

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

*На правах рукописи*

**АЗИЗОВА ГЮЛЬНАРА ИБРАГИМ кызы**  
**ВЛИЯНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ, СВЯЗАННЫХ**  
**С ОКСИДАТИВНЫМ СТРЕССОМ НА ФОЛДИНГ БЕЛКОВ**

2406.02 – «Биохимия»

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации представленной на соискание  
ученой степени доктора наук по биологии

БАКУ – 2015

Диссертационная работа выполнена на кафедре биохимии  
Азербайджанского Медицинского Университета

***Научные консультанты:***

засл.деят.науки, доктор  
медицинских наук, профессор

**Мамедгасанов Р.М.**

доктор биологических наук,  
профессор

**Эфендиев А.М.**

***Официальные оппоненты:***

доктор биологических наук  
доктор биологических наук  
доктор биологических наук, профессор

**Гудратов Н.Г.  
Топчиева Ш.А.  
Кошоридзе Н.**

***Ведущая организация:*** Кафедра биохимии Тбилисского  
Государственного Медицинского Университета

Защита диссертации состоится " 30 " июня 2015 г. в     <sup>00</sup> часов на  
разовом заседании Диссертационного Совета ВД 03.013 при Азербайджанском Медицинском Университете.

***Адрес:*** AZ-1022, г.Баку, ул. Марданов Гардашлары 100 (АМУ, физико-химический корпус, кафедра патологической физиологии, II этаж)

С диссертационной работой можно ознакомиться в библиотеке Азербайджанского Медицинского Университета

Автореферат разослан " 27 " мая 2015 г.

***Ученый секретарь Диссертационного  
Совета ВД 03.013 доктор наук  
по медицине, профессор***

***М.Г.Аллахвердиев***

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

*Актуальность темы.* Всесторонние обширные экспериментальные и клинические материалы, накопленные за последние десятилетия дают основание принять влияние окислительного стресса на активные биомолекулы как основную причину возникновения и развития различных патологических процессов и заболеваний [Владимиров Ю.А., 1987; Дороткевич Н.А. и др., 1998; Descamps-Latscha B., 2000; Федорова М., 2009; Depuydt M. et al., 2011;]. Массовое увеличение количества модифицированных в результате окисления макромолекул и их циркуляция в крови формирует патологический процесс и, в конечном счете, приводит к развитию патологического процесса [Дубинина Е.Е., и др., 1995; Halliwell B., 1994]. Относительно ПОЛ - перекисного окисления липидов, связанного непосредственно окислительным стрессом имеется много информации, однако, в области окислительной модификации белков пока что остаются много неизученных вопросов. Например, не полностью выяснена взаимосвязь между степенью модификации белков и их функциональной активностью [Говорова Н.Ю., 1989; Halliwell B. 1994; Dalle-Donne I. et al.; 2006]. Представленная исследовательская работа посвящена именно данной актуальной проблеме, точнее, изучению механизмов окислительной модификации белков (ОМБ) под действием оксидативного стресса.

Аминокислоты, являющиеся основными составными частями белков и пептидов являются мишенями для свободных радикалов. Окисление аминокислотных радикалов в целом меняет физико-химические свойства белковой молекулы и приводит к серьезным изменениям нативной структуры. Такого типа изменения можно подразделить на 3 группы: фрагментация, агрегация и чувствительность к протеолизу.

Свободные радикалы модифицируя молекулу белков по всей полипептидной цепи меняет вторичную и третичную структуру белков и приводит к нарушению фолдинга – образованию активно, с биологической точкой зрения, структуры белка. Белки и ферменты, имеющие в составе много SH групп и остатков тирозина модифицируются наиболее интенсивно [Hausenloy D.J., 2007, Natayan M., 2012].

Изучение аминокислотного состава белков является первым шагом выяснения механизма действия белков. Аминокислотный анализ иммуноглобулинов показало, что эти молекулы богаты остатками цистеина [Michaelsen T., 1988; Brekke O., 1995] и дисульфидные связи

(S-S), занимают основное место в обеспечении активности этих молекул [An B.C., 2010; Benham A.M., 2012].

Как указано выше, из-за высокого содержания цистеиновых остатков молекулы иммуноглобулинов в результате окислительной модификации теряют свою протективную функцию. Таким образом, изменения, происходящие под действием активных форм кислорода приводит к супрессии иммунной системы.

Изучение структуры иммуноглобулинов, их аминокислотного состава и аминокислотной последовательности, а также структурного и функционального сходства и различия различных классов иммуноглобулинов, зависимость их активности от структурных особенностей и причины влияющие на эти процессы очень актуально [Terry W. et al., 1968]. С этой точки зрения, взаимосвязь между структурой и способностью связывать антигенные детерминанты находится в поле интереса многих исследователей [French M., 1989; Gergely J., et al., 1990].

В настоящее время структура иммуноглобулиновых молекул (IgG) всесторонне изучена, так полностью известно первичная структура и пространственная конфигурация различных фрагментов иммуноглобулинов [Danciu T.E. et al., 2010], их шарнирной части, а также рентгеноструктурная характеристика целой молекулы и ее фрагментов [Deruydt M. et al., 2011]. Различные факторы (метаболиты, генетические факторы), влияющие на структуру иммуноглобулинов, например, на количество S-S связей в настоящее время является основным объектом исследования, поскольку структурные изменения, происходящие в молекуле белка может быть одной из причин возникновения вторичной иммунной недостаточности.

Представленная исследовательская работа проводилась в трех актуальных направлениях, сопровождаемых метаболическими нарушениями: сахарный диабет (СД), хроническая почечная недостаточность (ХПН) и атопический дерматит (АД). Была исследована влияние биохимических изменений, связанных с оксидативным стрессом на активность иммуноглобулинов в этих трех патологиях.

Интенсивное распространение сахарного диабета в мировом масштабе, такие его осложнения как повреждение сердечно-сосудистой системы, развитие воспалительных процессов, неэффективность лечения делает актуальным дальнейшие исследования взаимосвязи между биохимическими и иммунологическими показателями [Мамедгасанов Р.М., 2003; Wolff S. et al., 1987; 1991; Wild S. et al., 2004; Walsh C.T., 2006; Ristow M. et al., 2011].

По последним данным, развитие осложнений при сахарном диабете становится возможным из-за снижения иммунологической реактивности организма [Германюк Я.Л., 1988; Денисов Л.Н., 1994; Дедов И.И., 2000; Wolff S. et al, 1993; Wang X.L. et al., 2004]. Экспертная оценка распространение сахарного диабета, считает что количество больных в 2025 году достигнет 300 млн. человек [Amos A.F. et al., 2009; Weber D. et al., 2012].

Данный факт дает основание, для более детального изучения механизмов развития осложнений при СД.

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) патологический процесс, сопровождающийся гибелью нефронов, в результате не лечения заболеваний почек и мочевых путей [Джавадзаде М.Д. и др., 1978; Aǵayev M., 2010].

По современным данным, среди каждого 1 млн-а населения у 120-160 человек выявляется ХПН. Правда, для различных популяций данный показатель меняется в широком диапазоне. Среди причин ХПН особое место занимает гломерулонефрит, пиелонефрит, диабетическая нефропатия. Сахарный диабет среди этих причин выходит на первое место и является неинфекционной эпидемией. В США 42%, в Европе 30-35% диализных больных составляют больные сахарным диабетом [Deferrari G. et al., 1997; de Lano W. et al., 2000; Descamps-Latscha B., 2000; Depuydt M. et al., 2009].

В настоящее время во многих странах мира наблюдается интенсивный рост аллергических заболеваний. Среди этих заболеваний особое место занимает атопический дерматит (АД) и представляет большой интерес [Торопова Н.П., 1998; Трофимова И.Б., 2001; Барбоева А.С., 2007].

В патогенезе АД ведущая роль принадлежит иммунной системе. Изменения, происходящие в иммунных параметрах играет основную роль в развитии вторичной иммунной недостаточности [Торопова Н.П. и др., 1993; Кабулов Г.Г. и др., 2007; Кабулов Г.Г. 2007].

Известно, что в клетке функционирует многокомпонентная антиоксидантная система, которая держит под контролем окислительные процессы, т.е. окислительную модификацию белков (ОМБ) и перекисное окисление липидов (ПОЛ), происходящих под действием оксидативного стресса (ОС) [Бурлакова Е.Б., 1980; Муравлева Л.Е. и др., 2010; Della-Morte D. et al., 2012].

К основным компонентом системы антиоксидантной защиты (САОЗ) относятся супероксиддисмутаза (СОД), восстановленный

глутатион (GSH), каталаза и др. [Бурлакова Е.Б. и др., 1982; Dinkova-Kostova A.T., 2008]. Активность выше названных компонентов зависит от интенсивности ПОЛ и ОМБ [Денисов Л.Н., 1994]. По этой причине, изучение интенсивности ОМБ и ПОЛ, занимающие решающее место в патогенезе различных метаболических нарушений и соответственно активность САОЗ имеет важную научно-практическую ценность [Новгородцева Т.П., 2003].

Таким образом, общий анализ научной литературы по изучению молекулярного механизма, влияние оксидативного стресса на функционирование иммунной системы показал, что имеется много неясных моментов в этой области. Выяснение таких вопросов может сделать значительный толчок в лечении заболеваний.

Представленная исследовательская работа основывается на тот факт, что в возникновении вторичной иммунной недостаточности ведущее место занимает снижение протективной функции В-системы иммунитета и причиной этой супрессии может быть оксидативный стресс, происходящий при различных патологиях.

Целью данной исследовательской работы является комплексное изучение влияния биохимических изменений, связанных с оксидативным стрессом на активность иммунных белков.

**Задачи, поставленные в диссертации.** Для достижения цели планируется решение следующих экспериментальных и теоретических задач:

1. Определение требуемых биохимических показателей, таких биомаркеров оксидативного стресса как NO, нитротирозина, карбонилированных белков, компонентов САОЗ-СОД, глутатиона, церулоплазмина, тиолового статуса, а также иммунных показателей IgG, IgM, IgA, циркулирующих иммунных комплексов, фагоцитарной активности, количественного соотношения высокоавидных и низкоавидных антител на стадиях компенсации, суб- и декомпенсации сахарного диабета.

2. Определение гематологических, биохимических показателей, биомаркеров ОМБ, ПОЛ и САОЗ, а также авидности антител на консервативной и терминальной стадии ХПН до- и после лечения.

3. Определение количества лейкотриенов и простагландинов как метаболитов арахидоновой кислоты при atopическом дерматите.

4. Определение количества IgG, IgM, IgA, ЦИК, фагоцитарную активность и авидность антител при atopическом дерматите.

5. Во всех 3-х группах выявление взаимосвязи между интенсивностью оксидативного стресса и avidностью антител.

6. Выявление влияния курса традиционного лечения на эту взаимосвязь.

7. Количественное определение белковых фракций плазмы крови методом электрофореза.

8. В результате комплексных исследований выявление корреляции между оксидативным стрессом, происходящим на фоне метаболических нарушений и иммунными показателями и предложение новых подходов для коррекции иммунного статуса.

***Основные положения, выносимые на защиту:***

1. Метаболические нарушения, происходящие в разных направлениях при сахарном диабете, ХПН и атопическом дерматите сопровождается модифицирующим влиянием оксидативного стресса на белковые молекулы. Оксид азота (NO), нитротирозин, карбонилированные белки и общий тиоловый статус крови могут быть биомаркерами, полностью отражающие действием окислительного стресса.

2. Количество 3-нитротирозина, карбонилированных белков и NO, являющиеся биомаркерами оксидативного стресса увеличивается на стадиях компенсации, суб- и декомпенсации в зависимости от степени тяжести заболевания, концентрация компонентов САОЗ, в том числе тиоловый статус снижается.

3. На консервативной и терминальной стадиях ХПН концентрация биомаркеров ОМБ и ПОЛ увеличивается, а компонентов САОЗ снижается.

