

## Возможности применения протеомного анализа в инфектологии

Страшникова Н.С.<sup>2</sup>, Мартынова Г.П.<sup>1</sup>, Салмина А.Б.<sup>1</sup>,  
Оловяникова Р.Я.<sup>1</sup>, Кутяков В.А.<sup>1</sup>, Тохидпур А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого  
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

<sup>2</sup> Красноярская межрайонная детская больница № 1  
Россия, 660111, г. Красноярск, ул. Тельмана, 49

### РЕЗЮМЕ

Современные методы диагностики и лечения инфекционных заболеваний должны базироваться на достоверных данных, полученных с помощью различных методов лабораторных исследований. Основными характеристиками, предъявляемыми к используемым методам, являются высокая чувствительность (возможность анализа малого количества образца,  $10^{-6}$ – $10^{-4}$  г/мл), избирательность (селективность), воспроизводимость и др. Протеомные методы исследований удовлетворяют всем принципам доказательной медицины. Преимущества использования указанных методов для выявления маркеров (выявление белков с измененным уровнем экспрессии), своевременной диагностики и лечения инфекционных заболеваний, описанные в статье, очевидны, их внедрение в практическую деятельность врачей – элемент персонализированной медицины.

**Цель:** изучить возможности применения протеомного анализа в инфектологии, основные методы исследований, их характеристики, преимущества и недостатки.

**Ключевые слова:** протеомика, белки-маркеры, инфектология, диагностика.

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

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

**Для цитирования:** Страшникова Н.С., Мартынова Г.П., Салмина А.Б., Оловяникова Р.Я., Кутяков В.А., Тохидпур А. Возможности применения протеомного анализа в инфектологии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (2): 248–261. <https://doi.org: 10.20538/1682-0363-2019-2-248–261>.

## Possibilities of using proteomic analysis in infectiology

Strashnikova N.S.<sup>2</sup>, Martynova G.P.<sup>1</sup>, Salmina A.B.<sup>1</sup>,  
Olovyannikova R.Ya.<sup>1</sup>, Kutyakov V.A.<sup>1</sup>, Tohidpur A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Krasnoyarsk State Medical University (KSMU) named after Professor V.F. Vojno-Yasenetsky  
1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

✉ Страшникова Наталья Сергеевна, e-mail: Natali\_Parilova@mail.ru.

<sup>2</sup> *Krasnoyarsk Interdistrict Children's Hospital No. 1,  
49, Telmana Str., 660111, Krasnoyarsk, Russian Federation*

#### ABSTRACT

Modern methods of diagnosis and treatment of infectious diseases should be based on reliable data obtained through various methods of laboratory research. The main characteristics of the methods used are high sensitivity (the ability to analyze a small amount of sample,  $10^{-6}$ – $10^{-4}$  g/ml), selectivity, reproducibility and others. Proteomic methods of research satisfy all the principles of evidence-based medicine. The advantages of using these methods to identify biomarkers (identifying proteins with altered expression levels), timely diagnosis and treatment of infectious diseases, described in the article, are obvious. Their introduction into practice is an element of personalized medicine.

**Objective:** to study the possibilities of using proteomic analysis in infectiology, the main research methods, their characteristics, advantages and disadvantages.

**Key words:** proteomics, protein-markers, diagnostics.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and 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.

**For citation:** Strashnikova N.S., Martynova G.P., Salmina A.B., Olovyannikova R.Ya., Kutyaikov V.A., Tohidpur A. Possibilities of using proteomic analysis in infectiology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (2): 248–261. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-2-248-261>.

## ВВЕДЕНИЕ

В постгеномную эру актуальными становятся ширококомасштабные исследования фундаментальных процессов в живых системах, а именно изучение различных уровней структурно-функциональной организации геномов, ее малых молекул (метабономика), исследование белков (протеомика) [1]. Протеомика – это наука, изучающая белковый состав биологических объектов, а также модификации и структурно-функциональные свойства белковых молекул. Протеомный анализ направлен на одновременное изучение многих индивидуальных белков, совокупность которых составляет определенную систему, что характеризует исследуемый объект в целом [2]. Благодаря успехам протеомики теперь в патологически измененных тканях можно видеть диспропорцию между белками [3]. Также протеомика занимается системным исследованием структуры, функции и активности белков, белок-белковых взаимодействий, определяет уровни экспрессии генов [4].

Термин «протеомика» был введен в 1995 г. и происходит от терминов *proteins* и *genome* (в пер. с англ. – белки и геном) [1]. После расшифровки генома человека и геномов многих других организмов появилось большое разнообразие баз данных о структуре всех белков человека и многих других организмов. Развитие протеомики обусловлено использованием высокотехнологичных методов, позволяющих идентифицировать белки

и пептиды, измерить их концентрацию в образцах, распознать первичную структуру и посттрансляционные модификации. В настоящее время большая часть работ в протеомике выполняется с использованием двумерного гель-электрофореза в полиакриламиде (2-D PAGE) метода, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в сочетании с масс-спектрометрией [2].

В течение последнего десятилетия протеомные технологии стали эффективными инструментами в трансляционных и клинических исследованиях в инфектологии. Интеграция протеомики с другими методами биохимической и молекулярной биологии (с достижениями геномики и биоинформатики) расширила набор инструментов для изучения молекулярного патогенеза инфекционных болезней [5].

## ВИДЫ ПРОТЕОМИКИ И ТЕХНОЛОГИИ АНАЛИЗА БЕЛКОВЫХ МОЛЕКУЛ: ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ

Существует множество направлений в протеомных исследованиях. Одним из них является субклеточная протеомика, которая изучает локализацию и местонахождение белков в живой клетке. Функциональная протеомика определяет функции белков и межбелковых взаимодействий. Разницу в экспрессии белков устанавливают с помощью количественного определения белков. Одним из направлений является выявление

скрининговых и диагностических маркеров, белков, измененный уровень экспрессии которых может послужить средством ранней доклинической диагностики заболеваний. Определение «белков-мишеней» (определение патологически измененных белков, целевое воздействие на которые фармацевтическими средствами может скорректировать течение болезней) стало возможным благодаря успехам протеомики [6].

Современные методы исследования белков базируются на хроматографических методах, в частности ВЭЖХ [7, 8]. Метод 2-D PAGE, разработанный О. Фареллом в 1975 г., представляет собой метод разделения белков, в основу которого положены их физические свойства: заряд и масса. В одном эксперименте можно разделить более 2 000 белков и их модифицированных изоформ, а теоретическая разрешающая способность может достигать 10 000 белков. Основное преимущество метода – возможность разделения и визуализации белков, поэтому его можно применять и для оценки количества идентифицированных белковых молекул. Одним из недостатков метода является его сложная воспроизводимость [2, 9].

