

Изменение активности лизосомальных цистеиновых протеаз плазмы, моноядерных и полиморфноядерных лейкоцитов крови при болезни Альцгеймера

Сорокина М.Г., Фомина М.А., Петров Д.С., Короткова Н.В.

Рязанский государственный медицинский университет (РязГМУ) им. акад. И.П. Павлова
Россия, 390026 г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить уровень активности лизосомальных цистеиновых протеиназ (катепсинов Н, В, L) в плазме крови и фракционированных лейкоцитах (полиморфноядерных и моноядерных) пациентов с болезнью Альцгеймера в сравнении с аналогичными показателями у лиц, не имеющих признаков нейродегенерации, как возможный маркер развития и диагностики болезни Альцгеймера.

Материалы и методы. Проведено спектрофлуориметрическое исследование уровня активности катепсинов В, L, Н в плазме крови и фракционированных лейкоцитах 22 пациентов с диагнозом «Болезнь Альцгеймера» в сравнении с аналогичными показателями 22 пациентов, сопоставимых по полу, возрасту и сопутствующим заболеваниям с пациентами группы наблюдения, но не имеющих признаков нейродегенерации.

Результаты. В плазме крови статистически значимо повышена активность всех трех ферментов, в наибольшей степени – активности катепсина Н. В гомогенатах фракционированных лейкоцитов также отмечается статистически значимое повышение активности катепсинов Н, В, L, при этом как в полиморфноядерных, так и в моноядерных лейкоцитах в наибольшей степени изменяется активность катепсина В, наименьшей – катепсина L. Учитывая имеющиеся данные о повышении активности катепсина В в цереброспинальной жидкости пациентов с болезнью Альцгеймера, можно предположить взаимосвязь между состоянием активности лизосомальных протеиназ в центральной нервной системе и периферических клетках крови.

Заключение. Болезнь Альцгеймера ассоциирована с нарастанием активности цистеиновых катепсинов в плазме, полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитах периферической крови, что может рассматриваться как один из возможных маркеров развития и диагностики заболевания.

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, нейродегенерация, протеолиз, цистеиновые катепсины, плазма крови, полиморфноядерные лейкоциты, моноядерные лейкоциты.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом РязГМУ им. акад. И.П. Павлова (протокол № 6 от 6.11.2018).

Для цитирования: Сорокина М.Г., Фомина М.А., Петров Д.С., Короткова Н.В. Изменение активности лизосомальных цистеиновых протеаз плазмы, моноядерных и полиморфноядерных лейкоцитов крови при болезни Альцгеймера. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (3): 83–88. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-83-88>.

Changes in the activity of lysosomal cysteine proteases of plasma mononuclear and polymorphonuclear blood leukocytes in Alzheimer's disease

Sorokina M.G., Fomina M.A., Petrov D.S., Korotkova N.V.

Ryazan State Medical University

9, Vysokovolt'naya Str., Ryazan, 390026, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the level of activity of lysosomal cysteine proteases (cathepsins H, B, L) in blood plasma and fractionated leukocytes (polymorphonuclear and mononuclear) in patients with Alzheimer's disease in comparison with similar indicators in persons without signs of neurodegeneration as a possible marker of Alzheimer's disease development and diagnosis.

Materials and methods. The spectrofluorimetric study of cathepsins B, L, H activity level in plasma and fractionated leukocytes was conducted in 22 patients diagnosed with Alzheimer's disease in comparison with the same indicators in 22 patients matched by sex, age and associated diseases with patients of the observation group, but having no signs of neurodegeneration.

Results. The activity of all three enzymes, and especially cathepsin H, increased significantly in blood plasma. A significant increase is also noted in the activity of cathepsins H, B, and L in homogenates of fractionated leukocytes. At the same time, in both polymorphonuclear and mononuclear leukocytes the greatest degree of changes is demonstrated by the activity of cathepsin B, and the least is the activity of cathepsin L. Given the available data on an increased cathepsin B activity in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease, we can assume a correlation between the state of lysosomal proteases activity in the Central nervous system and in the peripheral blood cells.

Conclusion. Alzheimer's disease is associated with increased activity of cysteine cathepsins in plasma, polymorphonuclear and mononuclear leukocytes of peripheral blood, which can be considered as one of the possible markers of development and diagnosis of the disease.

Key words: Alzheimer's disease, neurodegeneration, proteolysis, cysteine cathepsins, blood plasma, polymorphonuclear leukocytes, mononuclear leukocytes.