4. При атопическом дерматите происходит возрастание метаболитов арахидоновой кислоты, отражающих интенсивность оксидативного стресса и динамика изменения противоположно пропорциональна avidности антител.

5. Модификация аминокислот, происходящая в молекулах иммуноглобулинов нарушает фолдинг белков и, соответственно, приводит к снижению avidности антител.

6. Во всех 3-х рассматриваемых патологических случаях на молекулярном уровне происходит логическая последовательность процессов "ОМБ → нарушение фолдинга белков → снижение активности иммуноглобулинов → вторичная иммунная недостаточность" .

7. Количественное определение альбуминов и глобулинов электрофоретическим методом может быть использован в диагностических целях.

8. Добавление иммуномодуляторов антиоксидантной природы к традиционному курсу лечения приводит к повышению avidности иммуноглобулинов.

**Научная новизна исследования.** В работе впервые была показана, что при СД, ХПН и АД происходит увеличение количества низкоавидных антител и снижение высокоавидных антител. Соответственно, наблюдается снижение титрового статуса крови. Впервые показана, что эта динамика изменений зависит от степени интенсивности оксидативного стресса.

В представленной исследовательской работе впервые комплексно изучено непосредственно влияние метаболических изменений углеводного, белкового и липидного обмена, связанных с оксидативным стрессом на иммунные показатели.

Впервые показано, что при СД типа II в зависимости от степени тяжести заболевания снижается показатель функциональной активности антител – avidность. При этих вышеназванных патологиях снижение avidности антител в зависимости от интенсивности ОМБ и ПОЛ и состояния антиоксидантной системы позволяет предположить о влиянии оксидативного стресса на иммунные параметры.

В результате проведенной работы впервые показано, что avidность иммуноглобулинов непосредственно связано с интенсивностью ОМБ и ПОЛ. Экспериментально показано, что на 2-х стадиях ХПН на фоне повышения NO, нитротирозина и КБ (карбонилированных белков), а также МДА и ДК происходит снижение avidности антител и титрового статуса, что объясняется окислением аминокислотных радикалов (например, SH групп цистеина).

**Практическое значение** исследования связано с тем, что результаты полученные в проведенных работах дают основание применению препаратов антиоксидантной природы, снижающих действие оксидативного стресса при лечении сахарного диабета, ХПН, атопического дерматита, сопровождающихся иммунной недостаточностью.

**Практическое применение результатов исследования.** В процессе исследования проведен количественный анализ различных белковых фракций методом электрофореза и показана целесообразность применения этого метода в диагностических целях.

**Апробация диссертационной работы.** Материалы диссертации были вынесены на обсуждение на VIII Международной конференции, посвященной памяти Ю.А.В.Овчинникова, проведенного РАН в Москве и в Пущино (Москва-Пущино, 2006); на научной конференции,



посвященной 85-летию проф. Т.А.Алиева (Баку, 2006); на научной конференции посвященной 110-летию со дня рождения профессора А.Т.Алиева (Баку, 2007); на научной конференции посвященной 95-летию со дня рождения проф. Н.М.Исазаде (Баку, 2007); на XIII Международном конгрессе по реабилитации и иммунореабилитации (Дубай, 26-29 апреля 2008); на IV Международной конференции (Москва 15017 сентября 2008); на Международном Форуме по астме (Дубай, 6-9 февраля 2009); XIV Международном Медицинском Конгрессе (Тегриз, 2012); «Человек и лекарство» на XIX Российском Национальном Конгрессе (Москва, 23-24 апреля 2012); II Российский Международный Конгресс (Санкт-Петербург, июнь 2012); на семинаре Диссертационного Совета ВД 03.013 при Азербайджанском Медицинском Университете (Баку, 2015).

**Опубликованные работы.** По теме диссертации опубликовано 51 научных трудов – 35 научных статей и 16 тезисов. 14 статей, в том числе опубликованы в иностранных журналах.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, главы, посвященные личным исследованиям и их обсуждение, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, в которую включены 542 источника. Вся диссертация изложена на 275 страницах. В списке литературы 4 источника на Азербайджанском языке, 131 источника на русском и 407 на иностранных языках. В диссертации имеется 50 таблиц и 28 рисунков.

### **Материалы и методы**

С целью изучения влияния показателей ПОЛ, ОМБ и САОЗ на иммунные параметры на фоне изменений углеводного, белкового и липидного обмена исследования проводились лабораторным исследованием крови трех групп: I группа – больные сахарным диабетом (СД) типа II; II группа – больные хронической почечной недостаточностью (ХПН); III группа – больные атопическим дерматитом.

С целью исследования изменений иммунных параметров и авидности иммуноглобулинов был проведен биохимический и иммунологический анализ крови 92 больных сахарным диабетом типа II. 42 человека из этих больных составили мужчины, 50 человек женщины. Возраст больных менялся в интервале 42-65 лет. Продолжительность болезни у разных больных менялся индивидуально от 2-х месяцев до 23 лет. Основную часть больных составили пациенты, находящиеся на

лечении в Эндокринологическом диспансере г. Баку. Классификация больных проводилась по критериям, предложенным Европейским бюро ВОЗ и Европейским бюро Международной Федерации Диабетологов (1998). По этим критериям уровень глюкозы натощак у больных СД на стадии компенсации составляет 4,6-6,1 ммоль/л, HbA1c 6,0-6,5 %

Уровень глюкозы на стадии субкомпенсации составляет 6,1-7,8 ммоль/л, а HbA1c колеблется в интервале 6,6-7%. На стадии декомпенсации у больных СД уровень глюкозы составляет выше 7,8 ммоль/л, HbA1c выше 7%. Контрольную группу составили 20 здоровых человек, возраст которых менялся в интервале 30-45 лет.

Во вторую группу входили 97 больных (57 мужчин и 40 женщин) хронической почечной недостаточности (ХПН), находящиеся на лечении в отделении гемодиализа в больнице Нефтяников в г. Баку. Контрольную группу составили 20 здоровых человек.

Исследовательские работы третьей группы проводились кровью 60 больных атопическим дерматитом (из них мужчин 63%, женщин – 37%). У многих больных это патологическое состояние начинался с малых лет и продолжался 10-25 лет. Приблизительно 50% больных помимо АД имеет место другие аллергические заболевания, у 30% наблюдается болезнь ЖКТ. У родственников 15% больных наряду с АД имелся аллергические заболевания. Контрольную группу составили 10 здоровых человек в возрасте 16-30 лет.

Исследовательские работы выполнены на кафедре биохимии Азербайджанского Медицинского Университета. Авидность иммуноглобулинов определяли в Институте биоорганической химии им. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова в г. Москве.

Кроме вышеуказанных экспериментальных работ, кровь 62 больных была проанализирована электрофоретическим методом с целью количественного анализа белковых фракций. Эксперименты проводились с кровью 38 больных сахарным диабетом и 24 больных хронической почечной недостаточностью. Из 38 больных сахарным диабетом 12 человек составили мужчины, 26 человек женщин, а продолжительность болезни от 2 месяцев до 30 лет. Исследования проводились в Турции, в Стамбуле на Медицинском факультете «Serrah Paşa» Стамбульского Университета, в биохимической лаборатории имени Фикрета Бияла, в рамках проекта проводимого с целью научно-исследовательских работ и обмена учебным опытом.

В соответствии с поставленной целью исследования проводились в гематологическом, биохимическом и иммунологическом направ-

лениях. Определение общего белка проводились биуретовым методом, альбумины определялись с помощью бромкрезольного реактива [Колб В.Г., Камышников В.С., 1982]. Количество креатинина определялось методом Поппера, основанного на цветной реакции Яффе [Архипова О.Г. и др.; 1988], а количество мочевины колориметрическим диацетилмонооксимным методом.

Показатели перекисного окисления липидов, малонового диальдегида определялся методом предложенный Андреевой Л.И. и др. [1988], диеновые конъюгаты определялись методом Гаврилова В.Б. [1988].

Активность фермента СОД определялось по методу Дубининой Е.Е. и др. [1995], восстановленный глутатион GSH определялось по методу Элман, церулоплазмин определялся модифицированным методом Ревина, активность глутатионпероксидазы определялся методом Разыграева А.В. и др.

Количественное определение (А, М и G классов) проводилось по методу Manchini [1970], а ЦИК (циркулирующие иммунные показатели) спектрофотометрическим методом, основанным на селективном осаждении при помощи полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ).

При биохимических исследованиях применялись реактивные наборы таких известных фирм как «Human» и «Diasis» (Германия).

Количество глюкозы определялись глюкозооксидазным методом. Авиность иммуноглобулинов определялась при помощи специального экспресс-теста. Определение простагландинов проводилось колоночной хроматографией, с использованием реактивными наборами «Amersham» (Великобритания) «Clinical Assay» США.

Биомаркеры оксидативного стресса NO, нитротирозин, карбонилированные белки определялись методом иммуноферментного анализа с использованием реактивного набора производства Италия, приобретенного у коммерческой фирмы “Biochimmax”.

Полученные результаты статистически обработаны с использованием параметрического метода по критериям Стьюдента и непараметрическим методом с использованием критерия Уилкоксона (U).

## **Полученные результаты и их обсуждение**

Биомаркеры оксидативного стресса у больных сахарным диабетом на стадии компенсации до- и после лечения.

В соответствии поставленным задачам с целью выяснения влияния оксидативного стресса на общие параметры крови были изучены показатели ОМБ, ПОЛ и САОЗ. Как биомаркеры ОМБ были определены NO, нитротирозин, карбонилированные белки, МДА и ДК, а из параметров САОЗ, активность СОД, ГП, количество GSH и церулоплазмина. Полученные результаты указаны в таблице 1.

Таблица 1

**Иммунологические показатели у больных сахарным диабетом на стадии компенсации до- и после лечения**

Показатели	Контроль- ная группа n = 20	Больные	
		до лечения n = 21	после лечения n = 21
<b>Параметры ОМБ</b>			
NO, нмоль/л	12,6±0,9	18,2±0,6	14,7±0,3
Нитротирозин, мкмоль/л	0,7±0,03	65,1±7,3	18,3±1,7
Карбонилированные белки, 270 нм.	79,8±2,4	114,5±1,7	108,5±1,9
Карбонилированные белки, 363 нм.	101,3±1,3	146,8±2,1	108,3±3,4
<b>Показатели ЛПО</b>			
МДА, нмоль/л	2,85 ± 0,11	2,79 ± 0,02 * (1,98 – 3,01)*	2,83 ± 0,18* (1,92 – 2,97)*
ДК, E <sub>223</sub> /мл	0,38 ± 0,01	0,41 ± 0,01* (0,28 – 0,54)*	0,42 ± 0,01* (0,38 – 0,52)*
<b>Показатели САОЗ</b>			
СОД, МЕ/мг	0,939 ± 0,03	0,84 ± 0,03*	0,87 ± 0,02*
ГП, мкм/мин/г	279,4 ± 5,65	271,37 ± 3,65*	274 ± 2,63*
GSH, мкмоль/л	0,552 ± 0,02	0,48 ± 0,02*	0,51 ± 0,01*
Церулоплазмин, мг%	28,64 ± 0,38	27,5 ± 0,33*	28,1 ± 0,31*
Тиольный статус плазмы крови	502,7 ± 13,1	464,5±10,7	471,4±8,7

Примечание: \* p<0,001.

Соответственно поставленным целям из иммунологических показателей были определены IgG, IgM, IgA, ЦИК, ФА (фагоцитарная активность) и avidность антител. Динамика изменений этих показателей было как указано в таблице 2.

