

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

## КАТАЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ IgA И ФЕРМЕНТОВ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ПЕРИОДОНТИТОМ

КОРОТИНА О.Л., ЖЕЛЕЗНЯК Н.В., ЖЕРУЛИК С.В., ДЕНИСЕНКО А.Г., ГЕНЕРАЛОВА А.Г.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

### Резюме.

Проведена сравнительная характеристика каталитической активности IgA и ферментов ротовой жидкости в группах пациентов с хроническим периодонтитом и здоровых лиц. Изучали следующие виды ферментативной активности: протеолитическую (амидазную, эластазную, активность катепсинов G, B и C), оксидоредуктазную (пероксидазную, каталазную), ДНКазную активность.

Установлено, что абзимная эластазная, пероксидазная и ДНКазная активность поликлональных IgA, выделенных из ротовой жидкости пациентов хроническим периодонтитом, достоверно ( $p < 0,01-0,001$ ) превышает данные виды активности группы лиц без патологии периодонта.

Ферментативная оксидоредуктазная (пероксидазная, каталазная) и протеолитическая активность (эластаза, катепсин B), а также концентрация ДНК в ротовой жидкости пациентов хроническим периодонтитом значительно ( $p < 0,001$ ) превышают уровни, установленные для группы здоровых лиц. Повышение уровня ДНК ротовой жидкости может явиться дополнительным лабораторным маркером развития хронического периодонтита.

*Ключевые слова:* ферментативная активность, ротовая жидкость, слюна, IgA, абзим, пероксидаза, каталаза, эластаза, катепсин, ДНКаз.

### Abstract.

Comparative study of catalytic activity of IgAs and enzymes of oral fluid of patients with chronic periodontitis and healthy subjects was elaborated. Proteolytic (amidase, elastase, cathepsin G, B, and C), oxidative (peroxidase, catalase) and DNase activities of oral fluids and abzymes were assessed.

It has been found that abzyme elastase, peroxidase, and DNase activities of polyclonal IgAs, isolated from oral fluids of patients with chronic periodontitis were significantly higher ( $p < 0,01-0,001$ ) in comparison with healthy group.

Enzymatic oxidative (peroxidase, catalase) and proteolytic activities (elastase, cathepsin B) as well as the levels of DNA concentration in samples of oral fluids were also substantially elevated in patients with chronic periodontal disease ( $p < 0,001$ ). The rise of DNA concentration in oral fluid may be concerned as the putatively new laboratory biomarker of progression of chronic periodontitis.

*Key words:* enzymatic activity, oral fluid, saliva, IgA, abzyme, peroxidase, catalase, elastase, cathepsin, DNase.

Хронический периодонтит (ХП) представляет собой широко распространенное инфекционно-воспалительное заболевание полимикробного генеза, при котором в процесс вовлекаются поддерживающие ткани зубов (кости альвеолы, периодонтальная связка, цемент корня зуба, прилежащие сосуды и нервные окончания). При периодонтите воспаление также повреждает участки десны, что сопровождается гингивитом. Признаки периодонтита

отмечаются более чем у 30% взрослого населения; при этом без лечения заболевание прогрессирует, вызывая атрофию тканей периодонта с потерей коллагена, резорбцией альвеолярной кости, что в итоге приводит к дестабилизации и утрате зуба. В целом прогрессирующий периодонтит является ведущей причиной утраты зубов во всех возрастных группах.

В патогенезе периодонтита ведущую роль играют инфекционные и иммуновоспа-

лительные факторы. Доказано, что ряд микроорганизмов непосредственно участвует в развитии заболевания. В первую очередь к ним относятся грамотрицательные облигатно-анаэробные возбудители *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola* совместно с которыми действуют другие анаэробные патогены – *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*; *Streptococcus constellatus*, *Eubacterium nodatum*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *F. periodonticum*, представители рода *Campylobacter* (в частности, *C. rectus*). Эти бактерии относятся к так называемому «красному» и «оранжевому» полимикробным комплексам (согласно данным S. Socransky с соавт.) В прогрессировании ХП принимают также активное участие виды *A. actinomycetemcomitans* (серотип b), *Selenomonas noxia*, *Actinomyces naeslundii* *genospecies 2* и некоторые другие.

Бактериальные возбудители, доминирующие при хроническом периодонтите, выделяют ряд токсинов и ферментов агрессии, оказывающих прямое повреждающее влияние на окружающие ткани. Их действие приводит к углублению зубодесневого кармана, рецессии десны, разрушению коллагена периодонтальной связки, деструкции кости альвеолы зуба.