Изотопные методы исследования основаны на использовании изотопной метки (стабильных изотопов), вводимой в молекулу. Выделяют следующие этапы: изотопное мечение белковых смесей, ферментативное расщепление дифференциально меченных смесей, разделение пептидов многомерной жидкостной хроматографией, масс-спектрометрический анализ разделенных пептидов. Однако велика вероятность ошибок измерений, некоторые методики имеют существенные огра-

ничения исследований из-за отсутствия аминокислотных последовательностей для обработки реагентами [4, 10]. Современные технологии включают следующие методы. ICAT (Isotop-Coded Affinity Tag, изотопные аффинные метки) – химический метод изотопного исследования, основанный на ковалентном мечении цистеинового аминокислотного остатка в полипептидной цепи химически идентичными, но изотопно разными реагентами; используется при определении относительного количественного содержания белков. ICROS (Isotope Coded Reduction Off of Chromatographic Support) – мечение пептидов происходит после их протеолитического расщепления. SIT (Solid-phase Isotope Tagging) позволяет включение любых аминокислот для синтеза множества изотоп-содержащих меток, пришитых к носителю. iTRAQ (Isobaric Tagging Reagents Amino-Reactive Quantification) – метод, который дает возможность довольно точно проводить количественный анализ сразу нескольких образцов (до четырех) на уровне MS/MS анализа. IGOT (Isotope coded Glycosylation-site-specific Tagging) – включение  $O^{18}$  изотопа в каждый N-гликозилированный участок пептида; FAC (Frontal Affinity Chromatography) – количественный вид аффинной хроматографии, позволяющий точно определить величину биомолекул. AQUA (Absolute Quantification) – абсолютный количественный анализ белков методом тандемной масс-спектрометрии и др. [4]. Таким образом, существует большое разнообразие методик для идентификации и количественного определения белков и пептидов, их достоинства и недостатки представлены в таблице.

Таблица  
Table

Количественные методы протеомного анализа, используемые при изучении инфекционных заболеваний и соматической патологии		
Quantitative methods of proteomic analysis used in the study of infectious diseases and somatic pathology		
Методика Methods	Достоинства Advantages	Недостатки Disadvantages
ICAT	Аффинное выделение цистеинсодержащих пептидов для дальнейшего масс-спектрометрического анализа Affinity isolation of cysteine containing peptides for further mass spectrometric analysis	Низкая встречаемость цистеиновых остатков Low occurrence of cysteine residues
cICAT	Высокая разрешающая способность, возможность исследовать несколько белков одновременно, а также относительная простота изотопного мечения It has high resolution capability, the ability to explore several proteins at the same time, as well as the relative simplicity of isotopic labeling	Охватывает в исследованиях большую часть белков протеома при наличии в них цистеинов Covers the majority of proteome proteins in the presence of cysteines
ICROS	Высокоэффективный, недорогой метод в протеомном анализе, характеризующийся относительной несложностью в работе Highly effective, inexpensive method in proteomic analysis, characterized by relative simplicity	Возможно появление артефактов, ошибок, погрешностей Artifacts, errors, inaccuracies may occur

Методика Methods	Достоинства Advantages	Недостатки Disadvantages
SIT	Простой, чувствительный, эффективный и воспроизводимый метод Simple, sensitive, effective and reproducible method	–
SILAC	Обогащение питательных сред незаменимыми аминокислотами Enrichment of the culture media with essential amino acids	Высокая стоимость и возможное искажение биологических процессов клеток за счет свойств питательных сред High cost and possible distortion of biological processes of cells due to the properties of the culture media
iTRAQ	Точно проводится количественный анализ сразу нескольких образцов (до четырех) на уровне MS/MS. Отсутствие дополнительных пиков в спектре, точность анализа Quantitative analysis of several samples (up to four) is carried out accurately at the level of MS/MS. There are no additional peaks in the spectrum, the analysis is accurate	Высокая стоимость High price
IGOT	Определение природы гликана и сайта гликозилирования Determining the nature of the glycan and the glycosylation site	Узкая направленность метода – только на N-гликозилированный участок пептида Narrow focus of the method – only the N-glycosylated peptide site
FAC	Позволяет точно определить величину коэффициента диссоциации биомолекул Allows accurate determination of the value of the coefficient of dissociation of biomolecules	Занимает значительное время для исследования Takes considerable time
AQUA	Оценивается абсолютный количественный анализ белков в протеоме, абсолютный количественный анализ белков методом тандемной масс-спектрометрии Absolute quantitative analysis of proteins in the proteome and absolute quantitative analysis of proteins by tandem mass spectrometry are evaluated	Есть риск искажения получаемых данных из-за возникновения перекрывания изотопных кластеров There is a risk of distortion of the resulting data due to the occurrence of overlapping isotopic clusters
2-D PAGE	Метод решает задачу не только разделения, но и визуализации, а также может быть использован для количественной оценки белков The method solves the problem of not only separation, but also visualization, and can also be used to quantify proteins	Сложная воспроизводимость экспериментов из-за различной чувствительности окрашивающих агентов, условий полимеризации акриламидных гелей и разделении белков, а также многостадийности подготовки гелей первого и второго направления The complex reproducibility of the experiments due to the different sensitivity of the coloring agents, the conditions of polymerization of acrylamide gels and the separation of proteins, as well as the multistage preparation of gels of the first and second directions
MALDI	Полезен для применения в клинической микробиологии за счет сочетания мощных аналитических возможностей и информативной базы данных Useful for use in clinical microbiology by combining powerful analytical capabilities and an informative database	Нижний диапазон масс заселен сигналами, связанными с наличием матрицы, таким образом, информативные сигналы пептидов могут быть потеряны The lower mass range is populated by signals associated with the presence of a matrix, so that informative peptide signals may be lost
ВЭЖХ HPLC	Возможность исследования термолабильных и малолетучих веществ. Идеально отвечает всем требованиям, предъявляемым к аналитическим методам по селективности и чувствительности The possibility of studying thermolabile and low volatile substances. Ideally meets all the requirements for analytical methods for selectivity and sensitivity	В настоящее время применяется чаще всего при терапевтическом лекарственном мониторинге. Не всегда удобен из-за его низкой пропускной способности и большой продолжительности исследований Currently used most often in therapeutic drug monitoring. Not always convenient due to its low bandwidth and long research time

Примечание. MALDI – источник с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией и (или) ионизацией; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография.

Note. ICAT – Isotope-Coded Affinity Tag; cICAT – Cleavable Isotope Coding Affinity Tag; ICROS – Isotope Coded Reduction Off of Chromatographic Support; SIT – Solid-Phase Isotope Tagging; SILAC – Stable Isotope Labeling with Amino Acids in Cell Culture; iTRAQ – Isobaric Tagging Reagents Amino-Reactive Quantification; IGOT – Isotope coded Glycosylation-site-specific Tagging; FAC – Frontal Affinity Chromatography; FAC – Frontal Affinity Chromatography; AQUA – Absolute Quantification; MALDI – matrix-assisted laser desorption / ionization; HPLC – high-performance liquid chromatography.

Ключевым этапом протеомного анализа является идентификация белковых последовательностей при помощи комбинации высокопроизводительных методов разделения белков и их масс-спектрометрического анализа. Несмотря на разнообразие методов, используемых в современных протеомных исследованиях, все они основаны на трех технологических платформах:

1. Использование двумерного электрофореза в комбинации с идентификацией белков методом MALDI-TOF масс-спектрометрии.