Conflict of interest. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study protocol was approved by the local ethics committee of Ryazan State Medical University (Protocol No. 6 of 6.11.2018).

For citation: Sorokina M.G., Fomina M.A., Petrov D.S., Korotkova N.V. Changes in the activity of lysosomal cysteine proteases of plasma mononuclear and polymorphonuclear blood leukocytes in Alzheimer's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (3): 83–88. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-3-83-88>.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно во всем мире растет доля лиц пожилого возраста, что в свою очередь приводит к росту числа больных нейродегенеративными заболеваниями, среди которых лидирующие позиции как по распространенности, так и по экономическим затратам занимает болезнь Альцгеймера (БА). Важной и нерешенной проблемой является поздняя диагностика и, соответственно, позднее начало лечения, уже на стадиях клинически выраженной деменции. Поэтому актуальным остается вопрос о поиске методов диагностики БА на самых ранних (додементной и асимптоматической)

стадиях развития нейродегенеративного процесса, которые, по данным ряда исследований, опережают формирование клинически выраженной деменции на 15–20 лет. Для применения таких превентивных стратегий в отношении БА необходимо вести поиск периферических биомаркеров, в легко доступных для исследований средах (сыворотка крови, слюна, моча). Учитывая многофакторный характер нейродегенерации при БА, более оправданным считают создание мультимодальной диагностической панели [1–3]. Одним из возможных биомаркеров БА, вероятно, может выступать изменение активности лизосомальных ферментов различных клеток.

Корректное функционирование лизосом особенно важно для нейронов, поскольку они не могут снижать содержание накопленных токсичных молекул и агрегатов путем разрушения клеток [2]. Нарушение лизосомальной функции играет важную роль в дегенерации нейронов и патогенезе многочисленных нейродегенеративных заболеваний [4]. В последние годы появляются сведения, указывающие на участие лизосомальных протеиназ в патогенезе БА [2, 3], хотя данные весьма разрозненны и не всегда однозначны. Однако не вызывает сомнения, что протеолитические ферменты представляют собой весьма чувствительный маркер клеточного «неблагополучия», а сведения об уровне активности данных ферментов могут быть использованы для ранней диагностики и определения степени тяжести ряда патологических состояний [5].

На данный момент доказанным является утверждение, что ключевую роль в патогенезе БА играет белок-предшественник амилоида (amyloid precursor protein, APP). Полноразмерный APP принадлежит к семейству трансмембранных белков I типа, и предположительно, участвует в регуляции белкового транспорта [6]. Наиболее изучена внеклеточная область, включающая нескольких доменов: E1 (состоит из двух субдоменов – фактора-подобного домена роста и медь-связывающего домена) и E2, которые связаны кислотным доменом AcD. APP может подвергаться различным видам протеолитической обработки [4, 5]. Последовательное расщепление белка альфа- и гамма-секретазой приводит к формированию пептидов р3 (неамилоидогенный путь). В случае альтернативного процессинга с помощью бета- и гамма-секретазы образуется полипептид, состоящий из 40–43 аминокислотных остатков (β -амилоид), нерастворимый в воде, агрегирующий с образованием полимеров, откладывающихся в виде бляшек [7].

APP является предметом обширной протеолитической обработки, поэтому теории о влиянии лизосомальных протеаз на возникновение БА, возможности диагностического исследования активности катепсинов в качестве маркера, применения их ингибиторов или индукторов в лечении заболевания разрабатываются давно [8]. Катепсин В – один из белков, участвующий в регуляции количества $A\beta$ пептидов, однако его роль в патогенезе БА требует дальнейших исследований. Как это ни парадоксально, с одной стороны, обладая бета-секретазной активностью, он может участвовать в образовании $A\beta$ пептидов, а с другой – в процессах их деградации [6].

Доказано, что сульфгидрильная группа цистеина (Cys32) катепсина В расщепляет $A\beta$ пептид с карбоксильного конца в месте расположения остатка глу-

таминовой кислоты (Glu11), а снижение продукции и активности катепсина В инициирует накопление $A\beta$ пептидов [9].

Известно, что цистеиновые катепсины В и L участвуют в деградации не только амилоидных пептидов, но и С-концевых фрагментов APP и бета-секретазы (BACE1), а также влияют на метаболизм холестерина в нейронах. Снижение активности данных катепсинов или их ингибирование ведет к лизосомальной недостаточности, нарушению синтеза белков NPC1 и ABCA1, участвующих в высвобождении холестерина, нарушению деградации ключевых белков БА [4].

