

И. М. БЫКОВ<sup>1</sup>, Л. Г. ИВЧЕНКО<sup>1</sup>, Д. А. ДОМЕНЮК<sup>2</sup>, Н. Ю. КОСТЮКОВА<sup>2</sup>,  
А. П. СТОРОЖУК<sup>1</sup>, Д. М. ИЛИДЖЕВ<sup>2</sup>

## ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ДЕТЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПЕРВОГО ТИПА

<sup>1</sup>Кафедра фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел.: 8(861)268-68-50; e-mail: ilyaMB@ksma.ru

<sup>2</sup>Кафедра стоматологии общей практики и детской стоматологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310; тел.: 8(918)870-12-05; e-mail: domenyukda@mail.ru

### РЕЗЮМЕ

**Цель.** Оценка состояния процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и показателей оксидативного стресса на модели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов крови у детей с сахарным диабетом 1 типа в зависимости от стадии компенсации эндокринопатии.

**Материалы и методы.** Материалом лабораторно-диагностических и клинических исследований явились результаты обследования 38 детей без эндокринной патологии и 89 детей с сахарным диабетом 1 типа на различных стадиях компенсации заболевания. Состояние антиоксидантной защиты оценивали с учётом общей антиокислительной активности, активности супероксиддисмутазы, уровня ретинола,  $\alpha$ -токоферола, содержания восстановленного и окисленного глутатиона. Интенсивность процессов липопероксидации изучали по уровню субстратов с сопряженными двойными связями, диеновых конъюгатов, кетодиенов, сопряженных триенов, малонового диальдегида, общих липидов. Функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов исследована с помощью люминол-зависимой хемилюминесценции.

**Результаты.** У детей с сахарным диабетом 1 типа против негативного воздействия активных форм кислорода отмечается интенсификация процессов липопероксидации и активизация системы антиоксидантной защиты, включающая разнонаправленные изменения неферментативных механизмов. У детей с декомпенсированным сахарным диабетом 1 типа выраженные нарушения липидного обмена, сочетающиеся с показателями оксидативного стресса, утяжеляют течение эндокринной патологии, существенно повышая вероятность возникновения внутрисосудистых осложнений.

**Заключение.** Согласованная генерация активных форм кислорода и процессов кислородозависимого метаболизма клеток крови у детей с компенсированным сахарным диабетом 1 типа указывает на развитие второй стадии (резистентности) оксидативного стресса. Сокращение продукции активных форм кислорода, снижение скорости активации кислородозависимого метаболизма фагоцитов, незавершённость механизмов фагоцитоза, коррелирующая с увеличением площади поражения (деструкции инсулинпродуцирующих  $\beta$ -клеток) поджелудочной железы у детей с декомпенсированным сахарным диабетом 1 типа, свидетельствует о наступлении третьей стадии (истощения) оксидативного стресса. Нарушения метаболических механизмов у детей с сахарным диабетом 1 типа определяются интенсивностью «респираторного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов в системе «Перекисное окисление липидов – Антиоксидантная защита».

**Ключевые слова:** сахарный диабет 1 типа, детское население, хемилюминесценция, нейтрофильные гранулоциты, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита

**Для цитирования:** Быков И.М., Ивченко Л.Г., Доменюк Д.А., Костюкова Н.Ю., Сторожук А. П., Илidgeв Д.М. Особенности свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у детей с сахарным диабетом первого типа. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017;24(4):27-38. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-4-27-38.

**For citation:** Bykov I.M., Ivchenko L.G., Domenyuk D.A., Kostyukova N.Yu., Storozhuk A. P., Ilijev D.M. Features of free radical oxidation and antioxidant protection in children with sugar diabetes of the first type. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2017;24(4);27-38. (In Russian). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-4-27-38.

**I. M. BYKOV<sup>1</sup>, L.G. IVCHENKO<sup>1</sup>, D.A. DOMENYUK<sup>2</sup>, N. YU. KOSTYUKOVA<sup>2</sup>, A. P. STOROZHUK<sup>1</sup>, M. ILIJEV<sup>2</sup>**

FEATURES OF FREE RADICAL OXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN CHILDREN WITH  
SUGAR DIABETES OF THE FIRST TYPE

<sup>1</sup>Department of fundamental and clinical biochemistry Kuban State Medical University of the Ministry  
of Health Care of the Russian Federation, 4 Sedina Street, Krasnodar, 350063, Russia;  
tel.: 8(861)268-68-50; e-mail: ilyaMB@ksma.ru

## SUMMARY

**Aim.** Assessment of the state of lipid peroxidation, antioxidant defense and oxidative stress indicators on the model of functional activity of neutrophil granulocytes of blood in children with type 1 diabetes mellitus depending on the stage of endocrinopathy compensation.

**Materials and methods.** The material of laboratory-diagnostic and clinical studies was the results of a survey of 38 children without endocrine pathology and 89 children with type 1 diabetes mellitus at various stages of disease compensation. The state of antioxidant protection was assessed taking into account the overall antioxidant activity, superoxide dismutase activity, retinol level,  $\alpha$ -tocopherol, the content of reduced and oxidized glutathione. The intensity of lipoperoxidation processes was studied by the level of substrates with conjugated double bonds, diene conjugates, ketodienes, conjugated trienes, malonic dialdehyde, common lipids. Functional activity of neutrophil granulocytes was investigated by means of luminol-dependent chemiluminescence.

**Results.** In children with type 1 diabetes mellitus, the intensification of lipid peroxidation processes and the activation of the antioxidant defense system, including variously directed changes in non-enzymatic mechanisms, are noted against the negative effect of active oxygen species. In children with decompensated type 1 diabetes mellitus, severe lipid metabolism disorders combined with oxidative stress indices increase the course of endocrine pathology, significantly increasing the likelihood of intravascular complications.

**Conclusion.** The coordinated generation of active forms of oxygen and the processes of oxygen-dependent metabolism of blood cells in children with compensated type 1 diabetes mellitus indicates the development of the second stage (resistance) of oxidative stress. Reduction of reactive oxygen species production, reduced activation rate oxygen-dependent metabolism phagocytes incompleteness phagocytosis mechanisms, correlating with an increase in lesion area (destruction of insulin-producing  $\beta$ -cells) of the pancreas in children with decompensated type 1 diabetes, indicating the occurrence of the third step (debilitation) oxidative stress. Violations of metabolic pathways in children with type 1 diabetes are determined by the intensity of «respiratory burst» of neutrophil granulocytes in the «Lipid peroxidation – antioxidant protection».

**Keywords:** type 1 diabetes mellitus, children's population, chemiluminescence, neutrophil granulocytes, lipid peroxidation, antioxidant protection

## Введение

Сахарный диабет (СД) – неинфекционное заболевание, для которого характерна эпидемическая скорость роста распространенности (определение ООН и ВОЗ, 2006). По данным экспертной оценки комиссии ВОЗ и ООН, среди всех заболеваний СД занимает четвертое место, являясь чрезвычайно значимой медицинской и социальной проблемой, причём аутоиммунным СД страдает один из каждых 500 детей и один из 200 подростков. Медико-социальная значимость СД 1 типа в детской популяции обусловлена высокой распространённостью (пик заболеваемости приходится на возраст 7–11 лет), прогрессирующим ростом заболеваемости, хроническим течением, развитием осложнений (сердечно-сосудистых, нефрологических, офтальмологических и т.д.), ранней инвалидизацией больных в социально активном жизненном периоде, снижением общей продолжительности жизни, преждевременной летальностью. Важно отметить, что СД в детском возрасте существенно изменяет жизненный уклад семьи, предопределяет будущее ребёнка, а также требует чрезмерных эмоциональных и физических усилий [1, 2, 3].

