

И.Д.Дугарова¹, Э.Х.Анаев¹, Т.П.Оспельникова², А.Г.Чучалин¹

Экспрессия цитокинов в конденсате выдыхаемого воздуха и ее взаимосвязь с клинико-функциональными показателями бронхиальной астмы

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

2 – лаборатория индукции интерферонов ГУ "НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи РАМН": 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

I.D.Dugarova, E.Kh.Anaev, T.P.Ospelnikova, A.G.Chuchalin

Cytokine expression in exhaled breath condensate and its relations with clinical and functional parameters in asthma

Summary

The analysis of exhaled breath condensate (EBC) is a modern non-invasive diagnostic method which allows evaluation the activity of inflammation in bronchial asthma. Interaction and activation of about 50 cytokines underlie the inflammation in asthma.

The aim of this study was to assess cytokine concentration in EBC in different periods of asthma course. The study involved 28 asthma patients (of them, 14 had exacerbation of the disease and 14 had the stable asthma) and 14 healthy persons without any respiratory pathology. Cytokines (IL-4, IL-6, IL-8, IL-13, TNF- α , INF- γ) were measured in EBC and serum with ELISA method using the BioSource test systems. The cytokines were successfully measured in nearly all EBC samples and only in less than a half of serum samples in healthy persons and asthma patients. In EBC of patients with asthma exacerbation, mean values of IL-4 and IL-13 were significantly higher and concentration of INF- γ was significantly lower ($p > 0.05$). Correlations were found between IL-4 / INF- γ and the absolute number of blood eosinophils ($r = 0.65$; $p < 0.05$) in asthma exacerbation and between IL-4 in EBC and FEV₁ ($r = 0.73$; $p < 0.05$) in stable asthma. We measured both pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines besides of IL-8 in EBC. Increased concentrations of IL-4, IL-6 and IL-13 in EBC indicated the active airway inflammation in asthma patients; therefore, these cytokines could be measured to evaluate efficacy of the treatment.

Key words: bronchial asthma, cytokines, exhaled breath condensate, interleukins.

Резюме

Анализ конденсата выдыхаемого воздуха (КВВ) является одним из неинвазивных информативных современных методов диагностики, позволяющим оценить активность воспалительного процесса при бронхиальной астме (БА). В основе воспалительного процесса при БА лежит система взаимодействия и активации порядка 50 цитокинов. Цель настоящего исследования – оценить концентрацию цитокинов в КВВ в разные фазы течения БА. В нем участвовали 28 пациентов с БА (14 – в стадии обострения заболевания, 14 – в стадии ремиссии) и 14 здоровых лиц без патологии органов дыхания. Цитокины, такие как интерлейкин-4, -6, -8, -13 (IL-4, IL-6, IL-8, IL-13), фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ (INF- γ) определяли в КВВ и сыворотке крови с помощью метода твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием тест-систем *BioSource*. Цитокины удалось определить почти во всех образцах КВВ у здоровых людей и больных БА, тогда как в сыворотке крови они обнаруживались в $< 1/2$ проб. В группе обострения средние показатели IL-4, IL-13 в КВВ были достоверно выше, а значения INF- γ – ниже ($p > 0,05$). Обнаружены корреляции между IL-4 / INF- γ и абсолютным значением эозинофилов крови ($r = 0,65$; $p < 0,05$) в стадии обострения заболевания, концентрацией IL-4 в КВВ и значением объема форсированного выдоха за 1-ю с ($r = 0,73$; $p < 0,05$) при ремиссии БА. В КВВ больных БА удалось определить как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины, за исключением IL-8. Увеличение концентрации IL-4, 6 и 13 в КВВ у больных БА указывает на активность воспалительного процесса в дыхательных путях, а их определение можно использовать для оценки эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: бронхиальная астма, цитокины, конденсат выдыхаемого воздуха, интерлейкины.

Бронхиальная астма (БА) – широко распространенное заболевание, характеризующееся наличием хронического персистирующего воспаления дыхательных путей. Диагностическими критериями и методами контроля БА являются клинические и функциональные тесты. Однако симптомы не всегда точно могут отражать природу и степень воспалительного процесса, а связь между значениями функциональных тестов и маркерами может быть слабовыраженной [1]. Поэтому в последнее время уделяется большее внимание определению маркеров воспаления в конденсате выдыхаемого воздуха (КВВ).