Таблица 2

Показатели avidности в группе больных сахарным диабетом на стадии компенсации до- и после лечения

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до лечения n=37	после лечения n=37
Высокоавидные иммуноглобулины, %	89,05 ± 1,17	70,78 ± 0,74* (69 – 80)	75,37 ± 0,83* (69 – 84)
Низкоавидные иммуноглобулины, %	10,94 ± 1,17	29,12 ± 0,71* (18 – 32)	24,62 ± 0,83* (16 – 31)

Примечание: \* p<0,001

Для IgG в пределах группы среднее значение составило 17,168±0,36 г/л, минимальное значение 14,3 г/л, максимальное значение 19,2 г/л, что по сравнению с контрольной группой выше на 19%. Степень достоверности p<0,01.

Для IgM полученные в данной группе значения следующее: среднее значение 2,72±0,08 г/л; минимальное значение 1,99 г/л, максимальное значение 3,7 г/л. По сравнению с контрольной группой повышение составило 13%, степень достоверности p<0,01.

Для IgA полученные значение показали следующую динамику изменения: минимальное значение в группе – 1,98 г/л, максимальное значение – 2,9 г/л, среднее значение 2,33±0,06 г/л. По сравнению с контрольной группой степень повышения составило 26,5%, степень достоверности p<0,01.

Значение ЦИК наиболее подвержены изменению. Так, для данного показателя внутри группы минимальное значение – 0,4 мг/мл, максимальное значение 1,79 мг/мл. В пределах группы среднее значение для данного параметра составило 0,83±0,108 мг/мл. На стадии компенсации среднее значение для ЦИК на 71,5% выше контрольной группы: p<0,01.

Для фагоцитарной активности значения меняются менее значительно по сравнению с ЦИК. Так, для данного параметра полученное

среднее значение  $76 \pm 1,46\%$ , минимальное значение  $69\%$ , максимальное значение  $88\%$ . По сравнению с контрольной группой наблюдалось понижение на  $17,3\%$ . Степень достоверности  $p < 0,001$ .

На фоне изменения биохимических показателей для наших исследований наибольший интерес представляет критерий выполнения функций антител – их avidность. В группе больных до лечения количество высокоавидных иммуноглобулинов составил  $70,78 \pm 0,74\%$ , низкоавидных иммуноглобулинов  $29,12 \pm 0,71\%$ . В группе после лечения в количестве высокоавидных антител наблюдается снижение на  $14,4\%$ . Полученное в данной группе минимальное значение составило  $69\%$ , максимальное значение было  $84\%$ , среднее значение  $75,37 \pm 0,83\%$ . Полученные значения показывают, что изменения наблюдаемые в концентрации высокоавидных антител не сильно заметное. Для данного показателя степень достоверности  $p < 0,001$ . Противоположным высокоавидным антителам показатель это низкоавидные антитела. Для данного параметра были получены следующие значения: минимальное значение  $16\%$ , максимальное значение  $31\%$ , среднее значение  $24,62 \pm 0,83\%$ ;  $p < 0,001$ .

### **Биомаркеры окислительного стресса у больных сахарным диабетом на стадии субкомпенсации**

Как и в группе больных сахарным диабетом на стадии компенсации в данной группе из показателей интенсивности ПОЛ были определены МДА и ДК. На данной стадии болезни заметно возрастает интенсивность перекисного окисления липидов. В данной группе для МДА до лечения среднее значение составило  $5,42 \pm 0,21$  нмоль/л (таблица 3).

После курса лечения активность СОД снижается на  $17\%$ . В данной группе наблюдаемое минимальное значение составило  $0,2$  МЕ/мг, а максимальное значение  $0,8$  МЕ/мг, степень достоверности  $p < 0,001$ .

Другой значимый компонент СА ОЗ, вызывающий наибольший интерес – это фермент ГП. Для данного фермента для лечения наблюдается снижение активности по сравнению с контрольной группой. Значение данного показателя меняясь в интервале  $152-227$  мкм/мин/г, получает среднее значение  $182,92 \pm 3,27$  мкм/мин/г. Это показывает снижение активности на  $59,2\%$ . Степень достоверности  $p < 0,001$ .

Таблица 3

Биомаркеры окислительного стресса и показатели САОЗ у больных сахарным диабетом на стадии субкомпенсации

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до лечения n=34	после лечения n=34
<b>Показатели ОМБ</b>			
НО, нмоль/л	12,6±0,9	21,9±0,8	15,2±0,7
Нитротирозин, мкмоль/л	0,7±0,03	85,7±1,7	24,5±1,2
Карбонилированные белки, 270 нм.	79,8±2,4	140,4±1,7	100,5±1,9
Карбонилированные белки, 363 нм.	101,3±1,3	179,2±2,1	108,3±3,4
<b>Показатели ПОЛ</b>			
МДА, нмоль/л	2,85 ± 0,11	5,42 ± 0,21 (3,8 – 7,8)	3,72 ± 0,17 (2,9 – 4,7)*
ДК, E <sub>223</sub> /мл	0,38 ± 0,01	0,71 ± 0,02 (0,48 – 0,82)	0,52 ± 0,018 (0,42 – 0,68)**
<b>Показатели САОЗ</b>			
СОД, МЕ/мг	0,939 ± 0,03	1,42 ± 0,02 (1,08 – 1,97)	1,37 ± 0,01 (0,2 – 0,8)*
ГП, мкм/мин/г	279,4 ± 5,65	182,92 ± 3,27 (152 - 227)	211,72 ± 3,42 (172 - 278)*
ГSH, мкмоль/л	0,552 ± 0,02	0,32 ± 0,01 (0,27 – 0,48)	0,42 ± 0,02 (0,22 – 0,78)***
Церулоплазмин, мг%	28,64 ± 0,38	17,42 ± 0,42 (9 – 25)	21,18 ± 0,42 (14 – 28)*
Тиольный статус плазмы крови	502,7±13,1	301,62±9,7	474,5±11,2

Примечание: \* p<0,001; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,05

После курса лечения наблюдалось повышение активности фермента с минимальным значением 172 мкм/мин/г и максимальным значением 278 мкм/мин/г., получилось среднее значение 211,72±3,42 мкм/мин/г. По сравнению с контрольной группой наблюдается снижение активности на 24%, а по сравнению с группой до лечения происходит повышение на 12%. Степень достоверности p< 0,001.

Для восстановленного глутатиона также отмечается снижение количества в плазме крови. Так, до лечения для данного показателя среднее значение составило  $0,32 \pm 0,01$  мкмоль/л, минимальное значение  $0,27$  мкмоль/л, максимальное значение  $0,48$  мкмоль/л. По сравнению с контрольной группой наблюдается снижение на 44%. После курса лечение из-за снижения влияния оксидативного стресса наблюдается определенное повышение значения. Среднее значение  $0,42 \pm 0,02$  мкмоль/л, минимальное значение  $0,22$  мкмоль/л, максимальное значение  $0,78$  мкмоль/л. Степень достоверности  $p < 0,05$ .

Другой исследованный компонент САОЗ белок церулоплазмин. На стадии субкомпенсации для лечения для этого параметра наблюдается среднее значение  $17,42 \pm 0,42$  мг% (минимальное значение  $9$  мг%, максимальное значение  $25$  мг%), после лечение среднее значение составило  $21,18 \pm 0,42$  мг% (минимальное значение  $14$  мг%, максимальное значение  $28$  мг%). Это означает снижение данного показателя на 42% и 23,2% соответственно. В обоих случаях степень достоверности  $p < 0,001$ .

### **Значение avidности иммуноглобулинов у больных сахарным диабетом на стадии субкомпенсации до- и после лечение**

Значение avidности отражены в таблице 4.

*Таблица 4*

*Показатели avidности иммуноглобулинов в группах больных сахарным диабетом на стадии субкомпенсации до- и после лечения*

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до лечения n=34	после лечения n=34
Высокоavidные иммуноглобулины, %	$89,05 \pm 1,17$ (81 – 95)	$57,21 \pm 1,51$ (50 – 6,7)	$62,28 \pm 1,49^*$ (49 – 64)
Низкоavidные иммуноглобулины, %	$10,94 \pm 1,17$ (5 – 19)	$42,79 \pm 1,51$ (40 – 50)	$37,72 \pm 1,49^*$ (29 – 54)

Примечание: \*  $p < 0,005$ .

Как видно из таблицы, в количестве высокоavidных иммуноглобулинов наблюдается заметное снижение. Так, среднее значение



было  $62,28 \pm 1,49$ , минимальное значение 49%, максимальное значение 64%. По сравнению с контрольной группой наблюдается снижение на 34% ( $p < 0,01$ ).

### **Биомаркеры оксидативного стресса у больных сахарным диабетом на стадии декомпенсации до- и после лечения**

На самой тяжелой стадии сахарного диабета – на стадии декомпенсации наблюдается значительное влияние оксидативного стресса, что объясняется усилением процесса окислительного стресса и ослабляет САОЗ. Рассмотрим полученные в результате исследований значения изученных параметров (таблица 5).

Для биомаркеров ОМБ, NO, нитротирозина и карбонилированных белков наблюдается значительное повышение. Для NO до лечения среднее значение было  $39,6 \pm 0,7$  нмоль/л, после лечения наблюдается снижение до  $18,3 \pm 0,8$  нмоль/л.

Для нитротирозина до лечения среднее значение составило  $210,7 \pm 7,1$  нмоль/л, а после курса лечения происходит снижение до  $35,3 \pm 8,1$  мкмоль/л. Из показателей ПОЛ как на стадиях компенсации и субкомпенсации были исследованы 2 параметра – МДА и ДК. Для МДА полученный до лечения среднее значение составило  $8,28 \pm 0,24$  нмоль/л. Это по сравнению с контрольной группой показывает повышение значения данного показателя в 4 раза. Минимальное значение в группе 4,9 нмоль/л, максимальное значение 13,2 нмоль/л, степень достоверности  $p < 0,001$ . После курса лечения среднее значение снизилось до  $6,41 \pm 0,17$  нмоль/л. Интервал изменения было 4,4 – 7,8 нмоль/л,  $p < 0,001$ .

Другой определяемый параметр был диеновые конъюгаты. Для данного параметра среднее значение до лечения было  $0,81 \pm 0,01$  E<sub>233</sub>/мл (минимальное значение 0,42 E<sub>233</sub>/мл, максимальное значение 0,92 E<sub>233</sub>/мл). По сравнению с контрольной группой наблюдается повышение на 107% (степень достоверности  $p < 0,001$ ). После лечения происходит среднее значение до  $0,71 \pm 0,12$  нмоль/л. В группе наблюдаемое минимальное значение 0,44 E<sub>233</sub>/мл, максимальное значение 0,87 E<sub>233</sub>/мл, степень достоверности  $p < 0,001$ . На фоне такого усиления процесса ПОЛ наблюдается соответствующие изменения в САОЗ.

Таблица 5

Биомаркеры оксидативного стресса в группах больных сахарным диабетом на стадии декомпенсации до- и после лечения

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до лечения n=21	после лечения n=20
<b>Биомаркеры ОМБ</b>			
НО, нмоль/л	12,6±0,9	39,6±0,7	18,3±0,8
Нитротирозин, мкмоль/л	0,7±0,03	210,7±7,1	35,3±8,1
Карбонилированные белки, 270 нм.	79,8±2,4	172,5±1,7	68,5±1,9
Карбонилированные белки, 363 нм.	101,3±1,3	219,2±2,1	108,3±3,4
<b>Показатели ПОЛ</b>			
МДА, нмоль/л	2,85 ± 0,11	8,28 ± 0,24 (4,9 – 13,2)*	6,41 ± 0,17 (4,4 – 7,8)*
ДК, E <sub>223</sub> /мл	0,38 ± 0,01	0,81 ± 0,01 (0,42 – 0,98)	0,71 ± 0,12 (0,44 – 0,87)*
<b>Показатели САОЗ</b>			
СОД, МЕ/мг	0,939 ± 0,03	0,57 ± 0,03 (0,27 – 0,92)*	0,82 ± 0,18 (0,48 – 1,01)*
ГП, мкм/мин/г	279,4 ± 5,65	214,24 ± 4,62 (168 – 258)*	217,4 ± 4,48 (162 – 268)***
GSH, мкмоль/л	0,552 ± 0,02	0,38 ± 0,02 (0,23 – 0,64)*	0,42 ± 0,02 (0,31 – 0,81)***
Церулоплазмин, мг%	28,64 ± 0,38	14,42 ± 0,32 (17 – 20)*	18,71 ± 0,72 (11 – 26)***
Тиольный статус плазмы крови	502,7±13,1	238,5±10,7	471,4±8,7

Примечание: \* p<0,001; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,05

Первый изученный параметр фермент СОД. Для данного показателя среднее значение составило 0,57±003 МЕ/мг, интервал колебания был 0,27-0,92 МЕ/мг. Так, в данной группе наблюдается снижение на 86,7%. После курса лечения полученное значение повышается почти

до соответствующего показателя группы сравнения –  $0,82 \pm 0,18$  МЕ/мг. Наблюдаемое в группе минимальное значение было  $0,48$  МЕ/мг, максимальное значение  $1,01$  МЕ/мг, степень достоверности  $p < 0,001$ .