Целесообразность планирования лечебно-диагностических мероприятий при эндокринной патологии у детей с позиций подхода к организму как к единому целому очевидна [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

Независимо от успехов, достигнутых при изуче-

нии различных аспектов развития эндокринной патологии, а также разработки и внедрения комплекса научно-исследовательских, лечебно-диагностических и организационно-правовых мероприятий, отмечается прогрессирующий рост заболеваемости во всём мире. Число ежегодно регистрируемых в мире случаев СД 1 типа – 218 000 человек, из них дети в возрасте до 14 лет составляют порядка 40% от общего числа выявленных случаев (данные Международной Диабетической Федерации на 2013 год). По состоянию на 1 января 2015 года в Российской Федерации официально зарегистрировано 3 268 871 больных СД, из них 340 462 – с аутоиммунным сахарным диабетом, включая 16 654 детей и 9106 подростков (сведения Государственного регистра СД). Эпидемиологические показатели СД 1 типа среди детей Краснодарского края являются высокими: распространённость на 100 000 детского населения составляет  $71,60 \pm 2,90$  случаев, заболеваемость –  $11,66 \pm 1,95$  случаев [12, 13, 14, 15].

Механизмы липопероксидации играют значимую роль в процессах жизнедеятельности организма. Научно доказано, что свободнорадикальные реакции, протекающие на низком уровне функциональной активности, являются универсальными модификаторами структуры и функции клеточных мембран, принимая непосредственное участие в их восстановлении (обновлении). Под-

тверждена роль реакций свободнорадикального окисления в процессах лизиса микроорганизмов и фагоцитоза. Установлена роль механизмов липопероксидации в процессах клеточного деления и проведении нервных импульсов [16, 17].

Свободные радикалы – атомы, структурные фрагменты молекул или целые молекулы, имеющие неспаренные электроны на внешних орбиталях. Свободные радикалы имеют чрезвычайно высокую реакционную способность к взаимодействию с различными молекулами, вызывая их повреждение. Потенцирование процессов перекисного окисления липидов способствует резкому (скачкообразному) повышению уровня свободнорадикальных производных и экзо-, эндоцеллюлярных супероксидантных метаболитов кислорода, обладающих прямым токсическим эффектом. Высокий уровень функциональной активности свободнорадикальных и пероксидных реакций отмечается при влиянии на человеческий организм целого ряда внешних (промышленные загрязнения; гипербарическая оксигенация; гипоксия; вибрация; воздействие электромагнитных полей, радиоактивного и ультрафиолетового излучений) и внутренних (низкий уровень антиоксидантов, стресс, действие синтетических лекарств и ксенобиотиков, гиподинамия, старение организма, избыточное потребление жиров и углеводов) факторов. Синдром пероксидации играет существенную роль в патогенезе злокачественных новообразований, инфекционных заболеваний, атеросклероза, инфаркта, инсульта, ишемической болезни сердца, язвенной и ожоговой болезни, бронхолегочной патологии, синдрома адаптационного перенапряжения, диабета [18, 19, 20, 21].

Результаты, полученные отечественными и зарубежными специалистами, свидетельствуют, что установленным патогенетическим механизмом СД 1 типа является оксидативный стресс и активация процессов перекисного окисления липидов [22, 23, 24, 25]. Существенное повышение в плазме крови уровня глюкозы через процессы гликирования, аутоокисления глюкозы, а также внутриклеточной активации полиолового пути, потенцирующее дисбаланс соотношения NADH/NAD<sup>+</sup>, способствуют избыточному образованию и аккумуляции свободных радикалов. Формирующиеся при СД 1 типа метаболические сдвиги (гипергликемия, дислипидемия, изменение секреции инсулина, сокращение антиоксидантного резерва) запускают механизмы активации функционального состояния клеточных мембран, а также механизмы активации липидных медиаторов воспаления, контролируемые процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в зоне повреждения. Ключевым условием для процессов липопероксидации является образование активных форм кислорода. В связи с этим, объективная оценка интенсивности оксидативного стресса при СД 1 типа заключается в изучении степени выра-

женности гомеостатического дисбаланса, который обусловлен расходом нейтрофилами кислорода с образованием кислородозависимых систем бактерицидности, необходимых для элиминации агентов [26, 27].

Систематизируя опубликованные научные данные можно констатировать, что установление закономерностей свободнорадикальных процессов и особенностей функционирования различных компонентов антиоксидантной защиты, а также кислородозависимого метаболизма нейтрофилов у детей с СД 1 типа, позволит детализировать ранние диагностические критерии эндокринопатии, расширить научные представления о закономерностях изменений интенсивности липопероксидных процессов на различных стадиях компенсации заболевания. Также, полученные результаты повысят информативность диагностических и прогностических критериев в педиатрической практике, подтвердив целесообразность подхода к организму как целостной системе, способствуя поиску комплексных решений в лечении и реабилитации эндокринных заболеваний.

**Цель исследования:** оценка состояния процессов перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и показателей оксидативного стресса на модели функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов крови у детей с сахарным диабетом 1 типа в зависимости от стадии компенсации эндокринопатии.

### Материалы и методы

Исследования с участием детей соответствовали этическим стандартам биоэтического комитета, разработанным в соответствии с Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964) «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г., ст. 24 Конституции РФ, «Правилами клинической практики в РФ», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 и этическим стандартам Комитета по экспериментам, стандартам проведения клинических исследований (ГОСТ Р 52379-2005). Клинические и лабораторно-диагностические исследования 121 ребёнка второго периода детства, проведённые после получения информированного согласия родителей (опекунов), осуществлялись на базе кафедры фундаментальной и клинической биохимии КубГМУ, кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии СтГМУ, а также кафедры медицинской биохимии, клинической лабораторной диагностики и фармации Института живых систем Северо-кавказского Федерального университета. Согласно возрастной периодизации постнатального онтогенеза, принятой на VII Всесоюзной научной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии (Москва, 1965 г.), вторым периодом детства для

мальчиков является возраст 8-12 лет, для девочек – 8-11 лет [28,29,30]. Все обследованные были разделены на две группы. Группу сравнения составили 32 практически здоровых ребёнка (I-II группа здоровья, объединённых, согласно рекомендациям Ю.Е. Вельтищева (1994), в единую группу). Диагноз «здоров» поставлен по результатам заключения врача-педиатра. Основную группу (89 человек) составили дети с диагнозом «СД 1 типа», проходящие лечение в эндокринологических отделениях ГБУЗ МЗ СК «Детская Городская Клиническая Больница им. Г.К. Филиппского» г. Ставрополя и ГБУЗ МЗ КК «Детская Краевая Клиническая Больница» г. Краснодара в период с 2010 по 2017 год. Пациенты основной группы, в зависимости от степени компенсации эндокринопатии, разделены на две подгруппы. Первую подгруппу составили 46 детей (52,9%) с компенсированным СД 1 типа, вторую подгруппу – 43 ребёнка (47,1%) с декомпенсированным СД 1 типа. Согласно данным клинической истории болезни детей с СД 1 типа у 27 человек (30,3%) отмечается длительность заболевания до 1 года; у 43 человек (48,3%) – длительность заболевания от 1 года до 5 лет; у 19 человек (21,4%) – длительность заболевания свыше 5 лет (рис. 1).



Рис. 1. Длительность течения сахарного диабета 1 типа у детей основной группы.

В категории с длительностью эндокринопатологии «До одного года» преобладали дети с декомпенсированным СД 1 типа (20 человек – 74,1%), а компенсированный СД 1 типа установлен только у 7 детей (25,9%). Разделение по степени компенсации эндокринопатологии детского населения с ди-

агнозом «СД 1 типа» на подгруппы базировалось на критериях компенсации углеводного обмена (Дедов И.И., 2007). Показатели уровня гликемии фиксировались из клинической истории болезни ребенка (табл. 1).

