

УДК 616-097-071: 57.08.3

Каталитическая активность иммуноглобулинов класса G у больных острыми кишечными инфекциями

А.М. Моисеева, И.В. Жильцов, Д.В. Пискун, И.И. Генералов, В.М. Семенов

Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Catalytic activity of IgG in patients with acute intestinal infections

A.M. Moiseeva, I.V. Zhyltsov, D.V. Piskun, I.I. Generalov, V.M. Semenov

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Аннотация

Исследована каталазная, пероксидазная, супероксиддисмутазная, ДНКазная, БАПНА-амидазная активность иммуноглобулинов класса G (IgG), выделенных от больных острыми кишечными инфекциями (брюшной тиф, сальмонеллез и шигеллез). Наиболее высокие уровни каталазной активности IgG наблюдаются при брюшном тифе и шигеллезе Флекснера. БАПНА-амидазная активность резко возрастает при сальмонеллезах и шигеллезах, но остается невысокой при брюшном тифе. Супероксиддисмутазная активность IgG обнаруживается как у больных, так и у здоровых лиц. Уровни пероксидазной и ДНКазной активностей являются невысокими у большей части обследованных. Полученные данные подтверждают влияние инфекционного процесса на образование иммуноглобулинов, обладающих собственной окислительно-восстановительной и протеолитической каталитической активностью.

Ключевые слова

Абзимы, острые кишечные инфекции, оксидоредуктазная, БАПНА-амидазная, ДНКазная активность.

Патогенез, течение и прогноз инфекционных заболеваний во многом определяются взаимодействием микроорганизмов с системой иммунитета. Тем не менее, многие аспекты иммунного ответа, обеспечивающие элиминацию микробных патогенов, инактивацию их факторов агрессии и инвазии, исследованы пока недостаточно [1].

Одним из таких малоизученных феноменов является появление при иммунном ответе анти-

Summary

Catalase, peroxydase, superoxide dismutase, DNase, BAPNA-amidase activities of IgG in patients with acute intestinal infections were investigated. The highest levels of catalase activity of IgG are determined in enteric typhoid fever and Flexneri shigellosis. BAPNA-amidase activity is increased in salmonellosis and shigellosis, but it is low in enteric typhoid fever. IgG superoxide dismutase activity levels were similar to activities of healthy donors. Levels of peroxydase and DNase activities declined in the most examined people. The received data confirm the influence of infectious process on abzyme generations, that possess their own oxyreductase and protease catalytic activity.

Key words

Abzymes, acute intestinal infections, oxyreductase, BAPNA-amidase, DNase activity.

тел (АТ), обладающих собственной каталитической (абзимной) активностью.

К настоящему времени описано более 60 реакций, катализируемых абзимами. По каталитической эффективности некоторые абзимы не уступают естественным ферментам, а по специфичности даже превосходят их [2].

Считается, что наиболее часто каталитические антитела возникают при аутоиммунной па-

тологии. Результаты, подтверждающие это, получены при изучении системной красной волчанки, ревматоидного артрита, аутоиммунного увеита, рассеянного склероза, системной склеродермии, аутоиммунного тиреоидита. В частности, в крови пациентов с различными аутоиммунными заболеваниями были обнаружены абзимы с фосфатазной, ДНК-, РНК-, АТФ-, полисахарид- и белок-гидролизующими, а также липид-, протеин- и полисахаридкиназными активностями [3]. По данным С.В. Сучкова с соавт. [4], у части больных с аутоиммунным миокардитом обнаружены абзимы, проявляющие специфическую активность в отношении кардиомиозина – одного из основных серологических маркеров аутоиммунного миокардита и клинически значимого маркера хронического воспаления в миокарде. Динамика таких антител тесно ассоциировалась с гемодинамическими показателями у больных, а удаление их приводило к быстрому восстановлению утраченных функций миокарда. В целом многие исследователи считают, что появление абзимов тесно связано с развитием и прогрессированием аутоиммунных болезней.