Однако не меньшая роль в патогенезе ХП принадлежит ответным иммунновоспалительным реакциям. Клетки врожденного и приобретенного иммунитета (главным образом, нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки, а также Т и В лимфоциты) проникают в периодонтальный карман из поврежденных сосудов с выделением значительного количества высокоактивных провоспалительных факторов (цитокинов, окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов, свободных радикалов, дефензинов и других). Они оказывают дополнительное повреждающее действие на ткани периодонта. Основное участие в этом процессе принимают нейтрофильные лейкоциты и их ферменты (миелопероксидаза, NADPH-оксидаза, эластаза нейтрофилов, катепсины, матриксные металлопротеазы, лизоцим, лактоферрин и другие). Сравнительно недавно было показано, что эти ферменты выделяются из лейкоцитов при образовании нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) и могут длительно в них сохраняться, что усугубляет повреждение тканей [1].

Существенный вклад в развитие воспаления при ХП вносят гуморальные факторы иммунитета. К ним относятся, в первую очередь, компоненты комплемента, С-реактивный белок, фибронектин, лектины и другие. С другой стороны, основным протективным действием в отношении факторов агрессии обладают другие компоненты ротовой жидкости (в первую очередь, слюны). К ним относятся муцины и другие гликопротеины, бикарбонаты, лактоферрин. Также не подлежит сомнению важнейшая протективная функция секреторного IgA, присутствующего в слюне и десневой жидкости.

Тем не менее, появились единичные работы, посвященные собственной каталитической (или абзимной) активности поликлональных IgA слюны [2]. Авторы этих исследований заключают о большем каталитическом потенциале IgA в сравнении с IgG. Присутствие IgA с каталитической активностью в слюне может оказывать дополнительное защитное действие в отношении патогенных микроорганизмов. Тем не менее, высокоактивные ДНКазные, протеолитические и оксидоредуктазные IgA могут также стимулировать воспаление, являясь одновременно маркерами патологического процесса. До настоящего времени этот вопрос не изучался, хотя он представляет несомненную теоретическую и практическую значимость.

Диагностика периодонтита базируется, в первую очередь, на данных клинического и рентгенологического обследования. Разработаны многочисленные клинические пробы и индексы (упрощенный индекс гигиены рта Грина-Вермиллиона (ОН1-5), периодонтальный индекс ВОЗ СР1ТМ, комплексный периодонтальный индекс КПИ и другие), позволяющие определить тяжесть и распространенность процесса.

Однако многие авторы указывают на необходимость разработки дополнительных диагностических критериев, которые должны способствовать объективной оценке воспалительной активности при ХП, а также указывать на дальнейшее течение и прогноз заболевания [3, 4, 5, 6]. Для этого предлагается использовать различные биомаркеры, изменяющиеся при различном течении болезни. Сейчас это направление разрабатывается весьма интенсивно многими группами исследовате-

лей [3, 5, 7]. Оцениваются все участники патологического процесса при ХП: возбудители, их ферменты и токсины (включая определение некультивируемых видов бактерий методом ПЦР), воспалительные и иммунные маркеры (клетки, антитела, цитокины, другие факторы гуморального и клеточного иммунитета), тканевые и клеточные ферменты и их ингибиторы, продукты деградации тканей периодонта. Их определяют в ротовой жидкости (слюне), или в десневой жидкости периодонтальных карманов, что считается более предпочтительным.

С учетом новых данных, касающихся абзимной активности антител (АТ) класса IgA, в настоящем исследовании мы впервые выполнили сравнительную оценку основных видов ферментативной активности ротовой жидкости (слюны) и выделенных из нее абзимов с оксидоредуктазной, нуклеазной и протеолитической активностью у пациентов с хроническим периодонтитом и здоровых лиц. Выбор ротовой жидкости был обусловлен в первую очередь доступностью данного материала для исследования, так как современные диагностические тесты должны удовлетворять условиям экспресс-анализа с возможностью их выполнения в условиях непосредственной работы с пациентом (так называемые «on-chair», «on-bed» или «point-of-care» tests, а также лабораторные тесты в условиях проведения оперативных вмешательств).

### Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы ротовой жидкости и выделенные из них иммуноглобулины класса А 55 пациентов с хроническим маргинальным периодонтитом и 31 проба ротовой жидкости и IgA от контрольной группы лиц без патологии периодонта.