Диагноз «СД 1 типа» детям исследуемых групп поставлен по результатам лабораторных исследований (общий анализ крови, анализ мочи, биохимический анализ крови с определением уровня содержания глюкозы в крови) и клинического обследования врачом-эндокринологом в условиях ГБУЗ МЗ СК «Детская Городская Клиническая Больница им. Г.К. Филиппского» г. Ставрополя, ГБУЗ МЗ КК «Детская Краевая Клиническая Больница» г. Краснодара.

Материалом для исследования показателей системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов являлись сыворотка крови и гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Забор крови из локтевой вены с помощью вакуумной системы (венепункция) осуществлялся в соответствии с общеустановленным алгоритмом забора крови из вены утром натощак. Состояние антиоксидантной защиты оценивали с учётом следующих параметров:

– Общая антиокислительная активность (АОА). Для этого была использована модельная система, включающая суспензию липопroteидов желтка куриных яиц, которая позволяет изучить способность сыворотки крови замедлять процессы накопления тиобарбитуровой кислоты (ТБК) активных продуктов в суспензии (Г.И. Клебанова, 1988).

– Активность супероксиддисмутазы (СОД). Определение активности СОД проведено на спектрофлуориметре ( $\lambda=320$  нм) с помощью кривой, которая отражает ферментативное ингибирование аутоокисления адреналина. В качестве единицы ферментативной активности принято количество СОД, необходимое для ингибирования аутоокисления адреналина в адренохром на 50% (Н.Р. Misra, I. Fridovich, 1972).

– Определение ретинола и  $\alpha$ -токоферола проведено флуориметрическим методом (Р.Ч. Черняускене, 1984). В качестве внешнего стандарта был использован all-trans-retinol («Sigma») и L,D, $\beta$ -токоферол («Serva»).

– Содержание восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатиона установлено флуоро-

Таблица 1

### Критерии компенсации углеводного обмена при сахарном диабете 1 типа

Показатели		Компенсация	Субкомпенсация	Декомпенсация
HbA1c, (%)		6,0 – 7,0	7,1 – 7,5	>7,5
Самоконтроль глюкозы в капиллярной крови, ммоль/л (мг%)	Гликемия натощак	5,0 – 6,0	6,1 – 6,5	> 6,5
		(90 – 109)	(110 – 120)	(> 120)
	Постпрандиальная гликемия (2 ч после еды)	7,5 – 8,0	8,1 – 9,0	> 9,0
		(136 – 144)	(145 – 160)	(> 160)
	Гликемия перед сном	6,0 – 7,0	7,1 – 7,5	> 7,5
		(110 – 126)	(127 – 135)	(> 135)

метрическим методом при одинаковых условиях регистрации флуоресценции (P.J. Hissin и R. Hilf (1976)). Измерения осуществлялись на спектрофлуорофотометре при  $\lambda=350$  нм и  $\lambda=420$  нм соответственно.

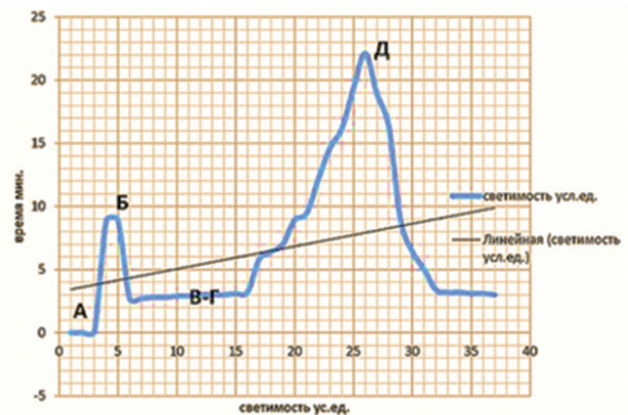
Интенсивность процессов липопероксидации изучали по уровню субстратов с сопряженными двойными связями (ДС). Диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены (КТ) и сопряженные триены (СТ) определяли с помощью спектрофотометрического метода, основанного на измерении поглощения в оптической области электромагнитного излучения конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в следующих спектрах: ДС –  $\lambda=220$  нм, ДК –  $\lambda=232$  нм, КД и СТ –  $\lambda=278$  нм (метод J. Stocks (1974) в модификации И.А. Волчегорского (1989, 2000)). Принцип метода изучения малонового диальдегида (МДА), конечного продукта свободно-радикального окисления полиненасыщенных высших жирных кислот, основан на необратимой денатурации белков, возникающей при взаимодействии  $\text{NH}_2$ -групп белков с альдегидными группами МДА. При реагировании МДА с ТБК образовывался триметиловый комплекс (окрашенное соединение). Оптическую плотность ТБК-активных продуктов липопероксидации определяли флуориметрически ( $\lambda=532$  нм) и рассчитывали концентрацию МДА исходя из молярного коэффициента экстинкции триметилового (окрашенного) комплекса (В.Б. Гаврилова, (1987)).

Уровень общих липидов (ОЛ) изучен с помощью спектрофотометрического метода на лабораторном полуавтоматическом биохимическом анализаторе «BioChem SA» («High Technology Inc.», США) с использованием набора реагентов («Spinreact», Испания). Измерения проведены на спектрофлуорофотометре «RF-5301PC» («SHIMADZU», Япония) и спектрофлуориметре «CM2203» («Солар», Белоруссия).

Для объективной оценке состояния процессов антиоксидантной защиты и липопероксидации рассчитан коэффициент окислительного стресса (КОС). Данный коэффициент представляет собой соотношение значений антиоксидантной защиты и липопероксидации у детей с компенсированным СД 1 типа (1-я подгруппа) и декомпенсированным СД 1 типа (2-я подгруппа) к среднестатистическим значениям здоровых детей (группа сравнения). При величине КОС более единицы фиксируется наличие оксидативного стресса.

Для углубленного изучения состояния свободнорадикального окисления у детей исследуемых групп в условиях *in vivo* исследована функциональная активность нейтрофильных гранулоцитов с помощью хемилюминесцентного (ХЛ) метода (De Sole P, (1983)). Принцип метода хемилюминесцентного анализа базируется на регистрации квантового потока, формирующегося при переходе вещества из электронно-возбужденного состояния в основное. Методика проведения. Нейтрофильные

гранулоциты выделены из венозной крови обследуемых детей путём добавления 1 мл полиглюкина к 5 мл крови с гепарином с последующей инкубацией 30 мин при  $T=37^\circ\text{C}$ . Затем проведено наложение надосадочной жидкости на двойной градиент плотности фиколюрографина ( $c=1,077$  г/см<sup>3</sup> для отделения лимфоцитов;  $c=1,199$  г/см<sup>3</sup> для отделения нейтрофилов) и центрифугирование 45 минут при 400g. Чистота выхода нейтрофилов (97%) определялась при контроле морфологического состава лейкоцитарных взвесей. Суспензию нейтрофилов без фенолового красного дважды отмывали в р-ре Хенкса при 400 g по 10 мин. После сливания супернатанта, оставшиеся гранулоциты разведены в 1 мл р-ра Хенкса для получения взвеси. Подсчёт нейтрофилов осуществляли в камере Горяева – для ХЛ анализа использовано 24106 клеток. Для изучения спонтанной хемилюминесценции к 0,1 мл взвеси добавляли 1,9 мл 10<sup>-5</sup> М р-ра люминола, многократно усиливающего световой поток, который регистрировался датчиком и отображался в виде кривой. Время откладывалось на оси X, интенсивность излучения – на оси Y, характеризуя число квантов света на единице поверхности датчика. Для определения индуцированной хемилюминесценции к 0,1 мл взвеси прибавляли 0,05 мл 1% р-ра не связанного зимозана, инкубировали 5 минут, далее вносили 2 мл 10<sup>-5</sup> М р-ра люминола и изучали свечение. Оценка люминол-зависимой спонтанной (ЛЗХЛ) и зимозан-индуцированной хемилюминесценции (ЗИХЛ) проводилась в течение 90 минут на 36-канальном анализаторе «CL3604» (Россия). Интенсивность свечения анализатора 5,14105 квантов в секунду принята за 1 у.е. (рис. 2).