Тем не менее, еще раньше было показано, что каталитическая абзимная активность присутствует и у здоровых лиц. В частности, А.Я. Кульберг и Н.М. Петяев доказали, что иммуноглобулины в норме способны проявлять супероксиддисмутазную активность [5]. В свою очередь, Wentworth с соавт. обнаружили, что антитела здоровых лиц при опсонизации антигенов участвуют в фагоцитарном дыхательном взрыве, катализируя окислительно-восстановительные реакции, в частности, образование озона [6].

Все вышеизложенные данные указывают на активное участие абзимов в антимикробном иммунитете. Тем не менее, появление абзимов и их роль в инфекционной патологии остаются практически неизученными. В основном каталитическая активность антител определялась у больных вирусными заболеваниями, такими как вирусные гепатиты [7,8] и ВИЧ-инфекция [9].

Что касается абзимной активности при бактериальных инфекциях, то по данной теме имеются лишь единичные работы. В.К. Окуличем с соавт. была обнаружена БАПНА-амидазная, ДНК-азная и амилазная активность иммуноглобулинов при хирургической инфекции [1]. И.В. Жильцовым с соавт. описана пенициллиназная активность АТ при шигеллезах, М.Р. Ко-

норевым с соавт. – уреазная абзимная активность при хеликобактерной инфекции желудка и двенадцатиперстной кишки [10]. S. Lacroix-Desmazes с соавт. установили положительное влияние протеолитических абзимов на благоприятный исход при сепсисе [11].

Однако до настоящего времени не проводилось комплексного исследования абзимной активности при типичных острых инфекционных процессах, которые наиболее часто возникают в клинической практике.

Исходя из этого, целью нашей работы стала оценка разных видов каталитической активности иммуноглобулинов у больных острыми бактериальными инфекциями. В качестве модели нами были избраны острые кишечные заболевания (сальмонеллез, включая брюшной тиф, и шигеллез).

Материалы и методы

Все обследованные были разделены на 3 группы; первую (I) составили пациенты с сальмонеллезной инфекцией (n=26), из них 13 мужчин, 13 женщин, средний возраст пациентов $37,2 \pm 6,6$ лет. Во вторую (II) группу вошли больные с шигеллезом (n=13), из них 3 мужчин, 10 женщин, средний возраст пациентов $32,2 \pm 13,0$ лет. Третью (III) контрольную группу составили здоровые доноры (n=35).

В I группе у больных сальмонеллезом были выделены *Salmonella enterica serovar enteritidis* (n=12), *S. enterica serovar typhimurium* (n=5), *S. enterica serovar virchow* (n=2), *S. enterica serovar derby* (n=1), *S. enterica serovar isangii* (n=1), у больных брюшным тифом – *S. enterica serovar typhi* (n=5). Средняя длительность заболевания составила $16,9 \pm 7,3$ дней. Во II группе заболевание было вызвано *Shigella flexneri* (n=9) и *S. sonnei* (n=4). Средняя длительность заболевания составила $7,8 \pm 1,8$ дней.

Кровь забиралась натощак с 8 до 9 часов утра, центрифугировалась со скоростью 1500 об/мин в течение 10 минут, отбиралась чистая сыворотка.

Выделение иммуноглобулинов из сыворотки осуществлялось методом аффинной хроматографии на агарозе, конъюгированной с протеином А золотистого стафилококка, после предварительного осаждения сыворотки 1% раствором риванола. До проведения анализов образцы иммуноглобулинов замораживали с последующим хранением при -20°C в холодильнике. Перед постановкой реакции концентрацию белка

в пробах довели до 1 мг/мл 0,9% раствором хлорида натрия [12].

Контроль чистоты IgG проводили с помощью электрофореза в 12,5% полиакриламидном геле (ПАГ) в присутствии додецилсульфата натрия в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях, с окраской Кумасси R250 (рис. 1, 2) или нитратом серебра [13].

Определение каталазной, пероксидазной, супероксиддисмутазной активности антител проводили по модифицированным нами методикам на планшетном колориметре «Мультискан АИФ М340» [14].

Полученные результаты определения пероксидазной активности выражали в единицах оптической плотности (ÄE) как разность между средними значениями оптической плотности опытных и контрольных проб. Каталазная и супероксиддисмутазная активность выражалась в условных единицах (УЕ), эквивалентных проценту уменьшения оптической плотности в сравнении с контролем.