Образцы ротовой жидкости (8-10 мл) центрифугировали при 7000 об/мин в течение 20 минут. Далее пробы фильтровали через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм. Часть материала использовали для выделения IgA из ротовой жидкости. Остальная часть РЖ делилась на аликвоты и сохранялась до определения ферментативной активности.

Для очистки IgA применялась методика аффинной хроматографии на сефарозе, конъю-

гированной с антителами против общих IgA человека. После элюции IgA с аффинного сорбента и отбора проб с максимальным количеством белка их диализовали против изотонического раствора хлорида натрия. Концентрацию IgA после диализа определяли спектрофотометрией при 280 нм.

Электрофоретический анализ образцов IgA выполняли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в системе буферов по Laemmli в присутствии додецилсульфата натрия в 10% или 12% разделяющем геле. Окраска проводилась с помощью красителя Кумасси R250. Результаты анализа обнаруживали одну белковую полосу, соответствующую по локализации в геле фракции иммуноглобулинов, что подтверждает гомогенность полученных препаратов [8].

Оценивали следующие виды ферментативной активности: протеолитическую (БАПНА-амидазную, эластазную, активность катепсинов G, B и C), оксидоредуктазную (пероксидазную, каталазную), ДНКазную активность.

В качестве субстратов для протеолиза использовали бензоил-DL-аргинин-р-нитроанилид (БАПНА), субстрат гранулоцитарной эластазы Glp-Pro-Val-p-нитроанилид, субстрат катепсина G N-сукцинил-Ala-Ala-Pro-Phe-p-нитроанилид, катепсина C Gly-Phe-p-нитроанилид, катепсина B Z-Arg-Arg-p-нитроанилид [6, 7, 9, 10]. Для определения каталазы применяли реакцию перекиси водорода с молибдатом аммония. Пероксидазную активность оценивали в реакции с перекисью водорода и тетраметилбензидином (ТМБ). ДНКазную активность ротовой жидкости и IgA определяли по методу риванолового сгустка ДНК [11]. Субстраты для всех реакций – производства Sigma, США.

Концентрацию ДНК ротовой жидкости определяли в реакции с флюоресцентным красителем PicoGreen (Invitrogen, США) [12].

Остальные реактивы – отечественного производства и перефасовки квалификации «хч» и «чда».

Поскольку данные виды каталитической активности IgA до сих пор не изучались, проводилась адаптация всех методов определения ферментативной активности с применением многоканального фотометра Ф300 производства ОАО «Витязь», Республика Беларусь.

Реакции ставили в полистироловых планшетах для иммуноферментного анализа. IgA вносили в реакционную смесь суммарным объемом 0,2 мл в конечной концентрации 50 мкг/мл на 0,15М NaCl.

Определение БАПНА-амидазы IgA проводили в 0,1 М трис-HCl буфере, pH 8,3 в течение 20 ч при 37°C, эластазы – в 0,1 М трис-HCl буфере pH 7,5, содержащем 1 мМ субстрата в течение 2 ч, катепсина G – в том же буфере в течение 4 ч, катепсинов B и C с предварительной активацией ферментов восстановителем (цистеином) – в 0,1М фосфатном буферном растворе pH 6,0, содержащем 1 мМ ЭДТА, 2,5 мМ цистеина гидрохлорида и 0,5 мМ субстрата при инкубации в течение 20 ч.

Пероксидазную активность IgA оценивали в реакции с ТМБ и 0,01% перекисью водорода в 0,1 М цитратно-фосфатном буферном растворе pH 6,0 в течение 30 мин при 37°C; реакцию останавливали добавлением 2 М серной кислоты; каталазную – с 0,2% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в 0,05 М трис-HCl буфере pH 7,4 в течение 20 ч при 37°C; реакцию останавливали добавлением 10% молибдата аммония.

ДНКазную активность IgA определяли в реакции с ДНК (150 мкг/мл) в 0,025 М трис-HCl буфере, pH 8,3, содержащем 0,0025 М MgCl<sub>2</sub> в течение 20 ч при 37°C. Реакцию останавливали добавлением 0,75% раствора риванола для образования сгустка ДНК. Оценку результатов проводили по полуколичественной балльной шкале (от 0 до 5 баллов, где 5 баллам соответствует максимальная активность).

