

Масс-спектрометрическое определение изотипа кор-антигена вируса гепатита С

А.Л.Кайшева^{1,2}, Ю.Д.Иванов¹, П.А.Французов¹, В.Ф.Учайкин³, В.А.Конев³, А.И.Арчаков¹

¹НИИ биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича, Москва, Российская Федерация;

²ООО «ПостгенТех», Москва, Российская Федерация;

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Москва, Российская Федерация

Цель. Предложить способ определения изоформы кор-антигена вируса гепатита С в сыворотке крови человека.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы сывороток крови, полученные от пациентов, инфицированных вирусным гепатитом С по данным ПЦР. С помощью аффинных реагентов, в качестве которых выступали плоские чипы с иммобилизованными на поверхности моноклональными антителами против кор-антигена вирусного гепатита С, осуществлялось концентрирование целевого белка. Регистрацию пептидных фрагментов молекул, сконцентрированных на поверхности плоских чипов, выполняли на времяпролетном масс-спектрометре Autoflex III MALDI-TOF/TOF (Bruker Daltonics, Германия). Идентификацию белков проводили с помощью протеомной поисковой машины Mascot с достоверностью более 95%.

Результаты. Было проведено обогащение поверхности аффинных реагентов молекулами кор-антигена из пятнадцати образцов сыворотки крови пациентов, инфицированных вирусным гепатитом С, с последующей прямой масс-спектрометрической идентификацией. В 14 образцах были выявлены изоформы кор-антигена Q8V7V3, Q66VB3, O71242, соответствующие генотипу 1b и изоляту HC-J2, в одном образце – изоформа Q68692, соответствующая генотипу 2c, изоляту HC-J7. В большинстве образцов сывороток крови (в 12 образцах из 15) была выявлена изоформа Q8V7V3. Гомологичность аминокислотных последовательностей всех четырех изоформ составила 89–96%.

Заключение. Предложен новый способ определения изоформы кор-антигена вирусного гепатита С в образцах биоматериала. Способ основан на комбинации специфического обогащения поверхности аффинных реагентов молекулами целевого белка с последующей масс-спектрометрической идентификацией. Масс-спектрометрический анализ позволяет не только достоверно идентифицировать кор-антиген вирусного гепатита С в образце биоматериала, но и определить его изоформу.

Ключевые слова: аффинное обогащение, изоформа, кор-антиген, масс-спектрометрическая идентификация

Для цитирования: Кайшева А.Л., Иванов Ю.Д., Французов П.А., Учайкин В.Ф., Конев В.А., Арчаков А.И. Масс-спектрометрическое определение изотипа кор-антигена вируса гепатита С. *Инфекционные болезни*. 2016; 14(4): 51–55. DOI: 10.20953/1729-9225-2016-4-51-55

Mass spectrometry detection of an isotype of hepatitis C virus core antigen

A.L.Kaysheva^{1,2}, Yu.D.Ivanov¹, P.A.Frantsuzov¹, V.F.Uchaikin³, V.A.Konev³, A.I.Archakov¹

¹V.N.Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russian Federation;

²LLC «PostGenTech», Moscow, Russian Federation;

³N.I.Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

The objective. To propose a method of detecting an isoform of hepatitis C virus core antigen in human blood serum.

Materials and methods. The material of study were samples of blood serums obtained from patients infected with hepatitis C virus according to PCR findings. Using affinity reagents, which were flat chips with immobilized on the surface monoclonal antibodies against hepatitis C virus core antigen, the target protein concentration was obtained. Peptide fragments of molecules concentrated on the flat chip surface were recorded on a time-of-flight mass spectrometer Autoflex III MALDI-TOF/TOF (Bruker Daltonics, Germany). Proteins were identified using the proteomic search engine Mascot with more than 95% reliability.

Results. Affinity reagent surface was enriched with core antigen molecules from fifteen blood serum samples of patients infected with hepatitis C virus with subsequent direct mass spectrometric identification. In 14 samples, core antigen isoforms Q8V7V3, Q66VB3, O71242 corresponding to genotype 1b and isolate HC-J2 were found, in one sample – isoform Q68692 corresponding to genotype 2c, isolate HC-J7. In most serum samples (in 12 samples of 15) isoform Q8V7V3 was found. The homology of amino acid sequences of all four isoforms was 89–96%.