В недавнем исследовании показано, что катепсин В может ускорить метаболизм $A\beta$ пептидов через лизосомальные пути и уменьшить дефицит памяти, связанный с БА. Гиппокампальные инъекции аденоассоциированного вируса, продуцирующего катепсин В, уменьшали уровни $A\beta$, увеличивали Lamp1 и улучшали обучение и память [10].

В то же время известно, что существуют пироглутамат-амилоид- β -пептиды (pGlu- $A\beta$), которые являются особенно пагубными формами амилоид- β -пептидов, присутствующих в мозге при БА. Пептиды pGlu- $A\beta$ представляют собой N-концевые усеченные формы полноразмерных $A\beta$ пептидов, в которых N-концевой глутамат циклизуется до пироглутамата с образованием pGlu- $A\beta$ (3–40/42). Выключение гена катепсина В приводит к снижению уровня pGlu- $A\beta$, а применение ингибитора данного фермента (экспериментальный препарат E64d) продемонстрировало уменьшение дефицита памяти у экспериментальных животных [11].

Имеются обширные доказательства того, что накопление мононуклеарных фагоцитов, в том числе микроглиальных клеток, моноцитов и макрофагов в местах осаждения β -амилоидов в головном мозге, является важной патологической характеристикой БА, а концентрация этих клеток, сгруппированных вокруг отложений $A\beta$, в несколько раз выше, чем в соседних областях мозга [12]. Так как гематоэнцефалический барьер проницаем для моноядерных (МЯЛ) и полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ), можно предположить, что изменения метаболизма данных клеток могут косвенно указывать на патологические изменения в тканях головного мозга, а также являться периферическим маркером нейродегенеративного процесса.

Целью исследования является изучение уровня активности лизосомальных цистеиновых протеиназ (катепсинов Н, В и L) в плазме крови и фракционированных лейкоцитах (ПМЯЛ и МЯЛ) пациентов с болезнью Альцгеймера и сравнение с аналогичными показателями у лиц, не имеющих признаков

нейродегенерации, как возможного маркера развития и диагностики болезни Альцгеймера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве клинического материала для исследования использовались плазма крови и фракционированные лейкоциты (ПМЯЛ и МЯЛ), полученные от 22 пациентов с болезнью Альцгеймера, находившихся на стационарном лечении и диспансерном наблюдении в ГБУ РО «Областная клиническая психиатрическая больница имени Н.Н. Баженова». Все пациенты, включенные в группу наблюдения, имеют диагноз, подтвержденный клинически и инструментально-лабораторными методами, согласно современным критериям диагностики. В качестве группы сравнения использовались плазма крови и фракционированные лейкоциты, полученные от 22 пациентов той же больницы, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами группы наблюдения, но не имевших клинических признаков деменции и нейродегенерации.

Работа выполнена в соответствии с принципами Хельсинкской декларации с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Забор крови проводился однократно натощак из локтевой вены в количестве 10 мл, в качестве антикоагулянта использовался гепарин. Разделение лейкоцитов на фракции проводилось методом изопикнического центрифугирования [13]. Подсчет выделенных из образцов лейкоцитов осуществлялся в камере Горяева с помощью бинокулярного микроскопа Р-15 «Биолам» (Россия).

Полученные осадки отмытых лейкоцитов довели до концентрации 106 клеток/мл дистиллированной водой, содержащей 0,1%-й раствор тритона Х-100, и подвергали трехкратному замораживанию и оттаиванию для разрушения плазматических и лизосомальных мембран. Полученные лизаты использовались для определения активности изучаемых ферментов [14–16].

Активность катепсинов L, B и H изучали спектрофлуориметрическим методом по A.J. Barrett и H. Kirschke [17] с измерением флуоресцирующего продукта реакции – 7-амидо-4-метилкумарина, образующегося при расщеплении специфических флюорогенных субстратов: Na-карбобензоксид-L-фенилаланил-аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (N-CBZ-Phe-Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, США) для катепсина L, аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, США) для катепсина H, Na-карбобензоксид-аргинин-аргинин-7-амидо-4-метилкумарина (NaCBZ-Arg-Arg-7-амидо-4-метилкумарин, Sigma, США).