В патогенезе БА участвуют множество клеток воспаления и ~ 100 маркеров воспаления [2]. В настоящее время известны > 50 цитокинов и хемокинов, за-

действованных в воспалительной реакции при БА [3]. Однако публикаций по этой теме пока немного [4].

Диагностическая ценность этих маркеров воспаления до конца не определена. При обострении хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) содержание цитокинов в КВВ, обуславливающее ее патогенез, было повышено [5]. Механизмы патогенеза и принципы работы иммунной системы при БА и ХОБЛ принципиально различаются. Поэтому анализ уровня цитокинов различных групп [6] в КВВ при БА и его изменения на разных стадиях заболевания заслуживают внимания.

Известно, что цитокины атопии – интерлейкины 4 и 13 (IL-4 и IL-13) запускают синтез иммуноглобулина Е (IgE) и отвечают за развитие аллергического

типа иммунного ответа. Провоспалительные цитокины активируют факторы транскрипции, которые приводят в действие множество генов, отвечающих за запуск воспалительной реакции [2]. Определенный интерес вызывает исследование противовоспалительной группы цитокинов, т. к. имеются данные о дефекте противовоспалительных механизмов при БА, в частности фактора некроза опухоли- α (TNF- α), интерлейкина-6 (IL-6), противовоспалительного цитокина – интерферона- γ (INF- γ) и хемокина – интерлейкина-8 (IL-8).

Поэтому целью настоящего исследования являлась оценка содержания различных цитокинов в сыворотке крови и КВВ у больных БА в стадии обострения и ремиссии, а также выявление взаимосвязей цитокинов с клиническими и функциональными показателями заболевания.

Материалы и методы

В исследовании участвовали 28 пациентов со среднетяжелым течением БА (14 – в стадии обострения, 14 – в стадии ремиссии) и 14 здоровых добровольцев, которые не имели в анамнезе хронической и аллергической патологии и не переносили вирусных инфекционных заболеваний в течение последних 2 мес. Больные с обострением БА находились на стационарном лечении в аллергологическом отделении ГКБ № 57 (Москва), пациенты с ремиссией заболевания наблюдались в НИИ пульмонологии ФМБА России (Москва). Диагноз БА был поставлен согласно критериям GINA (2006).

В исследование были включены пациенты, соответствующие следующим критериям: мужчины и женщины с подтвержденным диагнозом БА среднетяжелого течения [7]; возраст от 17 до 60 лет; наличие атопии в анамнезе, подтвержденной кожными пробами (*prick-test*) и повышением уровня общего IgE сыворотки крови; длительность заболевания > 2 лет; базисная терапия ингаляционными глюкокортикостероидами (иГКС) в дозе $\leq 1\ 000$ мкг (в пересчете на беклометазон); обратимая обструкция дыхательных путей (коэффициент бронходилатации по объему форсированного выдоха за 1-ю с (КВД_{0ФВ1}) $\geq 12\ \%$ _{дож.} и ≥ 200 мл); наличие подписанного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии исключения были следующими: наличие ХОБЛ, туберкулеза и других заболеваний легких, в т. ч. пневмонии в течение последних 6 мес.; тяжелые сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой системы, органов пищеварения, мочеполовой и нервной системы; прием системных ГКС; курение (индекс курения (ИК) ≥ 10 пачек / лет); злоупотребление алкоголем и наркотиками в анамнезе; хронические инфекционные заболевания верхних дыхательных путей (гайморит и др.); беременность и кормление грудью.

Клиническая оценка симптомов БА (кашля, мокроты, одышки) проводилась однократно по 4-балльной шкале (0 – отсутствие симптома, 3 – максимальное проявление симптома). Также оценивали число

приступов удушья и потребность в симпатомиметиках короткого действия.

Исследование функции внешнего дыхания (ФВД) проводили с помощью прибора *MasterScreen Body* (Erich Jaeger, Германия) в соответствии с рекомендациями Европейского респираторного общества. Оценивали объем форсированного выдоха за 1-ю с (ОФВ₁), форсированную жизненную емкость легких (ФЖЕЛ), ОФВ₁ / ФЖЕЛ. Полученные результаты сопоставляли с должными величинами, вычисленными по формулам Европейского общества угля и стали, а интерпретировали их с использованием методических рекомендаций [8].

