

УДК 577.152.34

КОНФОРМАЦИОННЫЙ «ФИНГЕРПРИНТИНГ» АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ РАЗВИТИИ ПАТОЛОГИИ

О.А. Кост, М.Н. Петров, И.А. Наперова, В.А. Тихомирова, О.В. Крюкова,
И.В. Гачок, Н.И. Булаева*, Е.З. Голухова*, С.М. Данилов**

(кафедра энзимологии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; e-mail: olga.a.kost@gmail.com)

Эффективность связывания набора из 16 моноклональных антител, направленных к различным эпитопам на поверхности двух доменов ангиотензин-превращающего фермента – «конформационный фингерпринтинг» – позволяет выявить присутствие в крови фермента, продуцируемого не эндотелиальными клетками, как в норме, а другими типами клеток, такими как измененные макрофаги при болезни Гоше и саркоидные гранулемы при саркоидозе. Показано наличие конформационно измененного ангиотензин-превращающего фермента в крови больных уремией, причем этот фермент характеризовался более высокой активностью по отношению к ангиотензину I и сниженной эффективностью ингибирования специфическими ингибиторами. Обсуждаются перспективы выявления конформационно измененного фермента в крови при развитии мерцательной аритмии.

Ключевые слова: ангиотензин-превращающий фермент, моноклональные антитела, конформация, тканевая специфичность.

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ, пептидил-дипептидаза А, КФ 3.4.15.1) – цинк-зависимая пептидаза, метаболизирующая различные биологически активные пептиды (Ангиотензин I, Брадикинин, Ас-SDKP и др.) и играющая ключевую роль в регуляции кровяного давления и во многих сердечно-сосудистых патологиях. Кроме того, этот фермент вовлечен в метаболизм нейрорепептидов, иммунную и репродуктивную функции, передачу сигнала внутрь клетки и др. [1–3].

АПФ является гликопротеином и интегральным мембранным белком I типа. Основные функции АПФ в организме выполняет мембранно-связанная форма фермента на поверхности эндотелиальных, эпителиальных, нейроэпителиальных клеток, а также иммунных клеток – макрофагов и дендритных клеток. Под действием сопутствующего фермента (металлозависимой секретазы, которая до сих пор не идентифицирована) АПФ переходит в растворимое состояние путем отщепления якорной последовательности [4, 5]. Такой растворимый АПФ содержится в крови, семенной жидкости и других биологических жидкостях. Концентрация АПФ в биологических жидкостях является весьма важным параметром клинического наблюдения. В то время как у здоровых индиви-

дуумов уровень АПФ в крови достаточно стабилен [6], при развитии некоторых заболеваний наблюдается значительное повышение этого уровня (например, при саркоидозе [7, 8] или болезни Гоше [9]); кроме того, изменение концентрации АПФ в биологических жидкостях, связанное с нарушением экспрессии гена АПФ, наблюдается при полиморфизме гена фермента [10].

Соматическая (тканевая) форма АПФ состоит из двух гомологичных доменов (N и C) в составе одной полипептидной цепи, каждый из которых содержит активный центр [11]. Точная трехмерная структура соматического АПФ пока не известна, но были предложены ее модели [12–14], основанные на расшифрованных кристаллических структурах отдельных доменов АПФ [15, 16], эпитопном картировании АПФ [12] и данных электронной микроскопии полноразмерного фермента [13].

Ранее был получен набор из около 40 моноклональных антител (мАт), как направленных к различным последовательностям аминокислот в составе полипептидной цепи АПФ, так и распознающих конформационные эпитопы на поверхности фермента человека, крысы и мыши [12, 17–25]. Эти мАт с успехом применялись для количественного

*Научный центр сердечно-сосудистой хирургии имени Бакулева; **Иллинойский университет, Чикаго.

определения АПФ методами ELISA и проточной цитометрии [26, 27]. Более того, использование набора из 16 мАт, направленных к различным эпитопам на поверхности обоих доменов АПФ человека, позволило получить новые данные о структуре и механизме действия АПФ [12, 17, 20, 21, 28, 29], а также выявить носителей новых мутаций гена АПФ [30–34].

