

Э.Х.Анаев<sup>1</sup>, М.Э.Кушаева<sup>1</sup>, В.С.Курова<sup>2</sup>, А.М.Рябоконе<sup>2</sup>, Т.Н.Анохина<sup>1</sup>, Е.Н.Николаев<sup>2</sup>, С.Д.Варфоломеев<sup>2</sup>, А.Г.Чучалин<sup>1</sup>

## Значение протеомного анализа конденсата выдыхаемого воздуха при диагностике хронической обструктивной болезни легких и пневмонии

1 – ФГУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России: 105077, Москва, ул. 11-я Парковая, 32, корп. 4;

2 – ФГБУ науки "Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН": 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

*E.Kh.Anaev, M.E.Kushaeva, V.S.Kurova, A.M.Ryabokon, T.N.Anokhina, E.N.Nikolaev, S.D.Varfolomeev, A.G.Chuchalin*

## A role of proteomic analysis of exhaled breath condensate in diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease and pneumonia

**Key words:** chronic obstructive pulmonary disease, community-acquired pneumonia, exhaled breath condensate, diagnosis, proteomic analysis.

**Ключевые слова:** хроническая обструктивная болезнь легких, пневмония, диагностика, биомаркеры, конденсат выдыхаемого воздуха, протеомный анализ.

Ведущим патогенетическим механизмом развития и прогрессирования большинства болезней органов дыхания является воспалительный процесс в легких, который сопровождается дисбалансом в системе "протеиназы—антипротеиназы" и окислительным стрессом [1, 2]. Воспалительный процесс затрагивает все отделы дыхательных путей, паренхиму и сосудистое русло легких. При этом изменяется состав конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ), который содержит большое количество летучих и нелетучих биологически активных веществ с разными химическими свойствами, являющихся биомаркерами различных патологических процессов, происходящих в легких [3, 4]. Концентрация многих маркеров в КВВ находится на границе определяемых значений, тем самым провоцируя большую вариабельность данных. Иммунологические исследования (определение цитокинов и других маркеров) требуют доказательных методов из-за низкого содержания белка [5, 6].

В настоящее время анализ КВВ является одним из наиболее перспективных методов диагностики заболеваний нижних отделов дыхательных путей, прежде всего воспалительных. Проводимые исследования направлены на поиск нелетучих макромолекулярных соединений, таких как белки, липиды, нуклеотиды. Методики определения биомаркеров в КВВ постоянно совершенствуются, разрабатываются методы детекции и идентификации белковых соединений в ультраследовых концентрациях [7, 8]. Для улучшения репродуктивности методов требуется концентрирование образцов и разработка более чувствительных и селективных технологий. Расшифровка генома человека, создание общедоступных баз данных генетических структур в сочетании с развитым методом масс-спектрометрии белков обеспечивают уникальные возможности идентификации

белков в различных жидкостях и тканях человека [9]. Это создает беспрецедентные возможности для исследования молекулярного полиморфизма человека, биомедицинской диагностики и персонализированной медицины.

Целью работы было определение содержания белков и пептидов в КВВ больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) и пневмонией, оценка возможности их использования в качестве биомаркеров этих заболеваний.

### Материалы и методы

Были обследованы 47 человек, в т. ч. 17 больных ХОБЛ в стадии обострения, 13 – внебольничной пневмонией и 17 здоровых добровольцев. Больные ХОБЛ и пневмонией находились на стационарном лечении в пульмонологическом отделении ГКБ № 57 г. Москвы. Диагностика ХОБЛ и пневмонии осуществлялась на основании общепринятых рекомендаций [10, 11].

Больные ХОБЛ (13 мужчин и 4 женщины, средний возраст –  $64,7 \pm 4,7$  лет; 12 – активные курильщики, 5 – экс-курильщики; объем форсированного выдоха за 1-ю с (ОФВ<sub>1</sub>) –  $57,3 \pm 22,9$  %<sub>долж.</sub>) имели  $\geq 2$  положительных критериев *Anthonisen*, что свидетельствует об обострении заболевания. По классификации GOLD (2008) [10], у 10 больных (59 %) была диагностирована II стадия, у 7 (41 %) – III стадия ХОБЛ. Пациенты на амбулаторном этапе получали базисную терапию (М-холинолитики и  $\beta_2$ -симпатомиметики длительного действия), бронхолитики короткого действия – по потребности. 9 больных ХОБЛ (53 %) получали ингаляционные глюкокортикостероиды (иГКС) (в составе комбинированного препарата) в средних и высоких дозах.

