

12. Raksha N, Burlova-Vasylieva M, Torgalo E, Savchuk O. The appearance of molecules of prothrombin origin in blood upon development of atherothrombotic and cardioembolic ischemic stroke. Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv, series Biology. 2014;3(68): 57-60. English.

13. Hockfield S, Carlson S, Evans C. Selected methods for antibody and nucleic acid probes. 1993;4(1):679. English.

14. Kemeny M. A Practical Guide to ELISA. 1991 NY: Pergamon Press. English.

15. Cleveland D, Fischer S, Kirschner M, Laemmli UK. Peptide mapping by limited proteolysis in sodium dodecyl sulfate and analysis by gel electrophoresis. Journal of Biological Chemistry. 1977; 252(3):1102-1106. English.

16. Weber K, Osborn M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. The Journal of Biological Chemistry. 1969;244(16):4406-4412. English.

17. Stassen J, Arnout J, Deckmyn H. The hemostatic system. Curr.Med.Chem. 2004;11(17) 2245-2260. English.

18. M.Aleman, B.Walton, J.Byrnes (at al.) Elevated prothrombin promotes venous, but not arterial, thrombosis in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2013 Aug; 33(8): 1829-1836. English.

19. Wolberg AS, Monroe DM, Roberts HR, Hoffman M. Elevated prothrombin results in clots with an altered fiber structure: a possible mechanism of the increased thrombotic risk. Blood. 2003;101:3008-3013. English.

20. Castoldi E, Simioni P, Tormene D, Thomassen MC, Spiezia L, Gavasso S, Rosing J. Differential effects of high prothrombin levels on thrombin generation depending on the cause of the hyperprothrombinemia. J Thromb Haemost.2007;5:971-979. English.

21. Juutistenaho S, Vahtera E, Aranko K. et al. Prothrombin activation fragment 1+2 as a marker of coagulation activation in cord blood collection for banking. Transfus. Med. – 2010;20 (4):250-257. English.

22. Volkov G, Platonov T, Savchuk O, Krasruff E, Chernyshenko T, Gornitskaya O. Modern views on the haemostasis system. 2005. Naukova Dumka, Ukr. Русский.

Надійшла до редколегії 14.09.16

Т. Катрий, асп., А. Савчук, д-р биол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,

В. Шандюк, асп.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ, Україна,

В. Мельник, д-р мед. наук

Медицинская компания "ILAYA", Київ, Україна

### ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТРОМБИНОВОГО ПУЛА У БОЛЬНЫХ ПЕРЕНЕСШИХ ИШЕМИЧЕСКИЙ ИНСУЛЬТ

*Показано возвращение к норме концентрации пептидного пула у больных которые год назад перенесли атеротромботический или кардиоэмболический подтипы ишемического инсульта. Выявлено присутствие в плазме крови белковых фракций идентичных фракциям здоровых доноров в диапазоне молекулярных масс, соответствующих молекулам протромбина, тромбина, их ковалентных комплексов с другими белками и деградированных фрагментов.*

*Ключевые слова: протромбиновый пул, атеротромботический та кардиоэмболический подтипы ишемический инсульт.*

T.Katrii PhD-student, O. Savchuk DSc.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,

V. Shandyuk PhD-student

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine,

V. Melnyk DSc

Medical company "ILAYA", Kyiv, Ukraine

### CHARACTERISTICS OF POOL PROTHROMBIN IN PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE

*The normal level of prothrombin pool concentration at the blood plasma for the people who one year past had a acute atherothrombotic or cardioembolic ischemic stroke was shown. Identified plasma proteins at the post stroke fractions were identical to the healthy donor's fraction. Was proved the tested fraction included the proteins in a range of molecular weights corresponding to molecules of prothrombin, thrombin, their covalent complexes with other proteins and degraded fragments.*

*Key words: prothrombin pool, atherothrombotic or cardioembolic ischemic stroke.*

УДК 577.12+616.379+616.831

Т. Царенко, асп., Л.Гайда, канд. біол. наук, О.Кравченко, канд. біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

### ПОКАЗНИКИ ЕНДОТОКСЕМІЇ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ІШЕМІЧНИМ ІНСУЛЬТОМ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ ДРУГОГО ТИПУ