Для определения ДНКазной активности IgG крови в качестве субстрата использовали ДНК тимуса телят (Sigma). Данный вид активности определяли по уменьшению комплексообразования гидролизованной ДНК с хромогеном риванолом [15]. Активность выражалась в баллах от 0 (отсутствие активности) до 5 баллов (полный распад комплекса), отражающих степень гидролиза ДНК.

Для определения БАПНА-амидазной активности IgG использовали разработанную нами ВЭЖХ методику [12]. Результаты выражались в условных единицах (УЕ) как разность между средними значениями отклика детектора хроматографа (площадь пика продукта реакции на хроматограмме) при анализе опытных и контрольных проб.

Так как распределение показателей внутри исследуемых групп отличалось от нормального, достоверность различий абзимной активности рассчитывалась по методу Манна-Уитни, корреляционный анализ проводился по методу Спир-

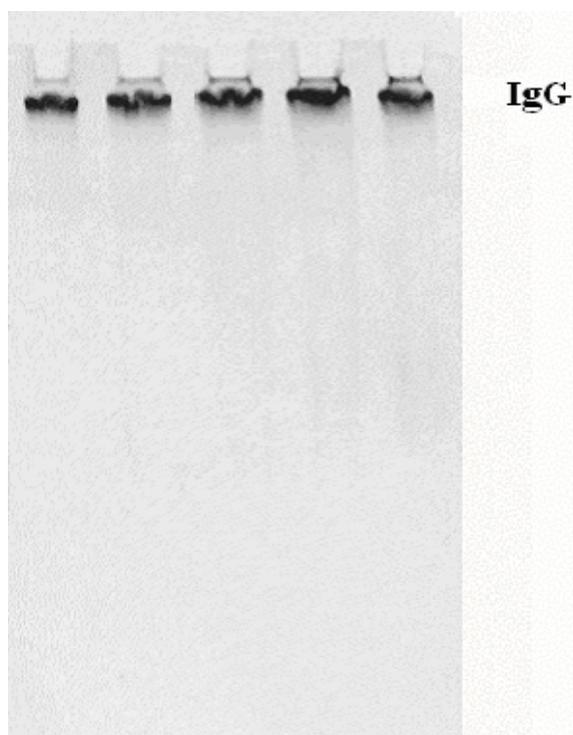


Рис. 1. Электрофорез выделенных препаратов IgG, обладающих абзимной активностью, в 12,5% ПАГ в присутствии SDS-Na, окраска Coomassie R250.

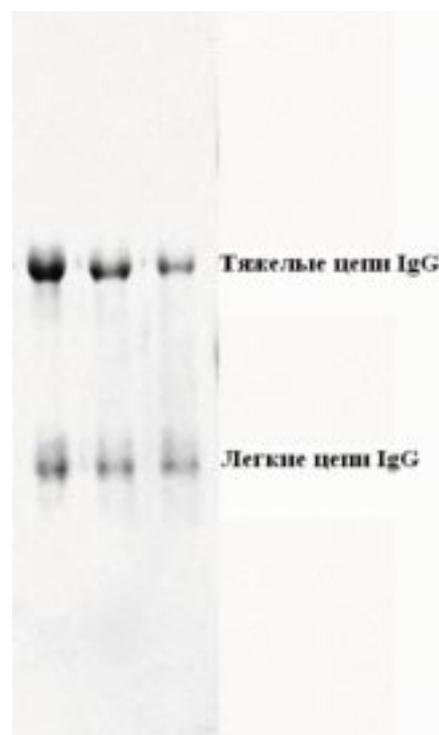


Рис. 2. Электрофорез выделенных препаратов IgG в 12,5% ПАГ в восстанавливающих условиях с 0,1% 2-меркаптоэтанолом, окраска Coomassie R250. Диссоциация проб проводилась в присутствии 2% SDS-Na и 5% 2-меркаптоэтанола.

мена. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась при помощи пакетов прикладных компьютерных программ.