Больные пневмонией (7 мужчин и 6 женщин, средний возраст –  $36,2 \pm 12,2$  лет; 4 – курильщики, 2 – экс-курильщики, 7 – никогда не курили) отмечали острое начало заболевания. У 9 пациентов (69 %) с внебольничной пневмонией диагностирована средняя тяжесть болезни, у 4 (31 %) – тяжелая.

В группу сравнения были включены 17 здоровых некурящих добровольцев (7 мужчин, 10 женщин;  $ОФВ_1 - 98,4 \pm 6,8\%$  долж.) в возрасте от 20 до 36 лет (средний возраст –  $27,5 \pm 4,8$  лет) с нормальными показателями легочной функции, у которых в анамнезе отсутствовали указания на аллергию, хронические заболевания органов дыхания и острые респираторные симптомы в течение последних 2 мес.

Сбор КВВ проводили стандартизованным методом в течение 10 мин с помощью аппарата *ECoScreen (VIASYS Healthcare, Германия)*, конструкция которого предотвращает контаминацию слюны [4]. КВВ собирали в тефлоновые приемники в модуле, охлаждаемом до  $-10^\circ\text{C}$ . Собранные образцы КВВ перенесли в полипропиленовые пробирки с низкосорбирующей белки поверхностью, устойчивые к низким температурам, и хранили в морозильной камере при  $-70^\circ\text{C}$  не более 1 мес.

Для дальнейшего анализа белкового состава известный объем замороженного образца лиофилизировали, подготавливали к гидролизу трипсином и методом масс-спектрометрии.

**Идентификация белков КВВ.** Лиофилизированные смеси белков КВВ гидролизуют трипсином. Пептиды фракционировали с помощью нанопоточной высокоэффективной жидкостной хроматографии (нано-ВЭЖХ) на приборе *Agilent 1100 (Agilent Technologies, США)* в градиентном режиме. Элюент А – 0,1%-ный раствор муравьиной кислоты, элюент Б – смесь 80 об. % ацетонитрила, 20 об. % воды, 0,1 об. % муравьиной кислоты. Содержание элюента Б в системе изменялось линейно от 3 до 50 об. % в течение 40 мин при скорости потока 0,3 мкл / мин. Пептиды идентифицировали по точным массам протонированных ионов и их фрагментов, полученных методом столкновительной диссоциации в ионной ловушке в сочетании с масс-спектрометрией ионного циклотронного резонанса (масс-спектрометр *7-Tesla Finnigan LTQ FT, Thermo Electron, Германия*) с ионизацией электрораспылением. При помощи программы *Bioworks Browser 3.1 SR1 (Thermo Electron, Германия)* формировали список из точных масс пептидов и масс их фрагментов. Этот список использовали для поиска и идентификации белков по базе данных белковых последовательностей *NCBI nrg (Comprehensive, non-identical protein database non redundant)* при помощи программы *Mascot (Matrix Science v 2.0.04, Великобритания)* [12, 13].

## Результаты и обсуждение

Принимая во внимание очень низкую концентрацию белков в КВВ [7, 14], были оптимизированы методы концентрирования белков, минимизированы

этапы пробоподготовки для уменьшения потерь белков. Лиофилизация была признана самым эффективным методом концентрирования КВВ перед протеомным анализом в сравнении с другими методами (твердофазная экстракция, ультрафильтрация и др.). Различные смеси белковых стандартов концентрировали и гидролизуют трипсином, после чего проводили масс-спектрометрический (МС) анализ. НаноВЭЖХ-МС/МС-анализ смесей белковых стандартов позволил идентифицировать в образцах КВВ 40 фмоль каждого белка с высоким покрытием их первичных последовательностей [12].

Как показал анализ, в КВВ здоровых некурящих добровольцев достоверно идентифицируется свыше 40 белков, большую часть которых по количеству и содержанию вещества составляют цитоскелетные кератины. Инвариантными для всех проб являются пары цитоскелетных кератинов: 1 / 10, 2 / 9 и 5 / 14. Некоторые кератины были обнаружены нами ранее в окружающем воздухе и могут считаться экзогенными компонентами выдыхаемого воздуха [15].

В предварительных экспериментах нами и другими авторами было показано, что цитоскелетные кератины являются основными белковыми компонентами КВВ как курильщиков, так и некурящих здоровых людей [12, 16]. Содержание кератинов значительно повышается в КВВ здоровых молодых интensively курящих людей [14, 17].