При инкубации проб в течение 20 ч в реакционную среду вносили азид натрия до концентрации 0,1%.

Для оценки ферментативной активности ротовой жидкости схемы реакций модифицировали следующим образом: использовали различные разведения РЖ и время ее инкубации с субстратами – для пероксидазной реакции – разведение 1/100 (инкубация 60 мин), для каталазной – разведение 1/20 (инкубация 60 мин), для ДНКазной и эластазной – разведение 1/5 (инкубация 120 мин), для остальных видов активности – разведение 1/2 и инкубация 20 ч (кроме активности катепсина G с инкубацией 4 часа).

Для всех видов активности помимо пероксидазной учет реакций проводили на многоканальном фотометре при двухволновом

измерении (405 нм и 620 нм). Пероксидазную реакцию регистрировали при двухволновом измерении на 450 и 620 нм, соответственно. Полученные результаты выражали в условных единицах (Ед), соответствующих единицам оптической плотности.

Для определения концентрации ДНК ротовой жидкости в реакции с флюоресцентным красителем PicoGreen возбуждение флюоресценции производили с помощью разработанного нами устройства – светодиодной панели, включающей 8 синих светодиодов с узкополосным излучением (465-470 нм), расположенных напротив лунок планшета с реакционной смесью.

Цифровое изображение результатов реакции получали с помощью камеры Canon G10. Полученные цифровые снимки изучаемых проб и калибровочных кривых обрабатывали программой ImageJ (NIH, США), с помощью которой получали значения яркости образцов. Их соотносили со значениями, полученными для калибровочной кривой по ДНК.

В качестве метода сравнения использовали флюориметрию с оценкой результатов на спектрофлюориметре CM 2203 производства ЗАО «Солар», Республика Беларусь.

Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с использованием набора пакетов прикладных статистических программ. Использовали методы описательной статистики. Характер распределения изучаемых величин оценивали по критерию Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Так как в большинстве случаев распределение признаков имело характер, отличный от нормального, при его описании использовали показатели медианы, верхнего и нижнего квартилей. Соответственно, при сравнении двух выборок для обнаружения различий применяли критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. Корреляцию между признаками определяли по Спирмену.

## Результаты и обсуждение

Результаты определения протеолитической, оксидоредуктазной и ДНКазной активности ротовой жидкости и иммуноглобулинов класса А пациентов с хроническими периодонтитом и здоровых лиц представлены в таблице 1 и 2, соответственно.

Таблица 1 – Ферментативная активность ротовой жидкости

Ферментативная активность РЖ, Ед	Пациенты	Контрольная группа	Достоверность различий между группами (p)
Пероксидаза	0,251 (0,139:0,732) n=55	0,051 (0,030:0,239) n=31	p<0,001
Каталаза	73,19 (50,88:94,27) n=52	13,35 (6,54:27,56) n=30	p<0,001
БАПНА-амидаза	0,206 (0,152:0,326) n=55	0,088 (0,054:0,198) n=30	p=0,51
Эластаза	0,561 (0,121:0,800) n=47	0,035 (0:0,042) n=30	p<0,001
Катепсин G	0,250 (0,069:0,275) n=46	0,219 (0,118:0,310) n=30	p=0,26
Катепсин B	0,182 (0,113:0,279) n=48	0,048 (0,030:0,104) n=30	p<0,001
Катепсин C	0,024 (0:0,051) n=47	0,021 (0,011:0,042) n=30	p=0,51
ДНКазы (баллы)	4,0 (2,0:5,0) n=53	4,0 (1,0:4,5) n=31	p=0,1
ДНК (мкг/мл РЖ)	355,2 (9,0:4036,3) n=45	3,0 (0,1:18,2) n=29	p<0,001

Таблица 2 – Каталитическая активность IgA ротовой жидкости

Ферментативная активность IgA, Ед	Пациенты	Контрольная группа	Достоверность различий между группами (p)
Пероксидаза	0,497 (0,086:1,085) n=52	0,055 (0,016:0,114) n=31	p<0,001
Каталаза	5,80 (2,74:14,56) n=52	4,49 (2,78:6,83) n=30	p=0,27
БАПНА-амидаза	0,007 (0:0,015) n=52	0,010 (0,007:0,014) n=30	p=0,17
Эластаза	0,251 (0,064:0,814) n=47	0,071 (0,008:0,246) n=30	p<0,01
Катепсин G	0,019 (0,004:0,056) n=47	0,042 (0,012:0,095) n=29	p=0,07
Катепсин B	0,003 (0:0,014) n=43	0,006 (0:0,011) n=29	p=0,85
Катепсин C	0,0 (0:0,025) n=43	0,0 (0:0,007) n=29	p<0,05
ДНКазы (баллы)	1,0 (0,5:2,125) n=52	0,5 (0:0,75) n=31	p<0,01

