

**Міністерство освіти і науки України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка**

ЦАРЕНКО ТЕТЯНА МИХАЙЛІВНА

УДК 577.112.7:612.115

**РОЗВИТОК ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ У ПАЦІЄНТІВ З ДІАБЕТОМ
2 ТИПУ**

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2019

Роботу виконано на кафедрі біохімії Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Савчук Олексій Миколайович,
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, завідувач кафедри біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини»

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Кучмеровська Тамара Муратівна,
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України,
провідний науковий співробітник відділу біохімії вітамінів і коензимів;

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Верьовка Сергій Вікторович,
Державна установа «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України»,
завідувач лабораторії біохімії

Захист відбудеться «7» жовтня 2019 року о 16⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.24 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, проспект Академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.24

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці ім. М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58, зала 12

Автореферат розісланий «05» вересня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
Д 26.001.24

Н.Г. Ракша

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Цереброваскулярні патології з огляду на невтішну динаміку розповсюдження, значну смертність та високий відсоток втрати працездатності пацієнтів, без перебільшення можна віднести до вагомих медико-соціальних та економічних проблем сьогодення [Rappachan J. et al., 2008; Ciccone S. et al., 2011; Hidalgo M. et al., 2018]. Попередження та подолання негативних наслідків таких захворювань потребує активного залучення новітніх знань та розробок в галузі медицини і біології з метою вдосконалення існуючих на сьогодні лабораторно-діагностичних критеріїв оцінки як гострого, так і хронічного порушення мозкового кровопостачання та впровадження у клінічну практику відповідних профілактичних заходів чи терапевтичних стратегій.

У загальній структурі цереброваскулярних захворювань переважають інсульти, зокрема за ішемічним типом, на долю яких припадає до 80% всіх зареєстрованих клінічних випадків. До загально визнаних незалежних факторів ризику виникнення інсульту відносять цукровий діабет 2 типу та метаболічний синдром, за розвитку яких виникають вагомі передумови для розвитку ускладнень на рівні функціонування серцево-судинної, нервової, ендокринної, імунної систем [Kharroubi A. et al., 2015; Xu R. et al., 2015; Hardigan T. et al., 2016]. За даними низки досліджень, при наявності в анамнезі пацієнтів цукрового діабету ризик виникнення ішемічного інсульту зростає у 3-7 разів. Разом з тим, кожний 3-5 пацієнт з гострим порушенням мозкового постачання хворіє на цукровий діабет, часто діагностований лише після надходження до стаціонару. Дана проблема набуває особливої актуальності у світлі стрімкого та невпинного зростання поширеності цукрового діабету серед різних верств населення, зокрема серед дітей та осіб молодого віку.

Асоційовані з патогенезом цукрового діабету явища гіперглікемії, інсулінорезистентності, дисліпідемії та супутньої гіперінсулінемії призводять до цілої низки негативних наслідків, зокрема обумовлюють дисфункціонування на рівні всіх ланок системи гемостазу та визначають протромбогенний характер змін у даній системі, що є однією з ключових патогенетичних основ первинної маніфестації ішемічного інсульту. За умов тривалої декомпенсації цукрового діабету спостерігається посилення вираженості клінічних проявів інсульту, значно підвищується ризик летальних випадків та зростає вірогідність повторних рецидивів у найближчі 10 років.

Не викликає сумніву, що порушення у функціонуванні судинно-тромбоцитарної, коагуляційної ланок гемостазу та активності фібринолітичної системи не лише відіграють провідну роль у патогенезі ішемічного інсульту [Fisher M., 2013; Voluijt J. et al., 2015], а й визначають ймовірність виникнення повторних загострень у майбутньому. Незважаючи на значні досягнення у науковому пізнанні молекулярно-біохімічних основ розвитку та прогресування інсульту, у сучасній науковій літературі зустрічаються суперечливі дані щодо вмісту і функціональної активності окремих компонентів системи гемостазу у пацієнтів, що страждають на цукровий діабет 2 типу як у гостру фазу хвороби, так і у більш віддалені терміни. Крім того, ряд аспектів даної проблеми залишаються до кінця не з'ясованими,

зокрема відсутня вичерпна інформація щодо біохімічних проявів захворювання, обумовлених розвитком низки неспецифічних реакцій у відповідь на інтенсифікацію патологічного процесу.

Тому деталізація молекулярних механізмів та з'ясування метаболічних шляхів, що лежать в основі виникнення та прогресування інсульту на фоні цукрового діабету 2 типу, а також пошук ефективних біохімічних маркерів, що передують клінічним проявам захворювання чи асоційовані з його певними стадіями, дозволить удосконалити існуючі на сьогодні алгоритми діагностики та індивідуалізувати терапевтичні підходи під час вибору стратегії лікування пацієнтів, що є запорукою зменшення кількості рецидивів та подолання негативних наслідків даної патології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на кафедрі біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка у рамках науково-дослідних тем «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (№ д/р 0111U004648, 2011-2015 рр.) та «Механізми регуляції метаболічних процесів в організмі за умов розвитку патологічних станів» (№ д/р 0116U002527, 2016-2018 рр.)

Мета і задачі дослідження. Метою роботи було дослідити особливості розвитку ішемічного інсульту у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Проаналізувати загальні клініко-біохімічні показники у сироватці крові пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності цукрового діабету 2 типу.

2. Дослідити ключові показники функціонування коагуляційної ланки системи гемостазу (вміст розчинних фібрин мономерних комплексів, концентрацію фібриногену, рівень протромбінового пулу, відносну активність фактору X та протеїну C) у пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності цукрового діабету 2 типу.

3. З'ясувати стан судинно-тромбоцитарної ланки системи гемостазу (швидкість та максимальну амплітуду агрегації тромбоцитів, їх кількість, рівень фактору фон Вілебранда) у пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності цукрового діабету 2 типу.

4. Оцінити загальний стан системи фібринолізу (час лізису еуглобулінової фракції, час Хагеман-залежного фібринолізу, відносну активність плазміногену, α 2-антиплазміну, вміст тканинного активатора плазміногену та інгібітору активатору плазміногену типу 1) у пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності цукрового діабету 2 типу.

5. Проаналізувати потенційні фактори (ендогенна інтоксикація, запальний процес, периферійна серотонінергічна система, дисфункція протеолізу), що можуть обумовлювати більш виражену маніфестацію ішемічного інсульту у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.

Об'єкт дослідження: біохімічні аспекти патогенезу ішемічного інсульту у пацієнтів з цукровим діабетом та за наявності цукрового діабету 2 типу.

Предмет дослідження: показники коагуляційної, судинно-тромбоцитарної ланок системи гемостазу, фібринолітичної системи, маркери ендогенної інтоксикації та запального процесу.