Помимо кератинов в образцах КВВ здоровых добровольцев были идентифицированы дермидин (белок-антибиотик, образующийся в потовых железах), предшественник альфа-1-микроглобулина / бикунина (АМВР), цистатин А, убиквитин, тирозин-3-триптофан-5-монооксигеназы белок-активатор, сывороточный альбумин человека, обогащенный пролином белок 4, предшественник липокалина 1, S100 кальций-связывающий белок А9, десмоплакин, супрабазин и др. 15 некератиновых белков, определенных во всех образцах КВВ, представлены в табл. 1.

Концентрация большинства белков в КВВ меньше или равна чувствительности данного метода анализа. Сопутствующая проблема увеличения концентрации солей и липидов в пробе, мешающих масс-спектрометрии, может быть решена стандартными методами обессоливания и обезжиривания смесью метанол / хлороформ [15].

Для первоначального анализа взаимосвязи и физиологической роли белков, наиболее часто встречающихся в КВВ здоровых добровольцев, была использована программа *MetaCore (GeneGo, Россия-США)*, которая основывается на базе данных белок-белковых-, белок-ДНК-взаимодействий и взаимодействий белковых смесей для человеческих белков. В дополнение она устанавливает метаболические и сигнальные пути и находит эффекты биоактивных молекул. Коды *UniProt* для различно экспрессируемых белков загружаются в *MetaCore*, за этим следует анализ, основанный на процессах геномной онтологии [12].

В доступной литературе нами не было обнаружено каких-либо болезней, связанных одновременно с большим количеством идентифицированных бел-

**Таблица 1**  
**Некератиновые белки, определенные**  
**в КВВ здоровых добровольцев**

Идентифицированный белок	Mascot-рейтинг (идентифицированные пептиды)
gi 16751921 – дермцидин	259 (7)
gi 37492 – альфа-тубулин	162 (2)
gi 28592 – альбумин	112 (4)
gi 6005802 – обогащенный пролином белок 4	109 (2)
gi 1311047 – цистатин А	86 (1)
gi 4507953 – тирозин-3 / триптофан-5-монооксигеназа	87 (1)
gi 229532 – убиквитин	88 (2)
gi 4504963 – предшественник липокалина-1	86 (2)
gi 4506773 – S100 кальций-связывающий белок A9	82 (1)
gi 12644130 – десмоплакин	104 (1)
gi 32171249 – простагландин человека H2D-изомераза	80 (1)
gi 38348366 – супрабазин	84 (1)
gi 29470 – протеогликан сульфата гепарана	72 (1)
gi 4502067 – AMBP	175 (3)
gi 16741036 – IgHA1	105 (2)

ков. Тем не менее, вероятно, что такие белки, как альфа-1-микроглобулин / бикунин предшественник, простагландин H2D-изомераза и цистатин А, могут играть важную роль в диагностике заболеланий дыхательных путей. Из литературы известно, что цистатин А был первоначально охарактеризован как ингибитор лизосомальных цистеиновых протеаз – катепсинов. Катепсины, в свою очередь, участвуют в обработке и представлении антигенов при воспалительных и онкологических заболеваниях. Недавно установлено, что катепсины также индуцируют синтез фактора некроза опухолей и интерлейкина-10, стимулируют образование оксида азота [18].

Простагландин H2D-изомераза вместе с циклооксигеназой является медиатором образования простагландина D2 из арахидоновой кислоты в тучных клетках и Т-лимфоцитах (Т-хелперах) [19]. Простагландин D2 является медиатором аллергии и воспаления, активируя 2 определенных типа рецепторов и вызывая спазм гладкой мускулатуры дыхательных путей [20]. Также он является медиатором хемотаксиса эозинофилов и базофилов в легкие. Таким образом, простагландин D2 регулирует аллергические реакции, особенно воспаление дыхательных путей. Простагландин H2D-изомераза участвует в аллергических и воспалительных реакциях и может быть хорошей мишенью для противоаллергических и противовоспалительных лекарственных препаратов [21].