Проведенные структурные исследования показали, что «рисунок» («конформационный фингерпринтинг»), характеризующий эффективность связывания набора мАт, направленных к различным эпитопам на поверхности обоих доменов АПФ, является очень чувствительным маркером локальной конформации фермента, которая может меняться при денатурации, связывании ингибиторов и пр. [21, 25]. Поскольку в настоящее время эпитопы связывания всех мАт из этого набора уже охарактеризованы, то по изменению связывания того или иного мАт с АПФ можно судить о том, на каком именно участке поверхности белка произошли изменения.

Проведенные нами пилотные исследования по фенотипированию АПФ человека из разных тканей (плазма/сыворотка крови, легкие, почки, селезенка, сердце) убедительно показали, что связывание панели мАт, направленных к различным эпитопам на поверхности АПФ, различается для АПФ из разных тканей. Полученные данные позволяют заключить, что конформация поверхности АПФ, экспрессируемого разными тканями/клетками, также различается.

В нормальных условиях АПФ в составе плазмы крови практически на 75% происходит из эндотелиальных клеток капилляров легких [35]. Капилляры легких демонстрируют почти 100%-ю экспрессию АПФ по сравнению с 10–15%-м вкладом АПФ-продуцирующих капилляров сосудистого русла [36]. Как мы уже упоминали, у здоровых доноров уровень АПФ в крови довольно стабилен, в то время как при развитии саркоидоза или болезни Гоше наблюдается значительное повышение уровня АПФ в крови.

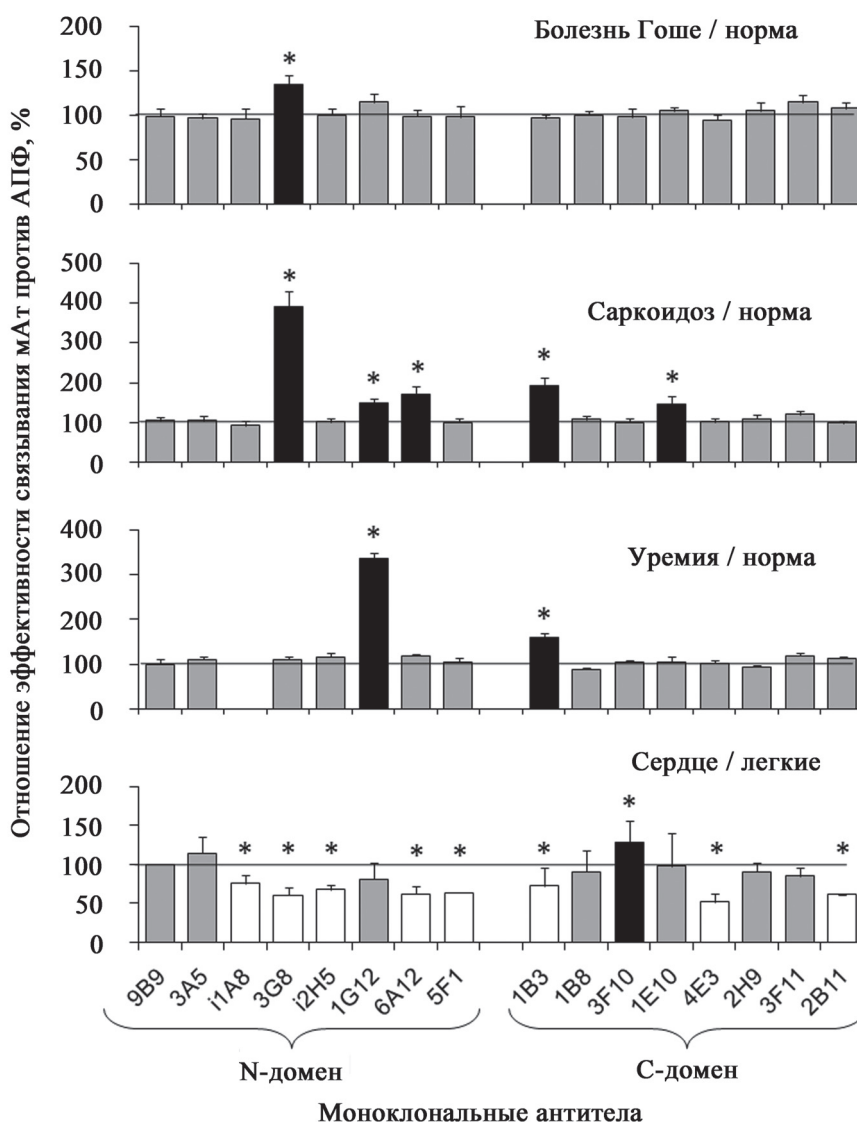
Саркоидоз и болезнь Гоше являются системными заболеваниями, которые достаточно тяжело диагностировать. Причина болезни Гоше – снижение активности лизосомного фермента кислой β -D-глюкозидазы, что ведет к накоплению негидролизованного β -D-глюкоцереброзида во всех клетках организма, но преимущественно в макрофагах. При этом измененные макрофаги активируются и стимулируют синтез АПФ. Саркоидоз – системное