*Одним із загально визнаних чинників гострих порушень мозкового кровопостачання є цукровий діабет. Численні дослідження показали, що у патогенезі діабетичних церебральних порушень бере участь багато факторів, найбільш важливими з яких є метаболічні зміни, зокрема хронічна ендогенна інтоксикація. Метою дослідження було визначити біохімічні особливості білкового обміну та рівень ендотоксемії в крові пацієнтів за умов ішемічного інсульту ускладненого цукровим діабетом 2 типу в порівнянні з інсультом. Крім того визначалися загально клінічні показники: стаття, середній вік пацієнтів, індекс маси тіла (ІМТ), вміст глюкози у крові, ліпопротеїни, наявність ускладнень та показники проявів інсульту (NIHSS і Barthel індекс). В результаті проведених досліджень було встановлено, що ішемічний інсульт, зокрема ускладнений інсуліннезалежним діабетом характеризується гіпопротеїнемією на фоні відсутності виражених змін концентрації альбуміну. Вміст молекул середньої маси (МСМ) та олігопептидів еказував на наявність ендогенної інтоксикації, рівень якої не залежав від гіперглікемії і перевищував контрольні величини в середньому в 1,5 рази. Отримані результати дозволили встановити також суттєві відмінності значення ІМТ, гіперліпопротеїнемію та посилення проявів гострого порушення мозкового кровопостачання за NIHSS у групі пацієнтів з ішемічним інсультом, що супроводжується цукровим діабетом 2 типу. Отже, розвиток ішемічного інсульту, як за умов діабету другого типу, так і без нього, характеризується зростанням показників ендотоксикації (молекул середньої маси та олігопептидів) в крові пацієнтів, що в сукупності з гіпопротеїнемією та гіперліпідемією може зумовлювати вторинні патобіохімічні зміни в клітинах головного мозку та опосередковувати негативні наслідки розвитку гострого порушення церебрального кровопостачання.*

*Ключові слова: ішемічний інсульт, цукровий діабет II типу, молекули середньої маси, олігопептиди, ендотоксикація, індекс маси тіла.*

Однією з характерних рис останніх десятиріч став масштабний ріст так званих хронічних неінфекційних захворювань, притаманний в першу чергу населенню розвинених та відносно благополучних країн. До цієї групи захворювань, що утримують провідні позиції се-

ред причин смертності та істотно погіршують якість життя на рівні популяції, належать церебро-васкулярні та серцево-судинні патології, запальні та онкологічні процеси, діабет, алергічні прояви та ін.

Не дивлячись на виражену неоднорідність вищезазначених захворювань, їх різну етіологію та механізми розвитку, для кожного з них на певному етапі притаманне формування проявів ендогенної інтоксикації. Ендогенною (чи метаболічною) інтоксикацією зазвичай називають зумовлений деструктивними процесами стан, що призводить до накопичення в рідинах та тканинах організму підвищених, нефізіологічних кількостей проміжних та кінцевих продуктів нормального обміну речовин, а також продуктів зміненого метаболізму сполучної тканини та компонентів деградації її нормальних структур, що зумовлюють токсичний вплив та дисфункцію різних органів і систем [5].

Найбільш перспективними для поглибленого вивчення ендогенної інтоксикації в якості маркерів на даний момент вважають молекули середньої маси (МСМ). Це – речовини різної природи з молекулярною масою 500-5000 Да, до яких також належать середньомолекулярні пептиди (СМП). Тобто, показник рівня МСМ є біохімічним маркером, який відображає рівень патологічних змін головним чином білкового метаболізму. Вони поділяються на дві групи – речовини середньої молекулярної маси та олігопептиди [9]. Перша група являє собою небілкові похідні різної природи, що накопичуються в організмі в концентраціях, які перевищують норму; друга група – олігопептиди, представлена речовинами пептидної природи, які виконують регуляторні і нерегуляторні функції.

Загальновідомо, що рівень МСМ варіює залежно від метаболічного стану організму та, слугує прогностичним критерієм порушення обмінних процесів організму. Спільно з низькомолекулярними (300-500 Да), високомолекулярними (понад 10 кДа) та надмолекулярними (тисячі кДа) токсинами МСМ формують цілий пул пептидних та білкових фрагментів, утворюваних за надмірної активації протеолітичних ензимів крові на фоні недостатньої ескреторної функції нирок [6]. Молекули середньої маси мають пряму мембранотоксичну дію та ініціюють появу пептидів, близьких за структурою до біорегуляторів, яким притаманна висока біологічна активність. Серед молекул середньої маси виділяють гепатоцеребральні, уремичні, ішемічні, опікові, в залежності від патологій, які вони супроводжують. Вважають, що значне підвищення вмісту молекул середньої маси у крові при різних видах патологій є прогностично несприятливим показником, тому що продукти деградації біополімерів можуть чинити виражений нейротоксичний вплив на структури головного мозку [8], вони також порушують фізико-хімічні властивості клітинних мембран і роблять їх більш доступними для різних шкідливих впливів [5].