Методи дослідження: у роботі було використано спектрофотометричні (визначення загальних клініко-біохімічних показників), імуоферментні (визначення вмісту білків системи гемостазу), електрофоретичні (ідентифікація матриксних металопротеїназ та продуктів активації плазміногену), хроматографічні (визначення вмісту триптофану та серотоніну), оптичні (дослідження процесу агрегації тромбоцитів та проведення коагулометричних досліджень) методи та математична статистика.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено комплексне дослідження стану системи гемостазу у хворих з ішемічним інсультом за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, що дозволяє доповнити існуючі на сьогодні уявлення щодо біохімічних основ розвитку та прогресування даної патології. Підтверджено протромбогенний характер змін у системі гемостазу, обумовлений асинхронізацією у функціонуванні всіх компонентів даної системи. Виявлено зростання рівня ключових показників коагуляційної ланки системи гемостазу, що свідчить про розвиток гіперкоагуляційного стану у пацієнтів з ішемічним інсультом за наявності цукрового діабету, а саме, підвищення вмісту розчинних фібрин-мономерних комплексів, фібриногену, продуктів активації протромбіну та зниження активності фактору Ха і протеїну С. Показано, що ішемічний інсульт супроводжується змінами показників АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів, більш вираженими за умов інсульту на фоні цукрового діабету. Проведено порівняльний аналіз параметрів, що характеризують стан системи фібринолізу, за результатами якого виявлено зниження фібринолітичного потенціалу у хворих на ішемічний інсульт як окремо, так і за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу. Вперше встановлено, що гострий період ішемічного інсульту характеризується розвитком стану ендогенної інтоксикації, підтвердженого накопиченням у сироватці крові молекул середньої маси, олігопептидів та зниженням концентрації загального білка і альбуміну. Протягомі проведених досліджень вперше отримано дані, що можуть свідчити про залученість протеолітично активних похідних плазміногену та матриксних металопротеїназ у реалізацію ранньої стадії ішемічного інсульту. Вперше досліджено та виявлено порушення у функціонуванні периферійної серотонінергічної системи, зокрема зростання концентрації серотоніну та триптофану у хворих з ішемічним інсультом за наявності цукрового діабету 2 типу, що виявляється у зростанні концентрації сироваткового серотоніну та триптофану.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані у роботі дані сприяють розширенню сучасних уявлень та положень щодо основних молекулярно-біохімічних механізмів патогенезу ішемічного інсульту як окремо, так і за наявності в анамнезі супутніх патологій, зокрема, цукрового діабету 2 типу. Результати роботи можуть слугувати теоретичним підґрунтям під час розробки новітніх фармакологічних засобів профілактично-лікувальної дії, спрямованих на попередження виникнення та прогресування ускладнень інсульту, асоційованих з такими метаболічними проявами захворювання як синдром ендогенної інтоксикації,

запалення, активація протеолізу. Окрім фундаментального значення, робота має вагомий практичний аспект, оскільки одержанні під час дослідження експериментальні дані щодо вмісту та активності окремих компонентів системи гемостазу обґрунтовують доцільність розширення спектру показників, які використовуються у рутинній клінічній практиці для оцінки стану пацієнтів з ішемічним інсультом. Проведені комплексні дослідження загального стану хворих, функціональної активності коагуляційної, судинно-тромбоцитарної ланок та фібринолітичної системи дають підстави для розробки персоналізованих алгоритмів діагностики стадії захворювання та його тяжкості з урахуванням наявності в анамнезі цукрового діабету. Окремі матеріали роботи можуть бути використані в учбовому процесі під час розробки відповідних спецкурсів та проведення практичних занять для студентів біологічних та медичних спеціальностей.

Особистий внесок здобувача. Пошук та аналіз літературних джерел за темою дисертаційної роботи, проведення експериментальних досліджень, підготовка матеріалів до друку виконана дисертантом особисто. За участі співавторів публікацій здійснено інтерпретацію отриманих результатів. Визначення напрямку досліджень, планування експериментальних робіт, аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків проведено за безпосередньої участі наукового керівника д.б.н. Савчука О.М.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертації були представлені на вітчизняних та міжнародних конференціях: 40th FEBS Congress (Berlin, Germany, 2015); Asia Pacific Stroke Conference (Brisbane, Australia, 2016); X Parnas Conference (Wrocław, Poland, 2016); XIV Міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Шевченківська весна» (Київ, 2016); XII Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2016); 61st Annual Meeting of the Society of Thrombosis and Hemostasis Research (Basel, Switzerland, 2017).

Публікації. За результатами дослідження опубліковано 20 наукових праць, у тому числі 7 статей у фахових виданнях, затверджених переліком МОН України та у міжнародних періодичних виданнях (1 публікація у виданні, включеному до міжнародної наукометричної бази Scopus, 1 публікація у виданні, включеному до міжнародної наукометричної бази Web of Science); 13 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій та з'їздів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, розділу з описом матеріалів і методів дослідження, розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків та списку використаних літературних джерел, який містить 313 найменування. Дисертація викладена на 197 сторінках, з яких основна частина складає 149 сторінок, містить 7 таблиць та 14 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень

У дослідженні було використано сироватку та плазму крові, яку одержували відразу після надходження пацієнтів з симптоматикою ішемічного інсульту до I та II неврологічних відділень Київської міської клінічної лікарні № 4. Діагноз

«ішемічний інсульт» був підтверджений на основі результатів комп'ютерної та/або магнітно-резонансної томографії. Цукровий діабет діагностували за наявністю гіперглікемії натще, підвищеного рівня глікозильованого гемоглобіну та стану інсулінорезистентності. Хворі у стані коми, з вираженою дихальною недостатністю або з підозрою на онкологічне захворювання були виключені з дослідження. Таким чином було сформовано дві дослідні групи – пацієнти з ішемічним інсультом (n=86) та з інсультом за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу (n=36). До дослідження були залучені практично здорові донори (n=35) без тромботичних захворювань в анамнезі, які за статтю та віком відповідали досліджуванім групам пацієнтів. Дослідження було проведено у відповідності з етичними нормами Гельсінської декларації (1964 р.), Конвенції про захист прав і достоїнства людини у зв'язку з використанням досягнень біології і медицини (Конвенція про права людини і біомедицину 1996 р.), закону України «Про трансплантацію органів та інших анатомічних матеріалів людині» (1999 р.) та згідно персональної письмової згоди хворих чи їх родичів.