2. Использование одномерного электрофореза в полиакриламидном геле в комбинации с обращенно-фазовой жидкостной хроматографией (Revers Phase Liquid Chromatography, RP-LC), совмещенной с тандемной масс-спектрометрической детекцией (RP-LC-MS/MS).

3. Использование безгелевой технологии MudPit (Multidimensional Protein Identification Technology) при помощи многомерного хроматографического разделения белков с последующим масс-спектрометрическим анализом (2DLC-MS/MS и 3DLC-MS/MS) [7, 9].

Метод, который показал самую широкую реализацию в исследованиях взаимодействия «хозяин – патоген», – это иммуноаффинная очистка, связанная с масс-спектрометрией (Immunoaffinity Purification Coupled to Mass Spectrometry, IP-MS). В IP-MS белок, представляющий интерес, выделяется с использованием либо антитела против эндогенного белка, либо путем мечения белка. Затем белок идентифицируют с помощью MS. Преимущества IP-MS метода заключаются в том, что эксперименты могут проводиться и в контексте вирусной инфекции, чтобы обеспечить объективное обнаружение белок-белковых взаимодействий. Эти исследования могут быть выполнены с точки зрения патогена, например для выделения вирусного белка. Также исследования IP-MS могут определять изменения функционального состояния белков в организме хозяина. Хотя IP-MS успешно используется для изучения микроорганизмов, есть ряд нерешенных проблем. Возможность маркировать белок для очистки, сохраняя при этом репликацию вируса, может быть проблематичной, особенно для вирусов с малыми размерами генома. Из-за этого в нескольких исследованиях использовалась эктопическая экспрессия меченых вирусных белков вне заражения, чтобы получить информацию о потенциальных белок-белковых взаимодействиях. Подобный подход показал ценность при изучении функции белка матрицы вируса Эбола, VP40. При количе-

ственном определении идентифицированных взаимодействий «хозяин – патоген», большинство исследований IP-MS опирались на бесклеточную количественную оценку (например, спектральный подсчет), которая является простой, универсальной и может применяться к любой биологической системе. Одним из ограничений для наборов данных IP-MS является присутствие неспецифически взаимодействующих белков, которые совместно очищают с интересующим белком. IP-MS в меньшей степени используется при исследованиях возбудителей бактериальных инфекций. Ожидается, что в будущем будет расширено использование количественной протеомики при изучении инфекционных заболеваний [5].

## МАРКЕРЫ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Биологические маркеры – это количественно определяемые биологические параметры, которые обуславливают норму, патологию, а также результат лекарственной терапии заболеваний. Условно биомаркеры можно классифицировать следующим образом:

1. Маркеры, указывающие на наличие заболевания.

2. Маркеры, связанные с терапевтическим эффектом и механизмом действия лекарственных препаратов.

3. Прединдикторы клинического исхода. Маркеры, позволяющие предсказать благоприятный или неблагоприятный исход заболевания, эффективность лечения.

Биомаркеры позволяют оценить состояние пациента во время лечения, определить исходы заболевания, предполагаемые результаты терапии. К общим свойствам биомаркеров относится их специфическая связь с патологией, чувствительность, доступность, высокая разрешающая способность метода определения, совместимость с имеющимся лабораторным оборудованием, а также возможность определения биомаркера как в острой фазе заболевания, так и при ремиссии [3].

Перспективным для разработки новых диагностических и прогностических критериев при острых инфекционных заболеваниях является исследование концентрации белков острой фазы (БОФ). Основными БОФ являются: С-реактивный белок, альбумин, преальбумин, альфа1-антитрипсин, альфа2-макроглобулин, гаптоглобин, D-даймер белок,  $\alpha$ -антихимотрипсин [3, 11]. БОФ выполняют разнообразные биологические функции, направленные на ограничение воспалительной реакции, удаление повреждающего фактора, ло-



кализацию очага повреждения и восстановление нарушенной структуры в месте повреждения или на уровне всего организма [11].

При инфекционных поражениях увеличивается концентрация С-реактивного белка, относящегося к бета-глобулинам. С-реактивный белок, как и другие белки острой фазы воспаления, появляются в сыворотке вскоре после начала воспаления. Повышение уровня С-реактивного белка наблюдается при острых бактериальных и вирусных инфекциях, инфаркте миокарда, злокачественных новообразованиях и аутоиммунных заболеваниях. Поскольку уровень С-реактивного белка в течение суток может резко меняться, его определяют в динамике [3].

Цитокины – группа белков, участвующих в активации, контроле роста и репарации клеток, а также регуляции иммунного ответа. Последовательная экспрессия каскада цитокинов происходит при многих заболеваниях. Т-лимфоциты секретируют различные про- и противовоспалительные цитокины во время заболевания [3]. Также, например, определение лактата в спинномозговой жидкости и крови при нейроинфекциях позволяет оценить степень воспаления в оболочках головного мозга, уже в первые часы поступления больного в стационар предположить бактериальную этиологию менингита и начать комплексное лечение [12].

Современные методы хроматографии позволяют определять биомаркеры на уровне  $1 \times 10^{-9}$ – $10^{-15}$  г (от нано- до фемтограммов), благодаря разработке сверхчувствительных и селективных систем, методов концентрирования, созданию высокоэффективных и стабильных колонок и повышению надежности аппаратуры в целом [13]. Метод газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ–МС) позволяет одновременно измерять концентрации более сотни микроорганизмов непосредственно в анализируемом материале: крови, моче, биоптатах и других биологических жидкостях и тканях, минуя стадии предварительного посева на питательные среды или использование тестовых биохимических материалов [14].

## ПРОТЕОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Протеомный анализ – сложный, многоступенчатый метод, необходимый и востребованный в настоящее время для решения многих задач и вопросов в медицине и науке. В инфектологии имеются данные о применении протеомного исследования для идентификации белков-возбуди-

телей, а также исследовании белков – маркеров инфекционного процесса [15]. Проанализируем их более детально.

Получены результаты по экспериментальному моделированию возникновения вирулентных геновариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор. С экспериментальной целью были проведены межродовые (*E. coli* с *V. cholerae*) и внутривидовые (*V. cholerae* и *V. cholerae*) скрещивания. При протеомном анализе обнаружено изменение экспрессии белков, таким образом, установлено влияние изменения генотипа на уровень жизнеспособности. Одним из механизмов формирования геновариантов в естественных популяциях возбудителя является горизонтальный перенос генов. Таким образом, полученные данные о механизме образования геновариантов, о структуре и функции их генома важны для понимания изменений, происходящих в естественной популяции, приводящие к образованию новых генотипов. Используя эти данные, возможно разработать методы экстренной диагностики, а также эффективные способы профилактики [16].

