточного компонента врожденного иммунитета. Имеются также данные о том, что при воспалении активированные нейтрофилы участвуют в механизмах адаптивных иммунных реакций, модулируя иммунный ответ не только на экзогенные, но и на эндогенные стимулы, к числу которых относятся продукты нейродегенерации, комплексы антиген-антитело и др. [21–24].

Таким образом, в ходе развития иммунного ответа на тот или иной патологический стимул повышается уровень как острофазных белков и других медиаторных молекул, так и секреторных белков нейтрофилов, к которым относится ЛЭ. Важнейшая роль ЛЭ заключается не только в увеличении проницаемости сосудов, но и в контроле функций различных клеток, вовлекаемых в процессы свертывания крови, воспаления, репарации тканей и синтеза специфических антител [25–27].

В настоящем исследовании выявлены два устойчивых кластера в рамках БП, отражающие различные соотношения анализируемых иммунных маркеров. В рамках 1-го кластера для пациентов с БП характерен высокий уровень активности ЛЭ и низкий уровень функциональной активности  $\alpha 1$ -ПИ, что свидетельствует о недостаточности антипротео-

литической емкости сыворотки крови и является неблагоприятным прогностическим фактором в плане дальнейшего разветвления воспалительного процесса. В рамках 2-го кластера характерно повышение в сыворотке крови пациентов с БП функциональной активности  $\alpha 1$ -ПИ, уровня аутоантител к  $\delta$ -100b и снижение активности ЛЭ по сравнению с 1-м кластером. Это свидетельствует о недостаточной дегрануляционной активности нейтрофилов на фоне значительной активации иммунной системы, включая присоединение аутоиммунного компонента, который характеризует наиболее тяжёлые поражения нервной системы [28].

Следующим шагом предполагается анализ особенностей клинического состояния пациентов с БП во взаимосвязи с выявленными иммунофенотипами, результаты которого могут иметь большое значение для совершенствования диагностики и терапии БП.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.**  
*The authors declare there is no conflict of interest.*  
**Работа поддержана программой Президиума РАН.**  
*The work is supported by the Program of the Presidium of the Russian Academy of Sciences.*