гранулематозное заболевание, при котором поражаются в основном легкие. Показано, что в лимфатических узлах, содержащих саркоидные гранулемы, уровень АПФ в 12 раз выше, чем в нормальных лимфатических узлах [37]. Предполагается, что именно саркоидные гранулемы могут являться источником повышенного содержания АПФ в крови. Таким образом, можно ожидать, что при развитии этих заболеваний в крови, помимо АПФ, поступающего из эндотелиальных клеток легких, будет присутствовать фермент, продуцируемый другими типами клеток, конформация поверхности которого может быть другой.

Мы провели исследования, направленные на выявление присутствия в крови АПФ с иной, чем в норме, топографией поверхности при развитии болезни Гоше (образцы любезно предоставлены Медико-генетическим научным центром РАМН) и саркоидоза (образцы любезно предоставлены Институтом фтизиопульмонологии РАМН). Для этого мы провели «конформационный фингерпринтинг» АПФ в составе плазмы здоровых доноров (48 образцов) и показали, что связывание мАт варьирует лишь незначительно при переходе от одного образца к другому (данные не приведены). Анализ образцов плазмы пациентов с болезнью Гоше показал, что уровень активности АПФ в них превышал в 2–7 раз значения активности АПФ в норме. Анализ данных по связыванию мАт с АПФ в составе плазмы пациентов с болезнью Гоше в сравнении с данными, полученными для здоровых доноров, показал, что связывание большинства мАт с АПФ в норме и при патологии не изменяется. Однако все же наблюдалось статистически достоверное увеличение связывания одного мАт (3G8), специфичного к N-домену фермента, с АПФ в плазме больных (рисунок).

Анализ данных по связыванию мАт с АПФ в составе плазмы пациентов с саркоидозом (уровень активности АПФ повышен в 2–4 раза по сравнению с нормой) в сравнении с данными, полученными для здоровых доноров, показал, что связывание нескольких мАт отличается от связывания с АПФ в норме (рисунок), а именно: при патологии продемонстрировано более высокое статистически достоверное связывание мАт 3G8, 1G12 и 6A12 к N-домену фермента, а также мАт 1B3 и 1E10 к C-домену.

Какова может быть природа этих различий? Прежде всего, различия в поверхности фермента могли бы быть обусловлены заменами аминокис-



«Конформационный отпечаток» АПФ. Представлено соотношение величин эффективности связывания мАт, направленных к разным эпитопам на двух доменах фермента, с АПФ в составе плазмы крови при патологиях (болезнь Гоше, саркоидоз, уремия) к величинам эффективности связывания тех же мАт с АПФ в составе плазмы крови здоровых доноров, а также соотношение эффективности связывания мАт с АПФ в составе гомогенатов тканей сердца и легких. Результаты в каждом случае представлены как среднее из трех–девяти независимых экспериментов, в которых каждое определение эффективности связывания одного и того же мАт с одним и тем же АПФ проводили дважды. Звездочками отмечены статистически достоверные различия, $p < 0,05$