Слід додати, що накопичення МСМ є не лише маркером ендотоксикації, але і фактором, який посилює патологічний перебіг захворювання – набуваючи властивостей вторинних токсинів, вони спричиняють розлади функціонування гематоенцефалічного бар'єру, мікроциркуляційного русла, інгібують мітохондріальні процеси окиснення, порушують транспорт амінокислот. Виявлено майже повне роз'єднання окиснення та фосфорилування, порушення механізмів регуляції інтенсивності дихання аденоловими нуклеотидами під впливом МСМ. Одним із можливих механізмів нейротоксичного впливу МСМ вважають інгібування механізмів активного транспорту іонів натрію та калію через мембрану клітинних елементів тканин ЦНС [7]. Подібні результати узгоджуються з іншими літературними даними, за якими виявлено зростання концентрації МСМ у період первинного ішемічного інсульту, яке при цьому корелювало з клінічним перебігом захворювання [8]. Важливу роль зростання концентрації молекули середніх мас відіграє

також за умов таких патологій, як метаболічний синдром [1]. Поруч із тим, спостерігається відсутність вичерпних досліджень ролі показників ендогенної інтоксикації в умовах розвитку ішемічного інсульту при цукровому діабеті другого типу. Відтак, метою даної роботи було визначити вплив наявності діабету другого типу на вміст молекул середніх мас, олігопептидів, загального білку та альбуміну в крові пацієнтів за умов розвитку ішемічного інсульту.

**Матеріали та методи.** Забір крові для біохімічних досліджень здійснювали одразу після надходження хворих до Неврологічного відділення Київської міської лікарні №4. Діагностування ішемічного інсульту виконували загальноновизнаними методами із застосуванням комп'ютерної та/або магнітно-резонансної томографії. Цукровий діабет виявляли за наявністю гіперглікемії та попереднім анамнезом. Таким чином було відібрано 56 пацієнтів з ішемічним інсультом, у 21 з них діагностувався цукровий діабет другого типу та отримано від них, чи їх родичів, письмову згоду на проведення досліджень.

В якості контролю застосовували показники 25 відносно здорових донорів віком 35-62 років.

Оцінку досліджуваних показників здійснювали стандартними клініко-діагностичними методами: загальний білок та альбумін визначали за допомогою біохімічного аналізатора Humalyser 3000 з використанням відповідних комерційних тест-наборів, вміст глюкози визначали глюкозооксидазним методом. Концентрацію МСМ та олігопептидів визначали за модифікованим методом Габриеляна І. [2]. Метод базується на осадженні високомолекулярних пептидів і білків біологічних рідин з використанням трихлороцтової кислоти і кількісним визначенням в отриманому після центрифугування супернатанті середньомолекулярних пептидів за поглинанням в монохромному потоці світла при довжині хвилі 254 нм. Результати дослідження вмісту МСМ у сироватці крові виражали в умовних одиницях оптичної щільності.

Індекс маси тіла (ІМТ) розраховували з використанням загальноприйнятої формули:  $I = m/h^2$ , де  $m$  – маса тіла в кг,  $h$  – зріст в м. Крім цього, оцінювали такі загальноклінічні параметри пацієнтів з ішемічним інсультом та діабетом, як вік, стать, наявність гіпертензії, гіперліпідемії, ішемічної хвороби серця та захворювань периферійних артерій, а також індекс Barthel й базовий рівень за шкалою оцінки важкості інсульту NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale).

Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою програми StatSoftStatistica version 7.0 для Windows, аналіз на параметричність – із застосуванням тесту Шапіро-Уїлка. Числові дані представлені у вигляді середнього значення із стандартним відхиленням ( $M \pm SD$ ) або зі стандартною похибкою ( $M \pm SE$ ). Достовірність різниці вмісту загально білку, альбуміну, МСМ, олігопептидів, глюкози та загальноклінічних параметрів між групами пацієнтів визначали із застосуванням Манн-Уїтні U тесту. Для оцінки статистично значущої різниці між пацієнтами з ішемічним інсультом та пацієнтами з інсультом на фоні цукрового діабету відповідні показники були ранговані. Частоти зустрітваності та проценти розраховані для всіх категоріальних змінних і значення відмінності розраховано за критерієм узгодження Пірсона

**Результати та їх обговорення.** Основні результати загальноклінічних досліджень представлені в Таблиці 1, з якої видно, що не виявлено статистично значущих відмінностей між пацієнтами з ішемічним інсультом та цукровим діабетом другого типу (II+ЦД) і без останнього (II) за такими параметрами, як стать та вік виникнення апоплексії, а також наявність гіпертензії та ішемічної хвороби серця. Зокрема, середній вік проявів інсульту становить

76,2 ± 10,9 років, а за наявності діабету – близько 74, при цьому чоловіків і жінок було порівну при інсульті, а супут-

ня гіперглікемія призводила до зростання кількості жінок до 62% серед пацієнтів з ішемічним інсультом.