Результаты

Проведенные исследования показали, что при развитии острых инфекционных процессов, вызванных грамотрицательными энтеробактериями, происходят изменения различных видов абзимной активности антител. Результаты оценки каталитической активности представлены в таблице 1.

Как следует из полученных данных, супероксиддисмутазная активность антител была обнаружена как в обеих группах больных, так и в группе доноров. При этом достоверных отличий между уровнями активности зарегистрировано не было.

Каталазная активность в I и II группах больных была достоверно выше, чем в контрольной группе.

Средний уровень пероксидазной активности IgG был исходно невысоким во всех трех группах, достоверных отличий между группами обнаружено не было.

Уровень БАПНА-амидазной активности как при сальмонеллезах, так и при шигеллезах достоверно превышал значения группы доноров.

ДНКазная активность у большей части больных и здоровых лиц не была зарегистрирована. Минимальный уровень активности (1 балл) наблюдался в одном случае заболевания брюшным тифом и в трех случаях заболевания сальмонеллезом (из них два были вызваны *S. enterica serovar enteritidis*, один – *S. enterica serovar derby*), а также в одном случае заболевания шигеллезом (*S. sonnei*). Высокая ДНКазная активность (4-5 баллов) была зарегистрирована в двух случаях заболевания шигеллезом (*S. flexneri*).

Дополнительно нами был проведен анализ величин абзимной активности при сальмонеллезе (табл. 2) и шигеллезе (табл. 3) в зависимости от вида возбудителя.

Несмотря на небольшое количество больных (n=5), уровни абзимной активности при брюшном тифе отличались от таковых при сальмонеллезе.

В частности, средний уровень супероксиддисмутазной активности был достоверно выше у больных брюшным тифом, а БАПНА-амидазная активность значительно возрастала при сальмонеллезах, вызванных *S. enterica serovar typhimurium* и *S. enterica serovar enteritidis*. При брюшном тифе зарегистрированы наиболее высокие уровни каталазной и пероксидазной активности, которые, однако, не демонстриро-

Таблица 1

Результаты исследования каталитической активности иммуноглобулинов у больных с инфекционной патологией

Активность, (M _{cp} , min-max)	Группы обследованных			Уровень значимости
	I	II	III	
Супероксиддисмутазная активность, УЕ	29,05 (10,43-68,19) (n=25)	22,85 (0,28-76,12) (n=13)	25,21 (0-52,25) (n=32)	P _{I-III} >0,05 P _{II-III} >0,05 P _{I-II} >0,05
Каталазная активность, УЕ	8,72 (0-28,53) (n=26)	9,96 (1,23-50,10) (n=13)	2,97 (0-13,45) (n=34)	P _{I-III} <0,0006 P _{II-III} <0,0025 P _{I-II} >0,05
Пероксидазная активность, АЕ	0,029 (0-0,17) (n=26)	0,022 (0-0,21) (n=13)	0,0078 (0,0-0,079) (n=35)	P _{I-III} >0,05 P _{II-III} >0,05 P _{I-II} >0,05
БАПНА-амидазная активность, УЕ	285,092 (0-3713,51) (n=25)	299,16 (6,15-927,15) (n=12)	7,69 (0-64,5) (n=33)	P _{I-III} <0,001 P _{II-III} <0,001 P _{I-II} >0,05

Таблица 2

Каталитическая активность иммуноглобулинов у больных сальмонеллезом и брюшным тифом

Активность, (M _{cp} , min-max)	Группы обследованных			Уровень значимости
	I: <i>S. enterica</i> <i>serovar typhi</i> (n=5)	II: <i>S. enterica</i> <i>serovar enteritidis</i> (n=12)	III: <i>S. enterica</i> <i>serovar typhimurium</i> (n=5)	
Супероксиддисмутазная активность, УЕ	38,67 (33,29-47,61)	23,72 (10,43-68,19)	28,90 (24,06-37,80)	P _{I-II} =0,009 P _{I-III} >0,05 P _{II-III} >0,05
Каталазная активность, УЕ	16,47 (0-28,53)	6,23 (0-17,9)	6,05 (0-12,44)	P _{I-II} >0,05 P _{I-III} >0,05 P _{II-III} >0,05
Пероксидазная активность, ÄЕ	0,069 (0-0,15)	0,0298 (0-0,17)	0,00044 (0-0,0022)	P _{I-II} >0,05 P _{I-III} =0,04 P _{II-III} >0,05
БАПНА-амидазная активность, УЕ	3,33 (0-12,95)	109,075 (0-395,05)	841,17 (36,55-3713,51)	P _{I-II} =0,017 P _{I-III} =0,012 P _{II-III} >0,05