Для корреспонденции:

Кайшева Анна Леонидовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии НИИ биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича, сотрудник ООО «ПостгенТех»

Адрес: 119121, Москва, ул. Погодинская, 10/7

Телефон: (499) 246-3761

E-mail: kaysheva@gmail.com

Статья поступила 27.10.2016 г., принята к печати 15.12.2016 г.

For correspondence:

Anna L. Kaysheva, PhD in biology, research fellow at the laboratory of nanobiotechnology, V.N.Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, specialist at LLC «PostGenTech»

Address: 10/7, ul. Pogodinskaya, Moscow, 119121, Russian Federation

Phone: (499) 246-3761

E-mail: kaysheva@gmail.com

The article was received 27.10.2016, accepted for publication 15.12.2016

Conclusion. A new method of detecting an isoform of hepatitis C virus core antigen in samples of biomaterial has been proposed. The method is based on combination of specific enrichment of affinity reagent surface with target protein molecules with subsequent mass spectrometric identification. Mass spectrometry permits not only to reliably identify hepatitis C virus core antigen in a sample of biomaterial but also to specify its isoform.

Key words: affinity enrichment, isoform, core antigen, mass spectrometric identification

For citation: Kaysheva A.L., Ivanov Yu.D., Frantsuzov P.A., Uchaikin V.F., Konev V.A., Archakov A.I. Mass spectrometry detection of an isotype of hepatitis C virus core antigen. *Infekc. bolezni (Infectious diseases)*. 2016; 14(4): 51–55. (In Russian). DOI: 10.20953/1729-9225-2016-4-51-55

По данным ВОЗ, вирусный гепатит С (ВГС) относится к социально-значимым заболеваниям. На сегодняшний день ВГС инфицировано около 10% населения Земли, в том числе в России инфицировано около 3–4 млн человек [1]. Инкубационный период при ВГС составляет от 2 нед до 6 мес и проходит бессимптомно [2], поэтому очень важно своевременно диагностировать ВГС у групп лиц, входящих в зону риска заражения. Но именно ранняя диагностика инфекции до сих пор затруднена. Инфекция остается невыявленной зачастую до серьезных повреждений печени. Так, в клинической практике лабораторная диагностика гепатита включает определение в сыворотке крови вирусного генома (РНК), кор-антигена и вирус-специфических антител (анти-HCV IgM, анти-HCV IgG, анти-cor IgG, анти-NS3 IgG, анти-NS4 IgG, анти-NS5 IgG). Для диагностики ВГС используются твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА), а также полимеразная цепная реакция (ПЦР) [3]. Первые антитела удается обнаружить только через 20–150 дней (в среднем через 50 дней) от момента заражения [3].

Популяция вируса гепатита С крайне неоднородна. На сегодня известны 7 генотипов и более 90 субтипов для ВГС [4].

Доминирование и распределение генотипов HCV территориально неравномерно. Так, в Северной Америке доминирует генотип 1a, реже встречаются 1b, 2a, 2b и 3a. В Европе 1b генотип доминирует над 2a, 2b, 2c, 3a. Генотипы 4 и 5 обнаруживаются преимущественно в Африке. В Российской Федерации чаще всего выявляют генотип 1b. Знание генотипа клинически важно для разработки новых лекарственных препаратов для эффективной борьбы с ВГС [5].

С высокой частотой острый гепатит С переходит в хронический в 85% случаев инфицирования, который в дальнейшем может развиваться в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному [2]. Поскольку зачастую заболевание протекает бессимптомно [2], то особенно важно своевременно диагностировать ВГС в период острой фазы.

Устойчивость ВГС обусловлена его способностью реплицироваться с высоким уровнем мутаций благодаря неточности считывания РНК-полимеразы ВГС [6]. В результате таких ошибок считывания РНК синтезируются различные изоформы белков, содержащие аминокислотные замены [7].

Важным представляется развитие методов высокочувствительной прямой масс-спектрометрической идентификации белковых антигенов ВГС, а также способа определения их изоформ. На примере популяции центральной России показана эффективность применения комбинации масс-спектрометрической идентификации кор-антигена ВГС, специфически выловленного на поверхность аффинных ре-

агентов из образцов сыворотки крови, для определения изоформы кор-антигена.

Цель: описание прямого способа определения изоформы кор-антигена вирусного гепатита С в сыворотке крови пациентов.

