

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

**КЛИСЬ ЮЛІЯ ГРИГОРІВНА**

**УДК 577.1.15:616.212:616.22-006:616.15**

**СТАН СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЗАПАЛЬНИХ ТА ОНКОЛОГІЧНИХ  
ПРОЦЕСАХ ЛОР-ОРГАНІВ**

03.00.04 – біохімія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

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

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор  
**Шевцова Алла Іванівна,**  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,  
професор кафедри біохімії та медичної хімії

доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник  
**Тодор Ігор Миколайович,**  
Інститут експериментальної патології, онкології і  
радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН України,  
старший науковий співробітник лабораторії механізмів  
медикаментозної резистентності

Захист відбудеться «25» лютого 2019 року о 14<sup>00</sup> 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 «18» січня 2019 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
Д 26.001.24

Н.Г. Ракша

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Ефективна діагностика, лікування та профілактика будь-якого захворювання неможливі без з'ясування молекулярних механізмів, що становлять основу патологічного процесу. Стрімке поширення онкологічних захворювань, необхідність виявлення ризику післяопераційного рецидиву та метастазування становить гостру проблему сучасної біохімії та медицини. Зокрема, в нашій країні щорічно виявляють біля 7000 ЛОР-онкологічних хворих, що складає 7,8% від загальної онкозахворюваності [Щепотін І.Б., 2017]. Відомо, що розвитку злоякісного процесу передують ряд послідовних трансформацій епітеліальних клітин слизової оболонки. При цьому в 60 % випадків рак гортані розвивається внаслідок тривалого перебігу передракових захворювань, що тісно пов'язані з хронічними запальними процесами [Черемисина О.В. и др., 2007; Шилова О.Ю. и др., 2010; Кондакова И.В. и др., 2014]. У більшості випадків злоякісні новоутворення ЛОР-органів виявляють на пізніх стадіях [Чойнзонов Е.Л., 2014; Стукань А.И. и др., 2017]. Основною причиною смертності при цих захворюваннях є місцеві рецидиви і метастази в лімфатичні вузли шиї [Какурина Г.В. и др., 2015]. Тому вивчення загальних механізмів розвитку захворювань, пошуки молекулярних маркерів виникнення післяопераційних рецидивів та метастазів належать до актуальних напрямків медико-біологічних досліджень.

На особливу увагу при цьому заслуговують компоненти системи гемостазу, оскільки численні протеолітичні ензими, їх неактивні попередники, активатори та інгібітори знаходяться в складних взаємозв'язках, що забезпечують контроль за багатоланковими та різноспрямованими каскадними процесами та задіяні в забезпеченні різноманітних фізіологічних та патофізіологічних процесів [Ehrmann M. at al, 2004; Schuliga M., 2015]. Порушення узгодженості між ними призводить до неконтрольованого протеолізу, не функціональної активації компонентів систем зсідання крові, фібринолізу, комплементу, кініногенезу та деструкції клітин. Компоненти протеїназно-інгібіторної системи відіграють важливу роль в механізмах, що забезпечують загальну регуляцію процесу запалення в організмі [Esmon C.T., 2005]. Надмірна активація протеолізу є найважливішою біохімічною ланкою у розвитку запалення [Висмонт Ф.И., 2006]. При онкологічних захворюваннях порушення функціонування системи гемостазу обумовлені комплексною взаємодією її компонентів, злоякісних клітин та елементів стромы [Breznik B., 2017]. Ракові клітини стають індукторами нефункціональної активації протеолізу. Вони не лише продукують підвищену кількість протеїназ, але й активують проензими системи гемостазу [Wang X., at al; 2005]. Це впливає як на локальний, так і системний гемостаз, сприяє процесам інвазії, метастазування та забезпечує різні етапи багатоступеневого процесу канцерогенезу, а також процеси взаємовідносин між злоякісними клітинами та клітинами оточуючих тканин [Mason S.D. at al, 2011; Rakashanda S. at al, 2012]. Надмірна секреція протеїназ при запальних захворюваннях та новоутвореннях призводить до порушення протеїназно-інгібіторного балансу [Skrzydowska E., 2005; Gassaloglu M. at al, 2014]. Це відіграє істотну роль в розвитку захворювань, призводить до утворення нехарактерних для здорових тканин протеїнових похідних та може мати вагому

інформативну цінність для розуміння механізмів розвитку захворювань та створення нових підходів для оцінки стану хворого.

Загальноновизнано, що відомі маркери онкозахворювань мають досить обмежену інформативність. Тому в останні роки дедалі більшого поширення набувають підходи, що ґрунтуються на визначенні кількох показників [Петросян А.М. и др, 2007; Jiang W. et al, 2017]. Саме до досліджень цього напрямку належить проведене вивчення групи показників системи гемостазу при новоутвореннях верхніх дихальних шляхів. Ця робота спрямована на комплексне вивчення показників гемостазу з метою розширення відомостей щодо особливостей функціонування системи гемостазу при запальних та онкологічних процесах ЛОР-органів. Такі уточнені наукові дані мають важливе значення для поглибленого з'ясування патофізіологічних механізмів, що призводять до розвитку досліджуваних у нашій роботі захворювань, та пошуку молекулярних маркерів для прогнозування виникнення післяопераційних рецидивів та метастазів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Представлена дисертаційна робота є завершеним дослідженням, що виконане автором відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих, проведених та узагальнених протягом 2009-2016 років. Робота виконана у рамках науково-дослідних тем «Визначення біохімічних, генетичних, імунологічних та цитологічних маркерів розвитку патологічних станів організму з метою розробки засобів направленої корекції і профілактики» (№ д/р 0106U005750, 2005-2010 рр.) та «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (№ д/р 0111U004648, 2011-2016 рр.) ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

**Мета та завдання дослідження.** Мета роботи – дослідити стан системи гемостазу при запальних та онкологічних процесах ЛОР-органів.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Провести комплексну оцінку показників системи гемостазу за хронічного тонзиліту та новоутворень ЛОР-органів.
2. Визначити інформаційну цінність досліджуваних показників щодо прогнозу перебігу злоякісних захворювань ЛОР-органів.
3. Дослідити наявність протеолітично ушкоджених похідних плазміногену за новоутворень ЛОР-органів.
4. З'ясувати особливості активації плазміногену стрептокіназою в плазмі крові за умов, наближених до фізіологічних.

*Об'єкт дослідження:* система гемостазу у пацієнтів із запальними та онкологічними процесами ЛОР-органів.

*Предмет дослідження:* компоненти зсідуючої та коагуляційної систем крові хворих із хронічним тонзилітом, доброякісними, передраковими та злоякісними захворюваннями ЛОР-органів у доопераційний період.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено комплексне дослідження параметрів системи гемостазу при хронічному тонзиліті, доброякісних, передракових та злоякісних новоутвореннях ЛОР-органів. Внаслідок проведеної роботи отримано нові наукові дані, що істотно поглиблюють уявлення про

функціонування системи гемостазу при досліджуваних захворюваннях. Виявлено зміни ключових показників фібринолітичної, зсідуючої ланок системи гемостазу та компонентів інгібіторного потенціалу плазми. Вперше у плазмі крові хворих із новоутвореннями ЛОР-органів експериментально доведено утворення протеолітично ушкоджених похідних плазміногену, що містять SP-домен на відміну від досліджень неферментативних фрагментів важкого ланцюга (ангіостатинів). Виявлені деградовані похідні плазміногену можуть відігравати істотну роль в порушенні протеїназно-інгібіторного балансу крові. Вперше показано участь  $\alpha_2$ -макроглобуліну у процесі активації плазміногену стрептокіназою в плазмі крові та доведено утворення складних асоційованих похідних. Показано, що активаційна дія стрептокінази в складі білкових компонентів плазми крові опосередкована утворенням потрійного комплексу плазміноген-стрептокіназа- $\alpha_2$ -макроглобулін, що виявляє як амідолітичну плазмін-подібну дію, так і здатність до перетворення плазміногену у плазмін. Це поглиблює відомі уявлення щодо механізмів активаційної дії стрептокінази.