Представленные в таблицах данные указывают на ряд существенных отличий между ферментативной активностью здоровых лиц и пациентов хроническим периодонтитом. В первую очередь они определяются резким повышением многих видов ферментов ротовой жидкости при ХП. Это относится к оксидоредуктазной (пероксидазной и каталазной) активности, катепсину B и особенно – эластазной активности, которая возрастает более чем на порядок. На 2 порядка возрастает при

ХП средний уровень свободной ДНК ротовой жидкости.

Достоверного повышения БАПНА-амидазной активности, катепсина G и ДНКазы в ротовой жидкости при ХП не отмечено. Уровень катепсина C оказался минимальным. Известно, что ДНКазная и особенно БАПНА-амидазная активность ротовой жидкости во многом обеспечиваются бактериями ротовой полости, при этом БАПНА-амидазные ферменты продуцируют наиболее патогенные воз-

будители *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Treponema denticola* [3]. Не исключено, что при длительном течении ХП значение микробного фактора постепенно снижается, и основную роль в патогенезе играют иммуно-воспалительные процессы.

Это подтверждается максимальным увеличением эластазы и пероксидазы ротовой жидкости. Оба этих фермента выделяются из нейтрофилов при их гибели или образовании нейтрофильных внеклеточных ловушек. Кроме того, значительное количество пероксидазы секретируется ацинарными клетками слюнных желез.

Наконец, появление значительного количества ДНК в ротовой жидкости при ХП указывает на ускоренный цитолиз клеток ротовой полости (бактерий, лейкоцитов, эпителия и других), что может отражать степень деструкции тканей периодонта.

При анализе абзимной активности IgA ротовой полости обращает на себя внимание повышенный уровень эластазной активности иммуноглобулинов. При этом она отмечается как у пациентов, так и здоровых лиц, что может указывать на их исходное протективное действие. Аналогично вырастает и пероксидазная абзимная активность.

С другой стороны, достоверное увеличение абзимной ДНКазной активности в сравнении со здоровыми лицами при ХП может отражать иммуновоспалительные изменения, поскольку известно, что ДНКазные абзимы появляются главным образом при аутоиммунной патологии [13].

Проведенный корреляционный анализ подтвердил данные взаимосвязи. При ХП установлены средней силы ( $r=0,3-0,5$ ) положительные достоверные корреляции между свободной ДНК ротовой жидкости (маркер цитолиза) и основными видами ферментативной активности, нарастающими в ходе заболевания: пероксидазной, каталазной и эластазной активностью ротовой жидкости, эластазной абзимной активностью.

Исходя из этих результатов, данные признаки становятся наиболее вероятными кандидатами в качестве биомаркеров тканевой деструкции, степени тяжести и, возможно, течения хронического периодонтита. В свою очередь, тесты по их определению должны удовлетворять условиям экспресс-анализа с

возможность выполнения в условиях непосредственной работы с пациентом («on-chair» тест). Качественное определение пероксидазы и каталазы не требует дорогостоящих реактивов; высокоактивные образцы ротовой жидкости дают положительную реакцию уже в течение 10-15 минут. Тем не менее, для анализа не подходят образцы РЖ в низком разведении и содержащие примеси крови, что может исказить результаты определения. Оптимальным в этом отношении представляется прямой флюоресцентный тест определения ДНК в реакции с красителем PicoGreen, так как время его определения занимает не более 5-10 минут при условии сравнения результатов с заранее разработанной цветовой шкалой; чувствительность методики является максимальной. Основным препятствием к широкому внедрению такого теста является только высокая стоимость флюорохроме.

Наконец, при анализе величин ферментативной активности ротовой жидкости и абзимной активности IgA обнаруживается, что пациенты с хроническим периодонтитом могут быть разделены на группы с высоким и низким уровнем каталитической активности (пероксидазной, каталазной, эластазной и ДНКазной), а также по уровням свободной ДНК в ротовой жидкости. Дальнейшее наблюдение за этими группами позволит оценить возможность использования данных показателей для оценки прогрессирования и прогнозирования исхода хронического периодонтита.