**Таблиця 1. Загальноклінічні показники пацієнтів з ішемічним інсультом (II) та інсультом на фоні цукрового діабету другого типу (II+ЦД)**

	II (n=35)	II+ЦД (n=21)	p
Вік, роки (M±SD)	76,2 ± 10,9	73,8 ± 9,7	0,503
Стать, чоловіки, n (%)	18(51)	8 (38)	0,214
Гіпертензія, n (%)	25 (71)	16 (76)	0,537
Гіперліпідемія, n (%)	11 (31)	10 (48)	<0,001 <sup>†</sup>
Ішемічна хвороба серця, n (%)	10 (29)	7 (33)	0,120
Ангіопатія периферійних судин, n (%)	3 (9)	4 (19)	<0,001 <sup>†</sup>
Індекс маси тіла, kg / m <sup>2</sup>	20,26 ± 1,6	34,01 ± 5,48	0,023 <sup>†</sup>
Рівень NIHSS (M±SE)	9,9 ± 0,5	12,2 ± 1,0	0,030 <sup>†</sup>
Індекс Barthel на 7 день (M±SE)	66,4 ± 2,6	57,3 ± 5,9	0,117

<sup>†</sup> – p ≤ 0,05, по відношенню до показників пацієнтів з ішемічним інсультом;

Показано, що пацієнтам з ішемічним інсультом ускладненим цукровим діабетом другого типу притаманна дисліпідемія, ангіопатії периферійних судин, зростання IMT та більш виражені неврологічні прояви інсульту за NIHSS в порівнянні з пацієнтами, які страждають виключно на ішемічний інсульт. При цьому значення індексу маси тіла у осіб з цукровим діабетом становило 34,01 кг/м<sup>2</sup>, що за даними ВООЗ відповідає стану ожиріння першого ступеня.

Оскільки до групи пацієнтів з II+ЦД входили особи із середнім показником вмісту глюкози в крові 9,47 ± 2,65 мМоль та, беручи до уваги виявлену гіперліпідемію, актуальності набуває дослідження показників вмісту білків у сироватці крові пацієнтів з гострою фазою ішемічного інсульту на фоні цукрового діабету та без нього.

В результаті проведених досліджень виявлено суттєве зниження вмісту загального білку в крові пацієнтів в гострій фазі порушення мозкового кровообігу (Табл.2). Причому більш виражені відхилення від норми спостерігалися у хворих з II, всі пацієнти (100%) цієї групи характеризувались показниками нижчими за мінімальні значення контрольних величин. В той час, як серед осіб з цукровим діабетом при ішемічному інсульті кількість осіб із зниженим вмістом білка становила лише 60%. Вміст альбуміну як у пацієнтів з II, так і у осіб з II+ЦД мав тенденцію до зниження, однак не таку виражену як загальний білок.

Оскільки було зафіксоване зниження вмісту протеїнів в крові пацієнтів з ішемічним інсультом, є підстави передбачити надмірну активацію протеолітичних ензимів та розвиток ендотоксикації, показниками якої є вміст МСМ та олігопептидів.

**Таблиця 2. Концентрація білку та показники ендотексемії (МСМ, олігопептиди) в крові пацієнтів з ішемічним інсультом та інсультом на фоні цукрового діабету другого типу**

	ІНСУЛЬТ		ІНСУЛЬТ+ДІАБЕТ	
	Абсолютне середнє значення (M±SE)	Відсоток пацієнтів з відповідними показниками	Абсолютне середнє значення (M±SE)	Відсоток пацієнтів з відповідними показниками
Білок загальний, [г/л]	<b>56,82 ± 1,18*</b>	<65	<b>62,84 ± 1,59</b>	<65
		100%		60% <sup>†</sup>
Альбумін, [г/л]	<b>33,86 ± 0,69</b>	Контроль, 65-85	<b>32,90 ± 0,84</b>	Контроль, 65-85
		0		40% <sup>†</sup>
		<35		<35
		90%		80%
		10%		20%
МСМ, [у.од.]	<b>0,96 ± 0,07*</b>	Контроль, 0,26-0,60	<b>0,84 ± 0,03*</b>	Контроль, 0,26-0,60
		>0,60		>0,60
		15%		20%
		85%		80%
Олігопептиди, [мг/мл]	<b>0,34 ± 0,05*</b>	Контроль, 0,04-0,25	<b>0,42 ± 0,07*</b>	Контроль, 0,04-0,25
		>0,25		>0,25
		47%		45%
		53%		55%

\* – p ≤ 0,05, по відношенню до показників відносно здорових донорів;

<sup>†</sup> – p ≤ 0,05, по відношенню до показників пацієнтів з ішемічним інсультом.