Сбор КВВ проводили при помощи аппарата *ECoScreen* (Erich Jaeger, Германия) стандартизованным методом с использованием носового зажима в течение 10 мин. Сбор КВВ и сыворотки крови здоровым добровольцам и больным с ремиссией БА проводили 1-кратно. Пациентам с обострением заболевания сбор КВВ и сыворотки проводился в 1–2-й день поступления в стационар. Сразу после сбора измеряли объем и уровень pH полученного КВВ посредством ф32 pH-метра (*Beckman*, США) со стеклянным микроэлектродом. Собранные образцы КВВ и сыворотки до проведения анализов хранились в морозильной камере при $-70\ ^\circ\text{C}$ не более 1 мес.

Концентрацию цитокинов (IL-4, IL-6, IL-8, IL-13, TNF- α , INF- γ) в КВВ и сыворотке крови определяли иммуноферментным методом ELISA с помощью набора реагентов *Biosource* (Бельгия) по методике производителя.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ *Statistica 6.0*. Все данные представлены как *mean* \pm *SD*. Достоверность различий одноименных показателей внутри 1-й группы определяли при помощи парного t-критерия. Различия считались статистически достоверными при $p < 0,05$. Для выявления зависимости между показателями использовали линейный регрессионный анализ и метод Спирмена.

Результаты

Клинико-лабораторные и функциональные показатели больных БА в стадии обострения и ремиссии и здоровых добровольцев представлены в табл. 1. Обследованные группы значимо не различались между собой по полу, возрасту, ИК и длительности заболевания. Все пациенты с БА получали базисную терапию иГКС (500–1 000 мкг в сутки в перерасчете на беклометазон). В каждой группе было по 2 курящих человека с ИК < 10 пачек / лет. У пациентов с обострением симптомы БА были более выраженными (одышка, кашель, частые приступы удушья), потребность в бронхолитиках – высокой, заметными были обструктивные нарушения при исследовании ФВД.

Объем собранных образцов КВВ в группах с обострением и ремиссией БА и в группе контроля не различался ($1,64 \pm 0,51$; $1,48 \pm 0,22$ и $1,61 \pm$

Таблица 1
Характеристика обследованных групп

	Обострение БА	Ремиссия БА	Контрольная группа
Обследованные, <i>n</i>	14	14	14
Пол: м / ж, <i>n</i>	2 / 12	4 / 10	2 / 12
Возраст, лет	47,4 ± 12,7	36,9 ± 13,7	25,9 ± 5,3
Курящие, <i>n</i>	2	2	2
Длительность заболевания, лет	6,4 ± 7,5	6,8 ± 6,5	–
Кашель, баллы	3,5 ± 0,7	0,9 ± 1,0	–
Приступы удушья в сутки	5,4 ± 1,0	0,9 ± 0,9	–
Потребность в β ₂ -агонистах в сутки	6,8 ± 1,5	1,4 ± 1,2	–
Лейкоциты крови, 10 ⁹ /л	10,3 ± 2,63	8,86 ± 2,30	6,18 ± 0,91
Эозинофилы крови, %	3,57 ± 1,83*	2,64 ± 0,93	2,24 ± 1,29
Эозинофилы крови, клеток / мкл	287 ± 218	166 ± 59	112 ± 65
ОФВ ₁ , % _{долж.}	66,7 ± 21,3	78,1 ± 16,7	102,7 ± 9,8
ФЖЕЛ, % _{долж.}	85,6 ± 33,1	93,3 ± 17,5	114,1 ± 9,4
ОФВ ₁ / ФЖЕЛ, % _{долж.}	71,5 ± 19,6	78,4 ± 7,7	84,5 ± 2,1
КБД _{ОФВ1} , %	29,5 ± 10,1	16,7 ± 5,2	3,8 ± 2,0

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

0,25 мл / 10 мин соответственно; $p > 0,05$). Уровень рН КВВ у больных с обострением и ремиссией БА был достоверно ниже, чем у здоровых добровольцев ($6,12 \pm 0,47$ vs $6,41 \pm 0,49$ vs $6,99 \pm 0,36$; $p < 0,05$), что указывает на высокую степень активности воспалительного процесса в дыхательных путях при БА, особенно в период обострения.

Все цитокины, за исключением IL-8, удалось обнаружить в каждом образце КВВ здоровых добровольцев, тогда как в сыворотке крови их содержание было выявлено в $< 1/2$ образцов (рис. 1). Аналогичная ситуация была у больных БА (рис. 2), т. е. цитокины в КВВ определялись намного чаще, чем в образцах сыворотки крови. Поэтому в данной работе приведены результаты определения цитокинов в КВВ.