Активность катепсинов в плазме крови рассчитывалась в нкат/мл, для лейкоцитов – в нкат/ 10^6 клеток. Для статистической обработки результатов применялись программы Microsoft Excel и Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения выборки оценивалась по критерию Шапиро – Уилка. Сравнение групп проводилось с помощью непараметрического *U*-критерия Манна – Уитни, статистически значимым принимался результат при $p < 0,05$. Результаты представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей $Me (Q_1-Q_3)$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В плазме крови пациентов с болезнью Альцгеймера активность катепсинов H, B, L оказалась статистически значимо повышена по сравнению с пациентами, не имеющими признаков нейродегенерации. Среди изучаемых ферментов наиболее существенно степень повышения активности катепсина H (увеличение в 22 раза относительно группы сравнения), в то время как активность катепсина B повышена в 2,8, а катепсина L – в 1,9 раза (рис. 1).

У ПМЯЛ активность катепсинов B и H повышена в 5 и 5,4 раза соответственно, активность катепсина L – в 2 раза (рис. 2).

У МЯЛ отмечается следующая закономерность: наиболее выражено изменение активности катепсина B – повышение в 5 раз относительно группы сравнения, в 3,5 раза повышена активность катепсина H, и в 1,7 раза катепсина L (рис. 3).

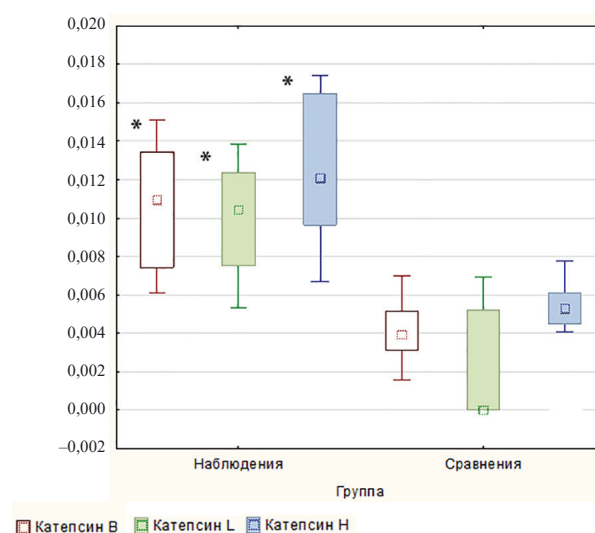


Рис. 1. Активность катепсинов плазмы крови пациентов с болезнью Альцгеймера (группа наблюдения) и пациентов без признаков нейродегенерации (группа сравнения), нкат/мл, $Me (Q_1-Q_3)$

* здесь и на рис. 2, 3 отмечены статистически значимые данные

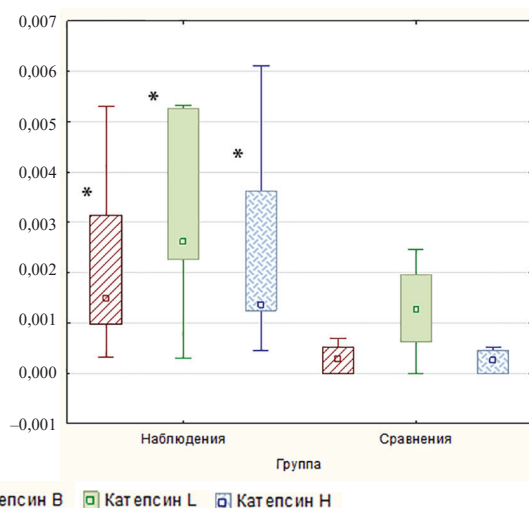


Рис. 2. Активность катепсинов полиморфноядерных лейкоцитов пациентов с болезнью Альцгеймера (группа наблюдения) и пациентов без признаков нейродегенерации (группа сравнения), нкат/10⁶ клеток, Me (Q₁-Q₃)

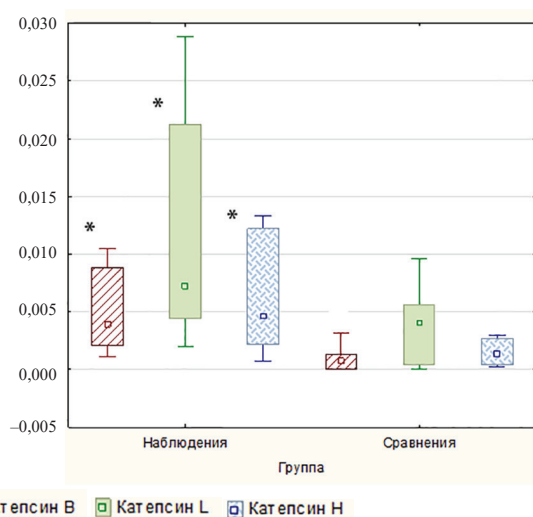


Рис. 3. Активность катепсинов моноядерных лейкоцитов пациентов с болезнью Альцгеймера (группа наблюдения) и пациентов без признаков нейродегенерации (группа сравнения), нкат/10⁶ клеток, Me (Q₁-Q₃)