Відтак, встановлено зростання вмісту молекул середньої маси та олігопептидів, як за умов ішемічного інсульту окремо в 1,6 рази для МСМ та 1,4 рази – для олігопептидів порівняно з верхньою межею контрольних величин, так і при інсульті на фоні цукрового діабету (в 1,4 та 1,7 разів, відповідно). Не дивлячись, на більше накопичення МСМ за умов II статистичної різниці при порівнянні цих показників з даними II+ЦД виявити не вдалося. Зростання вищезазначеного показника було також показано Нікольською В.А. при гістаційному цукровому діабеті та Єлеевою М.А. при різних формах інсульту. Причому автори виявили закономірне зростання МСМ з максимальними значеннями за умов високих клінічних проявів у хворих з гострим порушенням мозкового кровообігу, поступове зниження їх рівня з пара-

лельною позитивною динамікою захворювання та нормалізацією досліджуваного показника в період пізньої реконвалесценції [4].

Слід зазначити, що в групу МСМ входять, головним чином, речовини небілкової природи: проміжні метаболіти, продукти аномального обміну, токсичні компоненти порожнинних середовищ організму – альдегіди, кетони, багатоатомні спирти, карбонові та жирні кислоти, олігосахариди, аміноцукри, глюкуронові кислоти, фосфоліпіди та їх похідні, деякі вітаміни й інші речовини, що накопичуються в надмірних кількостях і є токсичними тільки у значно збільшених концентраціях. Відтак, можна передбачити, що наявність діабету – хронічного процесу, який сам призводить до змін метаболізму і формування аномальних кількостей певних проміжних продуктів обміну,

при розвитку гострої форми ішемії мозку зумовлює не таке виражене зростання молекул ендотоксемії небілкової природи як інсульт, що розвивається на фоні метаболізму незміненому постійною гіперглікемією та інсулінорезистентністю. Поруч із цим показано більш виражене зростання вмісту олігопептидів саме за умов ішемічного інсульту при цукровому діабеті (Табл.2).

Основним джерелом утворення середньомолекулярних пептидів вважають посилення протеолізу, зокрема, білків крові (фібриногену, альбуміну, тромбіну), в результаті якого утворюються продукти з високою функціональною активністю. Наприклад, встановлено можливість виділення серед них пептидів близьких до відомих біорегуляторів ангіотезину та енкефалінів. Деякі з них інгібують еритропоез, пригнічують продукування гемоглобіну, що за умов ішемії є надзвичайно негативним фактором, інші гальмують глюконеогенез і синтез ДНК, справляють цитотоксичну дію, порушуючи проникність клітинних мембран та змінюючи трансмембранний транспорт, основний механізм функціонування нейронів, зокрема мозку. Вважають також, що значне підвищення вмісту молекул середньої маси у крові при різних видах патології є прогностично несприятливим показником, тому що продукти деградації біополімерів можуть чинити виражений нейротоксичний вплив на структуру головного мозку [3].

Таким чином, розвиток ішемічного інсульту, як за умов діабету другого типу, так і без нього, характеризується зростанням показників ендотоксикації (молекул середньої маси та олігопептидів) в крові пацієнтів, що в сукупності з гіпопротеїнемією та гіперліпідемією може зумовлювати вторинні патобіохімічні зміни в клітинах головного мозку та опосередковувати негативні наслідки розвитку гострого порушення церебрального кровопостачання.

#### Список використаних джерел

1. Ведунова М.В. Состояние эндогенной интоксикации при метаболическом синдроме и его коррекция низкими дозами озона / Ведунова М.В. // Автореф. дис. на соиск. степени канд. биол. наук. – 2008. – 27с.
2. Габриелян Н. И. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях / Габриелян Н.И., Левицкий П.А., Левицкий Э.Р., Дмитриев Ф.Ф. // Методические рекомендации. – М., 1985. – С. 11.
3. Гунас І.В. Динаміка змін рівня ендогенної інтоксикації в організмі щурів протягом місяця після опіку шкіри II-III ступеня, площею 21-23 % поверхні тіла та її корекція інфузійними розчинами лактопротеїну з сорбітолом та haes-Іх-5% / Гунас І.В., Кондрацький Б.О., Нурметова І.К., Дзевульська І.В., Ковальчук О.І., Черкасов Е.В., Бебешко Н.П., Булько І.В., Вітрук Т.К., та ін. // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 4. – С. 29-34.
4. Елеева М.А.-К. Состояние прооксидантной системы крови и уровень молекул средней массы у больных с инсультом / Елеева М.А.-К. // Вестник новых медицинских технологий – 2013 – N 1. – 17-22.