**Практичне значення одержаних результатів.** Виявлені закономірності змін досліджуваних компонентів системи гемостазу при хронічному тонзиліті та новоутвореннях ЛОР-органів створюють теоретичне та практичне підґрунтя для розуміння особливостей перебігу патофізіологічних процесів, що становлять основу розвитку досліджуваних захворювань. Отримані в роботі дані дозволили розробити прогностичний індекс, що за комплексного урахування доопераційних показників вмісту фібриногену,  $\alpha_2$ -макроглобуліну та рівня тромбін-подібної амідолітичної активності дає можливість прогнозувати розвиток рецидиву чи метастазів у хворих із злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів. Поглиблення відомостей щодо особливостей активаційної дії стрептокінази в плазмі крові може бути інформативним при плануванні експериментальних досліджень для вивчення функціонування фібринолітичної системи. Виявлені особливості показників системи гемостазу при новоутвореннях ЛОР-органів можуть стати основою для подальшого пошуку та розробки додаткових інформаційних критеріїв формування груп хворих підвищеного онкологічного ризику.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто здійснено пошук та проаналізовано наукову літературу за темою наукового дослідження, виконано експериментальні дослідження, обробку та теоретичне обґрунтування результатів, підготовку матеріалів до публікації. Планування експериментальних робіт, аналіз та обговорення отриманих результатів проведено спільно з науковим керівником д.б.н. Верьовкою С.В. Плазма крові хворих на хронічний тонзиліт, доброякісні, передракові та злоякісні захворювання ЛОР-органів була надана лабораторією біохімії ДУ «Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України».

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи були представлені на Всеукраїнській науковій конференції з міжнародною участю “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології” (Дніпропетровськ, 2008), III Міжнародній конференції молодих науковців “Біологія: від молекули до біосфери” (Харків, 2008), X Українському біохімічному з’їзді (Одеса, 2010), X Ювілейній науковій конференції молодих онкологів за участю міжнародних спеціалістів “Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології”

(Київ, 2010), Щорічній традиційній весняній конференції Українського наукового медичного товариства оториноларингологів “Сучасні методи діагностики і лікування запальних захворювань ЛОР-органів” (Київ, 2012), Другій міжнародній науковій конференції “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології” (Дніпропетровськ, 2013), XI Українському біохімічному конгресі (Київ, 2014), III міжнародній науковій конференції “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології” (Дніпропетровськ, 2015), XX міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2016), IV міжнародній науковій конференції “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології” (Дніпропетровськ, 2017).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 26 наукових праць, з них 5 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у науковому фаховому виданні України, включеному до міжнародних наукометричних баз даних, 8 публікацій в інших наукових виданнях, 1 патент на корисну модель, 1 методичні рекомендації, 10 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій та з’їздів.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, заключення, висновків та списку літературних джерел, який включає 295 джерел. Матеріали дисертаційної роботи викладено на 159 сторінках (з яких основна частина займає 125 сторінок), проілюстровано 4 рисунками та 17 таблицями.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

### **Матеріали та методи досліджень**

Для проведення дослідження було виконано клініко-лабораторне обстеження 123 пацієнтів із захворюванням ЛОР-органів. Хворі перебували на стаціонарному лікуванні у відділі запальних захворювань верхніх дихальних шляхів та онкопатології ЛОР-органів ДУ “Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України”. Хронічний тонзиліт у стадії декомпенсації діагностовано у 31 хворого. Доброякісні новоутворення порожнини носа і приносних пазух (кісти верхньощелепних пазух, поліпозний етмоїдит та гаймороетмоїдит) було виявлено у 31 пацієнта. У 26 осіб діагностовано передракові захворювання (хронічний гіперпластичний ларингіт або папіломатоз гортані). Групу із злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів склали 35 хворих, з яких у 10 пацієнтів підтверджено плоскоклітинний рак II-ої стадії ( $T_2N_0M_0$ ), у 25 осіб – III-ої стадії ( $T_3N_0M_0$ ). У дослідження включали тільки хворих, у яких діагноз встановлено вперше та підтверджено гістологічно. Всі хворі були віком від 48 до 65 років. Контрольну групу склали 30 практично здорових осіб (донори). Критеріями виключення хворих з клінічних досліджень були супутні некомпенсовані або гострі захворювання, стан і наявність яких може суттєво вплинути на результати досліджень, участь хворого у будь-якому іншому клінічному дослідженні або вживання препаратів, які можуть вплинути на систему гемостазу. Матеріал відбирали за персональної письмової згоди хворих в рамках лікувально-діагностичних процедур.

Визначення вмісту та активності досліджуваних компонентів системи гемостазу проводили із застосуванням комплексу біохімічних методів. Трипсин-подібну активність визначали за гідролізом протаміну та забарвленням продуктів реакції за методом Сакагуші [Веремеєнко К.Н. и др., 1988]. Плазмін-, тромбін-подібну активності та активність еластази досліджували спектрофотометрично з використанням відповідних специфічних хромогенних субстратів [Abilgaard U., 1977; Friberger P. et al., 1978; Веремеєнко К.Н. и др., 1992]. Для визначення концентрації фібриногену використовували спектрофотометричний метод [Беліцер В.О. та співавт., 1997]. Вміст  $\alpha_1$ -інгібітора протеїназ ( $\alpha_1$ ІІ) визначали за його здатністю пригнічувати гідроліз трипсином синтетичного субстрата N-бензоїл-D,L-аргінін-п-нітроаніліду (БАПНА) [Веремеєнко К.Н. и др., 1988]. Вміст  $\alpha_2$ -макроглобуліну ( $\alpha_2$ М) визначали за його здатністю кількісно утворювати з трипсином активний комплекс, здатний розщеплювати БАПНА, який нечутливий до інгібітора з бобів сої [Веремеєнко К.Н. и др., 1988]. Вміст антитромбіну III (АТ-III) досліджували за методом, що полягає у визначенні різниці між рівнем тромбіна, який у надлишку додають до плазми, та кількістю ензиму, що залишається після його інактивації АТ-III [Abilgaard U. et al., 1977]. Фібринолітичну активність (ФА) визначали еуглобуліновим методом Kowarzik і Vuluk за часом від утворення згустку фібрину до його розчинення [Балуда В.П., 1980]. Для визначення концентрації тканинного активатору плазміногену (t-РА), інгібітору активатору плазміногену-1 (ПАІ-1), фактору фон Віллебранда (vWF) та протромбінового пулу застосовували імуноферментний аналіз (ELISA) відповідно до стандартного протоколу [Harlow E., 1988]. Для ідентифікації протеолітично деградованих похідних плазміну в плазмі крові застосовували метод ензим-електрофорезу, який базується на проведенні електрофорезу в поліакриламідному гелі, кополімеризованому з фібриногеном у якості субстрату [Савчук О.М., 2010]. Фракціонування плазми крові проводили за допомогою хроматографії, що поділяє за розмірами, використовуючи носій Superdex 200 [Carta G., 2010].

Статистичну обробку та аналіз експериментальних даних проводили з використанням Origin 7.0. Вірогідність результатів визначали за t-критерієм Стьюдента. Ензімограми та хроматограми, що представлені на рисунках, є типовими для серії повторних дослідів.