Для фермента ГП полученные следующие значения до лечения среднее значение составило  $214,24 \pm 4,62$  мкм/мин/г., минимальное значение в группе  $168$  мкм/мин/г, максимальное значение  $258$  мкм/мин/г., степень достоверности  $p < 0,001$ . После лечения среднее значение составило  $217,4 \pm 4,48$  мкм/мин/г., минимальное значение  $162$  мкм/мин/г., максимальное значение  $268$  мкм/мин/г., степень достоверности  $p < 0,05$ . Полученные данные указывают на тот факт, что курс лечения оказывает незначительное влияние на данный параметр.

В количестве ГШН, как и в предыдущих группах наблюдается снижение. Так, до лечения полученное среднее значение было  $0,38 \pm 0,02$  мкмоль/л., степень достоверности  $p < 0,001$ . Среднее значение после лечения было  $0,42 \pm 0,02$  мкмоль/л., степень достоверности  $p < 0,05$ . По сравнению с контрольной группой снижение составило  $42\%$  и  $31\%$ .

В количестве церулоплазмينا наблюдались более значительные изменения. В контрольной группе среднее значение данного показателя было  $28,64 \pm 0,38$  мг%, в группе до лечения значение церулоплазмينا составило  $14,42 \pm 0,32$  мг%, после лечения  $18,71 \pm 0,72$  мг%. В первой группе количество церулоплазмينا менялся в пределах  $17-20$  мг%, после лечения наблюдался повышение.

### **Иммунологические показатели в группах больных сахарного на стадии декомпенсации до- и после лечения**

Соответственно целью данной исследовательской работы на фоне изменения биохимических показателей было проанализирована динамика изменения иммунологических параметров. Как в предыдущих группах, для больных данной группы также были определены следующие показатели.

Для основного иммуноглобулина IgG в пределах группы было получено среднее значение  $22,61 \pm 0,44$  мг/мл. Для этого параметра в интервале изменения минимальное значение составило  $20,3$  мг/мл, максимальное значение  $26,1$  мг/мл. По сравнению с контрольной группой сравнения наблюдается повышение на  $56,9\%$ . Степень достоверности

$p < 0,001$ . Для другого иммуноглобулина IgM наблюдаемое минимальное значение составило 1,9 мг/мл, максимальное значение 3,1 мг/мл, среднее значение для IgM в этой группе составило  $2,65 \pm 0,09$  мг/мл, что на 10,2% выше контрольной группы (таблица 6).

Таблица 6

*Показатели avidности иммуноглобулинов у больных сахарным диабетом на стадии декомпенсации до- и после лечения*

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до лечения n=21	после лечения n=20
Высокоавидные иммуноглобулины, %	$89,05 \pm 1,17$ (81 – 95)	$25,70 \pm 0,63$ (21 – 31)	$29,7 \pm 0,63^*$ (21 – 31)
Низкоавидные иммуноглобулины, %	$10,94 \pm 1,17$ (5 – 19)	$74,47 \pm 0,60$ (69 – 79)	$70,31 \pm 0,6^{**}$ (69 – 74)

Примечание: \* $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,005$

Для этого параметра степень достоверности  $p < 0,005$ . Повышение IgA более значительное, так на стадии декомпенсации у группы больных сахарным диабетом до лечения среднее значение было  $3,74 \pm 0,09$  мг/мл. Внутри группы наблюдаемое минимальное значение было 3,1 мг/мл, максимальное значение было 4,6 мг/мл. По сравнению с контрольной группой повышение составило 102,9%, степень достоверности было  $p < 0,001$ .

При заболеваниях сопровождаемых метаболическими нарушениями, в том числе при сахарном диабете в плазме крови повышается количество циркулирующих иммунных комплексов. Естественно, в этом процессе значительное место занимает окислительные процессы, точнее, соотношение ПОЛ/СаОЗ. Полученные нами результаты показали, что на стадии декомпенсации сахарного диабета до лечения происходит значительное повышение количество ЦИК. Так, в данной группе наблюдаемое минимальное значение было 1,3 мг/мл, максимальное значение 1,7 мг/мл, среднее значение  $1,49 \pm 0,03$  мг/мл. Данное значение по сравнению с контрольной группой ниже на 8,3%. Другой иммунный параметр, представляющий интерес фагоцитарная активность. Для данного показателя, наоборот, наблюдается тенденция сни-

жения. Значение фагоцитарной активности меняется между 41% и 53%, принимает среднее значение  $48,94 \pm 0,96\%$ , то по сравнению с контрольной группой ниже на 46,8%. Степень достоверности  $p < 0,001$ .

Большой интерес представляет значения показателя функциональной активности иммуноглобулинов – avidность антител. Так, для высокоавидных антител минимальное значение составило 21%, максимальное значение 31%, на фоне изменений в данном интервале среднее значение составило  $25,7 \pm 0,63\%$ . По сравнению с контрольной группой наблюдается снижение на 71,1% (см. таблица 6).

Наблюдаемая тенденция в динамике изменения низкоавидных антител обратное. Так, на стадии декомпенсации сахарного диабета до лечения полученное минимальное значение 69%, максимальное значение 79%, среднее значение  $74,47 \pm 0,6\%$ . По сравнению с контрольной группой повышение составляет 6 раз (580%). Степень достоверности  $p < 0,001$ .

Для выявления влияния оксидативного стресса были определены такие параметры как NO, нитротирозин и карбонилированные белки. В норме среднее значение для NO составило  $11,9 \pm 0,8$  нмоль/л, в консервативной группе данный показатель составил  $14,7 \pm 0,5$  нмоль/л. В количестве нитротирозина наблюдается резкое повышение, так у здоровых лиц среднее значение данного параметра составляет  $0,7 \pm 0,03$  мкмоль/л, в консервативной группе  $21,3 \pm 1,7$  мкмоль/л.

Изучение в плазме крови количества МДА показало повышение в 2,4 раза (135,7%) по сравнению с контрольной группой. Для лечения в крови у больных ХПН концентрация данного вещества составило 4,7-8,3 нмоль/мл, принимая среднее значение  $6,72 \pm 0,13$  нмоль/л. Степень достоверности по сравнению с контрольной группой  $p < 0,001$ .

В количестве ДК наблюдается заметное повышение. Для 52 больных из этой группы минимальное значение составило 0,46  $E_{223}/мл$ , максимальное значение 0,97  $E_{223}/мл$ , среднее значение  $0,69 \pm 0,02$ , повышение по сравнению с контрольной группой 73,7%, степень достоверности  $p < 0,001$ .

Полученные результаты показывают повышение интенсивности ПОЛ у больных ХПН консервативной стадии до лечения. Достоверное повышение МДА и ДК еще раз доказывает этот факт. После курса лечения в плазме крови больных как первичный продукт ПОЛ, ДК, и также вторичный продукт МДА повышается. Для малонового диальдегида у больных данной группы минимальное значение 2,8 нмоль/мл,

## Биомаркеры оксидативного стресса больных ХПН в консервативной группе до- и после лечения

Как указано в поставленных в диссертации задачах были проанализированы показатели интенсивности ОМБ/ПОЛ, NO, 3-нитротирозин, КБ, МДА, ДК. Полученные результаты показаны в таблице 7.

Таблица 7

*Показатели ОМБ, ПОЛ, САОЗ у больных ХПН  
консервативной группы до- и после лечения*

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до лечения n=52	после лечения n=52
<b>Биомаркеры оксидативного стресса</b>			
NO, нмоль/л	12,6±0,9	17,5±0,5*	14,1 ±0,7*
Нитротирозин, мкмоль/л	0,7±0,03	21,3±1,7*	11,4 ± 0,03*
Карбонилированные белки, 270 нм.	79,8±2,4	127,3±2,1*	84,5 ± 3,2*
Карбонилированные белки, 363 нм.	101,3±1,3	183,5±7,1*	133,2 ± 4,1*
МДА, нмоль/мл	2,85 ± 0,1	6,72 ± 0,13* (4,7 – 8,3)*	4,74 ± 0,19* (3,4 – 5,7)
ДК, E <sub>233</sub> /мл	0,38 ± 0,01	0,697 ± 0,02* (0,46 – 0,9)*	0,53 ± 0,024* (0,42 – 0,67)
<b>Показатели САОЗ</b>			
СОД, МЕ/мг	0,94 ± 0,03	1,37 ± 0,03 (1,08 – 1,82)	1,341 ± 0,02* (0,2 – 0,77)
ГП, мкм/мин/г.	279,4 ± 5,66	190,92 ± 3,33 (167 – 261)	207,76 ± 4,61** (170 – 274)
ГSH, мкмоль/л	0,55 ± 0,02	0,39 ± 0,01 (0,27 – 0,5)	0,48 ± 0,02* (0,26 – 0,71)
Церулоплазмин, мг%	28,64 ± 0,38	15,49 ± 0,55 (10 – 27)	16,16 ± 0,57* (10 – 26)
Тиольный статус плазмы крови	502,3±18,1	301,2±21,2*	321,08 ±12,5

Примечание: \*p<0,001

максимальное значение 7,3 нмоль/л. Среднее значение в данном интервале составило  $4,73 \pm 0,19$  нмоль/мл. При сравнении с соответствующим значением до лечения наблюдается снижение на 29,5%, а при сравнении с контрольной группой повышение составляет 66,1%. Степень достоверности  $p < 0,001$ .

Для диеновых конъюгатов наблюдается приблизительно одинаковая динамика изменения. Для лечения данный показатель принимает значение  $0,697 \pm 0,021 E_{233}/мл$ , после лечения снижается и составляет  $0,53 \pm 0,024 E_{233}/мл$ , минимальное значение для данного показателя составил 0,2  $E_{233}/мл$ , максимальное значение 0,77  $E_{233}/мл$ . По сравнению с контрольной группой это значение выше на 32,8% и ниже на 23,6% значения, полученного до лечения. Результаты корреляционного данного блока параметров указывает положительную зависимость между МДА и ДК ( $r = +0,33, p < 0,05$ ).

Изучение состояния системы антиоксидантной защиты на фоне усиления интенсивности перекисного окисления липидов, представляет для каждого патологического процесса большой интерес. С этой точки зрения был проведен количественный анализ СОД, ГП, церулоплазмина и восстановленного глутатиона в крови больных ХПН. Как видно из таблицы, наблюдается повышение активности СОД по сравнению с контрольной группой. В группе больных ХПН, состоящий из 52 человек минимальное значение составило 1,08 МЕ/мг, максимальное значение 1,82 МЕ/мг. В данном интервале среднее значение составило  $1,368 \pm 0,026$  МЕ/мг, что по сравнению с соответствующим показателем контрольной группы выше на 45,7%. Степень достоверности  $p < 0,001$ .

Для других компонентов САОЗ наблюдается тенденция снижения по сравнению с контрольной группой. Так, для ГП среднее значение составило  $190,92 \pm 3,33$  мкм/мин/г., максимальное значение было 261 мкм/мин/г. Среднее значение данного параметра ниже контрольной группы на 31,7%, степень достоверности  $p < 0,001$ .