Таблица 3

Каталитическая активность иммуноглобулинов у больных шигеллезом

Активность, (M _{cp} , min-max)	Группы обследованных		Уровень значимости
	I: <i>S. flexneri</i> (n=9)	II: <i>S. sonnei</i> (n=4)	
Супероксиддисмутазная активность, УЕ	27,51 (1,63-76,12)	12,36 (0,28-29,74)	P _{I-II} >0,05
Каталазная активность, УЕ	12,90 (3,69-50,10)	3,33 (1,23-6,70)	P _{I-II} =0,03
Пероксидазная активность, ÄЕ	0,032 (0-0,21)	не выявлена	P _{I-II} >0,05
БАПНА-амидазная активность, УЕ	312,63 (6,15-927,15)	258,75 (7,35-474,05)	P _{I-II} >0,05

вали достоверных различий в сравнительном анализе. При выделении *S. enterica serovar typhimurium* практически отсутствовала пероксидазная, а также не была зарегистрирована ДНКазная активность.

Более высокий уровень окислительно-восстановительной активности наблюдался при шигеллезе, вызванном *S. flexneri*, однако достоверно выше при данной патологии оказалась только каталазная активность. Протеолитическая активность была достаточно высокой в обеих группах, а ДНКазная, напротив, зарегистрирована всего в трех случаях заболевания.

При проведении корреляционного анализа была обнаружена взаимосвязь супероксиддисмутазной активности IgG с видом сальмонеллы – повышение активности отмечалось при брюшном тифе ($r=0,51$; $p=0,012$; $n=25$), снижение – при сальмонеллезе, вызванном с *S. enterica serovar enteritidis* ($r=-0,61$; $p=0,003$; $n=25$). Наблюдалась прямая корреляция данного вида активности с длительностью заболевания ($r=0,47$; $p=0,021$; $n=25$). Кроме того, супероксиддисмутазная активность позитивно коррелировала с увеличением СОЭ ($r=0,48$; $p=0,019$; $n=25$).

Можно отметить слабую связь каталазной активности с наличием *S. enterica serovar typhi* ($r=0,37$; $p=0,06$; $n=26$). Кроме того, данный вид активности был взаимосвязан с длительностью диарейного синдрома при сальмонеллезе ($r=0,48$; $p=0,02$; $n=25$). Прослеживается также средней силы обратная корреляция каталазной активности антител с уровнем сегментоядерных лейкоцитов крови ($r=-0,48$; $p=0,017$; $n=26$) и, соответственно, прямая – с уровнем лимфоцитов ($r=0,37$; $p=0,06$; $n=26$).

БАПНА-амидазная активность была связана с видом возбудителя ($r=0,597$; $p=0,0035$; $n=25$), при этом наиболее заметная обратная корреляция наблюдалась с *S. enterica serovar typhi* у больных брюшным тифом. Отмечалась отрицательная корреляция протеолитической активности с продолжительностью заболевания ($r=-0,49$; $p=0,017$; $n=25$) и уровнем СОЭ ($r=-0,36$; $p=0,08$; $n=25$).

Пероксидазная активность в препаратах антител была зарегистрирована лишь у половины больных сальмонеллезом, однако, несмотря на низкий средний уровень, демонстрировала положительную взаимосвязь с выделением *S. enterica serovar typhi* ($r=0,41$; $p=0,04$; $n=26$), с продолжительностью заболевания ($r=0,396$; $p=0,04$; $n=26$) и уровнем СОЭ ($r=0,46$; $p=0,02$; $n=26$).