## Заключение

1. Абзимная эластазная, пероксидазная и ДНКазная активность поликлональных IgA, выделенных из ротовой жидкости пациентов хроническим периодонтитом, достоверно ( $p<0,01-0,001$ ) превышает данные виды активности группы лиц без патологии периодонта.

2. Ферментативная оксидоредуктазная (пероксидазная, каталазная) и протеолитическая активность (эластаза, катепсин В), а также концентрация ДНК в ротовой жидкости пациентов хроническим периодонтитом значительно ( $p<0,001$ ) превышают уровни, установленные для группы здоровых лиц.

3. Повышение уровня ДНК ротовой жидкости может являться дополнительным

лабораторным маркером развития хронического периодонтита.

*Исследование выполнено при поддержке Белорусского Республиканского Фонда фундаментальных исследований, грант БРФФИ №М13-105.*

### Литература

1. Генералов, И. И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции / И. И. Генералов, О. Л. Коротина // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2012. – № 4. – С. 23-32.
2. Naturally occurring catalytic antibodies: evidence for preferred development of the catalytic function in IgA class antibodies / Y. Mitsuda [et al.] // Mol Biotechnol. – 2007 Jun. – Vol. 36, N 2. – P. 113-122.
3. Horz, H.-P. Diagnosis and anti-infective therapy of periodontitis / H.-P. Horz, G. Conrads // Expert Rev. Anti Infect. Ther. – 2007 Aug. – Vol. 5, N 4. – P. 703-715.
4. Mäntylä, P. The scientific basis and development of a matrix metalloproteinase (MMP) -8 specific chair-side test for monitoring of periodontal health and disease from gingival crevicular fluid : academic dissertation for the degree of PhD / Päivi Mäntylä. – Helsinki : University of Helsinki, 2006. – 112 p.
5. Oral biomarkers in the diagnosis and progression of periodontal diseases / A. Zia [et al.] // Biology and Medicine. – 2011. – Vol. 3, N 2. – P. 45-52.
6. Oral rinse MMP-8 point-of-care immuno test identifies patients with strong periodontal inflammatory burden / J. M. Leppilahti [et al.] // Oral Diseases. – 2011 Jan. – Vol. 17, N 1. – P. 115-122.
7. P. gingivalis Regulates the Expression of Cathepsin B and Cystatin C / R. Elkaiml [et al.] // J. Dent. Res. – 2008 Oct. – Vol. 87, N 10. – P. 932-936.
8. Абзимная активность поликлональных иммуноглобулинов класса А / И. И. Генералов [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2014. – Т. 13, № 4. – С. 42-47.
9. Arginine-based structures are specific inhibitors of cathepsin C. Application of peptide combinatorial libraries / M. Horn [et al.] // Eur. J. Biochem. – 2000 Jun. – Vol. 267, N 11. – P. 3330-3336.
10. Mapping the extended substrate binding site of cathepsin G and human leukocyte elastase. Studies with peptide substrates related to the alpha1-protease inhibitor reactive site / K. Nakajima [et al.] // J. Biol. Chem. – 1979 May. – Vol. 254, N 10. – P. 4027-4032.
11. Deoxyribonuclease activity of polyclonal IgGs: a putative serological marker in patients with spondyloarthritides / A. V. Kundzer [et al.] // Immunological Research. – 2013 Jul. – Vol. 56, N 2/3. – P. 457-464.
12. Characterization of PicoGreen Interaction with dsDNA and the Origin of Its Fluorescence Enhancement upon Binding / A. I. Dragan [et al.] // Biophysical Journal. – 2010 Nov. – Vol. 99, N 9. – P. 3010-3019.
13. Генералов, И. И. Абзимная активность иммуноглобулинов / И. И. Генералов. – Витебск, 2000. – 152 с.

*Поступила 30.12.2014 г.*

*Принята в печать 06.02.2015 г.*

### Сведения об авторах:

Коротина О.Л. – аспирант кафедры клинической микробиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Железняк Н.В. – к.м.н., доцент кафедры клинической микробиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Жерулик С.В. – аспирант кафедры онкологии с курсами лучевой диагностики и лучевой терапии ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Денисенко А.Г. – к.м.н., доцент кафедры судебной медицины УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Генералова А.Г. – к.м.н., доцент кафедры патологической физиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра клинической микробиологии. E-mail: korol-med@mail.ru – Коротина Ольга Львовна.