**Рис. 2.** Кривая спонтанной ЛЗХЛ венозной крови: А – спонтанное свечение; Б – быстрая вспышка; В, Г – латентный период; Д – медленная фаза свечения.

Результаты исследования базировались на следующих показателях:  $T_{\text{max}}$  – время для выхода на максимум;  $I_{\text{max}}$  – максимальный уровень интенсивности;  $S$  – площадь под кривой ХЛ; индекс активации (ИА) – отношение площади ЗИХЛ к площади ЛЗХЛ, устанавливающее усиление ХЛ, индуцированное зимозаном. Управление анализа-

тором и регистрация результатов осуществлялась через компьютер. Статистическая обработка материала, включающая систематизацию полученных данных, построение графических изображений и таблиц, проведена с использованием методов вариационной статистики. Результаты представлены в виде средней арифметической и её стандартной ошибки. Достоверность различий между группами ( $p$ ) оценивалась согласно  $t$ -критерия Стьюдента. Различия показателей считали значимыми при  $p < 0,05$ . Расчеты проведены с использованием программ STATISTICA 10.0, DBASE, STATGRAF, STAT4 (Stat Soft Inc., США), а также Med Calc (версия 9.3.5.0), SPSS (версия 7.5).

### Результаты и обсуждение

Система антиоксидантной защиты включает в себя «непрямую» и «прямую» составляющие. Непрямая составляющая антиоксидантной защиты оптимизирует функционирование базового метаболизма, который не предполагает генерацию чрезмерного количества продуктов липопероксидации и активных форм кислорода. Базируясь на данное положение, объективным способом регулирования кислородно-перекисного состояния и зависимых сигнальных путей, определяющих течение всех фундаментальных клеточных процессов, является изменение «митохондриальной базы», включающей в себя активность, а также количественные и качественные составляющие митохондрий. Прямая составляющая антиоксидантной защиты включает в себя комплекс низко- и макромолекулярных соединений эндогенного происхождения. Ключевую роль в системе антиоксидантной защиты играют антиоксидантные ферменты – факторы первой линии защиты от продуктов свободнорадикального окисления и липопероксидации, к которым относится комплекс ферментов системы функционирования глутатиона (GR, GPO, GST), пероксидаза, каталаза, миелопероксидаза, параоксоназа, аконитаза, а также супероксиддисмутаза.

Показатели антиоксидантной защиты у пациентов исследуемых групп представлены в табл. 2.

В организме человека при физиологических условиях отмечается сбалансированное равновесие между уровнем оксидантов (свободных радикалов) и состоянием активности антиоксидантной защиты. Наличие окислительного стресса провоцирует рост числа свободных радикалов, оказывающих повреждающее действие на клеточные структуры. Увеличение (аккумуляция) содержания свободных радикалов в тканях организма нарушает равновесный системный баланс. К одним из значимых параметров, регулирующих буферную ёмкость системы антиоксидантной защиты, относится общая АОА, которая включает в себя большое количество звеньев неферментативной и ферментативной природы. Из базовых компонентов ферментативной природы следует отметить жирорастворимые витамины (ретинол,  $\beta$ -токоферол) и супероксиддисмутазу. Научно апробировано, что  $\alpha$ -токоферол, относящийся к обязательным составляющим всех плазматических мембран, способствует образованию слабоактивных радикалов, которые не способны поддерживать цепные реакции липопероксидации. Кроме того, данный жирорастворимый витамин делает мембранные фосфолипиды менее доступными к процессу переокисления за счёт повышения плотности их упаковки. У детей с диагнозом «СД 1 типа», в сравнении с параметрами здоровых детей, отмечается активизация системы антиоксидантной защиты (табл. 2). По нашему мнению, данное состояние у детей основной группы, характеризующееся приростом показателей общей АОА (стадия компенсации –  $11,7 \pm 0,7\%$ ; стадия декомпенсации –  $40,4 \pm 2,3\%$ ), снижением концентрации ретинола ( $5,6 \pm 0,3\%$  и  $25,7 \pm 1,4\%$  соответственно) и  $\alpha$ -токоферола ( $6,1 \pm 0,2\%$  и  $32,6 \pm 1,7\%$  соответственно), рассматривается в качестве защитного механизма в ответ на усиливающуюся генерацию активных форм кислорода (окислительного стресса) для снижения тяжести течения эндокринопатологии. Доказано, что глутатион свои защитные свойства выполняет только в восстановленной (GSH) форме, а сдвиги глутатионового статуса

Таблица 2

### Показатели антиоксидантной защиты у пациентов исследуемых групп, ( $M \pm m$ ), ( $p \leq 0,05$ )

Показатели, единицы измерения	Группа сравнения (здоровые дети)	Дети с СД 1 типа	
		Компенсированный СД 1 типа	Декомпенсированный СД 1 типа
Общая антиокислительная активность, у.е.	$15,07 \pm 1,61$	$16,84 \pm 1,19$	$21,16 \pm 1,33$
Ретинол, мкмоль/л	$1,87 \pm 0,19$	$1,76 \pm 0,16$	$1,39 \pm 0,28$
$\alpha$ -токоферол, мкмоль/л	$6,69 \pm 0,58$	$6,28 \pm 0,43$	$4,51 \pm 0,67$
Восстановленный глутатион, мкмоль/л	$2,72 \pm 0,13$	$2,66 \pm 0,11$	$2,57 \pm 0,16$
Окисленный глутатион, мкмоль/л	$1,78 \pm 0,19$	$1,84 \pm 0,22$	$2,17 \pm 0,14$
Супероксиддисмутаза, у.е.	$1,52 \pm 0,08$	$1,46 \pm 0,06$	$1,27 \pm 0,11$

Показатели липопероксидации у пациентов исследуемых групп, ( $M \pm m$ ), ( $p \leq 0,05$ )

Показатели, единицы измерения	Группа сравнения (здоровые дети)	Дети с СД 1 типа	
		Компенсированный СД 1 типа	Декомпенсированный СД 1 типа
Субстраты с сопряженными двойными связями, у.е.	1,41 ± 0,14	1,53 ± 0,11	1,92 ± 0,19
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	0,48 ± 0,04	0,57 ± 0,03	0,86 ± 0,09
Кетодиены и сопряженные триены, у.е.	0,16 ± 0,02	0,19 ± 0,03	0,26 ± 0,05
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	1,46 ± 0,13	1,59 ± 0,12	2,29 ± 0,17
Общие липиды, г/л	4,09 ± 0,27	4,37 ± 0,38	5,96 ± 0,59

имеют негативное воздействие на развитие осложнений и исход заболевания. Усиленное образование глутатиона в окисленной (GSSG) форме (3,4±0,2% и 21,9±1,3% соответственно) на фоне снижения активности СОД (3,9±0,4% и 16,4±0,9% соответственно) и содержания глутатиона в восстановленной (GSH) форме (2,2±0,2% и 5,5±0,3% соответственно) у детей с СД 1 типа, в сравнении с показателями здоровых детей, свидетельствует не только об активизации системы антиоксидантной защиты и напряжении редокс-системы глутатиона, но и замедлении цепного окисления липидов, т.к. действие СОД направлено, в первую очередь, на удаление супероксидных радикалов. Изучение системы глутатиона в эритроцитах детей с СД 1 типа указывает на снижение активности GSH – основного компонента антиокислительной системы, что, с нашей точки зрения, является следствием повреждающего эффекта активных форм кислорода. Понижение уровня GSH увеличивает доступность мембран для токсического действия продуктов липопероксидации. Снижение антиоксидантной защиты клеток, проявляющееся в увеличении концентрации GSSG, ускоряет процессы инактивации и окисления тиоловых групп белков, утяжеляя течение оксидативного стресса.