Концентрацію фібриногену, розчинних фібрин-мономерних комплексів (РФМК) визначали спектрофотометрично відповідно до методу [Токар А. и др., 1994]. Загальну фібринолітичну активність плазми крові оцінювали за загальним часом лізису фібринового згустку плазми крові [Грицюк О. и др., 1994]. Визначення часу Хагеман-залежного фібринолізу плазми крові проводили відповідно до [Козлов А., 2013]. Визначення рівня тканинного активатору плазміногену (ТАП), інгібітору активатору плазміногену типу 1 (ПАІ-1), відносного вмісту цитокінів, вмісту матриксних металопротейназ (ММП) здійснювали за допомогою методу імуноферментного аналізу за загальною методикою для розчинних білків [Crowther J., 2001]. Потенційну активність плазміногену та α_2 -антиплазміну визначали відповідно до [Козлов А., 2013]. Дослідження агрегації тромбоцитів проводили на фотооптичному агрегометрі AP2110 «Солар» (Білорусь) [Голдобин В.В., 2012]. Хронометричні тести зсідання плазми крові («Тромбіновий час», «Протромбіновий час», «Активованний частково тромбопластиновий час» та «Анцистроновий час») проводили відповідно до загальноприйнятої методики [Козлов А., 2013]. Ензим-електрофоретичний аналіз зразків плазми крові проводили відповідно до методу [Ostapchenko L., et al, 2011]. Визначення вмісту молекул середніх мас (МСМ) проводили за [Габриелян Н., 1982]. Визначення біохімічних показників у сироватці крові проводили за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора Microlab 300 (Vital Scientific, Нідерланди) з використанням відповідних тест-наборів. Концентрацію білка оцінювали відповідно до методу Бредфорд [Bradford M., 1976]. Вміст серотоніну та триптофану визначали спектрофлуорометричним методом відповідно до [Weissbach H., 1957] та [Gaitonde M., 1974].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерних програм OriginLab Origin® Pro 9.1 та Statsoft Statistica® 10. Перевірку гіпотези нормального розподілу вибірки проводили за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. При відповідності вибірки критеріям нормального розподілу, достовірність

відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Стьюдента (t). При невідповідності вибірки критеріям нормального розподілу, достовірність відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Манна-Уїтні (U). Достовірними вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати клініко-лабораторного обстеження, проведеного на момент надходження пацієнтів з ішемічним інсультом до стаціонару, виявили підвищений рівень глюкози у крові хворих з цукровим діабетом (середній рівень глікемії становив $9,4 \pm 2,6$ ммоль/л), у той час як у групі хворих з ішемічним інсультом концентрація глюкози була у межах фізіологічних величин ($4,9 \pm 1,34$ ммоль/л). Варто зазначити, що значна частина пацієнтів в обох дослідних групах мала ускладнення, тісно асоційовані з серцево-судинними патологіями, це, зокрема, гіпертензія, ішемічна хвороба серця, ангіопатії периферійних судин, дисліпідемія. Аналіз ліпідного профілю у сироватці крові пацієнтів обох дослідних груп виявив наявність відхилень значень вмісту окремих ліпідних фракцій, що дозволяє стверджувати про стан дисліпідемії, зокрема, у хворих з цукровим діабетом. Так, було виявлено зростання концентрації холестеролу (на 45%), триацилгліцеролів (на 28%), ЛПНЩ (на 57%) на фоні зниження рівня ЛПВЩ (на 30%). Особливо негативним прогностичним маркером є накопичення у сироватці крові хворих фракції атерогенних ліпопротеїдів, вміст яких перевищував значення у групі умовно здорових донорів на 30% та 57%, відповідно, для пацієнтів з ішемічним інсультом та пацієнтів з інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу.

Згідно сучасних уявлень щодо патогенезу ішемічного інсульту серед ключових чинників, що обумовлюють первинну маніфестацію даного захворювання та слугують вагомими маркерами розвитку патогенетичних механізмів та повторних рецидивів хвороби у майбутньому, є порушення на рівні функціонування окремих ланок системи гемостазу [Barber M et al., 2003; Fisher M., 2013; et al.,]. Особливо це небезпечно для пацієнтів з цукровим діабетом, для яких характерна підвищена схильність до тромбоутворення [Zhou H. et al., 2014; Chen R. et al., 2016]. Тому на першому етапі роботи було проведено комплексний аналіз стану системи гемостазу у хворих з ішемічним інсультом та ішемічним інсультом за наявності цукрового діабету 2 типу. Для попередньої оцінки стану системи зсідання крові було застосовано ряд хронометричних тестів, які дозволяють виявити порушення між функціонуванням окремих ланок системи гемостазу. Нами було виявлено подовження часу зсідання плазми крові у тестах «Активованій частково тромбoplastиновий час» (АЧТЧ), «Протромбіновий час» (ПЧ) та «Тромбіновий час» (ТЧ) для пацієнтів з інсультом (табл.1), що у цілому суперечить існуючим на сьогодні уявленням щодо підвищення прокоагулянтного потенціалу за розвитку ішемічного інсульту і, зокрема, у хворих з цукровим діабетом. Враховуючи, що дані тести є чутливими до присутності у кровотоці антикоагулянтів, а пацієнти на момент надходження до стаціонару могли отримувати відповідну терапію, для уточнення результатів було застосовано тест «Анцистроновий час» (АЧ), показники якого не залежать від наявності антикоагулянтів.

Таблиця 1

Показники хронометричних тестів для пацієнтів з ішемічним інсультом (M±m)

Дослідні групи	АЧГЧ, с	ПЧ, с	ТЧ, с	АЧ, с
Умовно здорові донори	29±5	15±3	9±2	17±1
Пацієнти з ішемічним інсультом	46±5*	19±2	18±2*	13±2*
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	50±5*	20±3	19±3*	10±3*

* статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$

Нами було виявлено скорочення часу зсідання плазми крові у тесті «Анцистроновий час» для пацієнтів обох дослідних груп, що вказує на потенційну загрозу тромбофілічних ускладнень та вкотре підтверджує клінічну ефективність та доцільність застосування саме даного тесту для швидкого скринінгу стану системи гемостазу.

За результатами проведених досліджень було підтверджено протромбогенний характер змін у системі гемостазу пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету, свідченням чого є накопичення у плазмі крові хворих розчинних фібрин-мономерних комплексів (рис.1А) та білкових молекул протромбінової природи, об'єднаних загальною назвою «протромбіновий пул» (рис. 1Б)

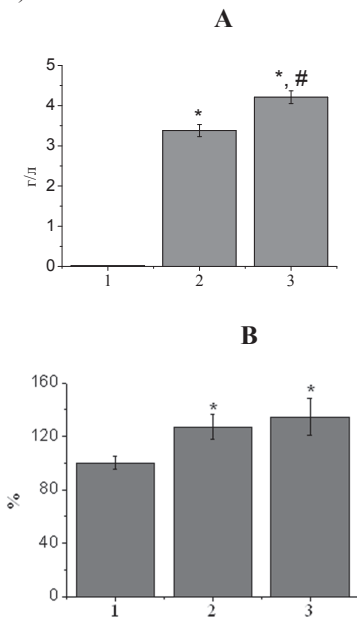


Рис. 1. Концентрація розчинних фібрин-мономерних комплексів (А), рівень протромбінового пулу (Б) та відносна активність фактору X (В) у плазмі крові пацієнтів: 1 – умовно здорові донори; 2 – пацієнти з ішемічним інсультом; 3 – пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$; # - статистично достовірно відносно показника у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, $P \leq 0,05$

Про активацію коагуляційного каскаду свідчить зростання відносної активності фактору X (рис. 1В), який об'єднує внутрішній та зовнішній шляхи зсідання крові у загальну фазу, спрямовану на перетворення протромбіну у тромбін.