Вызывает интерес существенное повышение активности катепсина Н в плазме крови пациентов с БА. Катепсин Н является аминопептидазой, обладающей эндопептидазной активностью. Возможно, повышение активности является относительным, так как снижение активности катепсинов В и L коррелирует с накоплением Аβ [10]. Однако повышение активности катепсина Н можно объяснить участием данного фермента в метаболизме модифицированных липопротеинов низкой плотности, в состав которых входит апопротеин Е (АпоЕ). Доказано участие белка АпоЕ как в формировании амилоидных бляшек, так и в метаболизме АРР. Изоформа АпоЕ4 наиболее подвержена расщеплению протеазами, а образующийся при этом

С-терминальный фрагмент молекулы обладает выраженными нейротоксическими свойствами [6]. Повышение активности катепсина В можно объяснить его способностью проникать через гематоэнцефалический барьер [8], а также активным участием данного фермента в метаболизме АРР.

Полученные результаты позволяют предположить вовлеченность лизосомальных протеаз лейкоцитов в нейродегенеративный процесс, что согласуется с данными литературы об участии этих форменных элементов крови в данной патологии.

В фракционированных лейкоцитах наблюдается однонаправленная тенденция: преимущественное повышение активности катепсинов В и Н на фоне незначительного повышения активности катепсина L. В специфических гранулах нейтрофилов содержится более 20 различных видов протеаз, а на мембранах клеток находится огромное число рецепторов (для различных интерлейкинов, факторов системы комплемента и других биологически активных молекул), определяющих их функциональную активность. ПМЯЛ содержат большое количество лизосом, к нарушению целостности лизосомальной мембраны могут приводить различные факторы, в том числе гипоксия, окислительный стресс, сниженный синтез инсулина [18]. Многочисленные исследования последних лет доказывают связь между инсулинорезистентностью тканей головного мозга и нейродегенеративными процессами [19]. Разрушение лизосомальных мембран ПМЯЛ и выход катепсинов В и Н в цитоплазму можно считать патогенетически значимым фактором при БА и развитии нейродегенерации. Учитывая повышенную концентрацию данных клеток вокруг Аβ и способность лейкоцитов проникать через гематоэнцефалический барьер, изменение уровня активности катепсинов лейкоцитов крови является важным биомаркером нейродегенеративного процесса.