При шигеллезной инфекции БАПНА-амидазная активность позитивно коррелировала с возрастом пациентов ($r=0,599$; $p=0,047$; $n=12$). Более высокий уровень активности зарегистрирован у лиц мужского пола ($r=0,65$; $p=0,03$; $n=12$). В определенной степени БАПНА-амидазная активность была связана с показателями состояния иммунной системы: наблюдалась позитивная корреляция с уровнем лимфоцитов ($r=0,44$; $p=0,14$; $n=12$), палочкоядерных лейкоцитов ($r=0,47$; $p=0,12$; $n=12$) и СОЭ ($r=0,41$; $p=0,17$; $n=12$), отрицательная – с уровнем сегментоядерных лейкоцитов ($r=-0,41$; $p=0,17$; $n=12$).

Также при шигеллезе наблюдалась средней силы положительная корреляция каталазной активности с возрастом пациентов ($r=0,52$; $p=0,07$; $n=13$). Более высокий уровень каталазной активности был характерен для шигеллеза Флекснера ($r=0,62$; $p=0,03$; $n=13$).

Обсуждение

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что абзимная активность антител представляет собой закономерный компонент иммунного ответа, изменяющийся при развитии острого инфекционного процесса. Исходя

из полученных данных, обоснованными являются предположения о различном функциональном (защитном либо патологическом) характере абзимного катализа. Это в очередной раз подтверждает актуальность вопроса о биологической роли абзимов в патогенезе инфекционных заболеваний.

Наиболее вероятно, что разнообразная окислительно-восстановительная активность является нормальным свойством IgG, и такие антитела активируются при проникновении высокоинвазивного возбудителя в организм. Это подтверждается более высоким уровнем данной активности при брюшном тифе, а также шигеллезе Флекснера (более тяжелым вариантом в сравнении с шигеллезом Зонне). При острых кишечных инфекциях происходит интенсивная стимуляция иммунной системы компонентами грамотрицательных бактерий (ЛПС клеточной стенки, флагеллином, бактериальными токсинами и др.), что сопровождается массивным выбросом цитокинов. Это приводит к поликлональной стимуляции лимфоидных клонов, включая клетки, продуцирующие абзимы. Данное положение дополнительно подтверждается взаимосвязью повышенной абзимной активности с количеством лимфоцитов. В свою очередь, нарастание оксидоредуктазной активности АТ способствует более эффективной элиминации возбудителей.

С другой стороны, протеолитическая абзимная активность имеет явный индуктивный характер и, возможно, выполняет защитную функцию при кишечных инфекциях. У здоровых лиц уровень таких АТ незначителен; тем не менее, он резко нарастает при шигеллезах и сальмонеллезах (но не при брюшном тифе). Обнаруженная отрицательная корреляция данного вида активности с длительностью инфекции и уровнем СОЭ также свидетельствует в пользу защитного действия протеолитических АТ.

Невысокая протеолитическая активность абзимов при брюшном тифе может быть обусловлена неэффективной их стимуляцией или наличием механизмов, подавляющих образование таких АТ. В определенной степени от этого может зависеть более тяжелое и длительное течение брюшного тифа в сравнении с другими сальмонеллезами.

Возможное защитное действие протеолитических АТ при инфекциях отмечается и в других исследованиях. Как уже упоминалось, S. Lacroix-Desmazes с соавт. установили положительное влияние протеолитических абзимов на

благоприятный исход при сепсисе [11]. Кроме того, из крови больных ВИЧ-инфекцией выделены протеолитические абзимы, проявляющие активность в гидролизе обратной транскриптазы и белка gp120 оболочки ВИЧ [9, 16].

Ранее нами было также показано [8, 17], что БАПНА-амидазная активность АТ отрицательно коррелирует с признаками поражения печени при вирусных гепатитах.

Наконец, ДНКазная абзимная активность при острых кишечных инфекциях встречалась у единичных больных, и ее уровень был минимальным. Это подтверждает многочисленные литературные данные, указывающие, что данный вид активности характерен в большей степени для аутоиммунных заболеваний [3, 4, 17].

Выводы

1. Препараты IgG, выделенные от больных острыми кишечными инфекциями, способны проявлять абзимную оксидоредуктазную и протеолитическую активность.