Научно аргументировано, что дефицит инсулина (абсолютный, относительный) при СД 1 типа способствует повышению концентрации липидных перекисей. Эффект действия гормона инсулина, выступающего в качестве ингибитора процессов липопероксидации, направлен не только на утилизацию перекисных соединений и усиление подвижности (лабильности) мембранных липидов, но и включает в себя разнонаправленные изменения неферментативного звена (гликозилирования белков). При увеличении степени тяжести эндокринопатии отмечается прогрессирование активности процессов липопероксидации, что выражается цитотоксическим эффектом. Развитие данного патофизиологического процесса, заключающегося в инактивации (ингибировании) мембранно-связанных ферментов (активности цитохромоксидазы), проявляется в виде повреждения мембран эритроцитов и лизосом. Возникающие морфологиче-

ские, структурные и функциональные изменения в эндотелиальных клетках и гладкомышечных элементах сосудистой стенки, зачастую приводящие к разрыву, способствуют прогрессированию сосудистых осложнений и формированию диабетических ангиопатий.

Показатели липопероксидации у пациентов исследуемых групп представлены в табл. 3.

У детей с диагнозом «СД 1 типа», в сравнении с данными здоровых детей, по всем показателям наблюдается интенсификация (усиление интенсивности) процессов липопероксидации: увеличение субстратов с сопряженными двойными связями (стадия компенсации – 8,5±0,5%; стадия декомпенсации – 36,2±2,1%); аккумуляция ДК – первичных продуктов пероксидации липидов (18,8±1,2% и 79,2±3,7% соответственно); накопление содержания КД и СТ – промежуточных продуктов липопероксидации (18,7±1,4% и 62,5±3,1% соответственно); увеличение уровня МД – конечного продукта пероксидации липидов (8,9±0,7% и 56,8±2,7% соответственно); ОЛ – 6,8±0,4% и 45,7±2,3% соответственно. Важно отметить, что у детей с декомпенсированным СД 1 типа отмечается существенное накопление малонового диальдегида – самого токсичного продукта. С нашей точки зрения у детей с декомпенсированным СД 1 типа наиболее выраженные показатели прироста инициации процессов липопероксидации на стадии первичных, промежуточных и конечных продуктов, в сравнении с параметрами активизации системы антиоксидантной защиты, способствуют утолщению базальной мембраны стенок кровеносных сосудов, увеличению вязкости крови, замедлению кровотока, повышая, тем самым, вероятность возникновения внутрисосудистых коагулопатий (агрегации форменных элементов крови) и нарушения различных звеньев гемостаза.

Диапазон колебаний коэффициента оксидативного стресса у пациентов исследуемых групп представлен в табл. 4.

Антиоксидантная защита является сложной, многоступенчатой системой, блокирующей переход процессов липопероксидации из физиологического состояния в патологическое (оксида-

**Диапазон колебаний коэффициента оксидативного стресса у пациентов исследуемых групп, (у.е.), (M±m), (p≤0,05)**

Группа сравнения (здоровые дети)	Дети с СД 1 типа	
	Компенсированный СД 1 типа	Декомпенсированный СД 1 типа
Менее 1	1,03 –1,18	1,08 –1,79

тивный стресс). Оксидативный стресс различной степени тяжести, сформированный в результате расстройства механизмов антиоксидантной защиты, не только сопутствует течению классического стресса, но и может проявляться в качестве ключевого фактора патологического состояния. У детей с декомпенсированным СД 1 типа при длительном течении заболевания вероятность формирования оксидативного стресса (КОС более 1), за счет нарушения взаимоотношения составляющих (редокс-метаболизм и сосудистые осложнения) в едином механизме напряжения (стресса) всех физиологических систем, существенно возрастает.

Увеличение активности свободнорадикального окисления, рассматривающегося в качестве объективного показателя состояния макроорганизма, сопровождается морфологическими и функциональными нарушениями биологических мембран. Комплекс данных процессов, включающих в себя уменьшение стабильности липидного слоя мембран, усиление перекисидации белков, липидов, ионной проницаемости, является основой патогенеза различных заболеваний на молекулярном уровне. Использование ХЛ анализа, обладающего высокой информативностью, чувствительностью, надежностью, позволяет объективно и достоверно оценить наличие морфологических и метаболических нарушений при формировании и развитии эндокринной патологии на молекулярном уровне (изучение фотохимических реакций, электронных возбужденных состояний молекул, структуры и свойств биологических систем, динамики молекулярных переходов).

Согласно современным результатам изучения биологических структур с использованием ХЛ анализа установлена их связь со свободнорадикальным окислением в макроорганизме, протекающим за счет восстановления до активных форм (гидроксильного- и супероксидного анион-радикалов, синглетного кислорода) молекулярного кислорода. Важнейшим источником активных форм кислорода являются процессы аутоокисления липидов, протекающие с высвобождением свободных радикалов. При рекомбинации пероксидов, образующихся при взаимодействии свободных радикалов с кислородом, происходит выделение квантов света. Эмиссия фотонов отмечается также при возбуждении кетонов, молекул димеров кислорода, альдегидов, оксалатов, циклических гидроперекисей, альдегидов, биогенных аминов, распаде промежуточных продуктов реакций с молекулярным кислородом (перекисей). Ингибирование про-

цессов свободнорадикального окисления в организме осуществляется за счет природных антиоксидантов гидрофильных (аскорбиновая кислота, сульфгидрильные соединения SH- группы белков) и гидрофобных (флавины, токоферолы, стероиды, каротиноиды) фаз. С этой позиции, ХЛ активность свидетельствует не только об избыточном свободнорадикальном окислении в организме, но и низкой активности (недостатке) антиоксидантов. Изучение интенсивности спонтанного излучения, пропорционального скорости рекомбинации свободных радикалов, не даёт объективной оценки о причинах изменения скорости свободнорадикального окисления. В связи с этим заслуживает внимания метод искусственного инициирования свободнорадикальных реакций с использованием люминола при последующем анализе индуцированной ХЛ. В присутствии активных форм кислорода происходит окисление люминола с образованием электронвозбужденных карбонильных хромофоров. Установленные функциональные группы, имеющие высокий квантовый выход, существенно повышают интенсивность свечения за счёт образования активных форм кислорода. Данное явление успешно применяется с целью исследования функционального уровня фагоцитарного звена иммунитета. Недостаточная генерация активных форм кислорода, направленная на инактивацию антигенов, характеризует сниженную скорость активации кислородозависимого метаболизма фагоцитов, а также незавершённость фагоцитоза.

Научно аргументировано, что механизмы «неспецифического иммунитета» являются начальными этапами при контакте антигенов (чужеродных агентов) с организмом. Нейтрофильные гранулоциты, обладающие высокой реактивностью, в ответ на многочисленные сигналы о дестабилизации внутренней среды способны к быстрой функциональной перестройке, определяя характер развития процесса воспаления. Так называемый «дыхательный (кислородный) взрыв», обусловленный резким подъёмом использования кислорода за счёт его преобразования фагоцитами в активные формы, определяет скорость мобилизации нейтрофилов, потенцируя запуск защитных систем организма. Способность нейтрофильных гранулоцитов крови образовывать достаточное количество активных форм кислорода является прогностическим признаком характера (типа) протекания воспалительных процессов, а ответная реакция на раздражение позволяет объективно оценить активность защитных сил организма. Исследова-



ние механизмов оксидативного стресса на модели нейтрофильных гранулоцитов, обладающих высокой диагностической значимостью, позволяют существенно расширить информативность оценки состояния свободнорадикального окисления, как показателя состояния организма, у детей с СД 1 типа в различные фазы заболевания. Показатели люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов крови у пациентов исследуемых групп представлены в табл. 5.