Материалы и методы

Образцы сыворотки крови были любезно предоставлены кафедрой инфекционных болезней у детей ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России, ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора. Получено добровольное информированное согласие пациентов на участие в исследовании и использование их биоматериала. Образцы сыворотки крови были предварительно протестированы на содержание РНК ВГС методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (AmpliSens HCV-monitor-FRT, ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Положительными на наличие ВГС считались образцы сывороток крови, в которых обнаруживалась РНК ВГС.

Материалом исследования служили образцы сывороток свежей венозной крови, полученной утром натощак. Забор и хранение образцов сывороток крови выполнялись в соответствии с процедурами, описанными ранее в работе [8, 9]. Далее с помощью аффинных реагентов, в качестве которых выступали плоские чипы для атомно-силового микроскопа с иммобилизованными на поверхности моноклональными антителами против кор-антигена, осуществлялось концентрирование целевого белка согласно процедуре, подробно описанной в работах [9, 10]. Последующая пробоподготовка аффинных реагентов для проведения масс-спектрометрических измерений проводилась в соответствии с процедурами, описанными нами ранее [11, 12].

Регистрацию пептидных фрагментов выполняли на времяпролетном масс-спектрометре Autoflex III MALDI-TOF/TOF (Bruker Daltonics, Германия), оснащенном азотным лазером с длиной волны излучения $\lambda = 337$ нм, согласно работе [8].

Результаты масс-спектрометрических измерений обрабатывали при помощи ПО flexAnalysis версии 2.0 (Bruker, Германия). Идентификацию белков проводили с вероятностью более 95% с помощью протеомной поисковой машины Mascot (Matrix Science, Великобритания <http://www.matrixscience.com>) с использованием библиотеки данных белковых последовательностей SwissProt. Были выбраны следующие параметры поиска: фермент – трипсин, 1 пропущенный сайт гидролиза, таксономическая группа – гепатит С, точность измерения моноизотопных масс допускалась 100 ppm, зарядовое состояние пептидного иона – МН+, в качестве возможной модификации указывался окисленный метионин [10, 13].

Результаты исследования и их обсуждение

Применение времяпролетного масс-спектрометрического детектора без предварительного аффинного обогащения для выявления целевых белков в биоматериале ограничено вследствие низкой чувствительности 10^{-9} М и высокого динамического диапазона белков в сыворотке крови человека [14]. Поэтому масс-спектрометрическая идентификация применялась с предварительным аффинным концентрированием кор-антигена на поверхности аффинных реагентов из образцов сывороток крови человека, инфицированных ВГС [8, 9]. Проводился анализ белков с поверхности аффинных реагентов после инкубации в образцах сыворотки крови, положительных и отрицательных на наличие РНК вируса гепатита по данным ПЦР анализа. Аффинное концентрирование молекул кор-антигена из образцов сыворотки крови проводилось аналогично [9, 10]. Далее мы подробно опишем результаты масс-спектрометрических identifications белковых объектов, специфически выловленных и сконцентрированных на поверхности аффинных реагентов.

На рисунке представлен типичный масс-спектрометрический спектр, полученный с поверхности аффинного реагента, инкубированного в образце сыворотки крови №33, положительной на наличие ВГС. В результате анализа этого спектра был идентифицирован кор-антиген по 12 пептидам: DRRTTGK ($m/z = 833,57$), AGWLLSPR ($m/z = 899,55$), STNPKPQR ($m/z = 927,62$), TSERSQPR ($m/z = 960,69$), MSTNPKPQK ($m/z = 1030,58$), NTIRRPQDVK ($m/z = 1226,71$), STNPKPQRKTK ($m/z = 1284,72$), RNTNRRPQDVK ($m/z = 1382,81$), VIDTLTCGFADLMG ($m/z = 1455,95$), GSRPSWGPTDPRHRSR ($m/z = 1848,95$), FPGGGQIVGGVYLLPRRGPR ($m/z = 2096,17$), SRNLGKVIDTLTCGFADLMG ($m/z = 2111,35$), AGWLLSPRGRSRWGPTDPR ($m/z = 2193,48$).