В литературных источниках есть упоминания о повышении активности катепсина В в спинномозговой жидкости пациентов с БА [20], что позволяет предположить взаимосвязь между состоянием активности лизосомальных цистеиновых протеиназ в центральной нервной системе и периферических клетках крови, а значит, изучаемый показатель можно рассматривать как возможный маркер диагностики БА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Болезнь Альцгеймера ассоциирована с нарастанием активности цистеиновых катепсинов в плазме, полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитах периферической крови, что может рассматриваться как один из возможных маркеров развития и диагностики заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаврилова С.И. Предментная стадия болезни Альцгеймера: современные подходы к диагностике и фармакотерапии. *Доктор.Ру*. 2017; 8 (137): 44–49.
2. Бачинская Н.Ю. Болезнь Альцгеймера. *Журнал неврологии им. Б.М. Маньковского*. 2013; 1: 88–102.
3. Соколик В.В. Болезнь Альцгеймера: генетическая предрасположенность, биохимические механизмы и психические проявления. *Украинский вестник психоневрологии*. 2007; 3 (52): 101–105.
4. Cermak S., Kosicek M., Mladenovic-Djordjevic A. et al. Loss of cathepsin B and L leads to lysosomal dysfunction, NPC-like cholesterol sequestration and accumulation of the key Alzheimer's proteins. *PLoS One*. 2016; 11 (11): e0167428. DOI: 10.1371/journal.pone.0167428.
5. Фурман Ю.В., Смахтин М.Ю. Некоторые функции протеолитических ферментов в норме и при патологии. *Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания*. 2017; 4 (13): 3–4.
6. Андреева Т.В., Лукив У.Дж., Рогаев Е.И. Биологические основы амилоидоза при болезни Альцгеймера. *Биохимия*. 2017; 2 (82): 226–246. [
7. Мальцев А.В., Довидченко Н.В., Утешев В.К. Интенсивный синтез белка в нейронах и фосфорилирование белка предшественника бета-амилоида и тау-белка являются пусковыми факторами амилоидоза нейронов и болезни Альцгеймера. *Биомедицинская химия*. 2013; 2 (59): 144–170. DOI: 10.18097/pbmc20135902144.
8. Stoka V., Turk V., Turk B. Lysosomal cathepsins and their regulation in again and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews*. 2016; 32: 22–37. DOI: 10.1016/j.arr.2016.04.010.
9. Dhanavade M.J., Parulekar R.S., Kamble S.A. Molecular modeling approach to explore the role of cathepsin B from *Hordeum vulgare* in the degradation of $A\beta$ peptides. *Molecular bioSystems*. 2016; 1(12): 162–178. DOI: 10.1039/C5MB00718F.
10. Embury C.M., Dyavarshetty B., Lu Y. Cathepsin B improves β -Amyloidosis and learning and memory in models of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. 2017; 2 (12): 340–352. DOI: 10.1007 / s11481-016-9721-6.
11. Toneff T., Kindy M., Hook V. Brain pyroglutamate amyloid- β is produced by cathepsin protease inhibitor E64d, representing a potential Alzheimer's disease therapeutic. *J. Alzheimers Dis*. 2014; 41: 129–149. DOI: 10.3233/JAD-131370.
12. Gold M., El Khoury J. β -amyloid, microglia, and the inflammasome in Alzheimer's disease. *Seminars in Immunopathology*. 2015; 6 (37): 607–611. DOI: 10.1007/s00281-015-0518-0.
13. Новиков Д.К., Новикова В.И. Клеточные методы иммунодиагностики. Минск: Беларусь, 1979: 222.
14. Короткова Н.В., Фомина М.А. Лизосомальные цистеиновые катепсины L и H плазмы и лейкоцитов крови при заболеваниях вен нижних конечностей: общие тенденции изменения активности и факторов регуляции. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; 6: 1052.
15. Фомина М.А., Кудлаева А.М., Рябков А.Н. Влияние L-карнитина in vitro на активность лизосомальных цистеиновых протеиназ и состояние лизосомальных мембран. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова*. 2017; 1 (25): 14–20. DOI: 10.23888/PAVLOVJ2017114-20.
16. Фомина Н.В., Фомина М.А. Оценка связи активности лизосомальных цистеиновых протеиназ плазмы крови и показателей эндотелиальной дисфункции у пациентов с заболеваниями вен нижних конечностей. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2014; 1: 60–67.
17. Barrett A.J., Kirschke H. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L. *Methods in Enzymol*. 1981; 80: 535–561. DOI: 0.1016/s0076-6879(81)80043-2.
18. Цыганкова О.В., Рюаткина Л.А., Бондарева З.Г. Лизосомальные ферменты. Новый взгляд на фундаментальные материи с позиций кардиолога. *Цитокины и воспаление*. 2009; 8 (4): 11–17.
19. Горина Я.В., Салмина А.Б., Кувачева Н.В., Комлева Ю.К., Федюкович Л.В., Успенская Ю.А., Морозова Г.А., Демко И.В., Петрова М.М. Нейровоспаление и инсулинорезистентность при болезни Альцгеймера. *Сибирское медицинское обозрение*. 2014; 4 (88): 11–19.
20. Tasegian A., Paciotti S., Ceccarini M.R. Origin of α -mannosidase in cerebrospinal fluid. 20th ESGLD Workshop and Graduated Course. Naples, 2015; 121.

Благодарности

Авторы выражают признательность за помощь в организации и проведении исследования ректору РязГМУ Р.Е. Калинин, а также проректору по научной работе и инновационному развитию РязГМУ И.А. Сучкову.

Сведения об авторах

Сорокина Мария Германовна, ассистент, кафедра биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0002-9719-036X.

Фомина Мария Алексеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра биологической химии с курсом курсом клинической лабораторной диагностики, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0001-5550-0625.

Петров Дмитрий Сергеевич, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой психиатрии и психотерапии, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0002-7869-8643.

Короткова Наталья Васильевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики, РязГМУ, г. Рязань. ORCID 0000-0001-7974-2450.

(✉) **Сорокина Мария Германовна**, e-mail: mariyanaaber@yandex.ru.

Поступила в редакцию 27.05.2019

Подписана в печать 25.12.2019