Среднее содержание цитокинов в КВВ приведено в табл. 2. Как видно, средние значения IL-4 были достоверно выше на 46 % в группе с обострением и на 44 % – с ремиссией БА, по сравнению с добровольцами. У пациентов с обострением БА концентрация IL-13 в КВВ была достоверно выше на 43 %, по сравнению с контрольной группой.

В ходе линейного корреляционного анализа выявлена обратная связь между уровнем IL-4 в КВВ и значением ОФВ₁ ($r = -0,54$; $p < 0,05$) в группе с обострением БА. Это можно объяснить основными патологическими свойствами IL-4, такими как запуск аллергического типа воспалительной реакции и развитие бронхиальной обструкции. Была установлена зависимость между коэффициентом соотношения IL-4 / INF-γ и уровнем эозинофилов крови ($r = 0,65$; $p < 0,05$) при обострении БА. В группе с ремиссией заболевания была обнаружена корреляционная связь между IL-13 и IL-6 в КВВ ($r = 0,79$; $p < 0,05$), что свидетельствует о сохраняющейся воспалительной активности. В фазе ремиссии БА также была выявлена прямая корреляционная связь между уровнем IL-13 и значением ОФВ₁ ($r = 0,73$; $p < 0,05$), что свидетельствует о наличии воспаления, несмотря на купирование бронхообструктивных нарушений. При помощи непрямого корреляционного анализа Спирмана у больных с обострением БА была выявлена обратная корреляционная связь между объемом КВВ и значением ОФВ₁ ($r = -0,53$; $p < 0,05$).

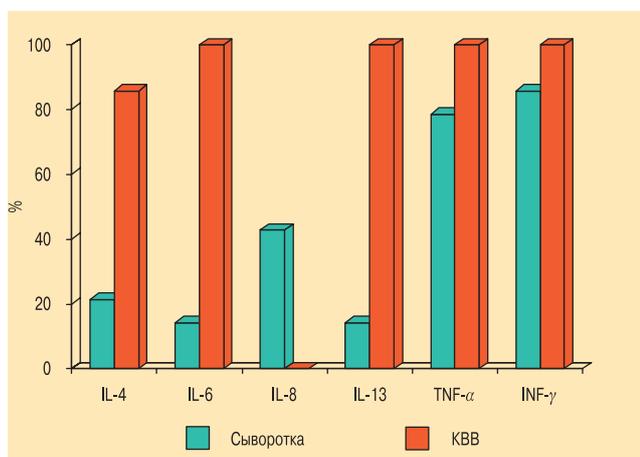


Рис. 1. Частота обнаружения цитокинов в КВВ и сыворотке крови у здоровых добровольцев

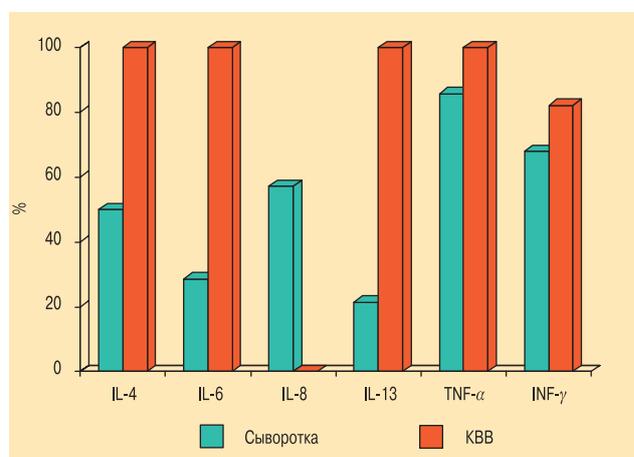


Рис. 2. Частота обнаружения цитокинов в КВВ и сыворотке крови при БА

Таблица 2
Концентрация цитокинов в КВВ

Цитокин	Обострение БА	Ремиссия БА	Контрольная группа
IL-4, пг/мл	1,49 ± 0,53*	1,44 ± 0,50*	0,81 ± 0,36
IL-6, пг/мл	2,13 ± 1,84	1,37 ± 0,25	1,29 ± 0,34
IL-13, пг/мл	21,05 ± 10,04*	15,06 ± 9,42	11,97 ± 6,29
TNF-α, пг/мл	4,35 ± 2,14	4,06 ± 1,18	3,80 ± 1,45
INF-γ, пг/мл	5,22 ± 5,08	7,27 ± 7,29	7,20 ± 5,71

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Это свидетельствует о том, что обструктивные нарушения связаны с развитием отека слизистой стенки бронхов и непосредственно гиперсекрецией слизи – проявлений воспалительного процесса при БА.