Наконец, альфа-1-микроглобулин / бикунин предшественник образует в крови 2 самостоятельных белка. Альфа-1-микроглобулин находится в крови и соединительной ткани различных органов (легкие, кишечник, почки и плацента). Альфа-1-микроглобулин ингибирует иммунные функции лейкоцитов *in vitro*, а его распределение связывают с защитной

и противовоспалительной ролью *in vivo* [21]. Бикунин является ингибитором протеиназ Куница, ответственным за антитрипсинолитическую активность мочи, поэтому бикунин известен как ингибитор трипсина в моче [22]. Поскольку экскреция бикунина усиливается при воспалении, его часто считают белком острой фазы. Однако ген бикунина репрессируется при воспалении. В плазме основная часть бикунина ковалентно связана с 1 или 2 гомологичными тяжелыми пептидными цепями, тем самым образуя высокомолекулярные ингибиторы протеиназ. Определение бикунина в моче предоставляет информацию о выраженности системного протеолиза при воспалении [23].

Разработанная нами методика была использована для идентификации белкового состава КВВ пациентов с ХОБЛ и пневмонией разной степени тяжести и различным стажем курения. Использованный метод ВЭЖХ-МС позволил идентифицировать в образцах КВВ больных ХОБЛ и пневмонией различные пептиды и белки (табл. 2). При анализе протеома КВВ белковые компоненты были условно разбиты на 2 группы: пептиды (фрагменты белков до 10 кДа) и белки. В КВВ пациентов с патологией легких были выявлены пептидные фрагменты, отсутствующие в КВВ здоровых добровольцев.

Локализация в тканях человека, а также диагностическая значимость каждого белка, соответствующего пептидному фрагменту, оценивалась с помощью программы *MetaCore software (GeneGo, США)*, основанной на обработке базы данных по геной онтологии (*Gene Ontology*). В образцах найдены внутриклеточные и внеклеточные белки, а также белки-нуклеосомы и мембранные белки, что свидетельствует о глубокой деструкции эпителиальных клеток дыхательных путей.

Найденные в образцах КВВ белки и пептиды свидетельствуют о наличии у пациентов патологии органов дыхания. В КВВ больных пневмонией обнаружен широкий ряд кератинов, в т. ч. белки острой фазы воспаления (альфа-2-гликоксильный протеин,

**Таблица 2**  
**Пептиды и белки, идентифицированные в образцах**  
**КВВ пациентов с ХОБЛ и пневмонией**

ХОБЛ	Пневмония
Zn-альфа-2-гликопротеин	Zn-альфа-2-гликопротеин
Фрагменты коллагенов	Фрагменты коллагенов
Остеопонтин	Комплемент C3
Простагландин H2D-изомераза	Альфа-1-антитрипсин
Хорнерин	Фрагменты кининогена-1
Профилаггрин	Альфа-1-микроглобулин (AMBP)
Цитоскелетные кератины	Аннексин A1, A2
Элементы десмосом (десмоплакин, десмоколлин, десмоглеин)	Цистатин В
Фрагменты актина и миозина	Энолазы альфа, 14-3-3
Динеин	Лизоцим С
	Цитоскелетные кератины, актин
	Фрагменты гистонов
	цАМФ-специфическая фосфодиэстераза
	Тиоредоксин



С3 компонент комплемента), не характерные для здоровых людей, а также был обнаружен фрагмент аннексина А1 – белка, участвующего в подавлении воспалительной реакции. Аннексин А1 ингибирует действие фосфолипазы А2 и циклооксигеназ 1-го и 2-го типа, замедляя биосинтез простагландинов и лейкотриенов [24]. Кроме того, аннексин А1 инициирует апоптоз клеток воспаления. Появление в образце КВВ аннексина А1 свидетельствует о наличии у пациента воспаления дыхательных путей [25].

Интересно, что спектр белков, найденных в КВВ больных пневмонией, характерен также для пациентов с ХОБЛ. В образцах КВВ курящих пациентов с ХОБЛ обнаружены цитоскелетные кератины 3 и 17, нехарактерные для протеома КВВ здоровых людей. Кератин 17 экспрессируется в базальных и супрабазальных клетках бронхов здоровых людей, однако в КВВ здоровых доноров не обнаруживается. Диагностическая значимость кератина 3 в КВВ пока не ясна.

В КВВ больных ХОБЛ были идентифицированы некератиновые компоненты клетки: профилаггрин, хорнерин и элементы десмосом (десмоглеин, десмоплакин III). Профилаггрин (филаггрин) является кальций-связывающим белком цитоскелета [26]. Обнаружение десмоплакина в КВВ свидетельствует о повышенной деструкции эпителия респираторного тракта [27].