пации у детей с декомпенсированным СД 1 типа, в сравнении с параметрами детей основной группы 1-й подгруппы, также зафиксирована разнонаправленная динамика изменения величин спонтанной ЛЗХЛ (снижение показателей  $I_{\max}$  в 1,9 раза и  $S$  – в 1,7 раза; рост параметров  $T_{\max}$  в 1,5 раза) и зимозан-индуцированной ЛЗХЛ (снижение показателей  $I_{\max}$  в 1,5 раза и  $S$  – в 1,4 раза; рост параметров  $T_{\max}$  в 1,6 раза). Сокращение неспецифической противомикробной защиты у детей с

Таблица 5

**Показатели люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов крови у пациентов исследуемых групп, ( $M \pm m$ )**

Параметры	Группа сравнения (здоровые дети)		Дети с СД 1 типа			
			Компенсированный СД 1 типа		Декомпенсированный СД 1 типа	
	Диапазон значений	Среднее значение	Диапазон значений	Среднее значение	Диапазон значений	Среднее значение
<b>Хемилюминесценция спонтанная</b>						
$T_{\max}$ , сек	573,4-1478,7	905,3±34,1	417,6-1084,9*	667,3±23,8*	614,6-1583,5*	968,9±31,7*
$I_{\max}$ , о.е.Ч103	3,03-12,96	9,93±0,67	28,87-80,33**	51,46±3,78**	16,23-43,91**	27,68±2,14**
$S$ , о.е.Ч105	2,82-6,74	3,92±0,31	17,58-49,22**	31,64±2,06**	9,84-28,21**	18,37±1,95**
<b>Зимозан-индуцированная хемилюминесценция</b>						
$T_{\max}$ , сек	772,8-1297,4	1035,1±38,6	593,9-1311,3*	717,2±26,3*	472,2-1559,2*	1087,0±43,1*
$I_{\max}$ , о.е.Ч103	9,72-29,06	19,34±1,26	36,63-135,16**	98,53±5,34**	34,18-99,57**	65,39±4,02**
$S$ , о.е.Ч106	3,19-10,32	7,13±0,58	30,46-82,03**	51,57±3,29**	16,44-51,16**	34,72±2,19**
ИА		1,82		1,63		1,89

**Примечание:** статистически достоверные различия с показателями детей группы сравнения (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ).

Результаты изучения параметров люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов крови у пациентов основной группы свидетельствуют, что у детей с СД 1 типа в стадии компенсации отмечается разнонаправленная динамика изменения параметров спонтанной ЛЗХЛ в сравнении с аналогичными показателями здоровых детей (увеличение показателей  $I_{\max}$  в 5,2 раза и  $S$  – в 8,1 раза; уменьшение значений  $T_{\max}$  в 1,4 раза). Данный характер изменения величин указывает на адекватную генерацию активных форм кислорода и процессов кислородозависимого метаболизма клеток крови в ответ на ранние фазы селективного органоспецифического разрушения инсулинпродуцирующих  $\beta$ -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы. Уменьшение темпов прироста максимального значения интенсивности ( $I_{\max}$ ) при зимозан-индуцированной ЛЗХЛ у детей данной подгруппы, в сравнении с динамикой изменения параметров спонтанной ЛЗХЛ подтверждает, что развитие начальной стадии деструкции в островковых клетках коррелирует со снижением резервных сил антимикробной защиты нейтрофильных гранулоцитов.

При увеличении степени тяжести эндокрино-

декомпенсированным СД 1 типа, протекающее на фоне увеличения площади поражения (деструкции инсулинпродуцирующих  $\beta$ -клеток островков Лангерганса) поджелудочной железы, является следствием развития следующих патофизиологических механизмов:

- снижения скорости развития метаболических процессов, сопровождающихся образованием «дыхательного взрыва»;
- уменьшения продукции активных форм кислорода;
- истощения фагоцитарной активности макрофагов.

С нашей точки зрения данное состояние свидетельствует о наличии длительного хронического воспалительного процесса, которое сочетается с истощением защитно-компенсаторных механизмов, направленных на нормализацию процессов жизнедеятельности организма в условиях воспаления.

Таким образом, у детей с СД 1 типа во все фазы заболевания против отрицательного воздействия активных форм кислорода активизируется система антиоксидантной защиты, включающая разнонаправленные изменения неферментатив-

ных механизмов. Прирост показателей общей антиокислительной активности (стадия компенсации –  $11,7 \pm 0,7\%$ ; стадия декомпенсации –  $40,4 \pm 2,3\%$ ), снижение уровня ретинола ( $5,6 \pm 0,3\%$  и  $25,7 \pm 1,4\%$ ) и  $\alpha$ -токоферола ( $6,1 \pm 0,2\%$  и  $32,6 \pm 1,7\%$ ), в сравнении с аналогичными величинами здоровых детей, является защитной реакцией в ответ на усиливающуюся генерацию активных форм кислорода для снижения тяжести течения эндокринопатии.

Существенный прирост содержания в венозной крови у детей с аутоиммунным СД, в сравнении с показателями здоровых детей, глутатиона в окисленной (GSSG) форме (стадия компенсации –  $3,4 \pm 0,2\%$ ; стадия декомпенсации –  $21,9 \pm 1,3\%$ ) на фоне снижения активности супероксиддисмутазы ( $3,9 \pm 0,4\%$  и  $16,4 \pm 0,9\%$ ) и уровня глутатиона в восстановленной (GSH) форме ( $2,2 \pm 0,2\%$  и  $5,5 \pm 0,3\%$ ), свидетельствует о напряжении редокс-системы глутатиона и замедлении цепного окисления липидов. Результатом напряжения редокс-системы является ингибирование антиперекисных ферментов и снижение уровня антиоксидантов, обеспечивающих постоянство антипероксидного и антирадикального потенциалов клеток.

У детей с диагнозом «СД 1 типа» во все стадии патологии установлена интенсификация процессов липопероксидации. В сравнении с данными здоровых детей фиксируется повышение уровня субстратов с сопряженными двойными связями (стадия компенсации –  $8,5 \pm 0,5\%$ ; стадия декомпенсации –  $36,2 \pm 2,1\%$ ), аккумуляция диеновых конъюгатов ( $18,8 \pm 1,2\%$  и  $79,2 \pm 3,7\%$ ), накопление содержания кетодиенов и сопряженных триенов ( $18,7 \pm 1,4\%$  и  $62,5 \pm 3,1\%$ ) а также увеличение уровня малонового диальдегида ( $8,9 \pm 0,7\%$  и  $56,8 \pm 2,7\%$ ) и общих липидов –  $6,8 \pm 0,4\%$  и  $45,7 \pm 2,3\%$  соответственно.

У детей с аутоиммунным СД в фазе декомпенсации выраженные нарушения липидного обмена, сочетающиеся с показателями оксидативного стресса, утяжеляют течение эндокринной патологии, существенно повышая вероятность возникновения внутрисосудистых осложнений (коагулопатий).

К высокоинформативным, диагностически значимым факторам риска раннего развития микрососудистых ангиопатий следует относить уровень общей антиокислительной активности, а также содержание диеновых конъюгатов и общих липидов в венозной крови.

Анализ результатов исследования функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов крови у детей с СД 1 типа с использованием люминол-зависимой хемилюминесценции свидетельствуют об увеличении интенсивности образования активных форм кислорода не только при спонтанной хемилюминесцентной реакции, но и зимозан-индуцированной (нагрузочной) хемилюминесценции относительно аналогичных показателей здоровых детей.

Применение метода спонтанной и индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции при исследовании показателей оксидативного стресса на модели нейтрофильных гранулоцитов у детей с аутоиммунным сахарным диабетом является объективным, экономически целесообразным, высокочувствительным экспресс способом оценки функционального состояния фагоцитарного звена иммунитета, позволяющим, при этом, регистрировать и кинетическую составляющую процесса фагоцитоза.