Обсуждение

IL-4 и IL-13 – один из основных пусковых медиаторов воспаления Th2-типа. IL-4 выполняет ключевую роль в продукции IgE и экспрессии молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1-го типа (VCAM-1) на эндотелиальных клетках, который тем самым вызывает миграцию эозинофилов из крови [9]. IL-13 имеет схожую биологическую активность. Он повышает синтез IL-4, увеличивая количество В-лимфоцитов, усиливая синтез IgE, увеличивает экспрессию CD23 на В-лимфоцитах. IL-4 отводится основная роль в запуске Th2-воспалительного процесса, а IL-13 отвечает за сам процесс развития и поддержания воспалительного процесса при БА [10].

Многие исследователи отмечают более высокие значения IL-4 и IL-13 у больных БА [1, 11–13]. С.М. Robroeks *et al.* обнаружили увеличение концентрации IL-4 в КВВ, указав на диагностическую ценность данного маркера при БА. При постановке диагноза использовался метод мультивариантной регрессии (*Multivariate backward logistic regression*) [1].

В настоящем исследовании обнаружен более низкий уровень INF-γ в группе с обострением БА по сравнению с группой контроля, однако разница была недостоверной. INF-γ является цитокином Th1-типа и подавляет Th2-воспалительный процесс, тем самым ослабляя проявления атопии. Этот цитокин также снижает эозинофилию и гиперреактивность дыхательных путей. Таким образом, полученные нами данные указывают на преобладание активности Th2-типа цитокинов атопии и подавление Th1-типа воспалительного ответа у больных с обострением БА.

В работе S.K. Shahid *et al.* дисбаланс между Th2- и Th1-ответом был более явным: у детей, страдающих БА, было обнаружено повышение IL-4 и достоверное снижение INF-γ в КВВ, также был увеличен коэффициент соотношения этих показателей IL-4 / INF-γ у пациентов с БА по сравнению с контрольной группой [12]. В другой работе было показано, что коэффициент IL-4 / INF-γ был не только повышен у пациентов с БА, по сравнению с больными атопическим дерматитом, но и уровень данного мар-

кера снижался на фоне терапии ГК [13]. Таким образом, посредством данного маркера можно оценить эффективность проводимого лечения.

K. Matsunaga *et al.* исследовали 2 группы пациентов, страдающих БА, в одну группу были включены больные с аллергическим ринитом (АР), в другую группу – пациенты без АР. Достоверно значимых различий уровня цитокинов в КВВ между группами не было получено. Однако было выявлено достоверное снижение RANTES и улучшение показателей легочной функции на фоне лечения антилейкотриеновыми препаратами в группе пациентов с аллергическим ринитом [14].

Провоспалительная группа цитокинов играет важную роль в развитии основных патологических механизмов при БА. Эти цитокины активируют провоспалительные факторы транскрипции – нуклеарный фактор-κB и активирующий протеин-1, которые в свою очередь приводят в действие множество генов, отвечающих за запуск воспаления. В настоящей работе уровень IL-6 в КВВ у пациентов с обострением БА имел тенденцию к повышению, что указывает на активность провоспалительного звена иммунного ответа наряду с развитием аллергической реакции немедленного типа.

Напротив, K. Matsunaga *et al.* обнаружили корреляцию уровня IL-4 с повышением значения ОФВ₁ на фоне ГК-терапии [15]. Таким образом, определение IL-4 позволит использовать данный метод для оценки эффективности проводимой терапии.

В настоящей работе был исследован цитокиновый паттерн КВВ и сыворотки крови одномоментно, и полученные данные указывают на перспективность данной методики. Чтобы уточнить функцию цитокинов при БА, следует оценить содержание цитокинов в КВВ у пациентов с разным течением и фенотипами заболевания, измерить концентрацию на фоне проводимого противовоспалительного лечения. Однако в настоящее время методика определения различных цитокинов в КВВ окончательно не регламентирована. До сих пор не определено, какой из методов является наиболее оптимальным, учитывая низкое содержание цитокинов в данной биологической жидкости. Для разработки методологических стандартов и внедрения их в повседневную клиническую практику необходимы дальнейшие исследования.