Таким образом, в КВВ больных ХОБЛ и пневмонией идентифицируются характеристические пептиды белков, которые обнаруживаются в бронхоальвеолярных смывах, крови и моче пациентов. Данные белковые фрагменты можно рассматривать в качестве биомаркеров ХОБЛ и пневмонии. Результаты анализа с помощью программы *MetaCore* совокупностей белков и пептидов в образцах КВВ больных ХОБЛ и пневмонией коррелируют с их диагнозами.

## Заключение

1. Основной инструмент современной протеомики – ВЭЖХ-МС/МС-анализ – позволяет наиболее полно охарактеризовать белковый состав КВВ. Главное преимущество метода – экспрессная идентификация широкого спектра белков. Применение ВЭЖХ-МС делает возможным расширение динамического диапазона и повышение селективности МС-анализа по сравнению с методами электрофореза. Это является несомненным методическим достоинством анализа КВВ, где наногаммовые количества потенциальных белковых маркеров должны определяться *in situ* на фоне мажорных цитоскелетных белков и сложной низкомолекулярной матрицы неизвестного состава.
2. До настоящего исследования не было оптимального унифицированного метода подготовки пробы для протеомного анализа и не давалось полной информации о белковом составе КВВ в норме и при патологии легких. С помощью стандартных методов протеомики анализ был оптимизирован,

и в КВВ здоровых некурящих добровольцев найдено многообразие белков.

3. В нашем исследовании показано, что основными белками в КВВ являются цитоскелетные кератины. Кроме кератинов в выдыхаемом конденсате здоровых некурящих добровольцев был идентифицирован набор белков и пептидов, который можно рассматривать как фоновый белковый спектр КВВ.
4. Знание белкового состава КВВ в норме позволит идентифицировать в КВВ биомаркеры различных заболеваний легких, что имеет большое значение для ранней диагностики. Очевидно, что спектр биомаркеров болезней органов дыхания, определенных в КВВ, будет расширяться с проведением дальнейших исследований.

## Литература

1. Fischer B.M., Pavlisko E., Voynow J.A. Pathogenic triad in COPD: oxidative stress, protease-antiprotease imbalance, and inflammation. *Int. J. Chron. Obstruct. Pulm. Dis.* 2011; 6: 413–421.
2. MacNee W. Accelerated lung aging: a novel pathogenic mechanism of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Biochem. Soc. Trans.* 2009; 37 (Pt 4): 819–823.
3. Borrill Z.L., Roy K., Singh D. Exhaled breath condensate biomarkers in COPD. *Eur. Respir. J.* 2008; 32 (2): 472–486.
4. Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Конденсат выдыхаемого воздуха в диагностике и оценке эффективности лечения болезней органов дыхания. *Пульмонология* 2006; 4: 12–20.
5. Taylor D.R. Using biomarkers in the assessment of airways disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 128 (5): 927–934.
6. Wadsworth S., Sin D., Dorscheid D. Clinical update on the use of biomarkers of airway inflammation in the management of asthma. *J. Asthma Allergy* 2011; 4: 77–86.
7. Bloemen K., Hooyberghs J., Desager K. et al. Non-invasive biomarker sampling and analysis of the exhaled breath proteome. *Proteomics Clin. Appl.* 2009; 3 (4): 498–504.
8. Lin J.L., Bonnicksen M.H., Nogeh E.U. et al. Proteomics in detection and monitoring of asthma and smoking-related lung diseases. *Exp. Rev. Proteomics* 2010; 7 (3): 361–372.
9. Conrad D.H., Goyette J., Thomas P.S. Proteomics as a method for early detection of cancer: a review of proteomics, exhaled breath condensate, and lung cancer screening. *J. Gen. Intern. Med.* 2008; 23 (Suppl. 1): 78–84.
10. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). WHO: Updated 2010.
11. Чучалин А.Г. (ред.). *Пульмонология. Национальное руководство (+CD ROM)*. М.: ГЕОТАР-Медиа; 2009.
12. Kurova V.S., Анаев E.C., Kononikhin A.S. et al. Proteomics of exhaled breath: methodological nuances and pitfalls. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2009; 47 (6): 706–712.
13. [www.matrixscience.com](http://www.matrixscience.com)
14. Griese M., Noss J., von Bredow C. Protein pattern of exhaled breath condensate and saliva. *Proteomics* 2002; 2 (6): 690–696.
15. Курова В.С., Кононихин А.С., Попов И.А. и др. Экзогенные белки в конденсате выдыхаемого человеком воздуха. *Биоорг. химия* 2011; 37 (1): 55–60.
16. Hoffmann H., Tabaksblat L., Enghild J., Dahl R. Human skin keratins are the major proteins in exhaled breath condensate. *Eur. Respir. J.* 2008; 31: 380–384.