За таких умов виявлене нами зростання концентрації фібриногену на 33% для хворих з ішемічним інсультом та на 40% для хворих з інсультом за умов цукрового діабету (рис. 2А) не лише обумовлює підвищення в'язкості крові, потенційно сприяє стабілізації тромбоцитарних пробок, а і як безпосередній попередник фібрину та субстрат для тромбіну, створює суттєві передумови для розвитку тромботичних станів. Певним свідченням активації процесів зсідання крові у пацієнтів обох дослідних груп слугує зниження відносної активності протеїну С (рис. 2Б), адже даний білок активно залучається у реакції інгібування білкових кофакторів, які є необхідними для процесу активації фактору X та подальшого перетворення протромбіну у тромбін.

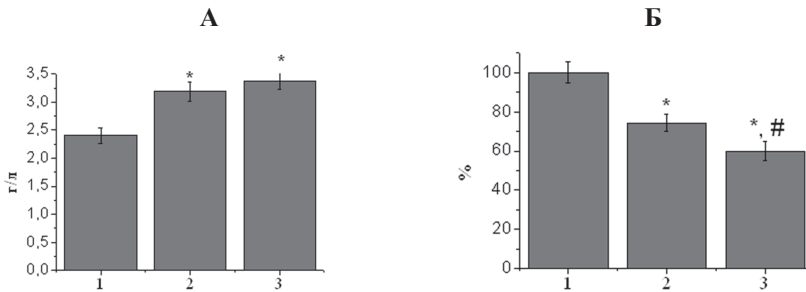


Рис. 2. Концентрація фібриногену (А) та відносна активність протеїну С (Б) у плазмі крові пацієнтів: 1 – умовно здорові донори; 2 – пацієнти з ішемічним інсультом; 3 – пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$; # - статистично достовірно відносно показника у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, $P \leq 0,05$

Серед можливих причин, що сприяють підтриманню високого тромбогенного потенціалу плазми крові, варто виділити порушення на рівні функціонування фібринолітичної системи. Тому наступний етап роботи було присвячено дослідженню стану системи фібринолізу у хворих з ішемічним інсультом.

Підтриманню протромбогенної спрямованості реакцій у системі гемостазу сприяє зниження фібринолітичного резерву, що підтверджується значним подовженням часу лізису еуглобулінової фракції плазми крові та часу Хагеман-залежного фібринолізу у пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу (табл. 2).

Загальні показники системи фібринолізу у плазмі крові пацієнтів з ішемічним інсультом (M±m)

Дослідні групи	Час лізису еуглобулінової фракції плазми крові, год	Час Хагеман-залежного фібринолізу у плазмі крові, хв
Умовно здорові донори	1,5±0,5	7,0±2,0
Пацієнти з ішемічним інсультом	7,7±0,5*	22,3±2,0*
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	7,6±0,5*	21,7±2,0*

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$

Виявлені нами зміни у системі фібринолізу були доведені на основі розрахунку індексу тромботичного ускладнення (ІТУ) – інтегрального показника, який дозволяє оцінити потенціал даної системи. За норми ІТУ дорівнює нулю, а від'ємне значення ІТУ вказує на зниження потенціалу системи фібринолізу. Відповідно до проведених нами розрахунків значення ІТУ у обох дослідних групах відрізнялося від нуля і мало від'ємний знак, причому більш виражені зміни були виявлені у пацієнтів, що страждають на цукровий діабет. Так, значення ІТУ становило -2,09 для пацієнтів у групі з ішемічним інсультом окремо та -2,25 для пацієнтів з інсультом за умов цукрового діабету 2 типу.

З метою встановлення причин зниження активності системи фібринолізу у пацієнтів, що перенесли ішемічний інсульт, було визначено потенційну активність плазміногену, який є ключовим компонентом фібринолітичної системи. Відповідно до одержаних результатів, гострий період ішемічного інсульту супроводжувався зниженням потенційної активності плазміногену на 14% для хворих з ішемічним інсультом окремо та на 18% для пацієнтів, що мали цукровий діабет (рис. 3).

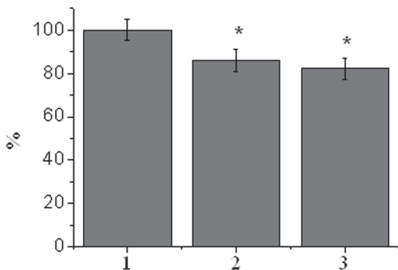


Рис. 3. Потенційна активність плазміногену у плазмі крові пацієнтів: 1 – умовно здорові донори; 2 – пацієнти з ішемічним інсультом; 3 – пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$

Пригнічення потенційної активності плазміногену може бути результатом дисбалансу вмісту його основних ефektorів, зокрема ТАП, ПАІ-1 та α_2 -антиплазміну, що знайшло підтвердження у наших подальших дослідженнях. Так, відносний вміст ТАП за обох патологічних станів коливався у межах $0,045 \pm 0,002$

ум.од, що було у п'ять разів нижче фізіологічної норми (рис. 4А), у той час як вміст ПАІ-1 перевищував значення у групі умовно здорових донорів у 2,9 та 3,2 рази, відповідно, для пацієнтів з ішемічним інсультом та інсультом за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу (рис. 4Б). Також було виявлено зростання відносної активності α_2 -антиплазміну (рис. 4В), зміни якої, подібно до значень всіх вище проаналізованих показників, були вищими у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу.

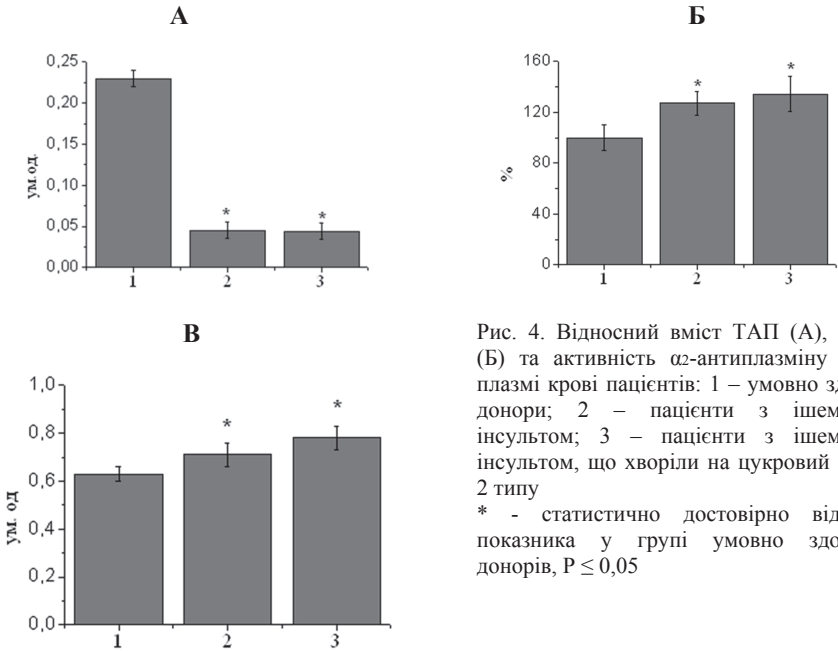


Рис. 4. Відносний вміст ТАП (А), ПАІ-1 (Б) та активність α_2 -антиплазміну (В) у плазмі крові пацієнтів: 1 – умовно здорові донори; 2 – пацієнти з ішемічним інсультом; 3 – пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$

Зростання вмісту ПАІ та на фоні зниження вмісту ТАП може свідчити про структурно-функціональні зміни ендотеліоцитів та постулює участь ендотеліальної дисфункції як одного з ключових чинників порушень у системі гемостазу за розвитку ішемічного інсульту. Оскільки одним із загально визнаних маркерів, що дозволяють оцінити функціональний стан ендотелію, є вміст у плазмі крові фактору фон Віллебранда, нами було визначено вміст даного фактору у пацієнтів обох дослідних груп. Згідно одержаних результатів (рис. 5), як ішемічний інсульт, так і інсульт за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, супроводжувалися зростанням відносного вмісту фактору фон Віллебранда, показник якого був на 45 та 63% вище значення у групі умовно здорових донорів, відповідно, для пацієнтів з інсультом та інсультом за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу.