По полученным данным, в данной группе больных наблюдается заметное снижение восстановленного глутатиона (31,7%). Для данного параметра минимальное значение 0,27 мкмоль/мл., максимальное значение 0,5 мкмоль/мл., среднее значение составило  $0,39 \pm 0,01$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ).

В последние годы как компонент САОЗ большой интерес вызывает имеющий в составе ионы меди, белок – церулоплазмин. При ряде па-

тологических процессов наблюдается адекватная динамика изменения для данного показателя. По полученным нами данным на консервативной стадии ХПН наблюдается снижение концентрации данного белка. Так, для здоровых людей значение данного показателя составляет 28,64 мг%, а у больных ХПН  $15,4 \pm 0,57$  мг%, что по сравнению с контрольной группой ниже 44,4 мг%. Среди больных данной группы значение церулоплазмينا колебался между 10-27 мг%. Для этого показателя САОЗ степень достоверности  $p < 0,001$ . Как указано выше, в консервативной группе ХПН после курса лечения наблюдается нормализация процессов ПОЛ. Естественно, с этой точки зрения вызывает интерес влияния курса лечения на показатели САОЗ. Среди этих показателей большой интерес вызывает белок – церулоплазмин. Для группы состоящий из 52 человек среднее значение составило  $16,16 \pm 0,575$  мг%, минимальное значение 10 мг%, максимальное значение 26 мг%, несмотря на повышение значения данного показателя после лечения на 4,3%, все таки остается ниже контрольной группы на 42% ( $p < 0,001$ ).

### **Иммунологические показатели больных ХПН до- и после лечения в консервативной группе**

Основная задача данного исследования заключается на выявление взаимосвязи между биохимическими показателями, параметрами ПОЛ, САОЗ и иммунными показателями. С этой целью были определены количества в плазме крови 3 классов иммуноглобулинов – IgA, IgM, IgG и ЦИК и фагоцитарной активности. Полученные результаты приведены в таблице 8.

Как видно из таблицы, курс лечения не оказал заметного влияния на иммуноглобулины. Так, в группе больных ХПН после лечения минимальное значение было 1,78 мг/мл, максимальное значение 2,33 мг/мл. В данном интервале среднее значение составил  $2,1 \pm 0,25$  мг/мл., что на 19,3% выше контрольной группы, а по сравнению с группой до лечения выше на 0,2% ( $p < 0,001$ ).

IgG основной иммуноглобулин плазмы. В норме значение данного показателя  $14,65 \pm 0,27$  г/л. Для обследованных больных наблюдается повышение данного белка, так для 52 больных этой группы среднее значение составило 11,8 г/л., максимальное значение 18,5 г/л., а среднее значение  $15,04 \pm 0,25$  г/л. По сравнению с контрольной группой наблюдается повышение на 2,7%. Разница не достоверная.



Таблица 8

Иммунологические показатели и авидность иммуноглобулинов до- и после лечения в консервативной группе

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		по лечению n=52	после лечения n=39
IgM, мг/л	1,76 ± 0,01	2,096 ± 0,041* (1,63 – 2,78)	2,1 ± 0,25* (1,78 – 2,33)
IgA, мг/мл	2,19 ± 0,01	2,22 ± 0,026** (2 – 2,71)	2,28 ± 0,31** (2 – 2,71)
IgG, мг/мл	14,65 ± 0,27	15,04 ± 0,29** (11,8 – 18,5)	15,32 ± 0,33** (11,6 – 18,9)
ЦИК, мг/мл	43,75 ± 0,50	67,78 ± 1,22* (52 – 82)	62,29 ± 2,16* (36 – 92)
ФА, %	91,15 ± 0,83	72,75 ± 1,17* (61 – 90)	72,97 ± 1,43* (52 – 88)
Высокоавидные иммуноглобулины, %	89,05 ± 1,17 (81 – 95)	40,8 ± 1,72* (29 – 51)	50,285 ± 1,35* (43 – 59)
Низкоавидные иммуноглобулины, %	10,94 ± 1,17 (5 – 19)	59,2 ± 1,72* (49 – 71)	49,71 ± 1,35* (41 – 57)

Примечание: \*p<0,001; \*\* p<0,005

Из проанализированных параметров ЦИК и ФА проявляют по сравнению с иммуноглобулинами более заметные изменения. Так для ЦИК среднее значение для больных ХПН данной группы среднее значение составило 67,788±1,23 мг/мл, данный показатель менялся в интервале 52-82 мг/мл. По сравнению с контрольной группой данный показатель повысился на 54,9% (p<0,001).

Для фагоцитарной активности наблюдается снижение. Для этого иммунного параметра среднее значение 72,75±1,17%, что по сравнению с контрольной группой ниже на 20,2%, минимальное значение составил 61%, максимальное значение 90%, степень достоверности p<0,001. После курса лечения для больных данной группы определены

все 5 иммунологических параметров. Полученные результаты указаны в таблице 8.

Для иммуноглобулинов IgM и IgG классов наблюдается похожие изменения. Среднее значение для IgA  $2,28 \pm 0,031$  мг/мл, минимальное значение 2 мг/мл, максимальный показатель 2,71 мг/мл. При сравнении с контрольной группой данный показатель выше на 4,1%, а при сравнении с группой до лечения выше на 2,7%. Степень достоверности  $p < 0,05$ .

Для IgG получено среднее значение  $15,32 \pm 0,33$  мг/мл, интервал изменения 11,6-18,9 мг/мл. Лечение неэффективно в отношении ЦИК. Полученные результаты в данной группе следующие: среднее значение  $62,29 \pm 2,16$  условных единиц, минимальное значение 36, максимальное значение 92 условных единиц. По сравнению с группой до лечения данный показатель снизился на 8,1%, а по сравнению с контрольной группой повысился на 42,4% ( $p < 0,05$ ).

В результатах, полученных для ФА наблюдается обратная динамика изменения. Для данной группы больных ФА менялся в интервале 52-88%, и принимая среднее значение  $72,97 \pm 1,43\%$ . По сравнению с контрольной группой этот показатель ниже на 19,9%. В результате лечения наблюдается повышение показателя только на 0,3% ( $p < 0,001$ ).

### **Биомаркеры оксидативного стресса и показатели САОЗ в терминальной группе ХПН до- и после лечения**

Как и в консервативной группе, в терминальной группе также определены критерии ОМБ и ПОЛ. Полученные результаты отражены в таблице 9.

В группе 45 больных ХПН минимальное значение МДА было 4,9 нмоль/мл, а максимальное значение 12,2 нмоль/л, среднее значение составило  $7,91 \pm 0,26$  нмоль/мл. Сравнение этого показателя со значением контрольной группы показывает возрастание на 177,6% ( $p < 0,001$ ). Для диеновых конъюгатов аналогичское увеличение составляет 87,6%. Так, ДК менялся в интервале 0,33-0,9  $E_{233}/мл$ , получили среднее значение  $0,75 \pm 0,018$   $E_{233}/мл$ . Степень достоверности  $p < 0,001$ . После курса лечения также были определены NO, нитрогрозин, карбонилированные белки, МДА и ДК. Активность фермента СОД показала, что значения данного параметра меняясь в интервале

0,27-1,07 МЕ/мг, получило среднее значение  $0,628 \pm 0,03$  МЕ/мг. Наблюдается снижение значение данного параметра по сравнению с контрольной группой на 33,1%. Степень достоверности  $p < 0,001$ .

Таблица 9

Показатели САОЗ и биомаркеры оксидативного стресса  
в терминальной группе ХПН до- и после лечения

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до лечения n=45	после лечения n=39
НО, нмоль/л	$12,6 \pm 0,9$	$48,1 \pm 0,9^*$	$23,1 \pm 1,2^*$
Нитротирозин, мкмоль/л	$0,7 \pm 0,03$	$88,7 \pm 1,7^*$	$41,2 \pm 3,4^*$
Карбонилированные белки, 270 нм.	$79,8 \pm 2,4$	$192,1 \pm 1,9^*$	$102,1 \pm 1,8^*$
Карбонилированные белки, 363 нм.	$101,3 \pm 1,3$	$214,5 \pm 2,5^*$	$114,6 \pm 1,5^*$
МДА, нмоль/л	$2,85 \pm 0,11$	$7,91 \pm 0,26^*$ (4,9 – 12,2)	$6,38 \pm 0,19^*$ (4,4 – 8,4)
ДК, E <sub>233</sub> /мл	$0,38 \pm 0,015$	$0,75 \pm 0,018^*$ (0,33 – 0,9)	$0,66 \pm 0,17^*$ (0,41 – 0,83)
СОД, МЕ/мг	$0,94 \pm 0,03$	$0,63 \pm 0,03^*$ (0,27 – 1,07)*	$0,784 \pm 0,21^*$ (0,52 – 0,98)
ГП, мкм/мин/г	$279,4 \pm 5,66$	$211,22 \pm 5,47^*$ (166 – 274)	$203,48 \pm 5,46^{**}$ (159 – 272)
ГSH, мкмоль/мл	$0,55 \pm 0,02$	$0,405 \pm 0,021^*$ (0,25 – 0,78)	$0,47 \pm 0,02^{**}$ (0,31 – 0,79)
Церулоплазмин, мг%	$28,64 \pm 0,38$	$15,18 \pm 0,48^*$ (11 – 22)	$16,85 \pm 0,83^{**}$ (9 – 27)
Тиольный статус плазмы крови	$502,7 \pm 13,1$	$218,7 \pm 11,3^*$ (182,5-301,5)	$418 \pm 12,1$ (506,2 – 304,4)

Примечание: \* $p < 0,001$ .

Для глутатионпероксидазы наблюдается снижение активности. Так, для группы сравнения данное значение составило  $279,4 \pm 5,66$  мкм/мин/г, в терминальной группе до гемодиализа значение этого параметра было  $211,22 \pm 5,47$  мкм/мин/г. Минимальное значение этого

параметра было 166 мкм/мин/г., максимальное значение 274 мкм/мин/г. Наблюдается снижение активности данного фермента на 24,4% ( $p < 0,001$ ). Для восстановленного глутатиона динамика изменения следующая: интервал колебания  $0,404 \pm 0,021$  мкмоль/мл, 1,3 раза снижение по сравнению с контрольной группой, степень достоверности  $p < 0,001$ .

Снижение для белка церулоплазмينا более значимее. Полученное минимальное значение этого параметра было 11 мг%, максимальное значение 22 мг%. Среднее значение было  $15,4 \pm 0,48$  мг%, это на 45% ниже контрольной группы. Динамика изменения количества изменения иммуноглобулинов не поднимается определенной закономерности. Например, в количестве IgA и IgM наблюдается повышение, а в количестве IgG снижение.

### **Иммунологические показатели в терминальной группе до- и после гемодиализа**

Значение иммунологических показателей показаны в таблице 10.

Для IgM среднее значение было  $2,11 \pm 0,038$  мг/мл, интервал изменения 1,76-2,72 мг/мл, что по сравнению возросло 20,2% ( $p < 0,001$ ). Для IgA также наблюдается схожая динамика изменения. Для данного показателя минимальное значение составило 2 г/л, максимальное значение 2,71 г/л, среднее значение  $2,25 \pm 0,029$  г/л. По сравнению с контрольной группой это выше на 3% ( $p < 0,001$ ). Для IgG наблюдается наоборот снижение. Для этой группы больных минимальное значение составило 11,2 г/л, максимальное значение 18,2 г/л, среднее значение  $14,48 \pm 0,33$  г/л, что ниже контрольной группы на 1,1% ( $p > 0,05$ ). На фоне усиления ПОЛ для этой группы больных наблюдается резкое увеличение ЦИК. Минимальное значение 54,5 мг/мл, максимальное значение составило 79 мг/мл, среднее значение составило  $65,91 \pm 0,95$  мг/мл, что по сравнению с контрольной группой выше на 57,5% ( $p < 0,001$ ).