Е.Г. Струкова и соавт. показали возможность использования метода хромато-масс-спектрометрии для оценки микробиологического статуса организма человека по масс-спектрометрии микробных маркеров, в качестве которых выступают жирные кислоты, стерины, альдегиды. При помощи масс-спектрометрии мазка из ротовой полости группы здоровых людей был изучен видовой состав микроорганизмов. Проведенная оценка микрофлоры зева здоровых лиц юношеского возраста показала широкий диапазон аэробных и анаэробных микроорганизмов, общее количество которых превышает норму, принятую для здоровых людей средней полосы России. Следовательно, метод ГХ–МС позволяет изучить видовой состав микроорганизмов, населяющих микробиоценозы человека различных биосубстратов. Полученные результаты исследования состава микробных маркеров в мазке зева практически здоровых лиц юношеского возраста дадут возможность использовать эти данные в качестве контрольных значений в дальнейших исследованиях, а также решать вопросы профилактики, выявляя носительство патогенной микрофлоры и формируя группы риска по развитию определенных заболеваний [17].

Имеются данные по изучению энцефалита, вызванного паразитом *Toxoplasma gondii*. Первичная инфекция *T. gondii* у иммунокомпетентных лиц остается в значительной степени бессимптомной. Напротив, у лиц с осла-

бленным иммунитетом реактивация паразита приводит к тяжелым осложнениям и смертности. Молекулярные изменения на уровне белка в центральной нервной системе и белки, связанные с патогенезом энцефалита, в настоящее время изучены не до конца. Протеомными исследованиями измененных и пораженных белков в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) человека при инфицировании *T. gondii* и коинфекции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) было идентифицировано 3 496 белков. Используя количественные протеомные исследования, получен сравнительный профиль протеомов тканей мозга у пациентов с токсоплазменным энцефалитом с ВИЧ-инфекцией. Молекулярный профиль, связанный с патологическим прогрессированием токсоплазменного энцефалита, ранее не исследовался методами протеомного анализа. Используя метод iTRAQ, было идентифицировано подмножество белков, которые экспрессируются в тканях головного мозга при энцефалите, вызванном *T. gondii* совместно с ВИЧ-инфекцией. Была обнаружена дифференциальная регуляция ключевых белков, участвующих в иммуноферментном ответе при инфицировании и приводящая в последующем к судорожной готовности и когнитивным нарушениям, также идентифицирована избыточная экспрессия белков, которые могут играть определенную роль в развитии шизофрении у пациентов с токсоплазменным энцефалитом [18].

*Cryptococcus* spp. вызывают грибковый менингит, опасную для жизни инфекцию, которая встречается преимущественно у лиц с ослабленным иммунитетом. Для того, чтобы *Cryptococcus neoformans* вторгся в центральную нервную систему (ЦНС), он должен сначала проникнуть через гематоэнцефалический барьер. Для решения вопроса о путях и патогенезе преодоления гематоэнцефалического барьера был изучен протеомный профиль эндотелиальных клеток мозга человека при менингите, вызванном *Cryptococcus neoformans*, с использованием метода масс-спектрометрии. Чтобы полностью понять механизмы проникновения через эндотелий головного мозга, необходимо изучить роль эндотелиальных факторов мозга, которые способствуют этому. Изучались изменения на уровнях экспрессии белка в эндотелии головного мозга. Протеомные исследования в этой области в дальнейшем могут улучшить данные о патогенезе проникновения микроорганизмов в головной мозг и способах возникновения поражений ЦНС у людей [19].

Вирус гриппа А вызывает ежегодные эпидемии, глобальные пандемии. Однако разработка эффективных вакцин и вариантов лечения оказалась сложной, так как вирус быстро развивается и изменяется. Следовательно, идентификация белков, связанных с вирусной инфекцией и репликацией, способствовала бы созданию потенциальных новых противовирусных препаратов. А.Л. Kroecker и соавт. изучили изменения в эпителиальных клетках верхних дыхательных путей при инфицировании вирусом гриппа, определили белковый профиль измененных цитоплазматических клеток, что в дальнейшем позволит определить новые направления развития противогриппозной терапии [20].

MALDI-TOF-технология применялась для идентификации возбудителей в крови у детей с подозрением на септическое состояние, значительно сокращая время на диагностику. Несмотря на высокую информативность результатов исследований, тем не менее, использование масс-спектрометрии не может рассматриваться как абсолютная альтернатива и замена общепринятым способам идентификации возбудителя (бактериологические и молекулярно-биологические). Оно может быть оправдано в качестве дополнительного исследования, позволяющего сократить время идентификации на 24–48 ч и, следовательно, ускорить применение адекватных антимикробных препаратов [21].

Количественные протеомные исследования белков тканей мозга мышей, зараженных вирусом японского энцефалита, на основе 2-DE-MS (двумерный гель-электрофорез, совмещенный с масс-спектрометрией) методики представляют потенциальный интерес для будущих антивирусных исследований в этой области. Было доказано, что репликация вируса не ограничивается цитоплазмой, но также и происходит в ядре клеток головного мозга. Работы в этой области являются основополагающими и имеют важное значение для дальнейших исследований, направленных на поиски противовирусной терапии. Была сделана попытка расшифровать нейропатогенез вируса японского энцефалита, изучив изменения в протеоме хозяина. Доказано, что репликация флавивируса не ограничивается цитоплазмой, но также встречается в ядре клетки хозяина. Имеются доказательства того, что основные белки репликации NS3 и NS5 JEV локализируются внутри ядра во время инфекции [22].

Исследование протеомного состава конденсата выдыхаемого воздуха представляется перспективным неинвазивным методом диагности-

ки болезней респираторного тракта человека. В рамках данного исследования проанализирован протеомный состав у 53 пациентов, включая пациентов с различными заболеваниями дыхательной системы: 17 больных хронической обструктивной болезнью легких в стадии обострения (1-я группа), 13 больных с внебольничной пневмонией (2-я группа), а также 23 здоровых некурящих донора (3-я группа). С использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии, совмещенной с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ–МС/МС), можно идентифицировать потенциальные белки-маркеры (иммуноглобулин альфа, кинниноген, сывороточный альбумин, цинк-альфа2-гликопротеин, лизоцим), характерные для воспаления легких инфекционного (пневмония) и неинфекционного генеза (хроническая обструктивная болезнь легких). Анализ конденсата выдыхаемого воздуха как простой неинвазивный метод все чаще используется для исследования и диагностики патологий дыхательной системы. Он может служить альтернативой традиционного эндоскопического обследования нижних отделов дыхательных путей. Будучи неинвазивной, процедура может быть осуществлена даже для пациентов с тяжелым течением болезни. Развитие и применение протеомных технологий для изучения белков в конденсатах выдыхаемого воздуха человека представляются перспективным направлением диагностики инфекционных заболеваний дыхательных путей [23].

При исследовании вариантов вируса клещевого энцефалита из базы данных NCBI было обнаружено, что он содержит большое количество аминокислотных последовательностей белка E (около 350, из которых 180 являются полноразмерными вариантами расшифрованных последовательностей поверхностного антигенного белка E), которые запускают выработку антител [24]. Были изучены физико-химические свойства данных последовательностей и обнаружено, что некоторый ряд штаммов вируса меняет антигенные свойства белка, способствуя снижению иммунного ответа, вызванного применяемой вакциной. Результаты исследования могут в последующем помочь разработать наиболее эффективную вакцину [24].