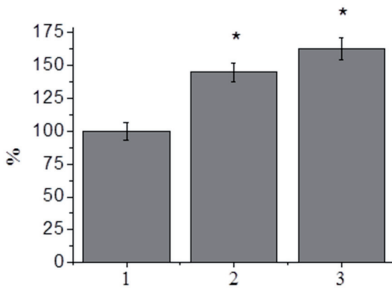


Рис. 5. Відносний вміст фактору фон Вільлебранда у плазмі крові пацієнтів: 1 – умовно здорові донори; 2 – пацієнти з ішемічним інсультом; 3 – пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$

Поряд з активацією системи зсідання крові та пригніченням фібринолізу для пацієнтів, що перенесли ішемічний інсульт не залежно від наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, була характерна виражена тромбоцитарна дисфункція, ознакою якої було зростання швидкості та максимальної амплітуди АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів на фоні зниження кількості тромбоцитів (табл. 3).

Таблиця 3

Показники АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів за ішемічного інсульту ($M \pm m$)

Дослідні групи	Швидкість агрегації тромбоцитів на 30 с, %	Максимальна амплітуда агрегації тромбоцитів, %	Кількість тромбоцитів, $\times 1000/\text{мкл}$
Умовно здорові донори	51,8 \pm 9,8	66,3 \pm 6,5	205 \pm 47
Пацієнти з ішемічним інсультом	59,8 \pm 3,1	78,9 \pm 4,8*	151 \pm 33
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	61,3 \pm 2,2	88,3 \pm 5,4*	162 \pm 27

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$; # - статистично достовірно відносно показника у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, $P \leq 0,05$

Підсумовуючи результати проведеного етапу досліджень, можемо зробити висновок, що розвиток інсульту характеризується комплексом порушень на всіх рівнях функціонування системи гемостазу з домінуванням протромботичних реакцій. Виявлене нами у ході проведених досліджень зростання концентрація розчинних фібрин-мономерних комплексів та зниження відносної активності протеїну С – ключового триггеру системи гемостазу, у пацієнтів з інсультом за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, свідчить про більш прогресуючі патологічні зміни у системі гемостазу у хворих на цукровий діабет 2 типу у порівнянні з пацієнтами з ішемічним інсультом, що не мали цукрового діабету 2 типу.

Відомо, що патогенез багатьох захворювань часто супроводжується розвитком низки реакцій, які не лише слугують додатковою патогенетичною ланкою на шляху

розвитку ускладнень, спричинених прогресуванням хвороби, а й можуть бути причиною виникнення рецидивів у майбутньому. Тому на наступному етапі роботи було проаналізовано потенційні фактори, що можуть обумовлювати більш виражену маніфестацію проявів ішемічного інсульту. Це, зокрема, синдром неспецифічної ендогенної інтоксикації, вираженість та інтенсивність якого є одним з критеріїв тяжкості стану хворих і часто слугує причиною летальності.

Таблиця 4

Відносна концентрація молекул середньої маси та концентрація альбуміну у сироватці крові пацієнтів з ішемічним інсультом (M±m)

Дослідні групи	Відносна концентрація молекул середньої маси, ум.од/мл	Альбумін, г/л
Умовно здорові донори	0,31±0,15	35,6±0,5
Пацієнти з ішемічним інсультом	0,96±0,07*	30,8±0,6*
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	0,84±0,03*#	31,7±0,8*

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$; # - статистично достовірно відносно показника у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, $P \leq 0,05$

Виявлене нами зростання концентрації молекул середньої маси (табл. 4) – втричі для пацієнтів з ішемічним інсультом та у 2,7 раза для хворих з інсультом за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, свідчить про розвиток стану ендогенної інтоксикації та слугує несприятливим прогностичним критерієм. За таких умов зниження концентрації альбуміну у сироватці крові пацієнтів (табл. 4) може розглядатися як прояв додаткового патогенетичного механізму прогресування стану ендогенної інтоксикації, адже саме альбуміни виконують детоксикаційну функцію, сорбуючи на своїй поверхні найбільш агресивні гідрофобні ендотоксини.

До чинників, що сприяють подальшому прогресуванню синдрому ендогенної інтоксикації та/чи слугують незалежним механізмом ініціації та реалізації комплексу патобіохімічних порушень, належить розвиток запального процесу, підтверджений в умовах нашого дослідження накопиченням у сироватці крові пацієнтів медіаторів запалення – інтерлейкіну-6 та фактору некрозу пухлин α (табл. 5). З наявністю у хворих з ішемічним інсультом запального процесу повністю узгоджується виявлене нами раніше зростання концентрації фібриногену, що належить до білків гострої фази запалення

Таблиця 5

Відносний вміст прозапальних цитокінів у сироватці крові пацієнтів з ішемічним інсультом (M±m)

Дослідні групи	Відносний вміст інтерлейкіну-6, ум.од/мг білка	Відносний вміст TNF- α , ум.од/мг білка
Умовно здорові донори	1,42± 0,15	1,27± 0,10
Пацієнти з ішемічним інсультом	2,21± 0,21*	2,19± 0,13*
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	2,58± 0,19*	2,64± 0,10*,#

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$; # - статистично достовірно відносно показника у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, $P \leq 0,05$

На сьогодні активно розвивається концепція щодо порушення протеолітичного балансу як принципово важливої ланки прогресування ускладнень, спричинених ішемічним інсультом [Гусев Е. и др., 2003; Евтушенко С. И др., 2010]. Опосередкованим свідченням активізації протеолітичних процесів за розвитку ішемічного інсульту незалежно від наявності в анамнезі цукрового діабету слугує накопичення у сироватці крові пацієнтів обох дослідних груп олігопептидів (табл. 6) та зниження концентрації загального білка у групі пацієнтів з інсультом, що не хворіли на цукровий діабет 2 типу.