2. Супероксиддисмутазная активность IgG обнаруживается как у больных острыми кишечными инфекциями, так и у здоровых лиц. Уровень супероксиддисмутазной активности достигает наибольших значений при брюшном тифе и шигеллезе Флекснера, при этом обнаруживает позитивную связь с длительностью заболевания и величиной СОЭ.
3. Каталазная активность IgG у больных кишечными инфекциями достоверно возрастает по сравнению с контрольной группой. Более высокие уровни активности наблюдаются при брюшном тифе и шигеллезе Флекснера. При сальмонеллезе данный вид активности взаимосвязан с длительностью диарейного синдрома.
4. БАПНА-амидазная абзимная активность у здоровых лиц незначительна. Уровень протеолитических АТ резко нарастает при шигеллезах и сальмонеллезах, что подтверждает активное участие абзимов в антибактериальном иммунном ответе при данных заболеваниях.

Литература

1. Окулич В.К., Сенькович С.А., Косинец А.Н. Роль факторов агрессии и инвазии микроорганизмов в формировании ферментативной активности IgG, выделенных от больных с хирургической инфекцией. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2001; 2: 97-103.
2. Наградова Н.К. Каталитические антитела. <http://www.megafarm.ru/>
3. Nevinsky GA, Buneva VN. Natural catalytic antibodies-abzymes. In: Catalytic antibodies (Keinan E., ed.), VCN-Wiley press, Germany 2005: 503-567.
4. Сучков С.В., Габибов А.Г., Алекберова З.С. и соавт. Каталитические аутоантитела и их будущее в практической медицине. Тер. архив 2002; 10: 40-45.
5. Петяев И.М., Кульберг А.Я. Ферментативные свойства антител и клеточных рецепторов. Иммунология 1988; 5:12-14.
6. Wentworth P, Jones LH, Wentworth AD et al. Antibody catalysis of the oxidation of water. Science 2001; 293: 1806-11.
7. Барановский А.Г., Матюшин В.Г., Власов А.В. и соавт. ДНК- и РНК-гидролизующие антитела из крови больных различными формами вирусного гепатита. Биохимия 1997; 12: 1590-1599.
8. Жильцов И.В., Генералов И.И., Доценко М.Л. и соавт. Ферментативная активность препаратов IgG при вирусных гепатитах. Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. 1998; 4: 73-77.
9. Paul S, Kalaga RS, Gololobov G et al. Natural catalytic immunity is not restricted to autoantigenic substrates: identification of a human immunodeficiency virus gp120-cleaving antibody light chain. Appl Biochem Biotechnol 2000; 83 (1-3): 71-82.
10. Конорев М.Р., Окулич В.К., Генералов И.И. и соавт. Оценка уреазного теста для диагностики *Helicobacter pylori* в слизистой рта и желудка. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии 2002; 12(5): 29.
11. Lacroix-Desmazes S, Bayry J, Kaveri SV et al. High levels of catalytic antibodies correlate with favorable outcome in sepsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2005; 102(11): 4109-4113.
12. Моисеева А.М., Генералов И.И., Моисеев Д.В. Определение БАПНА-амидазной активности IgG методом ВЭЖХ. Вестник ВГМУ 2007; 1: 13-18.
13. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). М.; 1981.
14. Генералов И.И., Борисевич Т.Н., Кундер Е.В. и соавт. Методические подходы к определению окислительно-восстановительной активности антител. Вестник ВГМУ 2005; 3: 14-19.
15. Пат.1066 РБ, МСІ С12Q 1/34, С12N 9/22. Способ определения ДНК-азной активности. / Конорев М.Р., Азаренок К.С., Генералов И.И., Голубева А.Г. (РБ). N 243 А; 06.04.93.; опубл. 14.08.96.
16. Одинцова Е.С., Харитоновна М.А., Барановский А.Г. и соавт. Протеолитическая активность IgG антител из крови больных синдромом приобретенного иммунодефицита человека. ШАГИ профессионал 2006; 2: 62-72.
17. Генералов И.И. Абзимная активность иммуноглобулинов. Витебск: Издательство ВГМУ; 2000.