В результате анализа 15 сывороток крови, положительных на наличие ВГС, были идентифицированы в 14 образцах сыворотки крови изоформы кор-антигена Q8V7V3, Q66VB3, O71242, соответствующие генотипу 1b и изоляту HC-J2, и

Таблица 1. Частота встречаемости изоформ кор-антигена ВГС в образцах сыворотки крови, положительных на наличие ВГС

Изотип кор-антигена	Генотип / Изолят ВГС (NCBI/ncr)	Число сывороток крови, абс.	Гомология а.к. последовательности по Q8V7V3, %
Q8V7V3	1b / HC-J2	12	—
Q66VB3	1b / HC-J2	1	96
O71242	1b / HC-J2	1	90
Q68692	2c / HC-J7	1	89

в одном образце сыворотки крови – изоформа Q68692, соответствующая генотипу 2c, изоляту HC-J7 (табл. 1). В образцах сывороток крови, отрицательных на наличие ВГС, пептидных фрагментов, соответствующих кор-антигену, выявлено не было [9].

Как видно из табл. 1, в большинстве образцов сывороток крови была выявлена изоформа кор-антигена Q8V7V3 (в 12 образцах из 15). Изоформы Q8V7V3, Q66VB3, O71242 кор-антигена, обнаруженные в большей части образцов (в 14 образцах из 15), соответствуют генотипу 1b и изоляту HC-J2 HCV, еще в одном образце была обнаружена изоформа Q68692, которая относится к генотипу 2c и изоляту HC-J7. Интересно, что наблюдалась чрезвычайно высокая гомологичность среди выявленных аминокислотных последовательностей 4 изоформ кор-антигена на уровне 89–96%.

Из данных известно, что аминокислотная последовательность кор-антигена ВГС крайне вариабельна. На декабрь 2016 г. белковая база данных UniProt KB для кор-антигена содержала 1467 аминокислотных последовательностей, отличных по массе: от 7151 (64 а.о.) до 25312 Да (233 а.о.) и по идентичности аминокислотных последовательностей [7]. Масс-спектры для различных изоформ кор-антигена, аннотированных в предсказательных белковых базах данных (SwissProt, NCBI), на сегодня отсутствуют. Канонической изоформой кор-антигена в литературе принято считать последовательность длиной 121 а.о., которая расположена с N-конца полипептида [15]. Известно, что наиболее высоко-

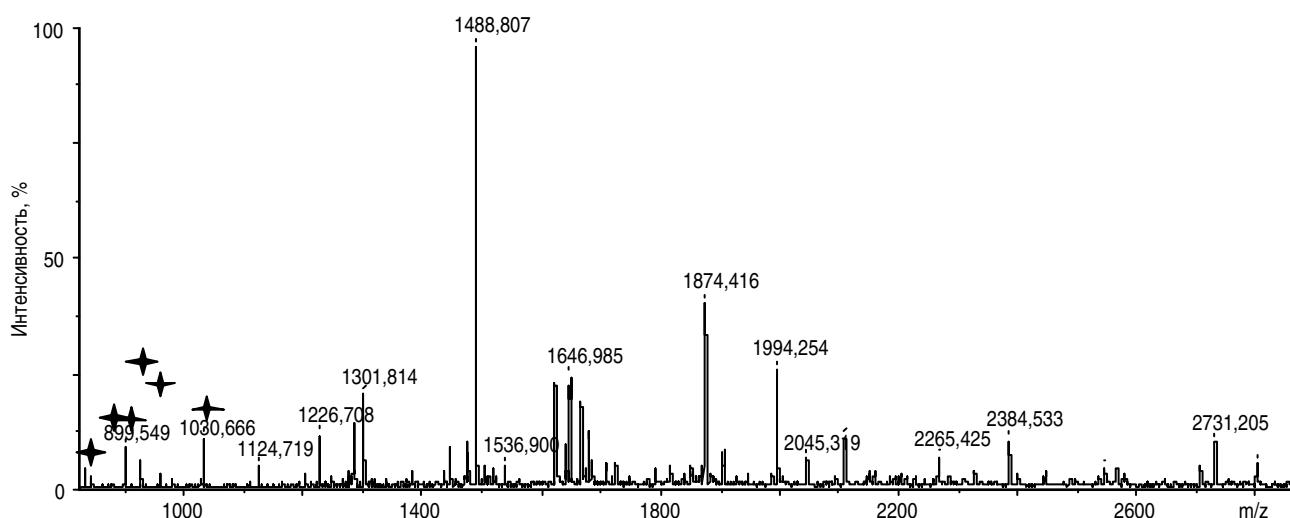


Рисунок. Масс-спектрометрический спектр гидролизированных объектов с поверхности аффинных реагентов с иммобилизованными моноклональными антителами против кор-антигена, после инкубации в сыворотке №33, содержащей ВГС. Звездочками отмечены пептиды, соответствующие кор-антигену. Экспериментальные условия: измерения были проведены на времяпролетном масс-спектрометре Autoflex III (Bruker).