17. *Gianazza E., Allegra L., Bucchioni E. et al.* Increased keratin content detected by proteomic analysis of exhaled breath condensate from healthy persons who smoke. *Am. J. Med.* 2004; 117 (1): 51–54.
18. *Kopitar–Jerala N.* The role of cystatins in cells of the immune system. *FEBS Lett.* 2006; 580: 6295–6301.
19. *Matsuoka T., Hirata M., Tanaka H. et al.* Prostaglandin D2 as a mediator of allergic asthma. *Science* 2000; 287: 2013–2017.
20. *Ichikawa T., Matsunaga K., Minakata Y. et al.* Possible impact of salivary influence on cytokine analysis in exhaled breath condensate. *Anal. Chem. Insights* 2007; 2: 85–92.
21. *Urade Y., Hayaishi O.* Prostaglandin D synthase: Structure and function. *Vitam. and Horm.* 2000; 58: 89–120.
22. *Akerström B., Lögdberg L., Berggard T. et al.* Microglobulin: a yellow-brown lipocalin. *Biochim. Biophys. Acta* 2000; 1482: 172–184.
23. *Mizon C., Piva F., Queyrel V. et al.* Urinary bikunin determination provides insight into proteinase / proteinase inhibitor imbalance in patients with inflammatory diseases. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2002; 40: 579–586.
24. *D'Acquisto F., Perretti M., Flower R.J.* Annexin-A1: a pivotal regulator of the innate and adaptive immune systems. *Br. J. Pharmacol.* 2008; 155 (2): 152–169.
25. *Parente L., Solito E.* Annexin 1: more than an anti-phospholipase protein. *Inflamm. Res.* 2004; 53 (4): 125–132.
26. *Markova N.G., Marekov L.N., Chipev C.C. et al.* Profilaggrin is a major epidermal calcium-binding protein. *Mol. Cell. Biol.* 1993; 13 (1): 613–625.
27. *Ченцов Ю.С.* Введение в клеточную биологию. М.: ИКЦ "Академкнига"; 2005.

**Информация об авторах**

*Анаев Эльдар Хусеевич* – д. м. н., зав. лабораторией неинвазивных методов диагностики клинического отдела ФГУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (495) 465-53-84; e-mail: el\_anaev@hotmail.com  
*Кушаева Миясат Эльдаровна* – младший научный сотрудник лаборатории неинвазивных методов диагностики клинического отдела ФГУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (495) 465-53-84; e-mail: dr-miya@mail.ru

*Курова Виктория Сергеевна* – к. х. н., старший научный сотрудник лаборатории кинетики и механизмов ферментативных и каталитических реакций ФГБУ науки "Институт биохимической физики им. Н.М.Эммануэля" РАН; тел.: (495) 939-71-40; e-mail: kurova@mail.ru

*Рябокоть Анна Монолитовна* – к. х. н., старший научный сотрудник лаборатории кинетики и механизмов ферментативных и каталитических реакций ФГБУ науки "Институт биохимической физики им. Н.М.Эммануэля" РАН; тел.: (495) 939-71-40; e-mail: amryabokot@gmail.com

*Анохина Татьяна Николаевна* – научный сотрудник лаборатории неинвазивных методов диагностики клинического отдела ФГУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (495) 465-53-84; e-mail: dr-anokhina@yandex.ru

*Николаев Евгений Николаевич* – д. ф.-м. н., проф., зав. лабораторией масс-спектрометрии биомолекул ФГБУ науки "Институт биохимической физики им. Н.М.Эммануэля" РАН; тел.: (495) 939-71-17; e-mail: nikolaev@chph.ras.ru

*Варфоломеев Сергей Дмитриевич* – д. х. н., проф., директор ФГБУ науки "Институт биохимической физики им. Н.М.Эммануэля" РАН, член-корр. РАН; тел.: (499) 137-64-20; e-mail: sdvarf@sky.chph.ras.ru

*Чучалин Александр Григорьевич* – д. м. н., акад. РАМН, проф., директор ФГУ "НИИ пульмонологии" ФМБА России; тел.: (495) 465-52-64; e-mail: chuchalin@inbox.ru

Поступила 28.06.12

© Коллектив авторов, 2012

УДК [616.24-002+616.24-036.12]-074