5. Заболотний Д. І. Патологічні ефекти інтоксикації клітинних мембран ендогенними пептидами / Заболотний Д. І. О. Й. Кизим, С. В. Верьова // Журн. НАМН України. – 2011. – т. 17, № 3. – С. 201–207.

6. Копытова Т.В. Молекулы средней массы как субстрат эндогенной интоксикации при тяжелых дерматозах / Копытова Т.В. // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 9 – С. 7-10.

7. Кротенко Н.М. Молекулы средней массы и антитела к нативной и денатурированной днк у пациентов при различных типах течения рассеянного склероза / Кротенко Н.М., Алифирова В.М., Кротенко Н.В., Рязанцева А.А., Бойко А.С., Иванова С.А. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 5 – С. 305-310.

8. Кульматицкий А.В. Вільнорадикальне окиснення та ендогенна інтоксикація в гострий період первинного ішемічного інсульту / Кульматицкий А.В. // Ендovasкулярна нейрорентгенохірургія. – 2013. – № 6. – С. 17-22.

9. Никольская В.А. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме / Никольская В.А., Данильченко Ю.Д., Меметова З.Н. // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия "Биология, химия". – 2013. – т. 26, № 1. – С. 139–145.

10. Никольская В.А. Изменение процессов окислительной модификации белков и уровня молекул средней массы у больных с надпочечниковой недостаточностью, сопровождающейся гиперинсулинемией / Никольская В.А. // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия "Биология, химия". – 2010. – № 1 – С. 84-90.

#### Reference

1. Vedunova M.V. [Status of endogenous intoxication in the metabolic syndrome and its correction low doses of ozone] Abstract. Dis. of PhD – 2008. -27s. Russian.
2. Gabrielyan N I [Screening method of middle molecules in biological fluids] Guidelines. – M., 1985. S. 11. Russian.
3. Gunas I.V. [The dynamic of changes of endogenous intoxication in experimental rat burns] Ukrainsky morfologichny almanach. – 2012. – Volume 10, number 4. – S. 29-34. Ukrainian.
4. Eleev M.A.-K. [Status prooxidant blood system and the level of middle mass molecules in patients with stroke] Bulletin of new medical technologies – 2013 – N 1. – 17-22. Russian.
5. Zabolotny D. I. [Pathological effects of intoxication cell membranes endogen peptides] Journal. NAMS of Ukraine. – 2011 – 17 v/# 3. – Pp 201-207. Ukrainian.
6. Kopytova T V [The molecules of average weight as a substrate of endogenous intoxication in severe dematoses] The successes of modern science. – 2006. – number 9 – S. 7-10. Russian.
7. Krotenko N M [The middle mass molecules and antibodies to native and denatured DNA in patients with different types of sclerosis] Basic Research. – 2012. – number 5 – pp 305-310. Russian.
8. Kulmatitsky A. V. [Free radical oxidation and endogenous intoxication in acute ischemic stroke during the primary ischemic stroke] Endovascular neuroentgenosurgery. – 2013. -№ 6- S. 17-22.9 Ukrainian.
9. Nikolskaya V.A. [Biochemical aspects of the consideration of the role of middle mass molecules in the body] Scientific notes of Taurida National University. Vernadsky Series "Biology, Chemistry. – 2013 – 26 m, # 1. – Pp 139-145. Russian.
10. Nikolskaya V.A. [Change processes of oxidative modification of proteins and the level of middle mass molecules in patients with adrenal insufficiency, accompanied by hyperinsulinemia] Scientific notes of Taurida National University. Vernadsky Series "Biology, Chemistry". – 2010. – # 1 – S. 84-90. Russian.

Надійшла до редколегії 16.09.16

Т. Царенко, асп., Л.Гайда, канд. биол. наук, О. Кравченко, канд. биол. наук  
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

### ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОТОКСЭМИИ ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ВТОРОГО ТИПА