## Список литературы

- Sita G., Hrelia P., Tarozzi A., Morroni F. Isothiocyanates are promising compounds against oxidative stress, neuroinflammation and cell death that may benefit neurodegeneration in Parkinson's disease. *Int J Mol Sci* 2016; 17: pii: E1454. DOI: 10.3390/ijms17091454. PMID: 27598127.
- Xu L., He D., Bai Y. Microglia-mediated inflammation and neurodegenerative disease. *Mol Neurobiol* 2016; 53: 6709–6715. DOI: 10.1007/s12035-015-9593-4. PMID: 26659872.
- Del-Bel E., Bortolanza M., Dos-Santos-Pereira M. et al. L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease: Are neuroinflammation and astrocytes key elements? *Synapse* 2016; 70: 479–500. DOI: 10.1002/syn.21941. PMID: 27618286.
- De Virgilio A., Greco A., Fabbri G. et al. Parkinson's disease: Autoimmunity and neuroinflammation. *Autoimmun Rev* 2016; 15: 1005–1011. DOI: 10.1016/j.autrev.2016.07.022. PMID: 27497913.
- Zhou S., Du X., Xie J., Wang J. Interleukin-6 regulates iron-related proteins through c-Jun N-terminal kinase activation in BV2 microglial cell lines. *PLoS One* 2017; 12: e0180464. DOI: 10.1371/journal.pone.0180464. PMID: 28672025.
- Chen L., Mo M., Li G. et al. The biomarkers of immune dysregulation and inflammation response in Parkinson disease. *Transl Neurodegener* 2016; 5: 16. DOI: 10.1186/s40035-016-0063-3. PMID: 27570618.
- Dzanko N., Gysbers A., Perera G. et al. Toll-like receptor 2 is increased in neurons in Parkinson's disease brain and may contribute to alpha-synuclein pathology. *Acta Neuropathol* 2017; 133: 303–319. DOI: 10.1007/s00401-016-1648-8. PMID: 27888296.
- Wang W., Nguyen L.T., Burlak C. et al. Caspase-1 causes truncation and aggregation of the Parkinson's disease-associated protein  $\alpha$ -synuclein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 9587–9592. DOI: 10.1073/pnas.1610099113. PMID: 27482083.
- Zhang G., Xia Y., Wan F. et al. New perspectives on roles of alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2018; 10: 370. DOI: 10.3389/fnagi.2018.00370. PMID: 30524265.
- Ransohoff R.M. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science* 2016; 353: 777–783. DOI: 10.1126/science.aag2590. PMID: 27540165.
- Kustrimovic N., Marino F., Cosentino M. Peripheral immunity, immunoaing and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Curr Med Chem* 2018. DOI: 10.2174/0929867325666181009161048. PMID: 30306855.
- Alam Q., Alam M.Z., Mushtaq G. et al. Inflammatory process in Alzheimer's and Parkinson's diseases: central role of cytokines. *Curr Pharm Des* 2016; 22: 541–548. PMID: 26601965.
- Kim R., Kim H.J., Kim A. et al. Peripheral blood inflammatory markers in early Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2018; 58: 30–33. DOI: 10.1016/j.jocn.2018.10.079. PMID: 30454693.
- Клюшник Т.П., Андросова Л.В., Михайлова Н.М. и др. Системные воспалительные маркеры при возрастном когнитивном снижении и болезни Альцгеймера. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2017; 117(7): 74–79. DOI: 10.17116/jnevro20171177174-79. PMID: 28805765.
- Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Яровая Г.А. Выявление лейкоцитарной эластазы человека из комплекса с плазменным  $\alpha 1$ -протеиназным ингибитором по её энзиматической активности с синтетическим субстратом. *Вопросы медицинской химии* 1994; 40(3): 20–25.
- Нартикова В.Ф., Пашкина Т.С. Унифицированный метод определения активности альфа-1-антитрипсина и альфа-2-макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека. *Вопросы медицинской химии* 1979; 25(4): 494–499.
- Дюрэн Б., Оделл П. *Кластерный анализ*. М., 1977. 128 с.
- Айвазян С.А., Бухштабер В.М., Енюков И.С., Мешалкин Л.Д. Прикладная статистика: классификация и снижение размерности. М., 1989. 607 с.
- Шитиков В.К., Маститский С.Э. Классификация, регрессия, и другие алгоритмы DataMining с использованием R [Электронный ресурс]. 2017. URL: <https://github.com/ranalytics/data-mining>
- Клюшник Т.П., Андросова Л.В., Зозуля С.А. и др. Сравнительный анализ воспалительных маркеров при эндогенных и непсихотических психических расстройствах. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии* 2018; 2(99): 64–69. DOI: 10.26617/1810-3111-2018-2(99)-64-69.