### Результати досліджень та їх обговорення

**Дослідження показників системи гемостазу при хронічному тонзиліті, доброякісних, передракових та злоякісних новоутвореннях ЛОР-органів.** Система протеолізу відіграє одну з ключових ролей у забезпеченні механізмів, що здійснюють загальну регуляцію процесу запалення в організмі. При формуванні протеолітичних каскадів провідна роль належить трипсин-подібним протеїназам, які регулюють рівень медіаторів запалення, появи активних форм ензимів, що задіяні у процесі запалення [O'Brien M., 2012; Schuliga M., 2015]. Трипсин-подібні протеїнази забезпечують різні етапи багатоступеневого процесу канцерогенезу [Hoon D.S., 2011; Прохоров Д.В., 2013]. Показано, що ці ензими секретуються як нормальними, так і трансформованими клітинами різного гістогенезу у позаклітинне середовище з подальшим їх надходженням у системний кровообіг або функціонують у зв'язаному

з поверхнею трансформованих клітин стані [Herszényi L. et al, 2014]. Показник загальної протеолітичної активності є інтегративним параметром, що може опосередковано свідчити про можливість трансформації, проліферації, міграції клітин [Козлова Л.С. и др, 2017]. Результати проведених нами досліджень свідчать про вірогідне підвищення загальної протеолітичної активності у хворих на передракові захворювання та доброякісні новоутворення порівняно з групою контролю (табл. 1).

Таблиця 1

**Загальна протеолітична активність та активність еластази у плазмі крові хворих із захворюваннями ЛОР-органів**

| Групи обстежених                       | Загальна протеолітична активність, нмоль арг/(хв·мл) | Активність еластази, нмоль п-НА/(год·мл) |
|--|--|--|
| Донори                                 | 55,5±3,2   | 9,2±1,0                                  |
| Хворі з хронічним тонзилітом           | 62,6±3,4   | 10,4±1,8                                 |
| Хворі з доброякісними захворюваннями   | 65,3±2,9*  | 12,1±2,9                                 |
| Хворі з передраковими захворюваннями   | 67,9±2,3*  | 13,8±1,6*                                |
| Хворі з злоякісними захворюваннями II  | 72,5±5,1*  | 10,3±1,5                                 |
| Хворі з злоякісними захворюваннями III | 78,0±4,0*  | 14,0±1,7*                                |

Примітка: \* – статистично достовірні зміни в порівнянні з показником донорів,  $p \leq 0,05$ .

Хворим зі злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів II-ої та III-ої стадій притаманне достовірне збільшення досліджуваної активності у 1,3 та 1,4 рази, відповідно, відносно рівня практично здорових осіб. Активність еластази у пацієнтів з передраковими та злоякісними захворюваннями ЛОР-органів III-ої стадії достовірно перевищувала показник контролю в однаковій мірі у 1,5 рази.

Нами досліджено показники системи зсідання у плазмі крові хворих. Встановлено достовірне зростання вмісту фібриногену в плазмі крові хворих із доброякісними, передраковими та злоякісними новоутвореннями. Найбільше збільшення його вмісту (у 1,8 рази) притаманне хворим із III-ою стадією раку ЛОР-органів (рис. 1).

При дослідженні вмісту vWF показано його зростання у всіх груп хворих (рис. 1). У хворих із хронічним тонзилітом рівень vWF перевищував такий практично здорових осіб у 2,5 рази. У осіб із доброякісними, передраковими та злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів II-ої стадії його вміст зростав у 2,3 рази. При раку III-ої стадії виявлено збільшення рівня vWF у 2,7 рази відносно контрольної групи.



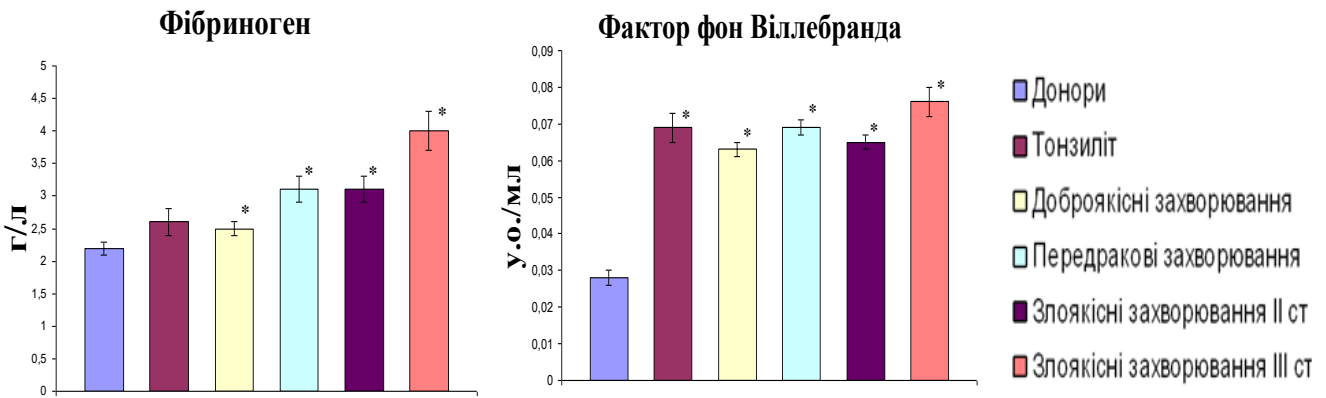


Рис.1. Концентрація фібриногену та фактору фон Віллебранда в плазмі крові хворих із захворюваннями ЛОР-органів

Примітка: \* – статистично достовірні зміни в порівнянні з показником донорів,  $p \leq 0,05$ .

Тромбін-подібна активність достовірно зростала у хворих на доброякісні та передракові новоутворення (у 1,8 та 1,7 рази відповідно) відносно показника контрольної групи (рис. 2). У пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів II-ої стадії рівень тромбін-подібної активності не відрізнявся від контролю, а при III-й стадії цей показник достовірно збільшувався у 1,7 рази.

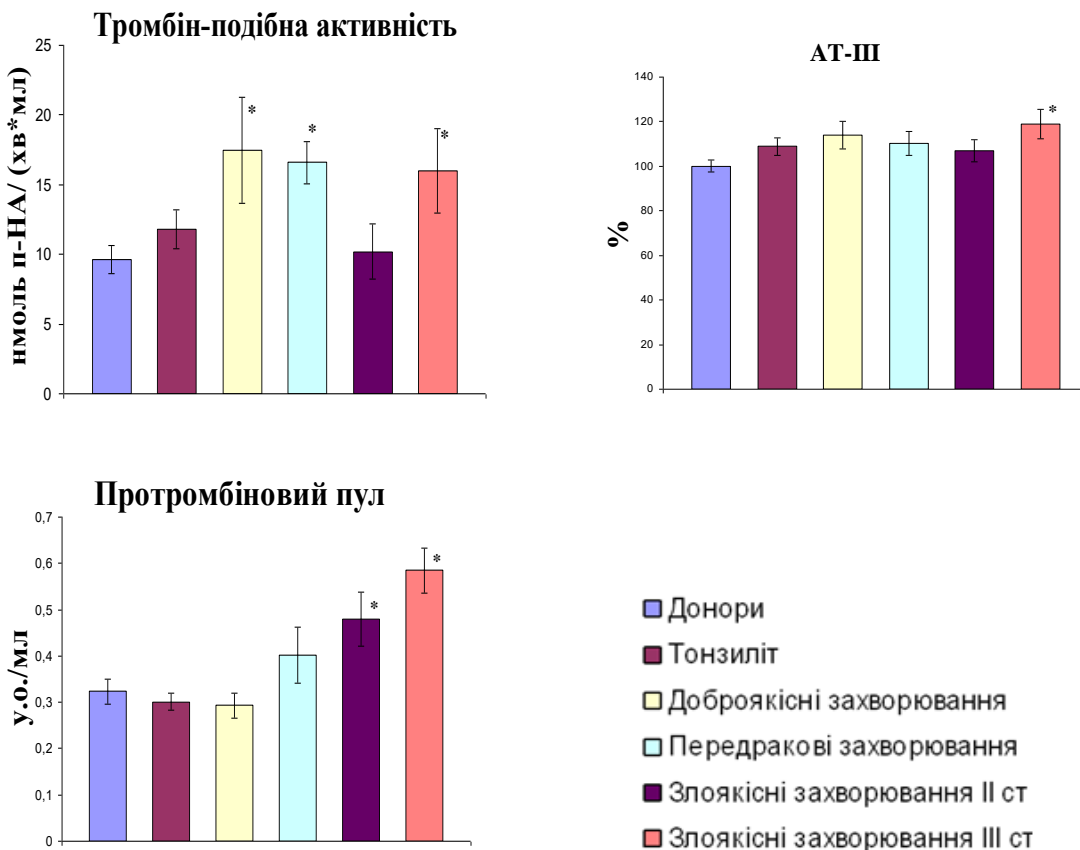


Рис.2. Тромбін-подібна активність, рівень АТ-III та протромбінового пулу в плазмі крові хворих із захворюваннями ЛОР-органів.

