

УДК: 616-092.4

М. Бурлова-Васильєва, асп., Т. Вовк, канд. біол. наук,
Н. Кравченко, канд. біол. наук, О. Савчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
В. Мельник, канд. мед. наук,
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

КРИТЕРІЇ ЕНДОГЕННІ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗА УМОВ АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ ТА КАРДІОЕМБОЛІЧНОГО ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Визначалися концентрація IgG, рівень олігопептидів та молекул середньої маси у плазмі крові хворих на атеротромботичний та кардіоемболічний інсульти. У дослідженні взяли участь 122 пацієнти з діагнозом атеротромботичний та кардіоемболічний ішемічний інсульт та 40 відносно здорових донорів. Концентрацію IgG визначали методом афінної хроматографії на протеїн А сефарозі. Рівень олігопептидів та молекул середньої маси визначали згідно методики, описаної Ніколайчик В.В. та співавторами. Концентрація IgG зростає з розвитком кардіоемболічного ішемічного інсульту, досягаючи $10,7 \pm 0,97$ мг/мл на 14 добу, в той час як при надходженні до стаціонару показник становив $5,0 \pm 0,35$ мг/мл. За атеротромботичного ішемічного інсульту рівень молекул середньої маси у плазмі крові зростає в 3,35 рази, в той час як рівень олігопептидів зростає в 3,6 разів відносно показників донорів. Кардіоемболічний ішемічний інсульт супроводжувався зростанням рівня молекул середньої маси у 2,6 разів, олігопептидів у 2,5 рази відносно показників донорів. Кардіоемболічний ішемічний інсульт супроводжувався зростанням концентрації IgG у плазмі крові у 2 рази на 14-у добу розвитку хвороби відносно рівня, встановленого при надходженні до стаціонару. За обох підтипів ішемічного інсульту спостерігалось зростання рівня молекул середньої маси та олігопептидів, що вказує на активацію протеолітичних процесів у організмі.

Ключові слова: атеротромботичний ішемічний інсульт, кардіоемболічний ішемічний інсульт, IgG, молекули середньої маси.

Вступ. Патологічна активація захисних реакцій організму має місце за багатьох хвороб [1]. Так, активація імунної системи та продукція аутоантитіл виявлені у хворих з такими захворюваннями як системний склероз, ревматоїдний артрит, діабет, системний червоний вовчак, тиреоїдит та ін. [2, 3]. За деяких з патологічних станів аутоантитіла можуть виступати як предиктором самої хвороби, так і швидкості її прогресування. За ограноспецифічних аутоімунних захворювань таких як діабет 1 типу та тиреоїдит, аутоантитіла можуть бути виявлені у периферичній крові за роки до пошкодження гормон-секретуючих клітин [4-5]. Незважаючи на важливу діагностичну та прогностичну цінність аутоантитіл, їх роль в патогенезі аутоімунних розладів до цих пір залишається дискусійним питанням. Також не відомо, чому конкретні аутоантитіла переважно утворюються за певних захворювань [6].

До активних компонентів, які утворюються в організмі за патологічних умов, в тому числі за рахунок активації протеолітичної системи організму, належать так звані молекули середньої маси. Дана фракція включає в себе молекули з послідовністю від 2 до 20 амінокислот, серед яких відомі біологічно активні сполуки. Відомо, що продукти розпаду білків діють як вторинні ендотоксини, викликаючи розлад різних фізіологічних процесів. Відзначається, що ендотоксемія різного генезу супроводжується збільшенням концентрації молекул середньої маси, при цьому їх рівень корелює з тяжкістю стану хворих і може використовуватися як показник ступеня токсикозу. Рівень молекул середньої маси підвищується за широкого спектру патологічних станів, таких як цукровий діабет обох типів, опіки, гострий панкреатит [7-9].

Серед олігопептидів є сполуки здатні інгібувати тирозинкіназу активність та впливати на протікання запальних процесів [10-12]. Молекули середньої маси впливають на життєдіяльність усіх систем та органів, оскільки за своєю будовою близькі до регуляторних пептидів. Показано, що молекули середньої маси накопичуються у плазмі крові хворих на хронічну ниркову недостатність та проявляють антикоагулянтний ефект, знижують функціональні властивості тромбоцитів та підвищують проникність судин [13]. Окремі фракції молекул середньої маси здатні інгібувати гліколіз, глюконеогенез, пентозний цикл, синтез гемоглобіна та нуклеїнових кислот, порушувати мембранний транспорт, еритропоез, фагоцитоз, мікро-

циркуляцію та лімфодинаміку, мають імунодепресивну, цитотоксичну, нейро-та психотропну дію [14].

Ряд авторів вважають молекули середньої маси універсальним біохімічним маркером, який відображає рівень патологічного білкового метаболізму та корелює з основними клінічними та лабораторними прогностичними критеріями метаболічних порушень. Підвищення рівня молекул середньої маси в плазмі крові обумовлено порушенням їх елімінації з організму, посиленням утворення в тканинах, або поєднанням обох механізмів. Було показано, що у складі даного класу пептидів містяться речовини з вираженою анти- та прокоагулянтною активністю. Зміна вмісту даних речовин в ході розвитку патологічного процесу або в результаті лікувальних процедур може значно змінювати гемостатичний потенціал крові [13, 15].