Таблица 2. Частоты встречаемости пептидов кор-антигена HCV при масс-спектрометрическом анализе образцов сыворотки крови, абс.

А.о. пептида	№№ а.о.	m/z	Частота встречаемости, абс.
AGWLLSPR	2–9	899,5	7
MSTNPKPQKM	1–9	1030,5	7
FPGGGQIVGGVYLLPR	24–39	1629,8	6
KTNRNTNR	10–17	1003,6	5
GSRPSWGPTDPRR	102–114	1468,7	5
LGVRATRК	44–51	900,5	4

консервативными участками кор-антигена ВГС являются: гидрофобный домен, включающий аминокислотные остатки (а.о.) 24–39, кластеры 2–23, 39–74 а.о. и 101–121 а.о. [16].

В результате проведенного нами масс-спектрометрического анализа образцов сывороток крови было обнаружено, что наиболее часто в результате идентификации встречались 6 пептидных фрагментов в составе кор-антигена, представленные в табл. 2.

Интересно, что наиболее часто встречающиеся пептиды в масс-спектрометрическом анализе относятся к консервативным регионам кор-антигена HCV.

Полученные нами результаты по определению генотипов ВГС согласуются с данными литературы. В последние 15 лет в литературе активно обсуждается географическая распространенность и распределение известных генотипов ВГС, в том числе и на территории России. Известно, что распределение генотипов ВГС в южном регионе России во многом сходно с азиатскими странами и Италией. На юге России преобладает генотип 2, в центральной России и в Сибири – генотипы 1 и 3. В среднем в России наиболее часто регистрируются случаи инфицирования ВГС с генотипом 1b (43% случаев) и 3a (53% случаев), существенно реже случаи инфицирования генотипом 2a (4% случаев) [17, 18]. Интерес научного сообщества к географическому картированию распределения генотипов ВГС обусловлен клинической значимостью [19]. Все чаще в литературе озвучивается мнение, что ограничить распространение станет возможным путем подбора наиболее эффективных для конкретного генотипа противовирусных препаратов [17–19].

Заключение

В статье предложен способ определения генотипа ВГС и изоформы кор-антигена ВГС путем прямой масс-спектрометрической регистрации кор-антигена без использования антител, флуоресцентных или химических меток. Современные масс-спектрометрические методы являются единственными протеомными методами, которые позволяют однозначно идентифицировать целевые белки в анализируемых биообразцах. Полученные результаты представляют интерес для медико-биологических исследований ВГС, направленных на поиск новых лекарственных препаратов, эффективного мониторинга успешности применяемого лечения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.