Недавние вспышки, вызванные вирусом Западного Нила в развитых странах, включая Европу и Соединенные Штаты, привели к высокому уровню заболеваемости и смертности. Появление более вирулентных штаммов и отсутствие эффективной противовирусной терапии или вакцины отдают приоритет пониманию патогенеза заболе-

вания. Чтобы получить представление о патофизиологических процессах, был изучен профиль белка в головном мозге мышей, инфицированных вирусом Западного Нила. Исследования были проведены с использованием 2D-DIGE и iTRAQ методов с последующей идентификацией белков масс-спектрометрией [25]. С использованием протеомных методов было идентифицировано 148 экспрессированных белков в головном мозге мышей после инфицирования вирусом Западного Нила. Эти исследования внесли огромный вклад в изучение патогенеза заболевания и разработки противовирусной терапии, что является основой для дальнейшего изучения биомаркеров заболевания, диагностики и профилактики заболеваний, вызванных вирусом Западного Нила [25].

Протеомные исследования изменили представление исследователей в отношении возбудителей многих заболеваний. После изучения белков и их регуляции стали понятны аспекты антибиотикорезистентности к препаратам у бактерий, улучшены знания о механизмах бактериальной вирулентности и способах взаимодействия бактерий с клетками человека. С применением метода MALDI-TOF для исследования белков появилась возможность изучения устойчивости бактерий в клинических лабораториях. Так, например, уже имеются результаты исследования чувствительности микроорганизмов к некоторым наиболее распространенным антибиотикам. Протеомные исследования открывают новые пути к разработке методов эффективной профилактики и созданию лекарств для лечения инфекционных заболеваний, вызванных микроорганизмами [26–28].

При проведении протеомного анализа плазмы крови у пациентов с инфекционным эндокардитом нативных клапанов сердца были обнаружены специфические белки – маркеры возбудителей инфекционного эндокардита (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus delphi*, *Streptococcus viridans*, микроорганизмы семейства Enterobacteriaceae, грибы рода *Candida* и др.), которые являются пусковым звеном в развитии иммунного ответа в организме пациента. Таким образом, протеомный анализ дает возможность диагностировать на раннем этапе развитие эндокардита, а также подобрать эффективную антимикробную и иммуотропную терапию [29].

Вирус гепатита С является основной причиной заболеваний печени во всем мире. Острая инфекция часто прогрессирует и переходит в хроническую форму, возникают фиброз, цирроз



и в редких случаях – гепатоцеллюлярная карцинома. Несмотря на то, что вирус гепатита С является сложным объектом исследований, в течение последних двух десятилетий было разработано несколько экспериментальных моделей для улучшения понимания жизненного цикла вируса, патогенеза и взаимодействий вируса и человека [30]. Протеомные исследования внесли огромный вклад в изучении патогенеза поражений при вирусном гепатите С: изучены состав вириона, репликация и сборка вируса. Учитывая изложенное, протеомные исследования следует считать ценными инструментами для расшифровки взаимодействия вируса с его хозяином и улучшения тактики ведения и лечения пациентов с вирусным гепатитом С [30].

Диагностика бешенства является проблематичной в связи с отсутствием прижизненной лабораторной диагностики, и, как правило, диагноз может быть подтвержден посмертным исследованием тканей мозга. При количественном протеомном анализе тканей головного мозга у умерших людей с энцефалитом и паралитической формой бешенства методом ITRAQ, совмещенным с масс-спектрометрией, было идентифицировано 402 белка [26]. Метод ITRAQ был использован и для идентификации биомаркеров. Выявлен набор дифференциально экспрессированных 402 белков в образцах мозговой ткани человека, которые могут служить ценным диагностическим признаком – потенциальными биомаркерами для дифференциации энцефалита от паралитических форм бешенства [31].

Применение масс-спектрометрии микробных маркеров для изучения микроэкологии человека дает качественно новый вариант микробиологического исследования благодаря возможности одновременного количественного определения более сотни микробных маркеров (индивидуальные маркеры, специфичные для таксонов разного уровня (семейства, рода или вида), по которым их можно определять количественно в объектах окружающей среды и клинических пробах) непосредственно в биологических пробах без предварительного культивирования микроорганизмов. Получение в реальном времени расширенной информации из одной пробы об анаэробах и трудно культивируемых аэробах, а также актинобактериях, вирусах, дрожжах и микроскопических грибах обеспечивает полное понимание микробной этиологии заболевания. Количественные измерения методом масс-спектрометрии позволяют изучать динамику изменения микробиоты при лечебных мероприятиях, в том числе влияние

антибиотиков и пробиотиков на пристеночную микробиоту кишечника. Микроэкологический статус человека, точнее, поддержание его гомеостаза, является необходимым условием стабильного функционирования всех органов и систем. Соответственно, одним из первых мероприятий по обеспечению качества и продолжительности жизни должен быть контроль и восстановление микробиоценоза, если он оказался нарушенным. Контролировать состав пристеночной микробиоты кишечника и других органов оказалось возможным с помощью метода ГХ–МС. Обнаруженный в результате систематических исследований гомеостаз микробных маркеров в крови и адекватность его профиля составу кишечной микробиоты здорового человека обеспечили уникальную возможность отслеживать состояние микробиоты кишечника малоинвазивным методом – по анализу крови [32].

## НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ РЕШЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

На сегодняшний день имеются запатентованные методики обследований, использующие протеомные методы для диагностики инфекционных болезней. Так, например, «Способ диагностики аксонально-демиелинизирующих полиневропатий» (патент РФ № 2441240 от 27.01.2012 г.) основан на прямом протеомном профилировании сыворотки крови больного путем идентификации биомаркеров заболевания. В частности, данный метод повышает точность диагностики полинейропатий. Учитывая аутоиммунный характер развития аксонально-демиелинизирующих полиневропатий, важное место в их диагностике занимают иммунологические методы исследования.

Однако наиболее перспективным представляется использование протеомных технологий, поскольку последние не требуют ориентации на специфичность взаимодействия «антиген – антитело», которая при аутоиммунных процессах дает сбой из-за наличия множественных «перекрестных» неспецифичных реакций. Системный подход, основанный на обнаружении в организме биомаркеров тех или иных патологических состояний методами протеомики, как правило, требует серьезной обработки результатов с использованием новейших достижений биоинформационных технологий, что еще больше повышает диагностическую значимость протеомных исследований [33].

Несколько ранее разрешен к применению «Способ диагностики сифилиса с использованием метода прямого протеомного профилирования сыворотки крови» (патент № 2381505 от 10.02.2010 г.). Сущность метода заключается в изучении наличия биомаркеров в сыворотке крови у больных сифилисом. Благодаря применению протеомных методов анализа и выявлению биомаркеров, возможно усовершенствовать раннюю диагностику и предупредить развитие осложнений. Основной идеей такой целевой «маркерной» диагностики является идентификация определенных молекул или их комплексов, которые присутствуют только в пораженных тканях или клетках (но отсутствуют в нормальных) и (или) выделяются во внешнюю среду или внутренние среды организма. Любой биологический процесс сопровождается каскадами ферментативных реакций, и специфичный набор их продуктов-фрагментов белков можно обнаружить в крови [34].