Одним из общепринятых факторов, сопровождающих нарушения мозгового кровообращения является сахарный диабет. Многочисленные исследования позволили установить, что в патогенезе диабетических церебральных нарушений задействовано множество элементов, важнейшими из которых являются метаболические изменения, включая эндогенную интоксикацию. Поэтому целью данной работы было определить биохимические особенности белкового обмена и уровень эндотоксемии в крови пациентов с ишемическим инсультом, а также инсультом, осложненным сахарным диабетом 2-го типа. Кроме этого определялись следующие общеклинические показатели: пол, средний возраст пациентов, индекс массы тела, содержание глюкозы и липопротеинов в крови, наличие осложнений и показатели проявлений инсульта (NIHSS и Barthel индекс). В результате проведенных исследований установлено, что ишемический инсульт, включая осложненный инсулиннезависимым диабетом, характеризуется гипопропротеинемией на фоне отсутствия выраженных изменений концентрации альбумина. Содержание молекул средней массы (МСМ) и олигопептидов свидетельствовало о наличии эндогенной интоксикации, независимой от гипергликемии и превышающее контрольные показатели в 1,5 раза. Полученные результаты позволили также установить отличия в показателях ИМТ, гиперлипидемии и усилении проявлений острого нарушения мозгового кровообращения по NIHSS у пациентов с ишемическим инсультом при сахарном диабете 2 типа. Таким образом, развитие ишемического инсульта, как в условиях сахарного диабета второго типа, так и без них, характеризуется возрастанием показателей эндотоксикации (молекул средней массы и олигопептидов) в крови пациентов, что в совокупности с гипопропротеинемией и гиперлипидемией может обуславливать вторичные патобіохімічні зміни в клітинах головного мозгу і опосередковувати негативні наслідки розвитку острогo порушення церебрального кровообращения.

Ключевые слова: ишемический инсульт, сахарный диабет II типа, молекулы средней массы, олигопептиды, эндотоксикация, индекс массы тела.

T. Tsarenko, PhD student, L. Gayda, PhD, O. Kravchenko, PhD.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

## ENDOTOXICATION INDICATORS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE COMPLICATED BY TYPE TWO DIABETES MELLITUS

*Diabetes is one of the generally accepted factors of acute cerebral blood flow disorders. Numerous studies have shown involvement of many factors in the pathogenesis of diabetic cerebral disorders, the most important of which are the metabolic changes, including endotoxication. The aim of this study was to measure the endotoxication parameters and total protein and albumin contents in the blood of patients with ischemic stroke and patients with stroke complicated by type 2 diabetes. Also the average sex, age of the patients, body mass index (BMI) and blood glucose and lipoproteins levels, different disease complication presents and NIH Stroke Scale with Barthel index were determined.*

*The investigation had shown that patients with ischemic stroke, including complicated by insulin independent diabetes, were characterized by hypoproteinemia with the absence of marked changes of albumin content. The middle mass molecule (MSM) and oligopeptide contents revealed the presence of endogenous intoxication. These parameters, exceeding the control by 1.5 times, were high independently of hyperglycemia presence. The results also allowed to establish differences in BMI, hyperlipoproteinemia and increasing of NIHSS in patients with ischemic stroke and diabetes mellitus type 2 comparing with stroke alone. Thus, the development of ischemic stroke separately and under conditions of type II diabetes was characterized by increasing rates of endotoxication (middle mass molecule and oligopeptides contents) in the blood of patients, that with hypoproteinemia and hyperlipidemia may cause the secondary pathobiochemical changes in the head brain cells and mediate the negative effects of acute disorders of cerebral blood circulation.*

**Key words:** ischemic stroke, type 2 diabetes, middle mass molecules, oligopeptides, endotoxication,, body mass index.

УДК 612.133; 616.132; 615.255; 611.018.61; 615.252

І. Кізуб, канд. біол. наук, О. Харченко, канд. біол. наук,  
О. Костюк, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,  
К. Клименко, канд. біол. наук, А. Соловйов, д-р біол. наук  
ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України", Київ

## УЧАСТЬ ПРОТЕЇНКІНАЗИ С У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕННЯ СУДИННОГО ТОНУСУ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ. ЧАСТИНА 4

*Цукровий діабет (ЦД) супроводжується розвитком порушень судинного тонусу. До розвитку цих порушень залучений регуляторний фермент протеїнкіназа С (ПКС). Багато даних свідчать про те, що скоротливі відповіді гладеньких м'язів судин суттєво підвищені за умов ЦД і ендотелій-незалежні механізми пов'язані із ПКС також залучені до цього процесу. Такими механізмами є ПКС-опосередковане пригнічення струму через  $\text{Ca}^{2+}$ -керовані  $\text{K}^{+}$ -канали великої провідності ( $\text{BK}_{\text{Ca}}$ ) в гладеньком'язових клітинах (ГМК) судин та  $\text{Ca}^{2+}$ -сенситизація міофіламентів ГМК. ПКС є потенційною терапевтичною мішенню для лікування діабетичних судинних порушень. Серед інгібіторів ПКС вже існує декілька субстанцій, зокрема рубоксістаурін, індолілмалеїмід та його похідні. Нещодавно винайдений метод РНК-інтерференції (РНКі) є важливим інструментом для пригнічення генів і також може бути застосований для пригнічення ПКС та усунення судинних ускладнень за ЦД.*

**Ключові слова:** цукровий діабет, протеїнкіназа С, судинний тонус, і гладенькі м'язи судин,  $\text{Ca}^{2+}$ -сенситизація, РНК-інтерференція.