Литература/References

1. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. 2016 / The Federal service for supervision of consumer rights protection and human well-being. 2016. Available at: http://rosпотребнадзор.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=6840
2. FDA approves first combination pill to treat hepatitis C. Available at: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm418365.htm>
3. Козлова ВИ, Смирнова ЕН, Сорока ЕВ. Современные методы диагностики и лечения хронического вирусного гепатита С. Сайт ГБУ РО «КБ имени Н.А.Семашко» / Kozlova VI, Smirnova EN, Soroka EV. Modern methods of diagnosis and treatment of chronic viral hepatitis C. Available at: <http://semashkorzn.ru/patients/28>.
4. Messina JP, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2015; 61(1):77-87. doi: 10.1002/hep.27259
5. Serre SB, Jensen SB, Ghanem L, Humes DG, Ramirez S, et al. Hepatitis C virus genotype 1 to 6 protease inhibitor escape variants: in vitro selection, fitness, and resistance patterns in the context of the infectious viral life cycle. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;23(6):3563-3578. doi: 10.1128/AAC.02929-15
6. Ogata N, Alter HJ, Miller RH, Purcell RH. Nucleotide sequence and mutation rate of the H strain of hepatitis C virus. *PNAS*. 1991;88(8):3392-3396.
7. UniRef – Cluster: Core http://www.uniprot.org/uniref/UniRef50_A0A0S4L5J3?direct=yes
8. Kaisheva AL, Ivanov IuD, Zgoda VG, Frantsuzov PA, Pleshakova TO, et al. Visualization and identification of hepatitis C viral particles by atomic force microscopy combined with MS/MS analysis. *Biomed Khim*. 2010;56(1):26-39. Russian.
9. Kaysheva AL, Ivanov YD, Frantsuzov PA, Krohin NV, Pavlova TI, et al. Mass spectrometric detection of the amino acid sequence polymorphism of the hepatitis C virus antigen. *J Virol Methods*. 2016;229:86-90. doi: 10.1016/j.jviromet.2015.12.012
10. Ivanov YD, Kaysheva AL, Frantsuzov PA, Pleshakova TO, Krohin NV, et al. Detection of hepatitis C virus core protein in serum by atomic force microscopy combined with mass spectrometry. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:1597-1608. doi: 10.2147/IJN.S71776
11. Ivanov YD, Pleshakova TO, Krohin NV, Kaysheva AL, Usanov SA, et al. Registration of the protein with compact disk. *Biosens Bioelectron*. 2013;43:384-90. doi: 10.1016/j.bios.2012.12.039
12. Ivanov YD, Bukharina NS, Pleshakova TO, Kaysheva AL, Zgoda VG, et al. Atomic force microscopy fishing and mass spectrometry identification of gp120 on immobilized aptamers. *Int J Nanomedicine*. 2014;3(9):4659-70. doi: 10.2147/IJN.S66946
13. Ivanov YD, Pleshakova T, Malsagova K, Kozlov A, Kaysheva A, et al. Highly sensitive protein detection by combination of atomic force microscopy fishing with charge generation and mass spectrometry analysis. *FEBS J*. 2014; 281(20):4705-17. doi: 10.1111/febs.13011
14. Archakov AI, Ivanov YD, Lisitsa AV, Zgoda VG. AFM fishing nanotechnology is the way to reverse the Avogadro number in proteomics. *Proteomics*. 2007;7:4-9. doi: 10.1002/pmic.200600467
15. Matsumoto M, Hwang SB, Jeng K-S, Zhu N, Michael L. Homotypic interaction and multimerization of hepatitis C virus core protein. *Virology*. 1996;218(1):43-51.
16. Yan B-S, Tam MH, Syu W-Jr. Self-association of the C-terminal domain of the hepatitis-C virus core protein. *FEBS*. 2004;258(1):100-106.
17. Maksyutov RA, Gavrillova EV, Maksyutov AZ, Kanev AN. Genotyping of hepatitis B and C virus Russian isolates for reference serum panel construction. *J Med Virol*. 2015;87(7):1192-8. doi: 10.1002/jmv.24170
18. Kartashev V, Döring M, Nieto L, Coletta E, Kaiser R, et al. New findings in HCV genotype distribution in selected West European, Russian and Israeli regions. *J Clin Virol*. 2016;81:82-9. doi: 10.1016/j.jcv.2016.05.010

19. Cuypers L, Ceccherini-Silberstein F, Van Laethem K, Li G, Vandamme AM. Impact of HCV genotype on treatment regimens and drug resistance: a snapshot in time. Rev Med Virol. 2016;26(6):408-34. doi: 10.1002/rmv.1895

Арчаков Александр Иванович, академик РАН, научный руководитель НИИ биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича
Адрес: 119121, Москва, ул. Погодинская, 10/7
Телефон: (499) 246-3761
E-mail: alexander.archakov@ibmc.msk.ru

Информация о соавторах:

Иванов Юрий Дмитриевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией нанобиотехнологии НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича
Адрес: 119121, Москва, ул. Погодинская, 10/7
Телефон: (499) 246-3761
E-mail: yurii.ivanov.nata@gmail.com

Французов Павел Александрович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории нанобиотехнологии НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича
Адрес: 119121, Москва, ул. Погодинская, 10/7
Телефон: (499) 246-3761
E-mail: andliontoo@gmail.com

Учайкин Василий Федорович, академик РАН, заведующий кафедрой инфекционных болезней у детей педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-0329
E-mail: uchaikin@list.ru

Конев Владимир Александрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней у детей педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-0329
E-mail: konev60@mail.ru

Information about co-authors:

Yuriy D. Ivanov, DSc in biology, professor, head of the laboratory of nanobiotechnology, V.N.Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry
Address: 10/7, ul. Pogodinskaya, Moscow, 119121, Russian Federation
Phone: (499) 246-3761
E-mail: yurii.ivanov.nata@gmail.com

Pavel A. Frantsuzov, PhD in biology, research fellow at the laboratory of nanobiotechnology, V.N.Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry
Address: 10/7, ul. Pogodinskaya, Moscow, 119121, Russian Federation
Phone: (499) 246-3761
E-mail: andliontoo@gmail.com

Vasily F. Uchaykin, academician of RAS, head of the chair of paediatric infectious diseases, paediatric faculty, N.I.Pirogov Russian National Research Medical University
Address: 1, ul. Ostrovityanova, Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 434-0329
E-mail: uchaikin@list.ru

Vladimir A. Konev, PhD in medicine, associate professor at the chair of paediatric infectious diseases, paediatric faculty, N.I.Pirogov Russian National Research Medical University
Address: 1, ul. Ostrovityanova, Moscow, 117997, Russian Federation
Phone: (495) 434-0329
E-mail: konev60@mail.ru

Aleksandr I. Archakov, academician of RAS, scientific director of the V.N.Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry
Address: 10/7, ul. Pogodinskaya, Moscow, 119121, Russian Federation
Phone: (499) 246-3761
E-mail: alexander.archakov@ibmc.msk.ru

Издательство «Династия»

выпускает журнал Федерации педиатров стран СНГ и Международной организации Consensus in Pediatrics
«Вопросы практической педиатрии»

Главный редактор

член-корреспондент РАН, профессор **Б.С.Каганов**
Президент Федерации педиатров стран СНГ

Заместители главного редактора

к.м.н. **М.В.Зейгарник**

Доцент Российского национального исследовательского университета им. Н.И.Пирогова

профессор **А.И.Камилов**

Профессор Ташкентского педиатрического медицинского института (Узбекистан)

профессор **М.Кац**

Президент Международной общественной организации «Global Initiative for Consensus in Pediatrics» (Израиль)

академик НАМН, профессор **В.Г.Майданник**

Заведующий кафедрой педиатрии №4 Национального медицинского университета им. А.А.Богомольца (Украина)

профессор **К.А.Узакбаев**

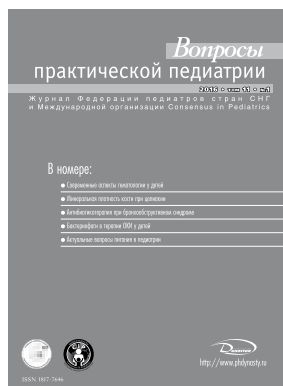
Директор Национального центра охраны материнства и детства (Кыргызстан)

Научно-практический журнал «Вопросы практической педиатрии» адресован педиатрам, неонатологам, детским хирургам, врачам общей практики, научным работникам, организаторам здравоохранения.

Журнал публикует оригинальные исследования, обзоры литературы, лекции, методические рекомендации, клинические наблюдения, официальные документы органов управления здравоохранением.

Тематика публикаций: этиология, патогенез, клинические проявления, диагностика, лечение и профилактика болезней детского возраста; терапия неонатальной патологии, современные возможности выхаживания и лечения недоношенных и маловесных детей; актуальные проблемы питания здоровых и больных детей: естественное и искусственное вскармливание, лечебное питание, использование биологически активных добавок в педиатрии; новые лекарственные средства и технологии в практике педиатра; инвазивные и неинвазивные методы диагностики в педиатрии; возможности применения хирургических методов лечения в педиатрии; вопросы охраны репродуктивного здоровья подростков; организационные вопросы.

Журнал индексируется в реферативной базе данных Scopus, Ulrich's Periodicals Directory и в Российском индексе научного цитирования. Журнал включен в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК.



www.phdynasty.ru

Адрес: 119019, Москва, Г-19, а/я 229, Издательство «Династия». тел./факс: (495) 660-6004, e-mail: red@mm-agency.ru

По вопросам подписки обращаться: тел./факс: (495) 660-6004, e-mail: podpiska@mm-agency.ru

Отдел рекламы: тел.: (495) 517-7055, тел./факс: (495) 660-6004, e-mail: reklama@mm-agency.ru