Примітка: \* – статистично достовірні зміни в порівнянні з показником донорів,  $p \leq 0,05$ .

Визначення протромбінового пулу дозволило встановити достовірне збільшення його рівня у хворих із злоякісними новоутвореннями II-ої стадії у 1,5 рази, при III-ій стадії онкологічного процесу його вміст зростав у 1,8 рази відносно значення контрольної групи.

Як видно з наведених на рис. 2 даних, у хворих на рак ЛОР-органів III-ої стадії виявлено вірогідне зростання рівня АТ-III порівняно з контрольною групою у 1,2 рази.

Не меншої уваги заслуговує й фібринолітична ланка системи гемостазу, результати вивчення її показників узагальнено у табл. 2.

При дослідженні фібринолітичної активності плазми крові встановлено достовірне подовження часу лізису еуглобулінового згустку у хворих із передраковими та злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів III-ої стадії. Наведені в таблиці 2 дані свідчать про підвищення плазмін-подібної активності в плазмі крові хворих усіх досліджуваних груп. Рівень t-РА вірогідно перевищував контрольні значення при передракових та злоякісних захворюваннях обох стадій.

Таблиця 2

**Показники системи фібринолізу у плазмі крові хворих із захворюваннями ЛОР-органів**

| Групи обстежених                              | Фібринолітична активність, хв | Плазмін-подібна активність, П-НА/(хв·мл) | t-РА, у.о./мл | РАІ-1 у.о./мл |
|---|-------------------------------|--|---------------|---------------|
| Донори  | 237,0±5,0                     | 0,57±0,02                                | 0,059±0,001   | 0,074±0,002   |
| Хворі з хронічним тонзилітом                  | 240,0±8,0                     | 0,65±0,03*                               | 0,063±0,002   | 0,296±0,058*  |
| Хворі з доброякісними захворюваннями          | 238,0±6,0                     | 0,63±0,02*                               | 0,069±0,002   | 0,250±0,069*  |
| Хворі з передраковими захворюваннями          | 302,0±21,0*                   | 0,72±0,06*                               | 0,075±0,004*  | 0,368±0,078*  |
| Хворі з злоякісними захворюваннями II стадії  | 238,0±6,0                     | 0,74±0,10*                               | 0,073±0,002*  | 0,410±0,027*  |
| Хворі з злоякісними захворюваннями III стадії | 263,0±12,0*                   | 0,76±0,06*                               | 0,074±0,003*  | 0,434±0,121*  |

Примітка: \* – статистично достовірні зміни в порівнянні з показником донорів,  $p \leq 0,05$ .

Встановлено зростання рівня PAI-1 у хворих на хронічний тонзиліт у 4 рази, при доброякісних новоутвореннях - у 3,4 рази відносно показника донорів. При передракових захворюваннях вміст PAI-1 зростав у 5 разів. Пацієнтам на рак ЛОР-органів II-ої та III-ої стадій притаманне збільшення рівня цього інгібітору у 5,5 та 5,9 разів відповідно.

Необхідною умовою нормального функціонування системи гемостазу є динамічна рівновага між протеолітичними ензимами та їх інгібіторами. Підвищення активності протеолітичних ензимів за зменшення вмісту їх інгібіторів може призводити до пошкодження протеїнів та зумовлювати порушення їх функціональної активності. Тому інгібітори протеїназ є компонентами універсальної системи, що захищають організм від надмірного протеолізу, перешкоджають деструкції тканин та забезпечують захист органів і тканин від дії протеїназ [Вовчук И.Л., 2010; Hoop D.S., 2011; El-Akawi Z.J., 2013]. Нами досліджено концентрацію ключових інгібіторів плазми крові –  $\alpha_1$ ІІ та  $\alpha_2$ М (табл. 3).

Таблиця 3

### Концентрація $\alpha_2$ М та $\alpha_1$ ІІ у плазмі крові хворих із захворюваннями ЛОР-органів

| Групи обстежених                              | Вміст $\alpha_2$ М, г/л | Вміст $\alpha_1$ ІІ, г/л |
|---|-------------------------|--------------------------|
| Донори  | 2,00±0,09               | 2,00±0,08                |
| Хворі з хронічним тонзилітом                  | 1,70±0,05*              | 2,00±0,09                |
| Хворі з доброякісними захворюваннями          | 1,60±0,20               | 2,00±0,20                |
| Хворі з передраковими захворюваннями          | 1,80±0,10               | 1,90±0,10                |
| Хворі з злоякісними захворюваннями II стадії  | 1,60±0,20               | 1,80±0,20                |
| Хворі з злоякісними захворюваннями III стадії | 1,50±0,10*              | 2,50±0,20*               |

Примітка: \* – статистично достовірні зміни в порівнянні з показником донорів,  $p \leq 0,05$ .

Виявлено достовірне зниження концентрації  $\alpha_2$ М у хворих на хронічний тонзиліт та злоякісні новоутворення III-ої стадії. Окрім цього, пацієнтам із III-ою стадією раку ЛОР-органів притаманне вірогідне зростання вмісту  $\alpha_1$ ІІ.

Одержані нами результати свідчать про значні зміни показників системи гемостазу, зокрема вмісту та гідролітичної активності ензимів та інгібіторного потенціалу у хворих із хронічним тонзилітом, доброякісними, передраковими та злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів. Враховуючи те, що порушення функціонування протеолітичних компонентів системи гемостазу викликають або супроводжують запальні та онкологічні процеси ЛОР-органів, вдосконалення діагностики захворювань, обґрунтування оптимальних прийомів терапії можливі за умови з'ясування особливостей протеолітичних процесів при цих захворюваннях.

**З'ясування інформаційної цінності досліджуваних показників щодо прогнозу перебігу злоякісних захворювань ЛОР-органів.** Значною мірою невдачі в лікуванні пухлин цієї локалізації пов'язані з незадовільною оцінкою прогнозу перебігу захворювання і його результату, заснованого на використанні стандартних критеріїв, що включають клінічні і морфологічні характеристики пухлинного процесу [Какурина Г.В. и др., 2015]. Крім того, відомо, що близько 25% пацієнтів мають приховані метастази в лімфатичні вузли, які не проявляються клінічно, тому на ранніх стадіях пухлинного процесу клініко-морфологічні критерії часто малоінформативні [Чойнзонов Е.Л. и др., 2014;]. У зв'язку з цим пошук додаткових показників, які могли б відображати фактичний стан пухлинної прогресії та визначати прогноз розвитку захворювання є вкрай актуальним.