Таблиця 6

Концентрація загального білка та відносна концентрація олігопептидів у сироватці крові пацієнтів з ішемічним інсультом (M±m)

Дослідні групи	Загальний білок, г/л	Відносна концентрація олігопептидів, ум.од/мл
Умовно здорові донори	67,2±4,2	0,12±0,09
Пацієнти з ішемічним інсультом	56,8±3,1*	0,34±0,05*
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	62,8±5,5	0,42±0,07*

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$

Серед ензимів, підтримання компартменталізації та забезпечення строгого контролю активності яких є необхідна умова для попередження розвитку постінсультних ускладнень, виділяють матриксні металопротеїнази (ММП), які, руйнуючи компоненти базальних мембран, можуть обумовлювати порушення структурної цілісності гематоенцифалічного бар'єру та периферійних судин, а отже створювати умови для міграції клітин, активації прокоагулянтної та судинно-тромбоцитарної ланок системи гемостазу. У ході проведених досліджень було встановлено підвищення відносного вмісту ММП-2 та ММП-9 у сироватці крові

пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу (табл. 7).

Таблиця 7

Відносний вміст матриксних металопротеїназ у сироватці крові пацієнтів з ішемічним інсультом (M±m)

Дослідні групи	Відносний вміст ММП-2, ум.од/мг білка	Відносний вміст ММП-9, ум.од/мг білка
Умовно здорові донори	1,54± 0,03	0,86± 0,01
Пацієнти з ішемічним інсультом	2,23± 0,07*	1,01± 0,05*
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	3,38± 0,19*,#	1,63± 0,09*,#

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$; # - статистично достовірно відносно показника у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, $P \leq 0,05$

Виявлені зміни супроводжувалися зростанням активності ММП-2 та ММП-9, про що свідчить поява на ензим-електрофореграмі відповідних зон гідролізу (рис. 6).

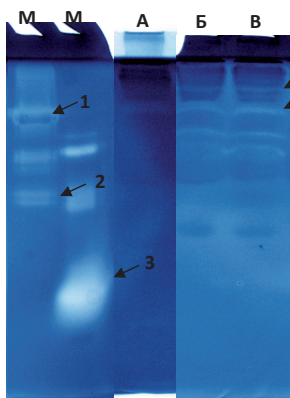


Рис. 6. Типова ензим-електрофореграма зразків плазми крові умовно здорових донорів (А), пацієнтів з ішемічним інсультом (Б) та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу (В): М – маркери молекулярних мас (86 кДа плазмін (1), 36 кДа міні-плазмін (2), 23 кДа трипсин (3); 4 - проММП-9 (92 кДа) 5 - ММП-9 (85 кДа) 6 - проММП-2 (72 кДа) 7 - ММП-2 (67 кДа)

Так, чітко видно смуги протеолітичної активності, що за молекулярною масою відповідають проММП-9 (92 кДа) та ММП-9 (85 кДа). Аналогічна картина спостерігається і у випадку ММП-2 – сироватка крові пацієнтів з ішемічним інсультом окремо та за умов цукрового діабету містить 72 кДа проММП-2 та активовану ММП-2, молекулярна маса якої складає 67 кДа.

Неконтрольована активація протеолітичних реакцій може призвести до утворення та накопичення у кровотоці

аномальних форм білків, частина з яких потенційно може виявляти ферментативну активність. На особливу увагу при цьому заслуговують протеолітично-деградовані похідні плазміногену – попередника ключового ферменту фібринолітичної ланки системи гемостазу - плазміну. Наявність у молекулі плазміногену кринглових структур обумовлює спрямованість протеолітичної дії активного ферменту на той чи інший субстрат. Порушення активаторно-інгібіторного балансу, надмірна активація ферментів, фізіологічно присутніх у кровотоці, а також вивільнення у

позаклітинний простір клітинних протеїназ призводить до часткового розщеплення плазміногену та утворення низки його деградованих похідних. Останні можуть містити серин-протеїназний домен, що визначає каталітичну активність молекули, та, можливо, певні, але не всі, кринглові структури, а отже потенційно можуть зв'язувати та розщеплювати субстрати, які не є фізіологічними для нативної молекули плазміну. Для виявлення деградованих форм плазміногену зразки плазми крові попередньо інкубували з стрептокіназою. Поява на enzym-електрофореграмі низки смуг, відсутніх у пробах без обробки стрептокіназою, вказує на присутність у кровотоці хворих обох дослідних груп потенційно протеолітично активних фрагментів плазміногену/плазміну (рис. 7).

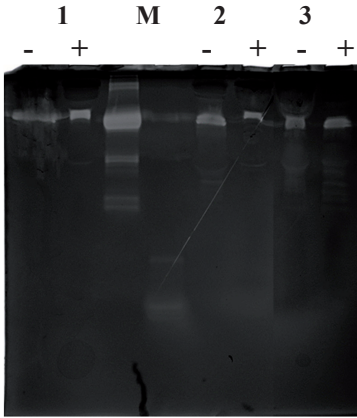


Рис. 7. Типова enzym-електрофореграма зразків плазми крові умовно здорових донорів (1), пацієнтів з ішемічним інсультом (2) та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу (3) без обробки проб стрептокіназою (-) та після обробки проб стрептокіназою (+); М – маркери молекулярних мас (86 кДа плазмін, 36 кДа міні-плазмін, 23 кДа трипсин)

До молекул, порушення метаболізму яких виявляється за різних патологічних станів та часто є не лише наслідком, а й одним з пускових чинників їх розвитку, належить серотонін. Як бачимо з таблиці 8, гострий період ішемічного інсульту характеризувався зростанням концентрації сироваткового серотоніну.

Таблиця 8

Концентрація серотоніну та триптофану у сироватці крові пацієнтів з ішемічним інсультом (M±m)

Дослідні групи	Концентрація серотоніну, мкг/мг білка	Концентрація триптофану, мкг/мг білка
Умовно здорові донори	0,17 ± 0,03	16,1 ± 2,5
Пацієнти з ішемічним інсультом	0,28 ± 0,03*	40,6 ± 4,2*
Пацієнти з ішемічним інсультом, що хворіли на цукровий діабет 2 типу	0,25 ± 0,03 *	89,9 ± 3,5 *#

* - статистично достовірно відносно показника у групі умовно здорових донорів, $P \leq 0,05$; # - статистично достовірно відносно показника у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, $P \leq 0,05$

Також було виявлено значне зростання концентрації триптофану для пацієнтів обох дослідних груп, що у цілому узгоджується зі зниженням вмісту альбуміну, який є транспортною формою для триптофану, та посиленням протеолізу. За таких умов частина виявлених нами змін досліджуваних показників може бути безпосередньо пов'язана з дією серотоніну. Зокрема, зростання концентрації прозапальних цитокінів, порушення структурної цілісності ендотелію та зниження його антитромбогенних властивостей, підвищення вмісту ПАІ-1. Окрім того, дані метаболіти за умов значного перевищення фізіологічних концентрацій можуть розглядатися як ендогенні токсини та поповнювати пул МСМ.

Таким чином, результати, отримані протягом роботи, свідчать про системний характер змін у системі гемостазу, які охоплюють всі ланки даної системи та виражаються у домінуванні реакцій, спрямованих на підтримання високого протромбогенного потенціалу крові у пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу. Виявлені порушення у системі гемостазу протікають на фоні вираженого запального процесу, змін ліпідного профілю, синдрому ендогенної інтоксикації, порушень протеолітичного гомеостазу, які, у свою чергу, не лише слугують неспецифічним проявом метаболічних перебудов, супутніх проявам інсульту чи патогенезу цукрового діабету, а й на різних рівнях активно залучаються до регуляції механізмів контролю вмісту та активності ключових компонентів системи гемостазу, сприяючи, у такий спосіб, замиканню своєрідного «порочного кола».