## References

- Sita G., Hrelia P., Tarozzi A., Morroni F. Isothiocyanates are promising compounds against oxidative stress, neuroinflammation and cell death that may benefit neurodegeneration in Parkinson's disease. *Int J Mol Sci* 2016; 17: pii: E1454. DOI: 10.3390/ijms17091454. PMID: 27598127.
- Xu L., He D., Bai Y. Microglia-mediated inflammation and neurodegenerative disease. *Mol Neurobiol* 2016; 53: 6709–6715. DOI: 10.1007/s12035-015-9593-4. PMID: 26659872.
- Del-Bel E., Bortolanza M., Dos-Santos-Pereira M. et al. L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease: Are neuroinflammation and astrocytes key elements? *Synapse* 2016; 70: 479–500. DOI: 10.1002/syn.21941. PMID: 27618286.
- De Virgilio A., Greco A., Fabbri G. et al. Parkinson's disease: Autoimmunity and neuroinflammation. *Autoimmun Rev* 2016; 15: 1005–1011. DOI: 10.1016/j.autrev.2016.07.022. PMID: 27497913.
- Zhou S., Du X., Xie J., Wang J. Interleukin-6 regulates iron-related proteins through c-Jun N-terminal kinase activation in BV2 microglial cell lines. *PLoS One* 2017; 12: e0180464. DOI: 10.1371/journal.pone.0180464. PMID: 28672025.
- Chen L., Mo M., Li G. et al. The biomarkers of immune dysregulation and inflammation response in Parkinson disease. *Transl Neurodegener* 2016; 5: 16. DOI: 10.1186/s40035-016-0063-3. PMID: 27570618.
- Dzanko N., Gysbers A., Perera G. et al. Toll-like receptor 2 is increased in neurons in Parkinson's disease brain and may contribute to alpha-synuclein pathology. *Acta Neuropathol* 2017; 133: 303–319. DOI: 10.1007/s00401-016-1648-8. PMID: 27888296.
- Wang W., Nguyen L.T., Burlak C. et al. Caspase-1 causes truncation and aggregation of the Parkinson's disease-associated protein  $\alpha$ -synuclein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016; 113: 9587–9592. DOI: 10.1073/pnas.1610099113. PMID: 27482083.
- Zhang G., Xia Y., Wan F. et al. New perspectives on roles of alpha-synuclein in Parkinson's disease. *Front Aging Neurosci* 2018; 10: 370. DOI: 10.3389/fnagi.2018.00370. PMID: 30524265.
- Ransohoff R.M. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science* 2016; 353: 777–783. DOI: 10.1126/science.aag2590. PMID: 27540165.
- Kustrimovic N., Marino F., Cosentino M. Peripheral immunity, immunoaing and neuroinflammation in Parkinson's disease. *Curr Med Chem* 2018. DOI: 10.2174/0929867325666181009161048. PMID: 30306855.
- Alam Q., Alam M.Z., Mushtaq G. et al. Inflammatory process in Alzheimer's and Parkinson's diseases: central role of cytokines. *Curr Pharm Des* 2016; 22: 541–548. PMID: 26601965.
- Kim R., Kim H.J., Kim A. et al. Peripheral blood inflammatory markers in early Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* 2018; 58: 30–33. DOI: 10.1016/j.jocn.2018.10.079. PMID: 30454693.
- Klyushnik T.P., Androsova L.V., Mikhaylova N.M. et al. [Systemic inflammatory markers in age-associated cognitive impairment and Alzheimer's disease]. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova* 2017; 117(7): 74–79. DOI: 10.17116/jnevro20171177174-79. PMID: 28805765. (In Russ.)
- Dotsenko V.L., Neshkova E.A., Yarova G.A. [Detection of leukocyte elastase from complex with plasma  $\alpha 1$ -proteinase inhibitor by its enzymatic activity with a synthetic substrate]. *Voprosy meditsinskoy khimii* 1994; 40(3): 20–25. (In Russ.)
- Nartikova V.F., Pashkina T.S. [A unified method for assay of alpha-1-antitrypsin and alpha-2-macroglobulin activity in human serum (plasma)]. *Voprosy meditsinskoy khimii* 1979; 25(4): 494–499. (In Russ.)
- Dyuran B., Odell P. [Cluster Analysis]. Moscow, 1977. 128 p. (In Russ.)
- Aivazyan S.A., Bukhshtaber V.M., Enyukov I.S., Meshalkin L.D. [Applied Statistics: Classification and Dimension Reduction]. Moscow, 1989. 607 p. (In Russ.)
- Shitikov V.K., Mastitsky S.E. [Classification, regression, and other data mining algorithms using R] [Electronic resource]. 2017. URL: <https://github.com/ranalytics/data-mining> (In Russ.)
- Klyushnik T.P., Androsova L.V., Zozulya S.A. et al. [Comparative analysis of inflammatory markers in endogenous and non-psychotic mental disorders]. *Sibirskij vestnik psikiatrii i narkologii* 2018; 2(99): 64–69. (In Russ.)