Залучення протеїнкінази С (ПКС) до ендотелій-незалежного зростання скоротливості гладеньких м'язів судин за цукрового діабету (ЦД). Хоча численні дослідження продемонстрували, що ЦД впливає на судинну функцію через пригнічення ендотелій-залежної вазодилатації, результати інших досліджень свідчать, що ЦД також призводить до зростання судинного тонусу за участю механізмів, що не пов'язані із впливом ендотелію [2, 19, 31, 54]. Багато даних свідчать про те, що скоротливі відповіді гладеньких м'язів судин суттєво підвищені за умов ЦД [14, 19, 22, 31, 54]. Дослідження з використанням різних експериментальних моделей ЦД у тварин показали, що вазоконстрикція, яка опосередкована активацією  $\alpha_1$ -адренорецепторів судинних гладеньком'язових клітин (ГМК), в артеріях є підвищеною [6, 22, 34, 52] і ПКС є залученою до цього процесу [2, 19, 31]. Зокрема, було встановлено, що ендотелій-незалежна вазоконстрикція, яка опосередковується активацією простагландинових рецепторів E 1 та 3 (EP1/EP3) підсилена в очеревинних артеріях щурів із ЦД 2-го типу та є надзвичайно чутливою до пригнічення ПКС- $\delta$  ізоформи [14].

ПКС-опосередковане пригнічення  $\text{K}^{+}$ -каналів в ГМК судин за ЦД. Калієві ( $\text{K}^{+}$ ) канали відіграють важливу ролі у регуляції потенціалу спокою ГМК судин та їхньої скоротливості [33]. Пригнічення  $\text{K}^{+}$ -каналів в судинних ГМК викликає деполяризацію сарколеми та, внаслідок цього, зростання внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Ca}^{2+}$  ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ), що призводить до скорочення ГМК та, відповідно, вазоконстрикції [33]. Деполяризація плазматичної мембрани активує вхід  $\text{Ca}^{2+}$  через потенціал-

залежні  $\text{Ca}^{2+}$ -канали L-типу та вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  із інозитол-1,4,5-трифосфат- та ріанодин-чутливих внутрішньоклітинних  $\text{Ca}^{2+}$ -депо [32].

$\text{Ca}^{2+}$ -керовані  $\text{K}^{+}$ -канали великої провідності ( $\text{BK}_{\text{Ca}}$ ) є домінуючими  $\text{K}^{+}$ -каналами в ГМК судин і відіграють суттєву роль у регуляції судинної функції [16, 33]. Активність  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ -каналів регулюється їхньою допоміжною субодиницею  $\beta 1$  ( $\text{BK}-\beta 1$ ) [32]. Дані, що існують, вказують на те, що функція судинних  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ -каналів є пригніченою у тварин із моделями ЦД обох типів [30], що пов'язано із зниженою експресією  $\text{BK}-\beta 1$  в судинних ГМК [24, 25], а також, із зниженням активності формуючої пору субодиниці  $\alpha$  ( $\text{BK}-\alpha$ ) під дією реактивних форм кисню (РФК) [25]. Пригнічення  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ -струму також було показано у ГМК мікросудин щурів із інсулін-резистентністю [11].

На артеріях мишей із стрептозоциновою (СТЗ) моделлю діабету 1-го типу та ГМК коронарних артерій людини, культивованих за умов високої концентрації глюкози, було встановлено, що знижена експресія  $\text{BK}-\beta 1$  пов'язана із зростанням активності ПКС- $\beta$  ізоформи [24]. Пригнічення ПКС- $\beta$  відновлювало опосередковану  $\text{BK}_{\text{Ca}}$ -каналами вазодилатацію у діабетичних мишей [24]. Нещодавно ми також показали, що ПКС- $\delta$  є залученою до пригнічення загального  $\text{K}^{+}$ -струму в ГМК аорти щурів із СТЗ-моделлю ЦД [20]. Було також показано, що високі концентрації глюкози через ПКС-опосередковані процеси та оксидативний стрес пригнічують потенціал-залежний  $\text{K}^{+}$ -струм ( $\text{K}_v$ ) в артеріальних ГМК, приводячи до деполяризації ГМК судин та вазоконстрикції [35, 47].

Потрібно також зауважити, що декілька ранніх досліджень показали досить суперечливі дані щодо мож-