У детей в декомпенсированной стадии СД 1 типа изменения в системе «Перекисное окисление липидов – Антиоксидантная защита», обусловленные интенсификацией процессов липопероксидации на фоне активизации механизмов антиоксидантной защиты, соответствуют синдрому системного воспалительного ответа, протекающего с максимальным напряжением защитно-компенсаторных механизмов организма.

### Заключение

Согласованная генерация активных форм кислорода и процессов кислородозависимого метаболизма клеток крови у детей с аутоиммунным сахарным диабетом в фазе компенсации, указывает на развитие второй стадии (резистентности) оксидативного стресса. Сокращение продукции активных форм кислорода, снижение скорости активации кислородозависимого метаболизма фагоцитов, незавершенность механизмов фагоцитоза, коррелирующая с увеличением площади поражения (деструкции инсулинпродуцирующих  $\beta$ -клеток) поджелудочной железы у детей в декомпенсаторной фазе эндокринопатии, свидетельствует о наступлении третьей стадии (истощения) оксидативного стресса. Нарушения метаболических механизмов у детей с различной тяжестью аутоиммунного сахарного диабета определяются интенсивностью «респираторного взрыва» нейтрофильных гранулоцитов в системе «Перекисное окисление липидов – Антиоксидантная защита». Данные сдвиги являются основанием индивидуального, патогенетически обоснованного подхода к проведению комплексного лечения, направленного на восстановление основных метаболических процессов фагоцитов с применением антиоксидантов и препаратов, нормализующих липидный обмен.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Кураев Т.К., Петеркова В.А. Сахарный диабет у детей и подростков: Руководство. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 272 с.
2. Kostolanska J., Jakus V., Barak L. Glycation and lipid peroxidation in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus with and without diabetic complications. J. Pediatr. Endocrinol. Metab. 2009; 22(7): 635-643.
3. Schalkwijk G.G., Stehouwer C.D. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. Clin. Sci (Lond). 2005; 109(2): 143-159.

4. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Ведешина Э.Г. Изменение маркеров метаболизма костной ткани в сыворотке крови и ротовой жидкости у пациентов с зубочелюстными аномалиями (Часть I). *Институт стоматологии*. 2015; 4(69): 98-101.
5. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Ведешина Э.Г. Изменение маркеров метаболизма костной ткани в сыворотке крови и ротовой жидкости у пациентов с зубочелюстными аномалиями (Часть II). *Институт стоматологии*. 2016; 1(70): 64-66.
6. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Ведешина Э.Г. Морфология твёрдой фазы ротовой жидкости как метод диагностики зубочелюстных аномалий (Часть I). *Институт стоматологии*. 2016; 3(72): 52-55.
7. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Ведешина Э.Г. Морфология твёрдой фазы ротовой жидкости как метод диагностики зубочелюстных аномалий (Часть II). *Институт стоматологии*. 2016; 4(73): 72-75.
8. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Ведешина Э.Г. Совершенствование методов диагностики зубочелюстных аномалий по результатам изучения функциональных сдвигов в системе орального гомеостаза (Часть I). *Институт стоматологии*. 2016; 2(71): 74-77.
9. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Ведешина Э.Г. Совершенствование методов диагностики зубочелюстных аномалий по результатам изучения функциональных сдвигов в системе орального гомеостаза (Часть II). *Институт стоматологии*. 2016; 3(72): 58-61.
10. Доменюк Д.А., Гильмиярова Ф.Н., Быкова Н.И. Метаболические и микробиологические особенности биотопов полости рта у детей с зубочелюстной патологией. *Ставрополь: СтГМУ*, 2017. 312 с.
11. Karslieva A.G., Domenyuk D.A., Zelensky V.A. Mixed saliva trace element composition in children with dentoalveolar anomalies through apparatus-involved treatment. *Archiv EuroMedica*, 2014; 4(1): 29-35.
12. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. Государственный регистр сахарного диабета в российской Федерации: статус 2014 г. и перспективы развития. *Сахарный диабет*. 2015; 18(3): 5-22.
13. Басинская Л.А., Комаровских Е.Н., Сахнов С.Н. Распространённость сахарного диабета первого и второго типов в Краснодарском крае. *Бюллетень*. 2013; 50 (1): 126-129.
14. King H., Aubert R.E., Herman W.H. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care*. 1998; 21(9): 1414-1431.
15. Mc Carty D., Zimmet P. Diabetes. Global Estimates and Projections 1994 to 2010. *International Diabetes Institute*. 1994.
16. Балаболкин М.И., Креминская В.М., Клебанова Е.М. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами  $\alpha$ -липоевой кислоты. *Проблемы эндокринологии*. 2005; 51(3): 22-32.
17. Takayanagi R., Inoguchi T., Ohnaka K. Clinical and experimental evidence for oxidative stress as an exacerbating factor of diabetes mellitus. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2010; 48(1): 72-77.
18. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Мамаева Г.Г. Сахарный диабет: ангиопатии и окислительный стресс: Пособие для врачей. М., 2003. 86 с.
19. Ивченко Л.Г., Доменюк Д.А. Диагностика иммунометаболических расстройств у детей с сахарным диабетом 1 типа. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017; 1(2): 73-82. DOI:10.25207/1608-6228-2017-2-73-82.
20. Заводник И.Б., Дремза И.К., Лапшина Е.А. Сахарный диабет: метаболические эффекты и окислительный стресс. *Журнал мембранной и клеточной биологии*. 2011; 28(2): 83-94.
21. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А. Окислительный стресс при репродуктивных нарушениях эндокринного генеза у женщин. *Новосибирск: Наука*, 2011. 116 с.
22. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний: Руководство. М.: Медицина, 2002. 752 с.
23. Владимиров Ю.А., Проскурина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. *Успехи биологической химии*. 2009; 49: 341-388.
24. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЕОТАР-МЕДИА, 2010. 752 с.
25. Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 2005; 12(10): 1161-1208.
26. Ивченко Л.Г., Доменюк Д.А., Гильмиярова Ф.Н. Влияние тяжести течения сахарного диабета I типа у детей на стоматологический статус и иммунологические, биохимические показатели сыворотки крови и ротовой жидкости (Часть I). *Пародонтология*. 2017; 2(83): 53-60.
27. Доменюк Д.А., Давыдов Б.Н., Гильмиярова Ф.Н. Особенности цитокинового профиля ротовой жидкости у детей с сахарным диабетом 1 типа на различных стадиях компенсации заболевания. *Стоматология детского возраста и профилактика*. 2017; 1(60): 68-76.
28. Доменюк Д.А., Коробкеев А.А., Ведешина Э.Г. Индивидуализация размеров зубных дуг у детей в сменном прикусе. *Ставрополь: СтГМУ*, 2016. 163 с.
29. Доменюк Д.А., Базиков И.А., Гевандова М.Г. Микробиология полости рта детей с врождённым несращением нёба. *Ставрополь: СтГМУ*, 2016. 160 с.
30. Доменюк Д.А., Коробкеев А.А., Ведешина Э.Г. Особенности морфогенеза челюстно-лицевой области в сменном прикусе. *Ставрополь: СтГМУ*, 2016. 124 с.