После гемодиализа были получены следующие значения: для глутатионпероксидазы: минимальное значение было 159 мкм/мин/г; максимальное значение 272 мкм/мин/г; среднее значение составило –  $203,487 \pm 5,46$  мкм/мин/г. Сравнительный анализ с соответствующим показателем контрольной группы показал снижение данного параметра на 3,7% ( $p < 0,001$ ). Для восстановленного глутатиона получены

следующие значение: минимальное значение в группе 0,31 мкмоль/л; максимальное значение 0,79 мкмоль/л, среднее значение составило  $0,467 \pm 0,021$  мкмоль/л, в сравнении с контрольной группой до лечения увеличения до 15,5%. Степень достоверности  $p < 0,05$ .

Таблица 10

*Иммунные показатели в терминальной группе до- и после гемодиализа*

Показатели	Контрольная группа n=20	Больные	
		до гемодиализа n=45	после гемодиализа n=39
IgM, мг/л	$1,76 \pm 0,01$	$2,11 \pm 0,04^*$ (1,76 – 2,72)	$2,034 \pm 0,23^{***}$ (1,81 – 2,27)
IgA, мг/мл	$2,19 \pm 0,01$	$2,26 \pm 0,03^{**}$ (2 – 2,71)	$2,15 \pm 0,02^{**}$ (1,92 – 2,41)
IgG, мг/мл	$14,65 \pm 0,28$	$14,48 \pm 0,33^{**}$ (11,2 – 18,2)	$14,71 \pm 0,36^{***}$ (11,2 – 18,7)
ЦИК, мг/мл	$43,75 \pm 0,51$	$68,91 \pm 0,95^*$ (54,5 – 79)	$65,68 \pm 2,27^{***}$ (34 – 92)
ФА, %	$91,15 \pm 0,83$	$69,26 \pm 1,38^*$ (54 – 89)	$74,59 \pm 1,37^{**}$ (58 – 89)
Высокоавидные иммуноглобулины, %	$89,05 \pm 1,17$ (81 – 95)	$18,4 \pm 1,03^*$ (8,3 – 28,5)	$36,78 \pm 2,31^*$ (22 – 50)
Низкоавидные иммуноглобулины, %	$10,94 \pm 1,17$ (5 – 19)	$81,6 \pm 1,03^*$ (75 – 88)	$63,21 \pm 2,31^*$ (50 – 78)

Примечание: \* $p < 0,001$ ; \*\* $p < 0,05$ .

Количественное изменение церулоплазмينا значительно. Среднее значение для данного показателя  $16,84 \pm 0,83$  мг%, минимальное значение 9 мг%, максимальное значение 27 мг%. Полученные результаты показывают снижение на 39,5%, а с группой до лечения увеличение на 11% ( $p < 0,001$ ).

Изменения показателей иммунного статуса по сравнению с биохимическими параметрами и показателями ПОЛ и САОЗ более значительное. Для IgM среднее значение  $2,034 \pm 0,023$  мг/мл, минимальное значение 1,81 мг/мл, максимальное значение 2,27 мг/мл. Сравнение полученного значения с контрольной группой показывает возрастание на 15,5%, с группой до лечения снижение на 3,8%. Для IgA 39 больных терминальной группы после лечения полученное среднее значение  $2,15 \pm 0,02$  г/л, минимальное значение 1,92 г/л, максимальное значение 2,41 г/л. Полученный результат показывает возрастание данного параметра на 2% и снижение после гемодиализа на 4,8% ( $p > 0,05$ ). Для главного иммуноглобулина IgG наблюдается приблизительно такая же динамика изменения. Так, минимальное значение 11,2 г/л, максимальное значение 18,7 г/л, среднее значение  $14,71 \pm 0,361$  г/л. Данный показатель по сравнению с контрольной группой выше 0,4%, с группой до лечения выше на 1,5% ( $p > 0,05$ ).

### **Биохимические и иммунологические показатели в группах больных атопическим дерматитом различной степени тяжести**

С целью выяснения влияния изменений, происходящих в липидном обмене под действием окислительного стресса были проанализированы в плазме крови. Метаболиты арахидоновой кислоты и иммунологические показатели (таблица 11).

Все больные атопическим дерматитом были подразделены на 3 группы: I группа – легкая степень тяжести, II группа – средняя тяжелая степень тяжести и III группа – тяжелая форма атопического дерматита.

Метаболиты арахидоновой кислоты (ПГ, ЛТ), образующиеся в результате окислительных реакций при участии циклооксигеназы и липооксигеназы непосредственно стимулируют образования АФК. По данной причине были определены 6 параметров из метаболитов арахидоновой кислоты и авидность иммуноглобулинов.

Во всех группах авидность иммуноглобулинов была определена так до лечения, после традиционного лечения и после применения иммунофана. Если рассмотреть контрольную группу, то количество высокоавидных антител составляет 95%, низкоавидные антитела 5%, в I группе больных данный показатель до лечения 61%, после лечения 47%. Во II группе количество низкоавидных антител до лечения 72%, после лечения 65%, после применения иммунофана 20%. В

III группе больных высокоавидные иммуноглобулины до лечения 18%, после традиционного лечения 29%, после применения иммунофана данный показатель увеличился до 73%.

Таблица 11

*Метаболиты арахидоновой кислоты в группе больных atopическим дерматитом легкой-, средней- и тяжелой степени до- и после лечения*

Показатели	Контрольная группа n=10	Больный легкой тяжелой степени, n=17	
		до лечения	после традиционного лечения
ЛТС <sub>4</sub> , пг/мл	2320,2 ± 41,37 (12108 – 2442)	4175, 13 ± 39,05 (3921 – 4265)	2979, 8 ± 43,56 (2871 – 3133)
ЛТВ <sub>4</sub> , пг/мл	1170,2 ± 35,69 (1021 – 1352)	2609 ± 55,35 (2403 – 2841)	1774,8 ± 50,50 (1617 – 1911)
ТхВ <sub>2</sub> , пг/мл	417,9 ± 7,96 ( 382 – 452)	1075,63 ± 47,28 (921 – 1311)	545,2 ± 9,73 (513 – 571)
6кPQ, пг/мл	97,4 ± 3,87 (82 – 121)	138,62 ± 2,80 (127 – 151)	141,6 ± 3,20 (132 – 150)
PQ <sub>20α</sub> , пг/мл	536,1 ± 5,44 (492 – 561)	527 ± 9,31 (492 – 555)	505,2 ± 28,16 (421 – 598)
PQE <sub>2</sub> , пг/мл	668,7 ± 9,17 (607 – 701)	665 ± 5,38 (642 – 691)	586,2 ± 23,08 (521 – 662)
Показатели	Контрольная группа n=10	Больный средней тяжелой степени, n=21	
		до лечения	после традиционного лечения
ЛТС <sub>4</sub> , пг/мл	2320,2 ± 41,37 (12108 – 2442)	3959,13 ± 85,26 (3421 – 4121)	3803,6 ± 102,85 (3412 – 4010)
ЛТВ <sub>4</sub> , пг/мл	1170,2 ± 35,69 (1021 – 1352)	2768,63 ± 28,32 (2633 – 2837)	1742,4 ± 127,42 (1403 – 2093)
ТхВ <sub>2</sub> , пг/мл	417,9 ± 7,96 ( 382 – 452)	1431,8 ± 2295 (1301 – 1501)	686 ± 19,00 (618 – 721)

### **Исследование белковых фракций плазмы крови электрофоретическим методом у больных сахарным диабетом и хронической почечной недостаточностью**

С целью исследования количественного изменения альбуминов и глобулиновых фракций при сахарном диабете и хронической почечной недостаточности в биохимической лаборатории имени Фкрета Бияла Медицинского факультета "Сеграх Раза" Стамбульского Университета были приведены исследовательские работы.

Исследования проводились плазмой крови 38 больных сахарным диабетом и 24 больных хронической почечной недостаточностью. Возраст больных СД было в интервале 16-70 лет, продолжительность болезни от 2-х месяцев до 30 лет. Тип I сахарного диабета было у 6-ти, тип II было у 32 больных. На рисунке изображена протеинограммы для больных СД и ХПН.

На протеинограмме 7,14,15,20,21,24 соответственно плазме крови ХПН. Денситометрические вычисления показали, что при ХПН количество альбуминов снижается на 14% и 47% значительное повышение количества глобулиновой фракции. Таким образом, на основе протеинограмм можно отметить, что при ХПН происходит снижение количества альбуминов, повышение  $\gamma$ -глобулинов, но количественное увеличение модифицированных глобулинов не приводит к повышению авидности.

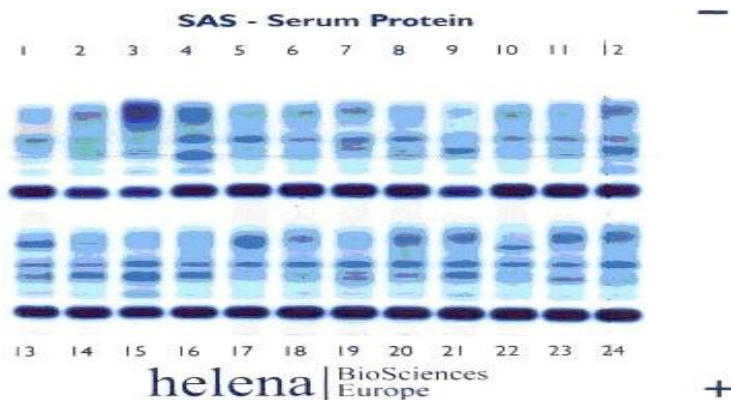


Рис. Протеинограммы контрольной группы и больных сахарным диабетом и ХПН.

## ВЫВОДЫ

1. В результате проведенных исследований установлено, что на стадии компенсации при сахарном диабете в плазме крови количество карбонилированных белков увеличивается на 45%, NO – на 47%, также наблюдается резкое увеличение нитротирозинов, компоненты САОЗ, в том числе тиольный статус плазмы крови снижается на 10%, а на стадии суб- и декомпенсации соответственно



тиоловый статус снижается на 40,1% и 50,2%, количество карбонилированных белков увеличивается на 75,8% и 116%, NO – на 73% и 214% и на этом фоне наблюдается снижение avidности антител на 35,4% и 71,1%, увеличение низкоавидных антител на 3185% и 63,53%, соответственно.

2. Впервые выявлено, что при сахарном диабете avidность иммуноглобулинов непосредственно связана с интенсивностью ОМБ и ПОЛ. Так, на фоне возрастания NO, нитротирозинов, МДА, ДК и КБ происходит снижение avidности антител, что объясняется модификацией некоторых аминокислот под действием ОС и нарушением фолдинга белков.
3. По результатам исследования на консервативной и терминальной стадиях ХПН под действием ОС общий тиоловый статус крови снижается, соответственно, на 40,7% и 61,2% и возрастание карбонилированных белков на 59,5% и 153,2%, NO – на 39% и 281% соответственно.
4. Установлено, что на консервативной стадии ХПН снижается количество высокоавидных антител на 52%, а на терминальной стадии – 79 %. После курса лечения данный показатель на консервативной стадии возрастает на 60%, а на терминальной стадии на 43%
5. Впервые установлено, что при атопическом дерматите происходит резкое увеличение количества лейкотриена С<sub>4</sub> (ЛТС<sub>4</sub>), лейкотриена В<sub>4</sub> (ЛТВ<sub>4</sub>) и простагландинов и снижение (72%) avidности антител.
6. В результате комплексного изучения иммуносупрессорного действия биохимических изменений, связанных с оксидативным стрессом на фоне нарушений белкового, углеводного и липидного обмена, установлено, что оксидативный стресс влияет на функционирование В-системы иммунитета, в частности, влияя на фолдинг антител, снижает их протективную функцию.
7. Последовательность процессов "аминокислотная последовательность белков → окислительная модификация радикалов → нарушение фолдинга белков → снижение avidности" происходящих под действием ОС может считаться одной из причин иммунной недостаточности.
8. Был проведен количественный анализ различных белковых фракций плазмы крови и электрофоретическим методом показана целе-

сообразность применения данного метода с диагностической целью.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При лечебно-профилактических мерах, проводимых при различных метаболических нарушениях нужно учесть влияние окислительного стресса на возникновение вторичной иммунной недостаточности.
2. Добавление иммуномодуляторов антиоксидантной природы к традиционному курсу лечения создает предпосылку для повышения протективной функции В-системы иммунитета.
3. Наличие сильной корреляционной связи между авидностью антител и маркерами ОС, указывает на высокое диагностическое и прогностическое значение данного показателя и делает необходимым его применение в медицинской практике ( $r = \pm 0,89-0,9$ ).
4. Полученные результаты открывают широкие возможности для лечения и профилактики ВИН, возникаемых при метаболических нарушениях и данные результаты могут быть применены в составлении учебников, монографий и учебных пособий.