Аналіз даних клінічного спостереження за хворими на рак ЛОР-органів III-ої стадії показав, що у віддаленому післяопераційному періоді (через 3-12 місяців після оперативного втручання) у 10 хворих цієї групи виявлено рецидив або метастази в регіонарні лімфатичні вузли шиї, а 15 хворих перебували у стадії ремісії. Проведення комплексної оцінки компонентів системи гемостазу є актуальним в зв'язку з недостатньою інформативністю окремо досліджуваних показників. Більш інформативним може бути використання величини, що об'єднує декілька параметрів. Після узагальнення досліджуваних показників хворих із рецидивами та метастазами та осіб зі сприятливим перебігом післяопераційного періоду нами запропоновано числовий індекс, що враховував індивідуальні відміни від контролю вмісту фібриногену,  $\alpha_2$ -макроглобуліну та рівня тромбін-подібної активності. Для кожного з хворих індекс виражено в безрозмірних величинах та виражається формулою:

$$H = \frac{[Fg][Thr]}{[\alpha_2M]}, \text{ де}$$

[Fg] – співвідношення вмісту фібриногену до середнього значення контрольної величини;

$[\alpha_2M]$  – співвідношення вмісту  $\alpha_2$ -макроглобуліну до середнього значення контрольної величини;

[Thr] – співвідношення тромбін-подібної активності до середнього значення контрольної величини.

Розраховані за наведеною формулою індивідуальні показники кожного хворого в групі пацієнтів з рецидивами чи метастазами у післяопераційному періоді та осіб у стані ремісії та подальший їх обрахунок дали змогу отримати середнє значення індексу для цих груп хворих (табл. 4).

## Значення прогностичного індексу для хворих на рак ЛОР-органів III стадії

| Групи обстежених  | Прогностичний індекс, Н |
|---|-------------------------|
| Хворі на рак ЛОР-органів III стадії з рецидивами та метастазами | 6,35±1,67*              |
| Хворі на рак ЛОР-органів III стадії в стані ремісії             | 2,65±0,53               |

Примітка: \* – статистично достовірні зміни між відповідним показником у хворих з післяопераційними ускладненнями та в стані ремісії,  $p \leq 0,05$ .

Отже, запропонований індекс може бути використаним для прогнозування розвитку рецидиву чи метастазів у регіонарні лімфовузли у віддаленому післяопераційному періоді у хворих із злоякісними новоутвореннями ЛОР-органів.

**Дослідження структурно ушкоджених похідних плазміногену за новоутворень ЛОР-органів.** Надмірна активація протеїназ визнана одним з провідних чинників онкологічного процесу [Herszényi L., 2014]. Як впливає з результатів наших досліджень, за надмірної активації протеолізу при досліджуваних захворюваннях вміст білкових інгібіторів протеїназ зазнає певних змін, проте виснаження інгібіторного потенціалу крові не відбувається [Klys' Y.G., 2016; Клись Ю., 2016]. При протеолітично-інгібіторному дисбалансі утворюються протеолітично ушкоджені похідні протеїназ, що зберігають активність, відмінну від такої при нативній формі ензиму, однак нездатні до ефективного зв'язування з інгібіторами. Особливої уваги при цьому заслуговує основний ензим фібринолітичної системи – плазмін. Надмірна активація плазміногену та гідролітична дія утвореного плазміну становлять важливу ланку онкологічного процесу [Kwaan H.C., 2009; Kumari S., 2015]. Через розвинуту субдоменну структуру плазміноген/плазмін є схильним до фрагментації. Молекула плазміногену утворена протеїнажною частиною (так званим SP-доменом, або ж легким ланцюгом), та містить блок з п'яти кринглових структур, що утворюють додаткові ділянки міжмолекулярної взаємодії [Aisina R.V., 2014]. Внаслідок впливу трипсин-подібних протеїназ на плазміноген/плазмін можуть утворюватися протеолітично деградовані його похідні. Утворення ангіостатинів – крингл-вмісних фрагментів плазміногену – широко досліджується, однак протеолітична частина молекули плазміногену залишається поза увагою [Doll J.A. et al., 2005].

Тому нами досліджено вміст протеолітичних фрагментів плазміногену в плазмі крові хворих із новоутвореннями ЛОР-органів методом ензим-електрофорезу. Активність досліджуваних зразків визначали за гідролізом кополімеризованого в гель фібриногену, в якості активатору використовували стрептокіназу (рис. 3).

Сама стрептокіназа не виявила протеолітичної дії через відсутність активного центру. При порівнянні зразків плазм пацієнтів з патологіями ЛОР-органів та зразків донорів видно, що низькомолекулярні похідні плазміну зустрічаються як в плазмі донорів, так і в плазмі хворих із новоутвореннями. Тобто процеси обміну протеїнів за норми також включають утворення деградованих форм плазміногену. Одержані ензімограми плазми хворих відрізнялися від норми як за кількісним, так і за якісним вмістом низькомолекулярних похідних плазміногену. Оскільки в нашому

дослідженні за активатор обрано стрептокіназу, що здатна активувати лише плазміноген, то можна однозначно стверджувати про належність виявлених протеолітичних похідних саме до SP-вміщуючих фрагментів плазміногену.

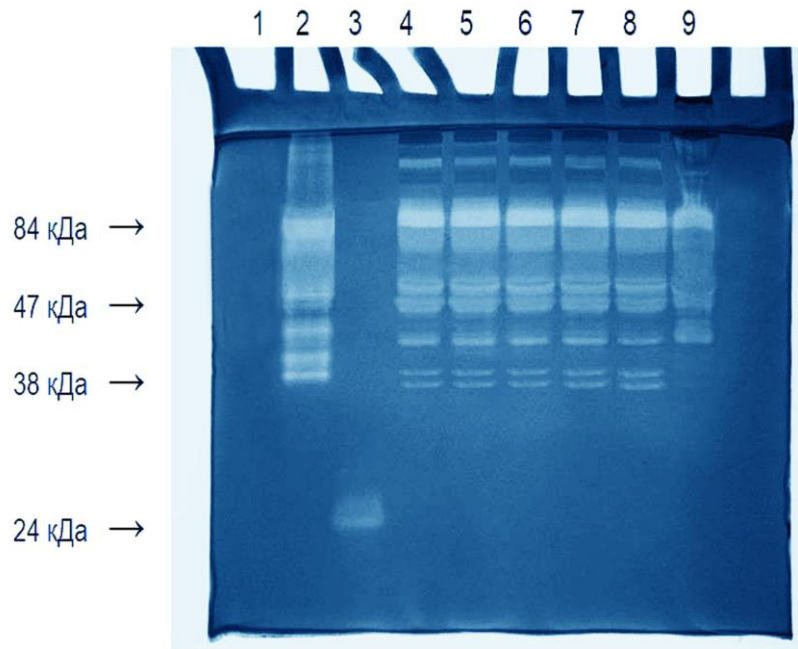


Рис. 3. Типова ензімограма зразків плазми хворих із новоутвореннями ЛОР-органів:

- 1 – стрептокіназа, застосована для активації плазміногену у плазмін;
- 2 – плазмін та низькомолекулярні форми, утворені внаслідок автолізу;
- 3 – трипсин;
- 4-5 – III стадія злякисного процесу;
- 6 – II стадія злякисного процесу;
- 7 – передракові утворення;
- 8 – доброякісні утворення;
- 9 – донори.

Таким чином, нами показано, що розвиток досліджуваних новоутворень пов'язаний з формуванням протеолітично ушкоджених похідних плазміногену, що містять SP-домен та здатні виявляти протеолітичну активність після специфічної активації. Відсутність направляючої дії лізин-зв'язуючих ділянок, розміщених у кринглових структурах, перетворює ферментативну частину плазміну на низькоспецифічну трипсин-подібну протеїназу. Поява в кровообізі деградованої форми плазміну, позбавленої кринглових структур, може впливати на поглиблення активаторно-інгібіторного дисбалансу. Через відсутність кринглових структур подібні похідні не підлягають інгібуванню  $\alpha_2$ -антиплазміном, проте їх активний центр може виявляти протеолітичну дію.