Связанное с ВИЧ-1 нейрокогнитивное расстройство встречается примерно у одной трети инфицированных людей. При исследовании ЦСЖ масс-спектрометрическим методом у модели примата с ВИЧ-1-ассоциированным нейрокогнитивным расстройством были выявлены неизвестные ранее изменения в ЦНС. При заболевании повышается экспрессия таких белков, как альфа-1-антитрипсин, комплемент С3, гемопексин, IgM и плазминоген. ВИЧ-ассоциированные неврологические расстройства сохраняются при проведении высокоактивной антиретровирусной терапии. Биомаркеры для прогнозирования ВИЧ-ассоциированных неврологических расстройств, прогрессирования течения ВИЧ-инфекции и мониторинга ответа на терапию отсутствуют. Обнаружение специфических биомаркеров болезни является важной проблемой в медицине. Белки из базы данных NCBI были исследованы с использованием поисковой системы Spectrum Mill. В исследовании были изучены белки ЦСЖ протеомным методом. Была создана и изучена модель неврологических расстройств при ВИЧ-инфекции, а идентифицированные биомаркеры выявили важный аспект заболевания: их присутствие не просто отражает распад нормальных барьеров ЦНС, но и экспрессия генов, кодирующих эти белки, заметно увеличивается в самой паренхиме головного мозга во время болезни [35].

*Escherichia coli*, одна из наиболее хорошо зарекомендовавших себя прокариот, служит модельным организмом для биохимических, биологических и биотехнологических исследований.

В последние годы протеом *E. coli* был использован в качестве стандарта для оценки и проверки новых технологий и методик, таких как фракционирование образца, обогащение белка, двумерный гель-электрофорез в сочетании с масс-спектрометрией, жидкостная и газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией, обработка данных с применением принципов биоинформатики. После завершения проекта секвенирования генома *E. coli* этот организм был охарактеризован в масштабе генома в терминах его транскриптома, протеома, взаимодействия и метаболизма. По сравнению с протеомами других организмов, протеом *E. coli* представляет собой превосходную модель для исследований, обладая рядом преимуществ: наличие баз данных (SWISS-PROT, NCBI), которые содержат информацию о белках и соответствующих генах; менее сложный, чем у других организмов, протеом *E. coli* [36].

Таким образом, данные проведенных исследований показывают возможность применения протеомного как метода диагностики. Благодаря его использованию возможны ранняя малоинвазивная диагностика, разработка и внедрение в практику новых медицинских технологий, специфических методов профилактики в инфектологии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время активно развиваются новые подходы к диагностике болезней, использующие достижения и методы протеомного анализа. С внедрением в практику данных методов появилась возможность на ранних этапах диагностировать заболевания инфекционной природы, уточнять патогенез развития уже известных, а также изучать механизм развития малоизученных заболеваний. Перспективной представляется разработка методов профилактики «неуправляемых» заболеваний, в частности инфекционной патологии, а также экспресс-диагностики во многих областях медицины. Необходимо отметить, что, имея данные об этиологии и патогенезе заболевания, а также о патологических процессах, происходящих в организме, можно использовать результаты протеомных исследований для разработки новых лекарственных средств и их медицинского применения с учетом принципов персонализированной медицины. Однако большая часть сведений о белках, имеющаяся в базах данных, была получена с помощью искусственных геномных и протеомных подходов и фактически может рассматриваться только в качестве гипотез. Биоинформационный анализ этих данных

приводит к появлению новых гипотез, которые без экспериментальной проверки представляют собой гипотезы второго порядка. Наиболее перспективными направлениями в последние годы стали новые экспериментальные подходы, интегрирующие различные методы аффинной очистки целевых комплексов белков с их последующей идентификацией с помощью масс-спектрометрии [9]. Необходимо заметить, что при исследовании белковых взаимодействий в некоторых случаях есть вероятность зафиксировать ложные сигналы, предполагающие наличие связи между молекулами. До сих пор затруднено проведение количественного анализа в масштабе целого протеома [4].

Протеомика – новая наука, основные открытия и практические результаты в этой области еще впереди. Открытия могут быть получены только на основе комплексного подхода на стыке биологии, математики, информатики, физики и химии. Проведенные исследования и полученные результаты показывают, что только в рамках такого подхода эти задачи могут быть успешно решены.

#### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Иванисенко В.А., Афонников Д.А., Николаев С.В., Пинтус С.С., Крестьянова М.А., Пальянов, А.Ю., Титов И.И. Актуальные проблемы компьютерной протеомики. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2005; 9 (2): 162–178. [Ivanisenko V.A., Afonnikov D.A., Nikolaev S.V., Pintus S.S., Krestyanova M.A., Pal'yanov A.Yu., Titov I.I. Actual problems of computer proteomics. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2005; 9 (2) 162–178 (in Russ.)].
- Демидов Е.А., Пельтек С.Е. Протеомика. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014. 18 (1): 166–174. [Demidov E.A., Peltek S.E. Proteomics. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014; 18 (1): 166–174 (in Russ.)].
- Мирошниченко И.И., Птицина С.Н. Биомаркеры в современной медико-биологической практике. *Биомедицинская химия*. 2009; 55 (4): 425–440. [Miroshnichenko I.I., Ptitsina S.N. Biomarkers in modern medical and biological practice. *Biomedical Chemistry*. 2009; 55 (4): 425–440 (in Russ.)].
- Копылов А.Т., Згода В.Г. Количественные методы в протеомике. *Биомедицинская химия*. 2007; 53 (6): 613–643. [Kopylov A.T., Zgoda V.G. Quantitative methods in proteomics. *Biomedical Chemistry*. 2007; 53 (6): 613–643 (in Russ.)].
- Beltran P.M J. et al. Proteomics and integrative omics approaches for understanding host-pathogen interactions and infectious diseases. *Molecular Systems Biology*. 2017; 13 (3): 922. DOI: 10.15252/msb.20167062.
- Краснов Н.В., Лютвинский Я.И., Подольская Е.П. Масс-спектрометрия с мягкими методами ионизации в протеомном анализе. *Научное приборостроение*. 2010; 20 (4): 5–20. [Krasnov N.V., Lyutvinsky I.I., Podolskaya E.P. Mass spectrometry with soft ionization methods in protein analysis. *Scientific Instrumentation*. 2010. 20 (4): 5–20 (in Russ.)].
- Писарев Д.И., Новиков О.О., Васильев Г.В., Селютин О.А. Опыт использования метода MALDI/TOF/MS в фармацевтическом анализе. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2012; 18 (10–2): 76–85. [Pisarev D.I., Novikov O.O., Vasiliev G.V., Selyutin O.A. Experience in the use of the MALDI/TOF/MS method in pharmaceutical analysis. *Scientific Bulletins of the Belgorod State University. Series: Medicine. Pharmacy*. 2012; 18 (10–2): 76–85 (in Russ.)].
- Медведев Ю.В., Раменская Г.В., Шохин И.Е., Ярушок Т.А. ВЖЭХ и СВЖХ как методы для определения лекарственных веществ в крови (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2013; 47 (4): 45–51. [Medvedev Yu.V., Ramenskaya G.V., Shokhin I.E., Yarushok T.A. HPLC and UPLC as methods for the determination of drugs in the blood (review). *Chemical-pharmaceutical Journal*. 2013; 47 (4): 45–51 (in Russ.)].
- Иванов А.С., Згода В.Г., Арчаков А.И. Технологии белковой интерактомики. *Биоорганическая химия*. 2011. 37 (1): 8–21. [Ivanov A.S., Zgoda V.G., Archakov A.I. Technologies of protein interactomics. *Bioorganic Chemistry*. 2011. 37 (1): 8–21 (in Russ.)].
- Говорун В.М., Иванов В.Т. Протеомика и пептидомика в фундаментальных и прикладных медицинских исследованиях. *Биоорганическая химия*. 2011; 37 (2): 199–215. [Govorun V.M., Ivanov V.T. Proteomics and peptidomics in fundamental and applied medical research. *Bioorganic Chemistry*. 2011; 37 (2): 199–215 (in Russ.)].
- Алексеева Л.А., Скрипченко Н.В., Бессонова Т.В. Диагностическое значение белков острой фазы в цереброспинальной жидкости детей с нейроинфекционными заболеваниями. *Журнал инфектологии*. 2010. 2 (2): 28–34. [Alekseeva L.A., Skripchenko N.V., Bessonova T.V. Diagnostic value of acute phase proteins in cerebrospinal fluid of children with neuroinfectious diseases. *Journal of Infectology*. 2010; 2 (2): 28–34 (in Russ.)].
- Молотилова Т.Н. Сравнительная оценка биохимических характеристик спинномозговой жидкости и крови у больных менингитами различной этиологии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2012: 121 [Molotilova T.N. Comparative evaluation of biochemical characteristics of cerebrospinal fluid and blood in patients with meningitis of various etiologies. Extended abstract of Cand. Med. Sci. dissertation, Moscow, 2012: 121 (in Russ.)].
- Яшин Я.И., Яшин А.Я. Определение биомаркеров заболеваний хроматографическими методами. *Меди-*