лотных остатков в полипептидной цепи молекулы белка. Однако синтез АПФ кодируется одним геном, а известные к настоящему времени мутации АПФ, затрагивающие его белковую часть, достаточно редки и никак не могут быть связаны с различиями поверхности фермента, экспрессируемого в разных тканях одного и того же индивидуума. Гораздо более вероятно, что наблюдаемые различия происходят вследствие посттрансляционной модификации глобулы белка, которая, по образному выражению, представляет собой «functional decorating», т.е. «украшение со смыслом». Пост-

трансляционные модификации могут включать в себя фосфорилирование, сульфатирование, метилирование, ацетилирование и др. Но для такого белка, как АПФ, который является типичным гликопротеином с высоким содержанием углеводов, такой посттрансляционной модификацией является в первую очередь гликозилирование, которое может отличаться у белков, синтезируемых в разных тканях, как по степени гликозилирования, так и по структуре гликанов.

Известно, что молекула АПФ человека содержит 17 потенциальных сайтов гликозилирования

[11], причем о реальном гликозилировании соматического двудомного АПФ человека известно чрезвычайно мало. Тщательное и интенсивное исследование гликозилирования АПФ было выполнено лишь на рекомбинантном однодомном тестикулярном АПФ (С-домен), экспрессированном в клетках яичников китайского хомячка [38]. Безусловно, полученные данные никак не могут быть экстраполированы на АПФ, продуцируемый в организме человека. Что касается АПФ, экспрессируемого в тканях человека, то имеются только очень ограниченные сведения о гликозилировании фермента. Сообщалось, что в соматическом АПФ в составе семенной жидкости семь из 17 потенциальных участков гликозилированы (в частности Asn9). Два олигосахарида представляли собой высокоманнозные структуры и пять – структуры комплексного типа, преимущественно биантенные [39]. Кроме того, для соматического АПФ из почек человека [38] было показано, что из 17 потенциальных сайтов гликозилирования 6 сайтов (Asn9, Asn25, Asn82, Asn117, Asn480 и Asn913) являются гликозилированными, при этом все сайты гликозилирования (кроме Asn913) располагаются на N-домене, а один сайт (Asn1196) на С-домене АПФ оказался негликозилированным. Для остальных 10 сайтов не было получено данных о их гликозилировании. Исследования протеома человека показали, что АПФ в составе плазмы крови человека содержит три сайта гликозилирования – Asn 480, 666 и 685 [40].

Таким образом, наиболее вероятно, что для АПФ, продуцируемого тканью легких и измененными макрофагами при болезни Гоше или саркоидными гранулемами при саркоидозе, характерно различное гликозилирование. Следует отметить, что эпитоп связывания мАт 3G8 (связывание этого антитела с АПФ крови изменено и при болезни Гоше, и при саркоидозе) содержит два потенциальных сайта гликозилирования (Asn25 и Asn82) на N-домене фермента. Эпитопы связывания мАт, эффективность связывания которых изменяется при саркоидозе, содержат следующие потенциальные сайты гликозилирования: Asn416 (мАт 1G12 и 6A12) на N-домене фермента, а также Asn666 (мАт 1E10) и Asn1196 (мАт 1B3) на С-домене. Таким образом, можно заключить, что отличия в степени гликозилирования и/или структуре олигосахаридных цепей в указанных сайтах являются основой наблюдаемых различий в связывании мАт с АПФ крови в норме и при развитии указанных патологий. Полученные данные могут служить основой для разработки клинически значимых лаборатор-

ных биохимических методов диагностики болезни Гоше и саркоидоза.