**Дослідження особливостей активації плазміногену стрептокіназою в плазмі крові за умов, наближених до фізіологічних.** Окрім протеолітичного способу активації плазміногену в плазмін тканинним чи уроркіназним активатором плазміногену існує непрямий спосіб формування активного центру без розщеплення активаційного зв'язку внаслідок взаємодії плазміногену в розчинному

стані зі стрептокіназою (Ск) – протеїном, що продукується  $\beta$ -гемолітичними стрептококами групи С [Voxrud P., 2000]. Відомі особливості цього активаційного процесу за умов *in vitro*, однак недослідженими є подібні перетворення у присутності багатокомпонентної системи протеїнів крові, зокрема білкових інгібіторів. Відомо, що активність Пг-Ск-комплексу не блокується основними складовими інгібіторного потенціалу крові. При цьому не враховується така особливість дії  $\alpha_2$ М, як зв'язування ним протеїназ поза гідролітичним центром [Зорин Н.А. и др., 2004]. Молекулярна маса  $\alpha_2$ М (725 кДа) дає змогу виявляти методом хроматографії, що поділяє за розмірами, як сам  $\alpha_2$ М, так і утворені ним комплекси з протеїназами. Тому метою наступного фрагменту роботи було з'ясування особливостей функціонування комплексів, що утворюються при взаємодії Ск з білками плазми крові.

Нами було проведено розділення плазми крові методом хроматографії, що розподіляє за розмірами, та отримано три відмінні за молекулярною масою піки (рис.4).

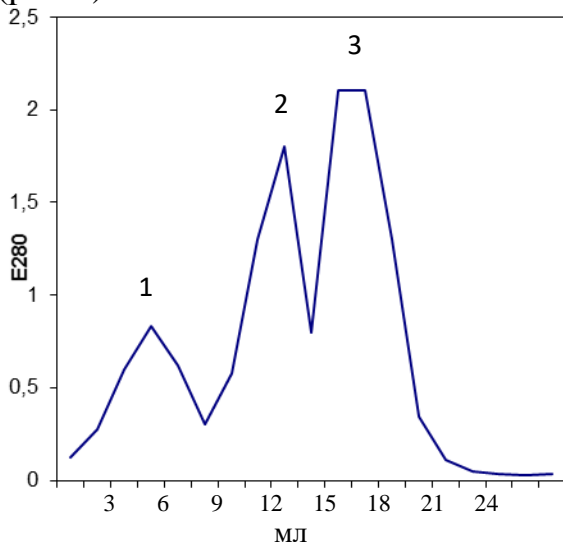


Рис. 4. Хроматограма результатів фракціонування плазми крові донорів на Superdex 200: 1 – 3 – фракції, які досліджували

Колонка 1,8×26,6 см; елюент – 0,05 М трис-НСІ буфер, рН 7,6; швидкість елюції 25 мл/год

Для визначення знаходження плазміногену серед трьох отриманих фракцій плазми крові застосовували екзогенний активатор – стрептокіназу. Як впливає з даних таблиці 5, амідолітична активність спостерігалась лише в третій фракції плазми крові, що свідчить про знаходження в ній плазміногену.

Таблиця 5

#### Амідолітична активність фракцій плазми крові після внесення екзогенної Ск

| № досліджуваної фракції | Амідолітична активність за гідролізом хромогенного субстрату S-2251 (поглинання при 405 нм) |
|-------------------------|---|
| 1                       | -   |
| 2                       | -   |
| 3                       | 0,156 ± 0,020   |

Для з'ясування характеру міжмолекулярних взаємодій екзогенної Ск з протеїнами плазми крові до аліквот плазми вносили таку кількість міжнародних

одиниць Ск, що забезпечує присутність в системі активного Пг-Ск-комплексу за відсутності вільних Пг, плазміну та Ск. Проактивовану у наведений спосіб плазму донорів піддавали розділенню за допомогою хроматографії, що поділяє за розмірами. Результат розподілу протеїнів не відрізнявся від отриманих в попередніх дослідах. Водночас спостерігались якісні відміни у розподілі гідролітичної активності у піках (табл. 6).

Таблиця 6

**Амідолітична, протеолітична активності та активаційна дія фракцій плазми крові, отриманих розділенням плазми хроматографією, що поділяє за розмірами, після активації стрептокіназою**

| № досліджуваної фракції | Амідолітична активність за гідролізом хромогенного субстрату S-2251 (поглинання при 405 нм) | Протеолітична активність (гідроліз протаміну) (поглинання при 508 нм) | Активаційна дія на інтактний плазміноген за гідролізом хромогенного субстрату S-2251 (поглинання при 405 нм) |
|-------------------------|---|---|--|
| №1                      | 0,148± 0,010  | 0,310 ± 0,028   | 0,760±0,060  |
| №2                      | 0,052±0,007   | 0,060± 0,007  | 0,930±0,070  |
| №3                      | -   | -   | -  |

Як впливає з наведених в таблиці 6 даних, при дослідженні фракцій проактивованої стрептокіназою плазми амідолітичну, протеолітичну та активаційну дію на інтактний плазміноген виявлено лише в першому та другому піках, тоді як в третьому відповідних активностей не спостерігалось. Наведені дані дають змогу припустити формування потрійного комплексу Пг-Ск- $\alpha_2$ М, котрий і забезпечує подальшу активацію вільного Пг у плазмін.

Отримані дані свідчать, що за умов, наближених до фізіологічних, Пг-Ск-комплекс зазнає складних комплексоутворень з  $\alpha_2$ -макроглобуліном, а саме відбувається формування потрійного комплексу Пг-Ск- $\alpha_2$ М, котрий забезпечує подальшу активацію вільного Пг у плазмін. Такі молекулярні перетворення є відмінними від досліджуваних процесів за умов *in vitro*.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше проведено комплексне дослідження системи гемостазу у хворих із хронічним тонзилітом, доброякісними, передраковими та злякисними новоутвореннями ЛОР-органів. Отримані результати розширюють відомості про функціонування компонентів системи гемостазу при досліджуваних патологіях.

1. Показано зниження вмісту  $\alpha_2$ М, зростання плазмін-подібної активності, вмісту фібриногену, PAI-1 та vWF при хронічному тонзиліті. У хворих із



доброякісними захворюваннями ЛОР-органів виявлено підвищення загальної протеолітичної, тромбін- та плазмін-подібної активностей, вмісту фібриногену, PAI-1 та vWF.

2. Виявлено зростання активності еластази, протеолітичної, плазмін- та тромбін-подібної активностей, вмісту фібриногену, t-PA, PAI-1, vWF та пригнічення фібринолітичної активності при передракових захворюваннях ЛОР-органів.

3. Відмічено підвищення протеолітичної, плазмін-подібної активностей, вмісту фібриногену, протромбінового пулу, t-PA, PAI-1, vWF у пацієнтів із злякисними новоутвореннями ЛОР-органів II-ої стадії. У хворих із III-ою стадією злякисного процесу окрім таких же змін, показано зростання активності еластази та тромбін-подібної активності, вмісту  $\alpha_1$ -ІІІ, зменшення вмісту  $\alpha_2$ М та пригнічення фібринолітичної активності.

4. Розроблено індекс прогнозу післяопераційного рецидиву чи розвитку метастазів у хворих на рак ЛОР-органів III-ої стадії на основі комплексного урахування доопераційних показників вмісту фібриногену,  $\alpha_2$ -макроглобуліну та амідолітичної тромбін-подібної активності.

5. Вперше експериментально доведено утворення в кровообізі хворих із новоутвореннями ЛОР-органів фрагментів плазміногену, що містять SP-домен та можуть відігравати істотну роль в порушенні протеїназно-інгібіторного балансу крові.