- цинский алфавит. 2008; 4 (17): 32–34. [Yashin Ya.I., Yashin A.Ya. Determination of biomarkers of diseases by chromatographic methods. *Medical Alphabet*. 2008; 4 (17): 32–34 (in Russ.)].
14. Осипов Г.А., Зыбина Н.Н., Родионов Г. Г. Опыт применения масс-спектрометрии микробных маркеров в лабораторной диагностике. *Медицинский алфавит*. 2013; 1 (3): 64–67. [Osipov G.A., Zyбина N.N., Rodionov G.G. Experience of using mass spectrometry of microbial markers in laboratory diagnostics. *Medical Alphabet*. 2013; 1 (3): 64–67 (in Russ.)].
  15. Kovalyov L.I., Kovalyova M.A., Burakova M.V. et al. Studies of the pathogenesis of slow neuroinfections using proteomic techniques. *Neurochemical Journal*. 2007; 1 (4): 318–325.
  16. Смирнова Н.И., Агафонов Д.А., Щелканова Е.Ю., Заднова С.П., Черкасов А.В., Кутырев В.В. Геноварианты возбудителя холеры Эль Тор: получение, молекулярно-генетический и протеомный анализ. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2014; 1: 21–31. [Smirnova N.I., Agafonov D.A., Shchelkanova E.Yu., Zadnova S.P., Cherkasov A.V., Kutyrёv V.V. Genovariants of the causative agent of cholera El Tor: acquisition, molecular genetic and proteomic analysis. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2014; 1: 21–31 (in Russ.)].
  17. Струкова Е.Г., Ефремов А.А., Гонтова А.А., Осипов Г.А., Сарматова Н.И. Определение микрoэкологического статуса и диагностика инфекций организма человека с использованием метода хромато-масс-спектрометрии. *Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Химия*. 2009; 2 (4): 351–358. [Strukova E.G., Efremov A.A., Gontova A.A., Osipov G.A., Sarmatova N.I. Determination of the microecological status and diagnosis of human infections using the chromatography-mass spectrometry method. *Journal of the Siberian Federal University. Series: Chemistry*. 2009; 2 (4): 351–358 (in Russ.)].
  18. Sahu A., Kumar S., Sreenivasamurthy S.K. et al. Host response profile of human brain proteome in toxoplasma encephalitis co-infected with HIV. *Clinical Proteomics*. 2014; 11 (1): 39. DOI: 10.1186/1559-0275-11-39.
  19. Vu K., Eigenheer R.A., Phinney B.S., Gelli A. Cryptococcus neoformans promotes its transmigration into the central nervous system by inducing molecular and cellular changes in brain endothelial cells. *Infection and Immunity*. 2013; 81 (9): 3139–3147. DOI: 10.1128/IAI.00554-13.
  20. Kroecker A.L., Ezzati P., Halayko A.J., Coombs K.M. Response of primary human airway epithelial cells to influenza infection: a quantitative proteomic study. *Journal of Proteome Research*. 2012; 11 (8): 4132–4146. DOI: 10.1021/pr300239r.
  21. Чеботарь И.В., Пономаренко О.А., Лазарева А.В., Карасева О.В., Горелик А.Л., Бочарова Ю.А., Тепаев Р.Ф. Использование MALDI-TOF-технологии для идентификации возбудителей септических состояний в педиатрической практике. *Современные технологии в медицине*. 2015. 7 (2): 68–74. [Chebotar I.V., Ponomarenko O.A., Lazareva A.V., Karaseva O.V., Gorelik A.L., Tepaev R.F. Use of MALDI-TOF-technology for the identification of causative agents of septic states in pediatric practice. *Modern Technologies in Medicine*. 2015; 7 (2): 68–74 (in Russ.)].
  22. Sengupta N., Ghosh S., Vasaikar S.V., Gomes J., Basu A. Modulation of neuronal proteome profile in response to Japanese Encephalitis virus infection. *PLoS One*. 2014; 9 (3): e90211. DOI: 10.1371/journal.pone.0090211.
  23. Кононихин А.С., Федорченко К.Ю., Рябконов А.М., Стародубцева Н.Л., Попов И.А., Завьялова М.Г., Анаев Э.Х., Чучалин А.Г., Варфоломеев С.Д., Николаев Е.Н. Протеомный анализ конденсата выдыхаемого воздуха в целях диагностики патологий дыхательной системы. *Биомедицинская химия*. 2015. 61 (6): 777–780. [Kononikhin A.S., Fedorchenko K.Yu., Riabokon A.M., Starodubtseva N.L., Popov I.A., Zavyalova M.G., Anayev E.Kh., Chuchalin A.G., Varfolomeev S.D., Nikolaev E.N. Proteomic analysis of the condensate of the exhaled air for the purpose of diagnostics of pathologies of the respiratory system. *Biomedical Chemistry*. 2015. 61 (6): 777–780 (in Russ.)].
  24. Букин Ю.С., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., Ружек Д., Злобин В.И. Сравнительный анализ физико-химических свойств аминокислотных остатков, входящих в различные варианты оболочечного белка Е вируса клещевого энцефалита. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2014; 6 (100): 84–88. [Bukin Y.C., Dzhioev Y.P., Kozlov I.V., Ruzhek D., Zlobin V.I. Comparative analysis of physico-chemical properties of the amino acid residues included in various embodiments of the envelope protein E TBE virus. *Bulletin ESSC SB RAMS*. 2014; 6 (100): 84–88 (in Russ.)].
  25. Fraiser C., Camoin L., Lim S. et al. Altered protein networks and cellular pathways in severe west nile disease in mice. *PLoS One*. 2013; 8 (7): e68318. DOI: 10.1371/journal.pone.0068318.
  26. Pérez-Llarena F.J., Bou G. Proteomics as a tool for studying bacterial virulence and antimicrobial resistance. *Frontiers in Microbiology*. 2016; 7: 410. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00410.
  27. Vranakis I., Goniotakis I., Psaroulaki A., Sandalakis V., Tselentis Y., Gevaert K., Tsiotis G. Proteome studies of bacterial antibiotic resistance mechanisms. *Journal of Proteomics*. 2014; (97): 88–99. DOI: 10.1016/j.jprot.2013.10.027.
  28. Chen B., Zhang D., Wang X. et al. Proteomics progresses in microbial physiology and clinical antimicrobial therapy. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2016; 36 (3): 403–413. DOI: 10.1007/s10096-016-2816-4.
  29. Румбешт В.В., Мационис А.Э., Дюжиков А.А., Сарвилина И.В. Иммунопротеомика инфекционного эндо-