### ***Список научных трудов, опубликованных по теме диссертации***

1. Фосфорно-кальциевый обмен у больных хронической почечной недостаточностью, осложненной остеопорозом и его гормональная регуляция // Azərbaycan Əczaçılıq Jurnalı, 2005, cild V, № 1, s. 45-49. Соавторы: Эфендиев А.М.
2. İgG-nin funksional aktivliyinin struktur xüsusiyyətlərindən asılılığı // Azərbaycan Tibb Jurnalı, № 2, 2006, s. 126-130. Həmmüəllif: Əfəndiyev A.M.
3. Пространственная структура и функциональная активность иммуноглобулинов // Azərbaycan Metabolizm Jurnalı, № 2, cild 7, 2006, s. 3-10. Соавторы: Гасанова Ш.И.
4. Снижение защитной функции В-системы иммунитета при ХПН / Конференция посвящ. памяти акад. Ю.А.Овчинникова, Москва-Пушино, 25-27 октября 2006, с. 109. Соавторы: Эфендиев А.М.
5. Роль метаболических изменений в патогенезе вторичных иммунодефицитных состояний / Т.Əliyevin anadan olmasının 85 illiyinə

- həsr olunmuş elmi konfransın materialları. Bakı, 2006, с. 209-210. Соавторы: Гасанова Ш.И., Гаджиев А.Г.
6. Метаболические изменения и иммунитет при ХПН / Odlar Yurdu Universitetinin elmi və pedaqoji xəbərləri (fizika, riyaziyyat, texnika və təbiət elmləri seriyası). Bakı, 2006, № 17, s. 33-36.
  7. Биохимико-иммунологические исследования крови больных хронической почечной недостаточностью // «Биомедицина», № 2, 2007, с. 19-22. Соавторы: Кулиева Ф.Э., Эфендиев А.М.
  8. Взаимодействие иммуноглобулина с рецептором // Sağlamlıq, 2007, № 5. s. 164-166.
  9. Метаболическая супрессия протективной функции В-системы иммунитета при хронической почечной недостаточности / Ə. Əliyevın anadan olmasının 110 illiyinə həsr olunmuş elmi konfransın materialları. Bakı, 2007, с. 195-197. Соавторы: Эфендиев А.М., Кулиева Ф.Е.
  10. Metabolik dəyişikliklərin immunoglobulinin aktivliyinə təsiri // Azərbaycan Respub. Səhiyyə Nazirliyi. V.Axundov adına Milli Elmi-Tədqiqat Tibbi Problemlər İnstitutunun elmi əsərləri. 2007, I cild, Bakı, s. 447. Həmmüəlliflər: Əzimova Z.Y., Ələkbərzadə Ş.İ., Mustafayeva B.B.
  11. Метаболическая супрессия иммунитета у больных при хронической почечной недостаточности // Azərbaycan Tibb Jurnalı, 2007, № 4, s. 68-71. Соавторы: Кулиев М.Р., Еюбова А.А., Рагимова Р.Р., Джафаров Р.Х.
  12. Biokimyəvi və immun göstəriciləri arasındakı əlaqənin öyrənilməsi / H.İsazadənin anadan olmasının 95 illiyinə həsr olunmuş konfransın materialları. Bakı, 2007, s. 131-133. Həmmüəllif: Quliyeva F.E.
  13. Свободнорадикальные перекисные процессы и уровень церулоплазмينا в плазме крови при ХПН // Fiziologiya və biokimyənin problemləri. 2007, cild XXV, s.101-108. Соавторы: Эфендиев А.М., Кулиева Ф.Э.
  14. İmmunomodulyatorların xronik böyrək çatışmazlığı olan xəstələrdə biokimyəvi və immunoloji göstəriciləri və təsirinə öyrənilməsi // Azərbaycan Əczaçılıq və Farmakoterapiya jurnalı, 2007, № 2, s. 23-27. Həmmüəlliflər: Bağırova S.A., Niyazova N.K., Əfəndiyev A.M.
  15. Atopik dermatit zamanı araxidon turşusu metabolitləri və immunoloji göstəriciləri öyrənilməsi // Azərbaycan Əczaçılıq və Farmakoterapiya jurnalı. Bakı, 2008, № 1, cild. VIII, s. 33-37.

16. Изучение влияния оксидативного стресса на некоторые иммунологические показатели у больных хронической почечной недостаточностью / XIII Междунар. конгресс по реаб. и иммунореаб. Всемирн. форум по астме. Дубай, ОАЭ, 26-29 апреля 2008, Аллергология и иммунология, том 9, № 1, с. 89. Соавторы: Азимова З.Я., Вагабова Г.Р., Кулиева Ф.Э., Исмаилова М.С.
17. Авидность антител и некоторые иммунные показатели у больных сахарным диабетом типа 2 / Fiziologiya и biokimyayın problemləri. XXVI cild. Bakı, 2008, s. 207-212.
18. Исследование оксидант-антиоксидантного статуса и некоторых иммунологических показателей у больных сахарным диабетом типа II / XIII Междунар. конгресс по реабил. и иммунореабил. Всемирный форум по астме. Дубай, ОАЭ, 26-29 апреля 2008, Аллергология и иммунология, том 9, № 1, с. 128. Соавторы: Гусейнова Г.Р., Гаджиев А.Г., Алекперзаде Ш.И., Мустафаева Б.Б.
19. Изучение avidности антител и некоторых иммунных показателей у больных сахарным диабетом // Междунар. конф. физиол. и патология иммунной сист. IV Междунар. конф. по иммунотерапии, Москва, Дубай, ОАЭ, 15-17 сентября 2008, Аллергология и иммунология, том 9, № 3, с.337-338. Соавторы: Багирова З.Г., Гасанова Ш.И., Гусейнова Г.Р. Дадашова А.Р.
20. İmmunoFAn preparatının şəkərli diabet xəstələrində иммуноглобулинын avidliyinə təsirinin öyrənilməsi // Azərbaycan Əczaçılıq və Farmakoterapiya Jurnalı. № 2, 2008 s. 37-41. Nəmmüəlliflər: Bağırova S.A., Eyyubova A.Z., Hüseynova G.R.
21. Метаболиты арахидоновой кислоты и некоторые иммунологические показатели при атопическом дерматите // Azərbaycan Tibb Jurnalı, 2008, № 4, s. 67-70. Соавторы: Дадашова А.Р., Багирова З.Г., Сулейманов С.Дж.
22. Исследование белковых фракций плазмы крови при различных формах сахарного диабета электрофоретическим методом // Azərbaycan Metabolizm Jurnalı, iyul-sentyabr 2008, cild 9, № 3, s. 36-41. Соавторы: Гусейнова Г.Р., Гаджиев А.Г.
23. Метаболическая супрессия иммунологических показателей у больных хронической почечной недостаточностью // Экспериментальная и клиническая медицина, Тбилиси, 2008, № 4 с. 26-29. Соавторы: Кулиева Ф.Э., Эфендиев А.М.

24. Биохимические основы осложнений при сахарном диабете // «Sağlamlıq». Elmi-praktik jurnal. Bakı, 2008, № 9, s. 173-177. Соавторы: Гусейнова Г.Р., Мустафаева Б.Б.
25. Количественное изменение белковых фракций плазмы крови при различных метаболических нарушениях / Известия НАН Азербайджана (биол. науки). Баку, 2008, т. 63, с. 201-207. Соавтор: Эфендиев А.М.
26. İmmün Poказатели in metabolik supressiyası / Z.Zeynalovanın anadan olmasının 75 illiyinə həsr olunmuş elmi konfransın materialları. Bakı, 2008, s. 23. Nəmmüəlliflər: Nəşənova Ş.İ., Abdurəhmanova M.A.
27. Исследование белковых фракций плазмы при различных метаболических нарушениях / XIV Междунар. конгр. по реабилит. в медицине иммунореабилит. Всемирный форум педиатров. Дубай, ОАЭ, 6-9 февраля 2009, Аллергология и иммунология, том 10, № 1, с.135. Соавторы: Вагабова Г.Р., Дадашева А.Р., Багирова С.А., Мустафаева Б.Б., Кулиева Ф.Э., Абдуллаева Э.Э.
28. II tip şəkərli diabet zamanı immunoqlobulinəm və bəzi sitokinlərin tədqiqi / AMEA-nın xəbərləri. (biol. elmləri). 2009, cild 64, № 3-4, s.140-144. Nəmmüəllif: Hüseynova G.R.
29. Уровень восстановленного глутатиона и некоторые иммунные показатели при ХПН / ATU-nun insan anatomiyası kafedrasının 90 illik yubileyinə həsr olunmuş Beynəlxalq konfransın elmi məqalələr toplusu. Bakı, 2009, с. 72. Соавторы: Кулиева С.Р., Потапенко П.А.
30. Изучение метаболитов арахидоновой кислоты и иммунных параметров при atopическим дерматите // Журнал научных публикаций аспирантов и докторантов. № 5, Май 2009, Курск, С. 146-148. Соавторы: Гасанова Ш.И., Эфендиев А.М.
31. Супрессия иммунологических показателей у больных с хронической почечной недостаточностью метаболитами окислительного стресса // Azərbaycan təbabətinin müasir nailiyyətləri. Bakı, № 2, 2009, s. 48-52. Соавторы: Вагабова Г.Р., Багирова С.А.
32. Quantitative changes in serum IL-8, TNF $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1 levels depending on compensation stage in type 2 diabetic patients // International Journal of Diabetes and Metabolism, UAE. 2009, Vol. 17: N.2; 59-62. Соавторы: Huseynova G.R., Efendiyev A.M.
33. Взаимосвязь биохимических показателей и avidности антител у больных сахарным диабетом типа 2 // Бюллетень Сибирской ме-