6. Вперше показано участь  $\alpha_2$ -макроглобуліну в процесі активації плазміногену стрептокіназою в плазмі крові внаслідок утворення потрібного комплексу плазміноген-стрептокіназа- $\alpha_2$ -макроглобулін.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Статті у фахових виданнях:*

1. Клись ЮГ, Верьовка СВ. Особливості активаційної дії стрептокінази в плазмі крові людини. Вісник Одеського Національного Університету. Біологія. 2010;15(6):С.9-14.

2. Клись ЮГ, Верьовка СВ. Асоційовані з мембранами компоненти ендогенної інтоксикації та їх роль в онкогенезі. Вісник КНУ імені Тараса Шевченка, Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2011;57:18-20.

3. Клись Ю, Верьовка С. Зміни протеолізного балансу плазми крові хворих на запальні захворювання та новоутворення верхніх дихальних шляхів. Вісник КНУ імені Тараса Шевченка, Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2015; 2(19): 41-43.

4. Klys' YG, Gryn' NV, Verevka SV. Combined use of haemostatic system indices for evaluation of upper respiratory tract cancer. Experimental Oncology. 2016;38(1):36-39. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження за темою статті, проаналізовано літературні джерела та узагальнено результати).*

5. Клись Ю, Верьовка С, Галенова Т, Вовк Т. Фактори ризику гемостатичного дисбалансу хворих на запальні захворювання та новоутворення ЛОР-органів. Вісник КНУ імені Тараса Шевченка, Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій.

2016;1(20):19-22. *(Здобувачем проведено експериментальні дослідження за темою статті, підготовку матеріалів до друку)*

6. Клысь ЮГ. Протеолітично ушкоджені похідні плазміногену за новоутворень верхніх дихальних шляхів. Науковий вісник Чернівецького університету. Біологічні системи. 2016;8(2):171-175.

*Статті в інших наукових виданнях:*

7. Клысь ЮГ, Зайцева НВ, Кизим АИ, Веревка СВ. Протеолитически деградированные производные плазминогена и их возможное диагностическое значение при онкологических процессах. Лабораторная диагностика. 2008;2 (44):52-58. *(Здобувачем проаналізовано літературні джерела та підготовлено матеріали до друку).*

8. Клысь ЮГ, Сторчак РМ, Веревка СВ. Протеолитически деградированные производные ферментов, их диагностическое и терапевтическое значение. В кн.: Молекулярная патология белка. Под ред. Д.И. Заболотного. К.: Логос, 2008; С.142-153. *(Здобувач є співавтором ідеї, покладеної в основу публікації, підготовлено матеріали до друку)*

9. Klys' YuG, Storchak RM, Verevka SV. Proteolytically degraded enzymes derivatives: Their diagnostic and therapeutic value. In: Molecular Pathology of Proteins (Zabolotny D.I., Ed.), Nova Science Publishers, NY. 2009, P. 139-151. *(Здобувачем проаналізовано літературні джерела та проведено оформлення публікації).*

10. Клысь ЮГ, Зайцева НВ, Кизим АИ, Веревка СВ. Протеолитические производные плазминогена при развитии злокачественных новообразований. Онкология. 2010;12(1):17-21. *(Здобувачем проведено підготовку статті до друку).*

11. Верьовка СВ, Голобородько ОП, Кизим ОЙ, Клысь ЮГ, Зайцева НВ. Дослідження компонентів систем протеолізу та гемостазу в плазмі хворих із злякисними новоутвореннями верхніх дихальних шляхів до і після хірургічного втручання. Журнал вушних, носових і горлових хвороб. 2010;3:2-9. *(Здобувачем проведено вимірювання параметрів фібринолізу плазми крові, аналіз результатів та оформлення статті).*

12. Голобородько ОП, Кизим ОЙ, Клысь ЮГ, Верьовка СВ, Зайцева НВ, Кікоть ЮВ, Савченко ТД. Дослідження компонентів протеолітичної, коагуляційної та фібринолітичної систем плазми крові пацієнтів з різною патологією ЛОР-органів. Журнал вушних, носових і горлових хвороб. 2010;5:34-39. *(Здобувачем проведено визначення коагуляційних показників плазми крові, обговорення експериментальних результатів).*

13. Голобородько ОП, Кизим АИ, Клысь ЮГ, Зайцева НВ, Веревка СВ. Оценка риска послеоперационного рецидива и метастазирования по предоперационным показателям системы гемостаза при раке верхних дыхательных путей. Лабораторная диагностика. 2011;1 (55):3-7. *(Здобувачем проведено визначення показників фібринолізу плазми крові, аналіз результатів).*

14. Клысь ЮГ, Кизим ОЙ, Голобородько ОП, Зайцева НВ, Кікоть ЮВ, Савченко ТД, Верьовка СВ. Скринінг показників гемостатичної системи як можливих первинних маркерів онкогенезу. Лабораторна діагностика. 2011;2(56):С.20-25. *(Здобувачем проведено вимірювання протеолітичних параметрів плазми пацієнтів, проведено статистичну обробку результатів та їх аналіз).*

15. Патент на корисну модель № 61639 Україна, А61К 38/43 (2006.01) А61К 38/55 (2006.01) G01N 33/49 (2006.01). Спосіб прогнозування виникнення рецидиву і метастазів у хворих на рак гортані. Кизим ОЙ, Голобородько ОП, Клись ЮГ, Зайцева НВ, Верьовка СВ. № U 201015865 заявлено 29.12.2010, опубліковано 25.07.2011. Бюл. № 14. *(Здобувачем проведено визначення вмісту інгібіторів та протеолітичних показників плазми крові).*

16. Верьовка СВ, Голобородько ОП, Кизим ОЙ, Клись ЮГ, Зайцева НВ. Показники гемостатичної системи для оцінки перебігу захворювання на рак верхніх дихальних шляхів (Методичні рекомендації) (27.11/183.11), Київ, 2012, 20 с. *(Здобувачем проведено визначення коагуляційних та фібринолітичних показників, підготовка публікації до друку).*

*Тези наукових доповідей:*

17. Зайцева Н, Клись Ю. Протеолитические производные плазминогена в патогенезе онкологических заболеваний. Матеріали всеукраїнської наукової конференції з міжнародною участю “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології”, м. Дніпропетровськ, 30-31 жовтня 2008. С.62.

18. Клись ЮГ, Куркина ТВ. Молекулярные трансформации плазминоген-стрептокиназного комплекса в плазме крови человека. Матеріали III Міжнародної конференції молодих науковців “Біологія: від молекули до біосфери”, м. Харків, 18-21 листопада 2008. С.116-117.

19. Клись ЮГ, Верьовка СВ. Ензиматично деградовані та функціонально неповноцінні протеїни та їх вплив на перебіг метаболічних процесів. Матеріали X Українського біохімічного з'їзду, 13-17 вересня 2010 р., м. Одеса. Укр. біохім. журн. 2010;82(4(Додаток 2)), С.18.

20. Зайцева НВ, Клись ЮГ. Протеолітично ушкоджені компоненти системи гемостазу як діагностично-прогностичні маркери онкологічного процесу. Матеріали X Ювілейної наукової конференції молодих онкологів за участю міжнародних спеціалістів “Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології”, м. Київ, 22-24 квітня 2010. С.48-49.

21. Верьовка СВ, Голобородько ОП, Кизим ОЙ, Клись ЮГ, Зайцева НВ. Оцінка ризику післяопераційних ускладнень та рецидиву онкозахворювань верхніх дихальних шляхів за передопераційними показниками гемостатичної системи. Матеріали щорічної традиційної весняної конференції Українського наукового медичного товариства оториноларингологів “Сучасні методи діагностики і лікування запальних захворювань ЛОР-органів”. Журн. вушних, носових і горлових хвороб. 2012;3-с. С.33.