- кардита нативных клапанов сердца. *Медицинская иммунология*. 2008; 10 (1): 27–34. [Rumbesht V.V., Matsionis A.E., Dyuzhikov A.A., Sarvilina I.V. Immuno-proteomics of the infective endocarditis of native heart valves. *Medical Immunology*. 2008; 10 (1): 27–34 (in Russ.)].
30. Douam F., Ploss A. Proteomic approaches to analyzing hepatitis C virus biology. *Proteomics*. 2015; 15 (12): 2051–2065. DOI: 10.1002/ptmic.201500009.
31. Venugopal A.K., Ghantasala S.S.K., Selvan L.D.N. et al. Quantitative proteomics for identifying biomarkers for rabies. *Clinical Proteomics*. 2013; 10 (1): 3. DOI: 10.1186/1559-0275-10-3.
32. Осипов Г.А., Родионов Г.Г. Применение метода масс-спектрометрии микробных маркеров в клинической практике. *Поликлиника*. 2013; (1–3): 68–73. [Osipov G.A., Rodionov G.G. Application of the mass spectrometry method for microbial markers in clinical practice. *Polyclinic*. 2013; (1–3): 68–73 (in Russ.)].
33. Способ диагностики аксонально-демиелинизирующих полиневропатий: пат. 2441240 Рос. Федерация: МПК G 01 N 33/49, G 01 N 27/62 / Ющук Н.Д. и др.; заявитель и патентообладатель Москва, Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации – № 2010140643/15; заявл. 05.10.2010; опубл. 27.01.2012. Бюл. № 3. [A method for diagnosing axonal-demyelinating polyneuropathies: Pat. 2441240 Rus. Federation: IPC G 01 N 33/49, G 01 N 27/62 / Yushchuk N.D. et al.; applicant and patent holder is Moscow, State Educational Establishment of Higher Professional Education «Moscow State University of Medicine and Dentistry» of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation – No. 2010140643/15; claimed. 10/05/2010; publ. 27.01.2012 Bul. № 3 (in Russ.)].
34. Способ диагностики сифилиса с использованием метода прямого протеомного профилирования сыворотки крови: пат. 2381505 Рос. Федерация: МПК G 01 N 33/48 / Кубанова А.А. и др.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное учреждение «Государственный научный центр дерматовенерологии Федерального агентства по высокотехнологической медицинской помощи» – № 2008138741/15; заявл. 30.09.2008; опубл. 10.02.2010. Бюл. № 4. [A method for diagnosing syphilis using the method of direct proteomic profiling of blood serum: pat. 2381505 Rus. Federation: IPC G 01 N 33/48 / Kubanova A.A. et al.; applicant and patent holder is Federal State Institution «State Scientific Center of Dermatovenereology of the Federal Agency for High-Tech Medical Care» – No. 2008138741/15; claimed. 30.09.2008; publ. 10.02.2010 Bul. № 4 (in Russ.)].
35. Pendyala G., Trauger S.A., Kalisiak E., Ellis R.J., Siuzdak G., Fox H.S. Cerebrospinal fluid proteomics reveals potential pathogenic changes in the brains of SIV-infected monkeys. *Journal of Proteome Research*. 2009; 8 (5): 2253–2260. DOI: 10.1021/pr800854t.
36. Han M.-J., Lee S.Y. The Escherichia coli proteome: past, present, and future prospects. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2006; 70 (2): 362–439. DOI: 10.1128/MMBR.00036-05.

## Сведения об авторах

**Страшникова Наталья Сергеевна**, врач-инфекционист, Красноярская межрайонная детская больница № 1, г. Красноярск.

**Мартынова Галина Петровна**, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских инфекционных болезней с курсом ПО, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

**Салмина Алла Борисовна**, д-р мед. наук, профессор, проректор по инновационному развитию и международной деятельности, зав. кафедрой биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, руководитель НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

**Оловянникова Раиса Яковлевна**, канд. биол. наук, доцент, кафедра биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

## Authors information

**Strashnikova Natalya S.**, Infectious Disease Doctor, Krasnoyarsk Interdistrict Children's Hospital No. 1, Krasnoyarsk, Russian Federation.

**Martynova Galina P.**, DM, Professor, Head of the Children Infectious Diseases Department with Postgraduate Education, KSMU named after Professor V.F. Vojno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

**Salmina Alla B.**, DM, Professor, Vice-Rector for Innovative Development and International Activities, Head of the Department of Biochemical Chemistry with a Course in Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, Head of the Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, KSMU named after Professor V.F. Vojno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

**Olovyannikova Raisa Y.**, PhD, Assistant Professor, Department of Biological Chemistry with a Course in Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, KSMU named after Professor V.F. Vojno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.



**Кутяков Виктор Андреевич**, канд. биол. наук, ст. преподаватель, кафедра биологической химии с курсом медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

**Тохидпур Аболхасем**, ст. науч. сотрудник, НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск.

(✉) **Страшникова Наталья Сергеевна**, e-mail: Natali\_Parilova@mail.ru.

**Kutyakov Viktor A.**, PhD, Senior Lecturer, Department of Biological Chemistry with a Course in Medical, Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, named after Professor V.F. Vojno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

**Tohidpur Abolhasem**, Senior Researcher, Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, named after Professor V.F. Vojno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation.

(✉) **Strashnikova Natalya S.**, e-mail: Natali\_Parilova@mail.ru.

Received 25.03.2018

Accepted 14.12.2018

Поступила в редакцию 25.03.2018

Подписана в печать 14.12.2018