Заключение

1. В КВВ больных БА удалось определить как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины, за исключением IL-8.
2. Анализ КВВ более точно отражает активность воспалительного процесса в дыхательных путях при БА, чем исследование сыворотки крови.
3. Увеличение концентрации IL-4, IL-6 и IL-13 в КВВ, корреляции между IL-4 и ОФВ₁, коэффициентом IL-4 / INF-γ в КВВ и эозинофилией крови у больных БА указывают на активность воспалительного процесса в дыхательных путях.

4. Выявленные корреляционные связи между содержанием IL-13 и IL-6 в КВВ, IL-13 и ОФВ₁ в период ремиссии БА свидетельствуют о персистирующем воспалении дыхательных путей.
5. Исследование цитокинов в КВВ позволит более глубоко исследовать вопросы патогенеза БА и оценить тяжесть состояния больных, а также эффективность проводимого лечения.
9. Moser R., Fehr J., Bruijnzeel P.L. IL-4 controls the selective endothelium-driven transmigration of eosinophils from allergic individuals. *J Immunol.* 1992; 149: 1432–1438.
10. de Vries J.E. The role of IL-13 and its receptor in allergy and inflammatory responses. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998; 102: 165–169.
11. Matsunaga K., Yanagasima S., Ueshima K. et al. Airway cytokine expression measured by means protein array in exhaled breath condensate: correlation with properties in asthmatic patients. *Rinsho Byori* 2007; 55 (4): 375–380.
12. Shahid S.K., Kharitonov S.A., Wilson N.M. et al. Increased interleukin-4 and decreased interferon-gamma in exhaled breath condensate of children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 165: 1290–1293.
13. Brunetti L., Francavilla R., Tesse R., Armenio L. Exhaled breath condensate cytokines and pH in pediatric asthma and atopic dermatitis. *Allergy Asthma Proc.* 2008; 29 (5): 461–467.
14. Matsunaga K., Yanagisawa S., Ichikawa T. et al. Molecular mechanism of the additive effects of leukotriene modifier in asthmatic patients receiving steroid therapy. *Allergol. Int.* 2009; 58: 89–96.
15. Matsunaga K., Ichikawa T., Yanagisawa S. et al. Clinical application of exhaled breath condensate analysis in asthma: prediction of FEV₁ improvement by steroid therapy. *Respiration* 2009; 78 (4): 393–398.

Литература

1. Robroeks C.M., van de Kant K.D., Jöbsis Q. et al. Exhaled nitric oxide and biomarkers in exhaled breath condensate indicate the presence, severity and control of childhood asthma. *Clin. Exp. Allergy.* 2007; 37 (9): 1303–1311.
2. Barnes P.J. The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J. Clin. Invest.* 2008; 118 (11): 3546–3556.
3. Barnes P.J. Cytokine-directed therapies for the treatment of chronic airway diseases. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003; 14 (6): 511–522.
4. Horvath I., Hunt J., Barnes P.J. et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J.* 2005; 26: 523–548.
5. Gessner C., Scheibe R., Wötzel M. et al. Exhaled breath condensate cytokine patterns in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* 2005; 99 (10): 1229–240.
6. Дугарова И.Д., Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. О роли цитокинов при бронхиальной астме. *Пульмонология* 2009; 4: 96–102.
7. Глобальная стратегия по лечению и профилактике бронхиальной астмы (GINA). Пересмотр 2006: Пер. с англ. М.: Атмосфера; 2007.
8. Стандартизация тестов исследования легочной функции. *Пульмонология* 1993; прил.: 1–92.

Информация об авторах

Дугарова Ирина Далаевна – младший научный сотрудник лаборатории неинвазивных методов диагностики клинического отдела НИИ пульмонологии; тел.: (495) 465-53-84; e-mail: idug2001@mail.ru
 Анаев Эльдар Хусеевич – д. м. н., зав. лабораторией неинвазивных методов диагностики клинического отдела НИИ пульмонологии; тел.: (495) 465-53-84; e-mail: el_anaev@hotmail.com
 Оспельникова Татьяна Петровна – к. м. н., старший научный сотрудник отдела интерферонов НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи; тел.: (499) 193-55-66; e-mail: ospelnikovat@mail.ru
 Чучалин Александр Григорьевич – академик РАМН, д. м. н., проф., директор НИИ пульмонологии; тел.: (495) 465-52-64

Поступила 01.04.10

© Коллектив авторов, 2010

УДК 616.248-07:616.24-008.7-074