Мы проанализировали также возможность присутствия конформационно измененного АПФ в крови больных уремией – заболеванием, характеризующимся чрезвычайно высоким уровнем токсинов в крови. Образцы плазмы больных уремией до гемодиализа были любезно предоставлены нам Московским государственным медикостоматологическим университетом. Оказалось, что и в этом случае эффективность связывания двух мАт с АПФ в составе плазмы больных уремией отличалась от эффективности связывания этих мАт с АПФ в составе плазмы крови здоровых доноров (рисунок), а именно: отмечены статистически значимые отличия в эффективности связывания мАт 1G12 к N-домену и мАт 1B3 к С-домену фермента у 4 пациентов из 20. Характеристика конформационно измененного АПФ в плазме крови больных уремией показала, что изменения не только затронули поверхность белка, но и повлияли на его каталитические функции. Оказалось, что конформационно измененный АПФ характеризуется повышенной активностью (до 4 раз) по отношению к природному субстрату ангиотензину I, менее эффективно ингибируется специфическим ингибитором эналаприлатом (аналог трипептида, широко применяется в клинике в качестве гипотензивного средства) и почти не ингибируется специфическим ингибитором – нонапептидом тепротидом.

Мы также провели анализ широкой выборки плазмы крови здоровых доноров (48) и больных без диагноза уремии (63) и обнаружили еще 8 случаев конформационного изменения АПФ, такого же, как при уремии.

Таким образом, пациентам, в крови которых присутствует такой конформационно измененный АПФ, вероятно, следует назначать при необходимости лечения гипертонии более интенсивную терапию ингибиторами АПФ либо заменять ингибиторы АПФ на другой класс гипотензивных препаратов.

Важно, что «конформационный фингерпринтинг» АПФ в крови больных разными заболеваниями (болезнь Гоше, саркоидоз, уремия) позволяет выявить присутствие в крови АПФ, топография поверхности которого характерна именно для этого заболевания. Как видно из рисунка, все три случая характеризуются своим индивидуальным «рисунком» эффективности связывания панели из 16 антител, что подтверждает возможность использования метода в клинике.

В заключение отметим возможности применения «конформационного фингерпринтинга» АПФ в кардиологии.

Известно, что у пациентов с фибрилляцией предсердий увеличена экспрессия АПФ в тканях сердца (в частности в предсердии) [41]. Ранее было показано, что экспрессия АПФ увеличивается в гипертрофированном сердце и в мелких сосудах миокарда у больных, умерших в результате внезапной смерти (Bohle, Danilov, et al., *неопубликованная работа*). Важную роль АПФ сердца в развитии сердечной патологии показали исследования, проведенные на трансгенных мышах, у которых уровень экспрессии АПФ в тканях сердца был повышен в 100 раз по сравнению с обычным. Оказалось, что у этих мышей оба предсердия (левое и правое) были увеличены в 3 раза. Анализ ЭКГ продемонстрировал фибрилляцию предсердий. Более того, эти мыши имели высокую предрасположенность к внезапной смерти [42, 43]. Таким образом, именно увеличение экспрессии АПФ в сердце может быть причиной развития фибрилляции предсердий и в конечном счете приводить к внезапной смерти.

Доля АПФ из сердца в общем содержании АПФ в крови составляет не более 1%. Таким образом, даже увеличение содержания АПФ из сердца в крови в 3 раза не может оказать заметного влияния на общую активность фермента, определяемую в крови. Однако долю АПФ сердца, «приходящую»

в кровь и «дополняющую» АПФ, поступивший в кровь из легких, можно было бы оценить и таким образом выявить больных с увеличенной экспрессией АПФ в сердце, если бы удалось получить антитела, специфически «узнающие» только АПФ сердца человека.

Аналогично вышеизложенному мы провели сравнительное фенотипирование АПФ из легких, которые являются основным поставщиком фермента в крови, и АПФ из сердца, содержание которого в крови может быть повышено при аритмии. Сравнительный «конформационный фингерпринтинг» этих двух представителей АПФ человека представлен на рисунке. Показано, что эффективность связывания ряда мАт как к N, так и к С-домену АПФ, с ферментом из тканей сердца значительно и статистически достоверно отличается от эффективности связывания тех же мАт с АПФ из тканей легких. Различия в эффективности связывания этих мАт мы можем отнести прежде всего к различиям в гликозилировании следующих потенциальных сайтов гликозилирования: Asn25 и Asn289 на N-домене фермента, а также As666 и Asn731 на С-домене.