21. Mantovani A., Cassatella M.A., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 519–531. DOI: 10.1038/nri3024. PMID: 21785456.
22. Kolaczowska E., Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 159–175. DOI: 10.1038/nri3399. PMID: 23435331.
23. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol* 2014; 9: 181–218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023. PMID 24050624.
24. Hampton H.R., Chtanova T. The lymph node neutrophil. *Semin Immunol* 2016; 28: 129–136. DOI: 10.1016/j.smim.2016.03.008. PMID: 27025975.
25. Pham C.T. Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 1317–1333. DOI: 10.1016/j.biocel.2007.11.008. PMID: 18180196.
26. Кравцов А.Л., Шмелькова Т.П. Секреторная дегрануляция нейтрофилов как триггер воспаления и регулятор иммунного ответа: роль сериновых лейкоцитарных протеаз и протеолитически активируемых рецепторов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика* 2011; 1(56): 79–87.
27. Симонов А.Н., Ключник Т.П., Андросова Л.В. и др. Кластерный анализ воспалительных маркеров при расстройствах адаптации. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова* 2018; 118(7): 59–66. DOI: 10.17116/jnevro20181187159. PMID: 30132459.
28. Ключник Т.П., Зозуля С.А., Андросова Л.В. и др. Лабораторная диагностика в мониторинге пациентов с эндогенными психозами («Нейро-Иммуно-Тест»). М., 2016. 32 с.
21. Mantovani A., Cassatella M.A., Costantini C., Jaillon S. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 519–531. DOI: 10.1038/nri3024. PMID: 21785456.
22. Kolaczowska E., Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 159–175. DOI: 10.1038/nri3399. PMID: 23435331.
23. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol* 2014; 9: 181–218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023. PMID 24050624.
24. Hampton H.R., Chtanova T. The lymph node neutrophil. *Semin Immunol* 2016; 28: 129–136. DOI: 10.1016/j.smim.2016.03.008. PMID: 27025975.
25. Pham C.T. Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 1317–1333. DOI: 10.1016/j.biocel.2007.11.008. PMID: 18180196.
26. Kravtsov A.L., Shmel'kova T.P. [Secretory neutrophil degranulation as a trigger for inflammation and an immune response regulator: the role of serine leukocyte proteases and proteolytically activated receptors]. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika* 2011; 1(56): 79–87. (In Russ.)
27. Simonov A.N., Klyushnik T.P., Androsova L.V. et al. [Cluster analysis of inflammatory markers in disorders of adaptation]. *Zhurnal nevrologii i psikhiiatrii im. S.S. Korsakova* 2018; 118(7): 59–66 (In Russ.) DOI: 10.17116/jnevro20181187159. PMID: 30132459.
28. Klyushnik T.P., Zozulya S.A., Androsova L.V. et al. [Laboratory diagnostics in monitoring patients with endogenous psychosis (“Neuro-Immuno-Test”). Moscow, 2016. 32 p. (In Russ.)

Поступила 09.04.2019  
Принята в печать 15.05.2019

Received 09.04.2019  
Accepted 15.05.2019

**Информация об авторах:** Ключник Татьяна Павловна — д.м.н., проф., директор Центра, рук. лаб. нейроиммунологии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;  
Симонов Анатолий Никифорович — к.б.н., рук. лаб. доказательной медицины и биостатистики ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;  
Андросова Любовь Васильевна — к.б.н., в.н.с. лаб. нейроиммунологии ФГБНУ «Научный центр психического здоровья», Москва, Россия;  
Пономарёва Наталья Васильевна — д.м.н., зав. лаб. возрастной физиологии мозга и нейрокибернетики ФГБНУ НЦН, Москва, Россия;  
Иллариошкин Сергей Николаевич — д.м.н., проф., член-корр. РАН, зам. директора по научной работе, рук. отдела исследований мозга ФГБНУ НЦН, Москва, Россия.

**Information about the authors:** Tatyana P. Klyushnik, D. Sci. (Med.), Prof., Director of the Center, Head of the Laboratory of neuroimmunology, Mental Health Research Center, Moscow, Russia;  
Anatoly N. Simonov, PhD (Biol.), Head of the Laboratory of evidence-based medicine and biostatistics, Mental Health Research Center, Moscow, Russia;  
Lyubov V. Androsova, PhD (Biol.), leading researcher, Laboratory of neuroimmunology, Mental Health Research Center, Moscow, Russia;  
Natalia V. Ponomareva, D. Sci. (Med.), Head of the Laboratory of developmental physiology of the brain and neurocybernetics, Research Center of Neurology, Moscow, Russia;  
Sergey N. Illarionov, D. Sci. (Med.), Prof., Corr. Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of science, Head of the Department of brain research, Research Center of Neurology, Moscow, Russia.