- дицины, т. 8, № 3, 2009. с. 74-79. Соавторы: Эфендиев А.М., Гусейнова Г.Р.
34. Количественное изменение белковых фракций плазмы крови при сахарном диабете и ХПН // Медицинский курьер, Кишинев, № 6, 2009, с. 312-315. Соавторы: Мамедгасанов Р.М., Вагабова Г.Р., Мустафаева Б.Б., Эфендиев А.М.
  35. Change of antibody avidity depending on hyperglycemia level in type 2 diabetic patients in Azerbaijan Republic // Diabetes and Metabolic Syndrome: clinical research and reviews (Official Journal of Diabetes India), Elsevier Ltd. 2009, v. 3, p. 76-78. Соавторы: Huseynova G.R., Efendiyev A.M.
  36. Изучение взаимосвязи между процессами ПОЛ, состоянием АОЗ и основными иммунологическими показателями при хронической почечной недостаточности // Биомедицинская химия, Москва, том.55, № 6, 2009, с.779-783. Соавтор: Эфендиев А.М.
  37. Изучение некоторых цитокинов и иммунных параметров при хронической почечной недостаточности // Цитокины и воспаление. Санкт-Петербург, 2009, Т. 8, № 4, с. 46-49. Соавторы: Рагимова Р.Р., Эфендиев А.М.
  38. Изучение взаимосвязи между процессами ПОЛ, состоянием АОЗ и основными иммунологическими показателями при некоторых метаболических нарушениях обмена веществ // Ведомости медицины, фармации, Санкт-Петербург, февраль 2009, 02, с. 11-15. Соавторы: Абдурахманова М.А., Эфендиев А.М.
  39. Метаболическая супрессия иммунных параметров при различных нарушениях // Azərbaycan təbabətinin müasir nailiyyətləri. Bakı, 2010, № 1, s. 47-52. Соавторы: Алекперзаде Ш.И., Кулиева С.Р., Мамедгасанов Р.М.
  40. Биохимико-иммунологические аспекты хронической почечной недостаточности // Azərbaycan Tibb Jurnalı, 2010, № 1, с. 109-114. Соавторы: Рагимова Р.Р., Эфендиев А.М.
  41. Atopik dermatit zamanı immunoqlobulinin avidliyinin öyrənilməsi / ATU-nun 80 illik yubileyinə həsr olunmuş Beynəlxalq elmi konfransın materialları. Bakı, 2010, s. 20-21
  42. Диагностическое значение протеинограм при различных метаболических нарушениях // ATU-nun 80 illik yubileyinə həsr olunmuş Beynəlxalq elmi konfransın materialları. Bakı, 2010, с. 434.
  43. Изучение состояния перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при хронической почечной недостаточности //

- Медицинский курьер, Кишинев, № 3 (315), 2010, с. 190-192.  
Соавторы: Кулиева Ф.Э., Эфендиев А.М.
44. Изучение взаимосвязи между биохимическими показателями и авидностью антител у больных сахарным диабетом типа 2 // Инфекция, иммунитет и фармакология, Ташкент, 2010, № 3-4, с. 98-101. Соавторы: Гусейнова Г.Р., Далимова Д.Ф., Мухаммедов Р.С.
  45. Antibody avidity in patients with different stages of type 2 diabetes mellitus in Azerbaijan Republic // International Journal of Diabetes in Pubmed. India. Developing Countries. 2010, vol. 30, N. 3, p. 160-165. Соавторы: Huseynova G.R., Efendiyeв A.M., Memmedhesenov R.M
  46. Activities of antioxidant-redox enzymes and intensively of ЛПО/ XIV Tabriz International Medical Sciences Congress, Tabriz, 12-14 May, 2011, p. 94. Соавторы: Efendiyeв A.M., Dadashova A.R.
  47. Изучение маркеров оксидативного стресса / XIX Российской Национальный конгресс «Человек и лекарство», 23-24 апреля 2012, Москва, с. 245 Соавторы: Дадашова А.Р., Эфендиев А.М.
  48. Effect of oxidative stres on immunological parameters in type 2 diabetes mellitus in the Azerbaijan Republic // Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 2012, Vol 6, Issue 4, p. 181-228. Соавтор: Yaveri A.
  49. Взаимосвязь между интенсивности ПОЛ и секреции антимикробного пептида дефензина / II Росс. Конгресс с Междунар. участием «Молекул. основы клинич. мед. – возможное и реальное». Санкт-Петербург, июнь 2012, с. 148. Соавторы: Эфендиев А.М., Дадашова А.Р., Гусейнова Г.Р.
  50. Влияние оксидативного стресса на иммунные параметры при хронической почечной недостаточности // “Sağlamlıq” Elmi-praktik jurnal, 2014, № 2, s. 53-54. Соавторы: Гасанова Ш.И., Ниязова Н.К., Алекперзаде Ш.И.
  51. Биомаркеры оксидативного стресса и состояние антиоксидантной системы при сахарном диабете типа 2 / Электронный Научный журнал Universum: Медицина и фармакология (7 universum.com). 2014, № 6, с. Соавторы: Дадашова А.Р., Амирова М.Ф.

**ВЛИЯНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ, СВЯЗАННЫХ  
С ОКСИДАТИВНЫМ СТРЕССОМ НА ФОЛДИНГ БЕЛКОВ**

**РЕЗЮМЕ**

Оксидативный стресс является одним из решающих факторов возникновения и развития многих патологических процессов и заболеваний. В результате окислительной модификации активных макромолекул усиливаются катаболические процессы, что в конечном итоге приводит к формированию патологического процесса. В литературе имеются многочисленные данные относительно ПОЛ, однако в области окислительной модификации белков (ОМБ) имеются много нерешенных проблем. Данная исследовательская работа посвящена изучению влияния окислительной модификации белков на нарушение фолдинга и как результат, активности белков.

В качестве объекта исследования была выбрана группа больных сахарным диабетом, хронической почечной недостаточностью и атопическим дерматитом. В зависимости от уровня гипергликемии и гликозилированного гемоглобина все больные (92 чел.) СД были подразделены на 3 группы: стадия компенсации, субкомпенсации и декомпенсации. У всех больных были определены гематологические, биохимические и иммунологические показатели, а также биомаркеры оксидативного стресса – NO, нитротирозина, карбоксилированные белки. Из иммунологических показателей как критерий активности был определен avidность белков. В результате проведенных исследований было установлено, что на стадии компенсации происходит увеличение NO и карбоксилированных белков соответственно на 44 и на 45%, наоборот снижение тиолового статуса на 10%. На фоне усиления оксидативного стресса происходит снижение avidности антител, так как количество высокоавидных антител снижается на 35,4 %, низкоавидных антител возрастает на 31,8%. На стадии субкомпенсации тиоловый статус плазмы крови снижается на 40,1%, уровень NO возрастает на 73%. На стадии декомпенсации в результате окислительной модификации происходит снижение avidности антител на 71,1%, а количество низкоавидных возрастает на 63,5%.



Второй группой исследования были больные ХПН. В зависимости от уровня креатинина и мочевины в крови все больные были подразделены на 2 группы – консервативная, терминальная.

В результате проведенных исследований было установлено, что на консервативной и терминальной стадии ХПН тиоловый статус снижается на 40,7% и 61,2% соответственно.

Количество карбонилированных белков увеличивается на 59,5% и 153,2%, а количество NO на 39% и 281%. На фоне усиления оксидативного стресса наблюдается снижение количество высокоавидных антител на 52% на консервативной и на 79% на терминальной стадии заболевания.

В третью группу входили больные атопическим дерматитом. В данной группе было исследовано количество метаболитов окисления арахидоновой кислоты – лейкотриенов и простагландинов. На фоне увеличения количество данных веществ наблюдается снижение авидности на 88%. Кроме этого, проведен электрофорез белковых фракций плазмы крови больных сахарным диабетом и ХПН с целью количественной оценки отдельных фракций. Таким образом, на основании полученных данных по окислительным биомаркерам и авидности антител можно предположить о логической последовательности процессов – окислительная модификация белков → нарушение фолдинга → снижение активности белков – авидности антител.

## **AZIZOVA GULNARA İBRAHİM**

### **THE IMPACT OF BIOCHEMICAL CHANGES ASSOCIATED WITH OXIDATIVE STRESS ON FOLDING OF PROTEIN**

#### **SUMMARY**

Oxidative stress is one of the decisive factors in the emergence and development of many pathological processes and diseases. As a result of the oxidative modification of active macromolecules, catabolic processes are amplified which ultimately leads to the formation of the pathological process. There are vast amount of data on lipid peroxidation in the literature, however, there are still many unsolved problems in the area of oxidative modification of proteins (MBP). This research aims to study the influence of oxidative modification of proteins on the violation of folding and consequently, on the activity of proteins.

The investigation was conducted with the group of patients with diabetes, chronic renal failure and atopic dermatitis. All diabetic patients (92 people) were divided into 3 groups based on the level of hyperglycaemia and glycated hemoglobin: the stage of compensation, subcompensation and decompensation. All patients were identified having hematological, biochemical and immunological parameters, as well as biomarkers of oxidative stress, NO, nitrotyrosine, carboxylated proteins. According to immunological parameters, the avidity of proteins was determined as a criterion of the activity. As a result of studies, it was found that at the compensation stage NO and carboxylated proteins increases by 44% and 45% respectively. On the other hand, the thiol status decreases by 10%. During the increase of oxidative stress we witness the decrease of avidity antibodies as the amount of high avidity antibodies diminishes by 35,4% and the amount of low avidity antibodies increases by 31,8%. At stage of subcompensation blood plasma thiol status decreases by 40.1% and the level of NO increases by 73%. At the decompensation stage as a result of oxidative modification antibody avidity reduces by 71,1.3%, whereas the amount of low avidity antibodies increases by 63,5%.

A second group of investigation were the patients with chronic renal failure (CRF). Depending on the level of creatinine and urea in the blood all patients were divided into 2 groups: conservative and terminal.

Studies showed that at the conservative and terminal stages of CRF, thiol status reduces by 40.7% and 61.2% respectively.

The amount of carbonylated proteins increases by 59,5% and 153.2%. On the other hand, the amount of NO increases by 39% and 281%. In the process of an increase of oxidative stress the amount of high-avidity antibodies decreases by 52% at the conservative stage of disease and 75% at the terminal stage of the disease.

The third group consisted of patients with atopic dermatitis. The experiment investigated the amount of metabolites of arachidonic acid oxidation of leukotrienes and prostaglandins within this group. With the increase of above mentioned substances the avidity decreases by 72%. Apart from this, electrophoresis of protein fractions of blood plasma of patients with diabetes and CRF is conducted to quantify the individual fractions. Thus, on the basis of the data obtained on oxidative biomarkers and avidity antibodies the logical sequence of processes can be assumed as follows: oxidative modification of protein, folding violation, reduced protein activity – avidity antibodies.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	– атопический дерматит
CAO3	– система антиоксидатной защиты
ASK 1	– Apoptosis Signal-Regulation Kinase-1
ЦИК	– циркулирующие иммунные комплексы
ДК	– диеновые конъюгаты
СОЭ	– скорость осаднения эритроцитов
ERK	– Extracellular Signal- Regulating Kinase
ФА	– фагоцитарная активность
Нб	– гемоглобин
ХПН	– хроническая почечная недостаточность
IL-1	– интерлейкин-1
ВИН	– вторичная иммунная недостаточность
IgA	– иммуноглобулин А
IgM	– иммуноглобулин М
IgG	– иммуноглобулин G
IgE	– иммуноглобулин E
КБ	– карбонилированные белки
Кат	– каталаза
ГП	– глутатион-пероксидаза
GSH	– восстановленный глутатион
ЛТ	– лейкотриен
МДА	– малоновый диальдегид
МГ	– макроглобулин
NO	– оксид азота
ОС	– оксидативный стресс
АФК	– активные формы кислорода
РГ	– простагландин
ЦВ	– цветной показатель
СОД	– супероксиддисмутаза
Cys	– остатки цистеина
ОМБ	– окислительная модификация белков
СД	– сахарный диабет
Ш-70	– шаперон
ФНО	– фактор некроза
ТС	– тиоловый статус





Kağız formatı 60x84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Sifariş 614 Tiraj 100.

---

Azərbaycan Tibb Universitetinin  
mətbəəsində çap edilmişdir.

Tel.: 595-55-76

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI  
SƏHIYYƏ NAZİRLİYİ

AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ

*Əlyazması hüququnda*

**GÜLNARƏ İBRAHİM QIZI ƏZİZOVA**

**OKSİDATİV STRESLƏ ƏLAQƏDAR OLAN  
BİOKİMYƏVİ DƏYİŞİKLİKLƏRİN ZÜLAL  
FOLDINQINƏ TƏSİRİ**

2406.02 – “Biokimya”

Biologiya üzrə elmlər doktoru elmi dərəcəsi almaq üçün  
təqdim edilmiş dissertasiyanın

**A V T O R E F E R A T I**

BAKI – 2015