ВИСНОВКИ

Результати дисертаційної роботи поглиблюють існуючі теоретичні уявлення щодо молекулярно-біохімічних механізмів розвитку ішемічного інсульту у хворих на цукровий діабет 2 типу. Доведено значимість порушень функціонування ключових компонентів всіх ланок системи гемостазу у розвиток та прогресування ускладнень за ішемічного інсульту. Виявлено, що метаболічні порушення за ішемічного інсульту та при наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу значною мірою пов'язані з інтенсифікацією запальних процесів, підвищенням протеолітичного потенціалу у плазмі крові та дисбалансом у периферійній серотонінергічній системі.

1. Виявлено відхилення значень основних клініко-біохімічних показників у сироватці крові від значень фізіологічної норми, встановлено зміни ліпідного профілю крові, зокрема, зростання концентрації ЛПНЩ та фракції атерогенних ліпопротеїдів у пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, а також встановлено підвищення концентрації іонів натрію та глюкози у сироватці крові пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу.

2. Виявлено значне підвищення активності коагуляційної ланки системи гемостазу, що характеризується появою у кровотоці пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу маркерів тромбонемії РФМК, підвищенням концентрації фібриногену та продуктів перетворення протромбіну на фоні зростання відносної активності фактору Ха та пригнічення активності протеїну С.

3. Встановлено порушення на рівні функціонування судинно-тромбоцитарної ланки системи гемостазу, більш виражені для пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу, а саме підвищення швидкості та максимальної амплітуди агрегації тромбоцитів у відповідь на дію індуктора АДФ. Виявлено значне зростання відносного рівня фактору фон Вілебранда у пацієнтів обох дослідних груп, що є свідченням розвитку ендотеліальної дисфункції.

4. Доведено зниження функціонального резерву системи фібринолізу у хворих з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, оцінене на основі значного подовження показників часу лізису еуглобулінової фракції плазми крові та часу Хагеман-залежного фібринолізу. Дані порушення супроводжуються зниження потенційної активності плазміногену та дисбалансом вмісту ТАП і ПАІ-1.

5. Встановлено, що гострий період ішемічного інсульту як у пацієнтів без цукрового діабету, так і за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу, характеризується розвитком стану ендогенної інтоксикації (зростання відносного вмісту молекул середньої маси, олігопептидів, зниження концентрації загального білка та альбуміну), інтенсифікацією запальних процесів (зростання відносного вмісту ІЛ-6 та TNF α) та порушеннями у функціонуванні периферійної серотонінергічної системи (зростання концентрації сироваткового триптофану та серотоніну).

6. Встановлено зростання вмісту та активності матриксних металопротеїназ-2 і -9 у сироватці крові пацієнтів з інсультом, накопичення протеолітично активних похідних плазміну та виявлено відмінності їх якісного складу для хворих з ішемічним інсультом та за наявності в анамнезі цукрового діабету 2 типу.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у фахових виданнях

1. Tsarenko T, Kostiuk O, Kravchenko O, Savchuk O, Ostapchenko L. The markers of platelet functions and von Willebrand factor serum content from patients with type 2 diabetes mellitus and ischemic stroke. *Biomedical Research and Therapy*. 2016; 3: 542-547 (здобувачем особисто проведено визначення рівня фактору фон Віллебранда у плазмі крові, підготовлено статтю до друку).
2. Царенко Т, Пажукова Є, Тимошенко М, Кравченко О. Клініко-біохімічні показники обміну білків та вміст електролітів у крові пацієнтів за умов ішемічного інсульту, ускладненого цукровим діабетом другого типу. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка/Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. 2016; 1(20): 49-53 (здобувачем особисто проведено визначення вмісту електролітів, концентрації загального білка та альбумінів у сироватці крові, підготовлено статтю до друку).
3. Царенко Т, Кравченко О, Савчук О. Ліпопротеїновий профіль та активність маркерних ензимів печінки у крові пацієнтів з цукровим діабетом другого типу за умов розвитку ішемічного інсульту. *Вісник Львівського університету Серія біологічна*. 2016; 73: 329-335 (здобувачем особисто проведено визначення концентрації ліпопротеїдів у сироватці крові, підготовлено статтю до друку).

4. Царенко Т, Гайда Л, Кравченко О. Показники ендотоксемії пацієнтів із ішемічним інсультом та цукровим діабетом другого типу. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2016; 2(21): 57-61 (здобувачем особисто проведено визначення вмісту молекул середньої маси у сироватці крові, підготовлено статтю до друку).
5. Царенко Т.М., Тимошенко М.О., Кравченко О.О. Вміст фібриногену та протромбіну за умов ішемічного інсульту ускладненого цукровим діабетом другого типу. Scientific journal «Science rise: biological science». 2017; 6(9): 23-26 (здобувачем особисто проведено визначення вмісту фібриногену та протромбіну у плазмі крові, підготовлено статтю до друку).
6. Царенко Т, Ракша Н, Кравченко О. Матриксні металопротеїнази у патогенезі ішемічного інсульту, ускладненого цукровим діабетом 2 типу. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2018; 2(21): 57-61 (здобувачем особисто проведено визначення вмісту матриксних металопротеїназ у сироватці крові, підготовлено статтю до друку).
7. Kravchenko O, Melnyk V, Tsarenko T, Kostyuk O, Halenova T, Raksha N, Vovk T, Savchuk O, Ostapchenko L. The blood coagulation tests from ischemic stroke patients with or without type 2 diabetes mellitus. Biomedical Research. 2018; 29(14): 2938-43 (здобувачем особисто проведено визначення часу зсідання плазми крові у хронометричних тестах, підготовлено статтю до друку).

Тези основних наукових доповідей

8. О. Kravchenko, Т. Tsarenko, О. Savchuk, L. Ostapchenko. Serotonin and von Willebrand Factor Serum Content under Ischemic Stroke with or without Type 2 Diabetes Mellitus. 61st Annual Meeting of the Society of Thrombosis and Hemostasis Research. 2017; 15-18 February, Basel, Switzerland, P.343.
9. Olha Kravchenko, Tetiana Tsarenko, Oleksiy Savchuk Fibrinogen and soluble fibrin monomer complexes blood content under ischemic stroke with diabetes mellitus. X Parnas Conference Young Scientist Forum „Molecules in the Living Cell and Innovative Medicine”. 2016; 10–12 July, Wrocław, Poland, P.18.
10. Сімеонова М.С., Кравченко О.О., Царенко Т.М. Вміст електролітів та загального білка в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2 типу з ішемічним інсультом. XIV Міжнародна наукова конференція студентів, аспірантів та молодих вчених “Шевченківська весна: Біологія”. 2016; 6-8 квітня, Київ, С.181.
11. Пажукова Є., Царенко Т., Кравченко О. Активність трансаміназ та вміст сечовини у сироватці крові хворих на цукровий діабет 2 типу з ішемічним інсультом. XII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології”. 2016; 19-21 квітня, Львів, С.16.
12. Kravchenko O., Tsarenko T., Savchuk O., Ostapchenko L. The Coagulation Tests from Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Ischemic Stroke Cerebrovasc Disease. Asia Pacific Stroke Conference. 2016; 15-17 July, Brisbane, Australia 2016, P.90.