Продемонстрированные различия могут служить основой для получения мАт, специфично распознающих АПФ, продуцируемый определенным типом клеток/определенным органом, а именно тканями сердца, для дальнейшей разработки клинического лабораторного метода ранней диагностики аритмии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Правительства РФ «Молекулярные механизмы фибрилляции предсердий» (договор № 14.Z50.31.0026).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sturrock E., Anthony C., Danilov S. Peptidyl-dipeptidase A/Angiotensin I-converting enzyme. In Handbook of Proteolytic Enzymes. 3rd ed. Oxford, 2012. P. 480.
2. Ehlers M., Riordan J. // Biochemistry. 1989. Vol. 8. P. 5311.
3. Bernstein K., Ong F., Blackwell W. et al. // Pharmacol. Rev. 2013. Vol. 65. P. 1.
4. Ramchandran R., Sen G., Misono K. et al. // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. P. 2125.
5. Parkin E., Turner A., Hooper N. // Protein Pept. Lett. 2004. Vol. 11. P. 423.
6. Alhenc-Gelas F., Richard J., Courbon D. et al. // J. Lab. Clin. Med. 1991. Vol. 117. P. 33.
7. Rohrbach M., Deremee R. // Mayo Clin. Proc. 1982. Vol. 57. P. 64.
8. Lieberman J., Sastre A. // Chest. 1986. Vol. 90. P. 869.
9. Sylverstein E., Friedland J. // Clin. Chim. Acta. 1977. Vol. 74. P. 21.
10. Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al. // J. Clin. Invest. 1990. Vol. 86. P. 1343.
11. Soubrier F., Alhenc-Gelas F., Hubert C. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1988. Vol. 85. P. 9386.
12. Naperova I., Balyasnikova I., Schwartz D. et al. // J. Proteome Res. 2008. Vol. 7. P. 3396.
13. Chen H., Lunsdorf H., Hecht H. et al. // Micron. 2010. Vol. 41. P. 674.
14. Danilov S., Gordon K., Nesterovich A. et al. // PLoS One. 2011. Vol. 6. e 25952.
15. Natesh R., Schwager S., Sturrock E. et al. // Nature. 2003. Vol. 421. P. 551.
16. Corradi H., Schwager S., Nchinda A. et al. // J. Mol. Biol. 2006. Vol. 357. P. 964.
17. Danilov S., Jaspard E., Churakova T. et al. // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269. P. 26806.
18. Balyasnikova I., Metzger R., Visintine D. et al. // Pulm. Pharm. Ther. 2005. Vol. 18. P. 251.
19. Balyasnikova I., Metzger R., Sun Z. et al. // Tissue Antigens. 2005. Vol. 65. P. 240.
20. Skirgello O., Balyasnikova I., Binevski P. et al. // Biochemistry 2006. Vol. 45. P. 4831.