22. Клись Ю. Протеолітично деградовані протеїнази в формуванні протеолітично-інгібіторного дисбалансу за онкогенезу. Матеріали Другої міжнародної наукової конференції “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології”, м. Дніпропетровськ, 24-25 вересня 2013. С.69.

23. Клись ЮГ. Показники гемостатичної системи як критерій прогнозу рецидиву та метастазування у хворих на рак верхніх дихальних шляхів. Матеріали XI Українського біохімічного конгресу, 6-10 жовтня 2014 р., Київ. Укр. біохім. журн. 2014;86(5(Suppl.1)):85.

24. Гринь Н, Клись Ю, Ворошилова Н. Аналіз складових протеолітичної ланки в плазмі крові хворих на злюякісні новоутворення при носових пазух і порожнини носа. Збірник тез третьої міжнародної наукової конференції “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології”, м.Дніпропетровськ, 24-25 вересня 2015. С.92-93.

25. Клись Ю. Особливості показників гемостатичної системи у хворих на запальні захворювання та новоутворення ЛОР-органів. Матеріали XX міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених м. Тернопіль, 25-27 квітня 2016. С.231.

26. Клись Ю. Гемостатичні показники за новоутворень верхніх дихальних шляхів. Матеріали четвертої міжнародної наукової конференції “Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології”, м.Дніпро, 5-6 жовтня 2017. С.154-156.

## АНОТАЦІЯ

**Клись Ю.Г. Стан системи гемостазу при запальних та онкологічних процесах ЛОР-органів** – 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 МОН України, Київ, 2018.

Під час виконання дисертаційної роботи вперше було проведено комплексне дослідження компонентів системи гемостазу у хворих із хронічним тонзилітом, доброякісними, передраковими та злюякісними новоутвореннями ЛОР-органів. Виявлено істотні зміни окремих показників фібринолітичної, зсідаючої ланок системи гемостазу та компонентів інгібіторного потенціалу плазми. Створено індекс прогнозу післяопераційного рецидиву чи розвитку метастазів у хворих на рак ЛОР-органів III-ої стадії на основі комплексного урахування доопераційних показників фібриногену,  $\alpha_2$ -макроглобуліну та амідолітичної тромбін-подібної активності.

Вперше в кровообізі хворих із новоутвореннями ЛОР-органів методом ензим-форезу доведено утворення фрагментів плазміногену, що містять протеолітичний SP-домен. Традиційні дослідження протеолітичних похідних плазміногену спрямовані на вивчення неферментативних фрагментів важкого ланцюга (ангіостатинів), залишаючи поза увагою існування в кровообізі легкого домена плазміногену, що містить активний центр. Виявлені похідні плазміногену можуть відігравати істотну роль в порушенні протеїназно-інгібіторного балансу крові.

Вперше доведено участь  $\alpha_2$ -макроглобуліну в процесі активації плазміногену стрептокіназою в плазмі крові. Показано утворення потрійного комплексу плазміноген-стрептокіназа- $\alpha_2$ -макроглобулін, що виявляє амідолітичну плазмін-подібну та активаційну дію по відношенню до плазміногену.

**Ключові слова:** запалення, онкологічний процес, ЛОР-органи, система гемостазу, зсідання, фібриноліз, протеїнази, інгібітори.

## АННОТАЦИЯ

**Клысь Ю.Г. Состояние системы гемостаза при воспалительных и онкологических процессах ЛОР-органов.** – 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 МОН Украины, Киев, 2018.

Во время выполнения диссертационной работы впервые было проведено комплексное исследование компонентов системы гемостаза у больных с хроническим тонзиллитом, доброкачественными, предраковыми и злокачественными новообразованиями ЛОР-органов. Выявлены существенные изменения отдельных показателей фибринолитической, свертывающей систем гемостаза и компонентов ингибиторного потенциала плазмы. Создан индекс прогноза послеоперационного рецидива или развития метастазов у больных раком ЛОР-органов III-й стадии на основе комплексного учета дооперационных показателей фибриногена,  $\alpha_2$ -макроглобулина и амидолитической тромбин-подобной активности.

Впервые в крови больных с новообразованиями ЛОР-органов методом энзим-фореза доказано образование фрагментов плазминогена, содержащих протеолитический SP-домен. Традиционные исследования протеолитических производных плазминогена направлены на изучение неферментативных фрагментов тяжелой цепи (ангиостатинов), оставляя без внимания существование в кровообращении легкого домена плазминогена, содержащего активный центр. Обнаруженные производные плазминогена могут играть существенную роль в нарушении протеиназно-ингибиторного баланса крови.

Впервые доказано участие  $\alpha_2$ -макроглобулина в процессе активации плазминогена стрептокиназой в плазме крови. Показано образования тройного комплекса плазминоген-стрептокиназа- $\alpha_2$ -макроглобулин, обладающий амидолитическим плазмин-подобным и активационным действием по отношению к плазминогену.

**Ключевые слова:** воспаление, онкологический процесс, ЛОР-органы, система гемостаза, свертывание, фибринолиз, протеиназы, ингибиторы.

## SUMMARY

**Klys Yu.G. State of the hemostasis system in the inflammatory and oncological processes of ENT organs. – Manuscripts.**

Dissertation for the candidate of biological sciences degree in specialty 03.00.04 – Biochemistry. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2018.

During the implementation of the dissertation a comprehensive study was carried out on the content and activity of the components of the hemostasis system in patients with chronic tonsillitis, benign, precancerous and malignant neoplasms of ENT organs. Significant changes were observed in indices of fibrinolytic, coagulation system of the hemostasis and components of the plasma inhibitory potential. The obtained results broaden the understanding of the role of components of the hemostasis system and the changes in their content and activity in inflammatory and oncological processes of ENT organs. The main cause of lethality in malignant neoplasms of ENT organs is local relapses and metastases to the lymph nodes of the neck, with high mortality rate among patients already in the first year after diagnosis. The use of standard criteria based on the clinical and morphological characteristics of the tumor process to evaluate the prognosis of the course of the disease is not informative. The data obtained in the work allowed to create a prognostic index that took into account the abandonment of the control of the

preoperative indexes of fibrinogen content,  $\alpha_2$ -macroglobulin and the level of thrombin-like activity. The proposed index allows to predict the occurrence of relapse or metastases in patients with stage III laryngeal cancer, which is extremely necessary for patients with such tumors due to the high frequency of their development and the main cause of mortality in patients.

For the first time, experimentally with the enzyme-forease method, the formation of blood-borne patients with benign, precancerous and malignant neoplasms of ENT organs of plasminogen fragments containing proteolytic SP-domain has been proved. Such plasminogen fragments, although they are functional inferior, however, due to their low specific hydrolytic activity, can play a significant role in breaking the proteinase-inhibitory balance of blood and make a significant component of the pathological process.

For the first time in conditions close to the natural,  $\alpha_2$ -macroglobulin has been shown to be involved in the activation of plasminogen by streptokinase in blood plasma. It has been shown that the activation effect of streptokinase in the protein components of the plasma is mediated by the formation of the plasminogen-streptokinase- $\alpha_2$ -macroglobulin triple complex, which detects both the amidolytic plasmin-like effect and the activation effect relative to the plasminogen.

Our research suggests that the disruption of the functioning of the components of the hemostasis system causes or accompanies chronic inflammatory processes and the development of tumors of ENT organs. Improvement of diagnostics of diseases, substantiation of applied pathogenetic therapy is possible under the condition of expanding information about proteolysis processes in these diseases. In this connection, the study of the components of the concomitant and fibrinolytic units of the hemostasis system and their inhibitors in the studied diseases of ENT organs can undoubtedly have theoretical and practical significance.

**Key words:** inflammation, oncological process, ENT organs, hemostatic system, clotting, fibrinolysis, proteinases, inhibitors.