## REFERENCES

- Dedov I.I., Kuraev T.K., Peterkova V.A. Saharnyy diabet u detey i podrostkov: Rukovodstvo. 2-e izd. Moscow: GEOTAR-MEDIA, 2013. 272 p. (In Russ.).
- Kostolanska J., Jakus V., Barak L. Glycation and lipid peroxidation in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus with and without diabetic complications. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2009; 22(7): 635-643.
- Schalkwijk G.G., Stehouwer C.D. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin. Sci (Lond)*. 2005; 109(2): 143-159.
- Domenyuk D.A., Davydov B.N., Vedeshina E.G. Izmenenie markerov metabolizma kostnoy tkani v syvorotke krovi i rotovoy zhidkosti u patsientov s zubochelyustnymi anomaliyami (Chast I). *Institut stomatologii*. 2015; 4(69): 98-101. (In Russ.).
- Domenyuk D.A., Davydov B.N., Vedeshina E.G. Izmenenie markerov metabolizma kostnoy tkani v syvorotke krovi i rotovoy zhidkosti u patsientov s zubochelyustnymi anomaliyami (Chast II). *Institut stomatologii*. 2016; 1(70): 64-66. (In Russ.).
- Domenyuk D.A., Davydov B.N., Vedeshina E.G. Morfologiya tvYordoy fazy i rotovoy zhidkosti kak metod diagnostiki zubochelyustnyih anomaliy (Chast I). *Institut stomatologii*. 2016; 3(72): 52-55. (In Russ.).
- Domenyuk D.A., Davydov B.N., Vedeshina E.G. Morfologiya tvYordoy fazy i rotovoy zhidkosti kak metod diagnostiki

- zubochelyustnyh anomalij (Chast II). Institut stomatologii. 2016; 4(73): 72-55. (In Russ.).
8. Domenyuk D.A., Davydov B.N., Vedeshina E.G. Sovershenstvovanie metodov diagnostiki zubochelyustnyh anomalij po rezultatam izucheniya funktsionalnyh sdvigov v sisteme oralnogo gomeostaza (Chast I). Institut stomatologii. 2016; 2(71): 74-77. (In Russ.).
9. Domenyuk D.A., Davydov B.N., Vedeshina E.G. Sovershenstvovanie metodov diagnostiki zubochelyustnyh anomalij po rezultatam izucheniya funktsionalnyh sdvigov v sisteme oralnogo gomeostaza (Chast II). Institut stomatologii. 2016; 3(72): 58-61. (In Russ.).
10. Domenyuk D.A., Gilmiyarova F.N., Bykova N.I. Metabolicheskie i mikrobiologicheskie osobennosti biotopov polosti rta u detey s zubochelyustnoy patologiej. Stavropol: Stavropolskii Gos.Univ., 2017. 312 p. (In Russ.).
11. Karslieva A.G., Domenyuk D.A., Zelensky V.A. Mixed saliva trace element composition in children with dentoalveolar anomalies through apparatus-involved treatment. Archiv EuroMedica, 2014; 4(1): 29-35.
12. Dedov I.I., Shestakova M.V., Vikulova O.K. State register of diabetes mellitus in the Russian Federation: the 2014 status and prospects for development. Saharnyy diabet. 2015; 18(3): 5-22. (In Russ.).
13. Basinska L.A., Komarovskikh E.N., Sakhnov S.N. The prevalence of diabetes first and second types in Krasnodar Krai. Byulleten. 2013; 50 (1): 126-129. (In Russ.).
14. King H., Aubert R.E., Herman W.H. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care. 1998; 21(9): 1414-1431.
15. Mc Carty D., Zimmet P. Diabetes. Global Estimates and Projections 1994 to 2010. International Diabetes Institute. 1994.
16. Balabolkin M.I., Kreminskaya V.M., Klebanova E.M. Rol oksidativnogo stressa v patogeneze diabeticheskoy neyropatii i vozmozhnost ego korektsii preparatami  $\alpha$ -lipoevoy kisloty. Problemy endokrinologii. 2005; 51(3): 22-32. (In Russ.).
17. Takayanagi R., Inoguchi T., Ohnaka K. Clinical and experimental evidence for oxidative stress as an exacerbating factor of diabetes mellitus. J. Clin. Biochem. Nutr. 2010; 48(1): 72-77.
18. Dedov I.I., Balabolkin M.I., Mamaeva G.G. Saharnyy diabet: angiopatii i oksidativnyy stress: Posobie dlya vrachey. Moscow, 2003. 86 p. (In Russ.).
19. Ivchenko L.G., Domenyuk D.A. Diagnosis immunopatologicheskikh disorders in children with diabetes type I. Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik. 2017; 1(2): 73-82. (In Russ.) DOI:10.25207/1608-6228-2017-2-73-82.
20. Zavodnyk I.B., Dremza I.K., Lapshina E.A. Diabetes mellitus: metabolic effects and oxidative stress. Zhurnal membrannoy i kletochnoy biologii. 2011; 28(2): 83-94. (In Russ.).
21. Kolesnikova L.I., Osipova E.V., Grebenkina L.A. Okislitel'nyy stress pri reproduktivnykh narusheniyakh endokrinnogo geneza u zhenshchin. Novosibirsk: Science, 2011. 116 p. (In Russ.).
22. Balabolkin M.I., Klebanova E.M., Kreminskaya V.M. Differentsialnaya diagnostika i lechenie endokrinykh zabolevaniy: Rukovodstvo. Moscow: Meditsina, 2002. 752 p. (In Russ.).
23. Vladimirov Yu.A., Proskurina E.V. Svobodnyie radikaly i kletochnaya hemilyuminescenciya. Uspekhi biologicheskoy khimii. 2009; 49: 341-388. (In Russ.).
24. Yafilin A.A. Immunologiya. Moscow: GEOTAR-MEDIA, 2010. 752 p. (In Russ.).
25. Valko M., Morris H., Cronin M.T. Metals, toxicity and oxidative stress. Curr. Med. Chem. 2005; 12(10): 1161-1208.
26. Ivchenko L.G., Domenyuk D.A., Gilmiyarova F.N. Vliyaniye tyazhesti techeniya saharnogo diabeta I tipa u detey na stomatologicheskii status i immunologicheskii, biokhimicheskie pokazateli syivorotki krovi i rotovoy zhidkosti (Chast I). Parodontologiya. 2017; 2(83): 53-60. (In Russ.).
27. Domenyuk D.A., Davydov B.N., Gilmiyarova F.N. Osobennosti tsitokinovogo profilya rotovoy zhidkosti u detey s saharnym diabetom 1 tipa na razlichnykh stadiyah kompensatsii zabolevaniya. Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika. 2017; 1(60): 68-76. (In Russ.).
28. Domenyuk D.A., Korobkeev A.A., Vedeshina E.G. Individualizatsiya razmerov zubnyh dug u detey v smennom prikuse. Stavropol: Stavropolskii Gos.Univ., 2016. 163 p. (In Russ.).
29. Domenyuk D.A., Bazikov I.A., Gevandova M.G. Mikroekologiya polosti rta detey s vrozhdennym nesrashcheniem neba. Stavropol: Stavropolskii Gos.Univ., 2016. 160 p. (In Russ.).
30. Domenyuk D.A., Korobkeev A.A., Vedeshina E.G. Osobennosti morfogeneza chelyustno-litsevoy oblasti v smennom prikuse. Stavropol: Stavropolskii Gos.Univ., 2016. 124 p. (In Russ.).

Поступила / Received 20.01.2017  
Принята в печать / Accepted 21.04.2017

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

**Контактная информация:** Быков Илья Михайлович; тел.: 8-861-268-68-50; e-mail: [ilyaMB@ksma.ru](mailto:ilyaMB@ksma.ru); Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4.  
Доменюк Дмитрий Анатольевич; тел.: 8(918)870-12-05; e-mail: [domenyukda@mail.ru](mailto:domenyukda@mail.ru); Россия, 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310.

**Corresponding author:** Ilya M. Bykov; tel.: 8-861-268-68-50; e-mail: [ilyaMB@ksma.ru](mailto:ilyaMB@ksma.ru); 4 Sedin Street, Krasnodar, Russia, 350063.  
Dmitry A. Domenyuk; tel.: 8(918)870-12-05; e-mail: [domenyukda@mail.ru](mailto:domenyukda@mail.ru); 355017, Stavropol, Mira str., 310.