21. Balyasnikova I., Skirgello O., Binevski P. et al. // J. Proteome Res. 2007. Vol. 6. P. 1580.
22. Danilov S., Watermeyer J., Balyasnikova I. et al. // Biochemistry. 2007. Vol. 46. P. 9019.
23. Gordon K., Balyasnikova I., Nesterovitch A. et al. // Tissue Antigens. 2010. Vol. 75. P. 136.
24. Balyasnikova I., Metzger R., Franke F.E., Danilov S.M. // Tissue Antigens. 2003. Vol. 61. P. 49.
25. Balyasnikova I., Sun Z., Berestetskaya Y. et al. // Hybridoma. 2005. Vol. 24. P. 14.
26. Danilov S., Savoie F., Lenoir B. et al. // J. Hypertens. 1996. Vol. 14. P. 719.
27. Nikolaeva M.A., Balyasnikova I.V., Alexinskaya M.A. et al. // Am. J. Reprod. Immunol. 2006. Vol. 55. P. 54.
28. Kost O., Balyasnikova I., Chemodanova E. et al. // Biochemistry. 2003. Vol. 42. P. 6965.
29. Balyasnikova I., Woodman Z., Albrecht R. et al. // J. Proteome Res. 2005. Vol. 4. P. 258.
30. Danilov S., Deinum J., Balyasnikova I. et al. // Clin. Chem. 2005. Vol. 51. P. 1040.
31. Nesterovich A., Hogarth K., Adarichev V. et al. // PLoS One. 2009. Vol. 4. e2822.
32. Danilov S., Kalinin S., Chen Z. et al. // PLoS One. 2010. Vol. 5. e10438.
33. Danilov S., Gordon K., Nesterovich A. et al. // PLoS One. 2011. Vol. 6. e25952.
34. Danilov S., Wade M., Schwager S. et al. // PLoS One. 2014. Vol. 9. e88001.
35. Ching S., Hayes L., Slakey L. // Arteriosclerosis. 1983. Vol. 3. P. 581.
36. Metzger R., Franke F., Bohle R. et al. // Microvasc. Res. 2011. Vol. 81. P. 206.
37. Silverstein E., Friedland J., Lyons H. et al. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 1976. Vol. 278. P.498.
38. Yu C., Sturrock E., Wu Zh. et al. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 3511.
39. Ripka J., Ryan J., Valido F. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1993. Vol. 196. P. 503.
40. Lui T., Qian W.-J., Gritsenko M. et al. // J. Proteome Res. 2005. Vol. 4. P. 2070.
41. Goette A., Staack T., Rocken C. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. 2000. Vol. 35. P. 1669.
42. Xiao H., Fuchs S., Campbell D. et al. // Am. J. Pathol. 2004. Vol. 165. P. 1019.
43. Kasi V., Xiao H., Shang L. et al. // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2007. Vol. 293. P. H182.

Поступила в редакцию 01.08.15

CONFORMATIONAL «FINGERPRINTING» OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME IN THE BLOOD IN HEALTH AND DISEASE

**O.A. Kost, M.N. Petrov, I.A. Naperova, V.A. Tikhomirova, O.V. Kryukova,
I.V. Gachok, N.I. Bulaeva, E.Z. Golukhova, S.M. Danilov**

*(Department of Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry, M.V. Lomonosov
Moscow State University)*

The pattern of binding of the set of 16 monoclonal antibodies to the different epitops on the surface of two domains of angiotensin-converting enzyme – “conformational fingerprinting” – allows to reveal in the blood the presence of the enzyme, which is not produced by lung endothelial cells, but by other cells, e.g. by Gaucher’s cells and sarcoid granuloma cells. We showed the existence of conformationally changed angiotensin-converting enzyme in the blood of patients with uremia, this enzyme being characterized by the enhanced activity towards angiotensin I and decreased ability to be inhibited by specific inhibitors. The perspectives of the discovering of conformationally changed enzyme in the blood at atrial fibrillation are also discussed.

Key words: angiotensin-converting enzyme, monoclonal antibodies, conformation, tissue specificity.

Сведения об авторах: *Кост Ольга Алексеевна* – вед. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (olga.a.kost@gmail.com); *Петров Максим Николаевич* – инженер кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ (retrovmp@gmail.com); *Наперова Ирина Александровна* – аспирант кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ; *Тихомирова Виктория Евгеньевна* – аспирант кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ (vetikhomirova@gmail.com); *Крюкова Ольга Владимировна* – аспирант кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ (so.b1londe@gmail.com); *Гачок Ирина Владимировна* – ст. науч. сотр. кафедры химической энзимологии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (ivgachok@gmail.com); *Булаева Наида Ибадулаевна* – ст. науч. сотр. Научного центра сердечно-сосудистой хирургии имени Бакулева, врач-кардиолог, канд. биол. наук (naida_bulaeva@yahoo.com); *Голухова Елена Зеликовна* – руководитель отделения неинвазивной аритмологии Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. Бакулева, чл.-корр. РАН, профессор, докт. мед. наук (egolukhova@yahoo.com); *Данилов Сергей Михайлович* – профессор Иллинойского университета, докт. биол. наук (danilov@uic.edu).