АНОТАЦІЯ

Царенко Т.М. Розвиток ішемічного інсульту у пацієнтів з діабетом 2 типу. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04-біохімія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, 2019.

Під час виконання дисертаційної роботи було проведено комплексне дослідження функціонування ланок системи гемостазу у пацієнтів з ішемічним інсультом та за наявності цукрового діабету 2 типу. Було виявлено суттєві зміни у функціонуванні системи зсідання крові, судинно-тромбоцитарній та фібринолітичній ланках, які свідчать про схильність до розвитку тромбозів у пацієнтів з ішемічним інсультом та тих, що хворіли на цукровий діабет 2 типу. Всі виявлені зміни досліджуваних показників були більш виражені у хворих з цукровим діабетом 2 типу, що може бути обумовлено комплексом метаболічних порушень, характерних для патогенезу даного захворювання. Скорочення часу зсідання плазми у тесті «анцистроновий час», зростання активності фактору X вказують на активацію коагуляційного каскаду у хворих з ішемічним інсультом окремо та на фоні цукрового діабету 2 типу. Подальшому нарощуванню прокоагуляційного потенціалу сприяє зниження активності фібринолітичної системи, підтверджене за подовженням часу лізису еуглобулінів та Хагеман-залежного фібринолізу. Дисбаланс вмісту основних регуляторів плазміногену (значне зниження вмісту ТАП і зростання вмісту ПАІ-1) та підвищення рівня фактору фон Віллебранда свідчить про структурно-функціональні зміни на рівні ендотелію судин та вказує на розвиток ендотеліальної дисфункції у пацієнтів з інсультом окремо та за наявності цукрового діабету 2 типу. Виявлено зростання швидкості та максимальної амплітуди агрегації тромбоцитів. Зниження концентрації загального білка, накопичення у сироватці крові пацієнтів олігопептидів, зростання відносного вмісту прозапальних цитокінів та поява у кровотоці активованих ММП-2 і ММП-9 свідчить про порушення протеолітичного балансу та запальний процес.

Ключові слова: ішемічний інсульт; цукровий діабет 2 типу; система гемостазу; запалення; ендогенна інтоксикація; протеоліз.

АННОТАЦІЯ

Царенко Т.М. Развитие ишемического инсульта у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. - Квалификационная научная работа на правах рукописи. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 - биохимия. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, 2019.

Диссертационная работа посвящена комплексному исследованию функционирования отдельных звеньев системы гемостаза у пациентов с ишемическим инсультом и инсультом при наличии сахарного диабета 2 типа. Было выявлено существенные изменения в системе свертывания, сосудисто-тромбоцитарном и фибринолитическом звеньях системы гемостаза, которые свидетельствуют о склонности пациентов с ишемическим инсультом на фоне сахарного диабета 2 типа к развитию тромбозов. Все обнаруженные изменения исследуемых показателей были более выражены у больных с сахарным диабетом 2 типа, что может быть обусловлено комплексом метаболических нарушений,

характерных для патогенеза данного заболевания. Сокращение времени свертывания плазмы в тесте «анцистроновое время», увеличение активности фактора X указывают на активацию коагуляционного каскада у больных с ишемическим инсультом отдельно и на фоне сахарного диабета 2 типа. Дальнейшему наращиванию прокоагуляционного потенциала способствует снижение активности фибринолитической системы (удлинение времени лизиса эуглобулиновой фракции и Хагеман-зависимого фибринолиза). Дисбаланс содержания основных регуляторов плазминогена (значительное снижение содержания ТАП на фоне увеличения содержания ПАИ-1) и увеличение уровня фактора фон Виллебранда свидетельствует о структурно-функциональных изменениях на уровне эндотелия сосудов и указывает на развитие эндотелиальной дисфункции у пациентов с ишемическим инсультом отдельно и при наличии сахарного диабета 2 типа. Выявлен рост скорости и максимальной амплитуды агрегации тромбоцитов. Снижение концентрации общего белка, накопление в сыворотке крови пациентов олигопептидов, увеличение относительного содержания провоспалительных цитокинов и появление в кровотоке активированных ММП-2 и ММП-9 свидетельствует о нарушении протеолитического баланса и развитии воспалительного процесса.

Ключевые слова: ишемический инсульт; сахарный диабет 2 типа; система гемостаза; воспаление; эндогенная интоксикация; протеолиз.

SUMMARY

Tsarenko T.M. Development of ischemic stroke in patients with type II diabetes. – Manuscript. The thesis for candidate of biological sciences degree in specialty 03.00.04 – biochemistry. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2019.

The thesis is devoted to a comprehensive study of the hemostasis system in patients with ischemic stroke alone and simultaneously with type 2 diabetes. Significant changes in the coagulation, fibrinolytic system, and platelet disorders were revealed, which indicate the tendency of patients with ischemic stroke alone and simultaneously with type 2 diabetes mellitus to develop thrombosis. All changes were more pronounced in patients with type 2 diabetes, which may be due to a complex of metabolic disorders characteristic for the pathogenesis of this disease. The decrease of plasma clotting time in the “ancistrionic time” test, the increase of the activity of factor X indicate the activation of the coagulation cascade in patients with ischemic stroke alone and simultaneously with type 2 diabetes. The decrease of the activity of the fibrinolytic system (the lengthening of the time both lysis of the euglobulin fraction and Hageman-dependent fibrinolysis) lead to a further increase of procoagulatory potential. The imbalance of the content of the key regulators of plasminogen (the significant decrease of the content of TAP and the increase of the content of PAI-1) as well as the increase of factor von Willebrand level indicated the structural and functional changes of endothelium. This could be a mark of the development of endothelial dysfunction in patients with ischemic stroke alone and simultaneously with type 2 diabetes. An increase of the rate and maximum amplitude of platelet aggregation was also revealed. The decrease in total protein concentration, the

accumulation of oligopeptides, the increase of pro-inflammatory cytokine content and the appearance of MMP-2 and MMP-9 in the bloodstream indicate disorders of the proteolytic balance and the development of the inflammatory process.

Keywords: ischemic stroke; diabetes mellitus type II; hemostasis system; inflammation; endogenous intoxication; proteolysis.

Підписано до друку 02.09.2019 р.

Формат 60x84/16. Папір друк. Умовн. арк. 0.9.

Друк трафаретний (різографія). Наклад 100 прим.

Видавництво: Цифрова та широкоформатна поліграфія

СПД Нестроевий А.І.,

Свідотство ДК №2187 від 17,05,2005р.

03067, м. Київ, вул. Гарматна, 31

Тел./факс 456-46-47