Матеріали і методи. Для проведення дослідження було виконано клініко-лабораторне обстеження 122 хворих з гострим ішемічним інсультом. В залежності від підтипу інсульту пацієнти були відкритим методом рандомізовані на дві групи: 1 група – пацієнти з атеротромботичним ішемічним інсультом (n=66) та 2 група – пацієнти з кардіоемболічним ішемічним інсультом (n=56). Вік хворих на момент огляду варіював від 43 до 91 років, складаючи в середньому $73,62 \pm 8,9$ років. Діагноз ішемічного інсульту був підтверджений нейровізуалізаційно (КТ- або МРТ-головного мозку). Всі хворі або їх родичі були попереджені про проведення клінічного дослідження та давали письмову згоду на участь у ньому.

В дослідженні також взяли участь відносно здорові донори (n=40) без тромбоемболічних захворювань в анамнезі, які за статтю та віком відповідали обом групам хворих осіб.

Кардіоемболічний підтип ішемічного інсульту був діагностований за наявності у хворого миготливої аритмії: постійної, пароксизмальної форми або перенесеного гострого інфаркту міокарда в анамнезі та їх поєднання. Діагноз миготливої аритмії вважали достовірним, якщо даний стан був підтверджений на електрокардіограмі або за наявності пароксизмальної форми миготливої аритмії, що було зафіксовано у амбулаторній карті та пароксизмом миготливої аритмії перед розвитком ішемічного інсульту. Перенесений інфаркт міокарда теж був підтверджений на електрокардіограмі у вигляді постінфарктного кардіосклерозу та задокументований у амбулаторній картці. В дослідження не включали хво-

рих у стані коми, хворих з вираженою дихальною недостатністю або з підозрою на онкологічне захворювання.

При надходженні до стаціонару усі хворі на першу добу отримували аспірин 325 мг внутрішньо. Забір венозної крові проводили пункцією ліктьової вени з 8 до 9 години ранку натщесерце, в пробірку з розчином лимоннокислого натрію (38 г/л) в кінцевому співвідношенні 9:1.

Кров відбирали пункцією ліктьової вени з 8 до 9 годин ранку натщесерце у пластикову пробірку з лимоннокислим натрієм (38 г/л) у кінцевому співвідношенні 9:1, обережно перемішували (не струшуючи). Суміш центрифугували 20 хв. з прискоренням 1200-1400g. Супернатант перенесли лабораторним дозатором у пластикову пробірку.

Сироватку крові ссавців отримували з цільної крові. Кров відбирали у скляну пробірку та залишали при 37° С на 4 години для вилучення фібриногену і супутніх білків. Утворений згусток видаляли скляною паличкою, після чого кров центрифугували при 2000 g протягом 40 хв. [16]. Сироватку крові перенесли лабораторним дозатором у поліетиленову пробірку.

Фракцію, яка містила IgG виділяли з сироватки крові хворих та донорів методом афінної хроматографії на протеїн А сефарозі [17].

На колонку з носієм наносили сироватку крові, враховуючи загальний об'єм колонки. Неспецифічно зв'язані білки відмивали 0,05 М трис-НСІ буфером, рН 7,4. Елюцію проводили 100 мМ гліцин-НСІ, рН 2,2. Фракції збирали по 1 мл та вимірювали оптичну густину за 280 нм. Проби, які містили білок, об'єднували та висольовували розчином сульфату амонію до кінцевої концентрації 50 % і залишали на ніч за температури 4°С. Висол центрифугували за 400 об./хв, 30 хв. та розчиняли осад в 1 мл 0,05 М Na-фосфатного буфера, рН 7,4.

Для видалення залишків сульфату амонію використовували хроматографію, яка поділяє за розмірами. Отриману на протеїн-А сефарозі фракцію наносили на колонку G 25, врівноважену 0,05 М Na-фосфатним буфером, рН 7,4. Елюат збирали по 1 мл та вимірювали оптичну густину за 280 нм. Проби, які містили білок, об'єднували, концентрували, вимірювали оптичну густину та вираховували концентрацію отриманих антитіл. Фракцію додатково доочищували для видалення окремих важких та легких ланцюгів імуноглобулінів на Sephadex G75. Хроматографічне розділення проводили у 50 мМ Na-фосфатному буфері рН 7,4 зі швидкістю 1 мл/хв.

Чистоту препарату антитіл контролювали методом диск-електрофорезу за Лемлі [18]. Для відновлення дисульфідних зв'язків застосовували 5% β-меркаптоетанол. Гелі фарбували 0,125% розчином кумасі G-250 у 25% ізопропанолі та 10% оцтової кислоти.

Рівень молекул середньої маси визначали згідно методу Ніколайчик В.В. та співавторів [19]. Плазму крові, стабілізовану цитратом натрію, осаджували 1,2 М НСІО₄ у співвідношенні 1:1 та центрифугували 20 хв. за 5000 g.

Надосадову рідину відбирали, нейтралізували 2М К₂СО₃ з розрахунку 0.2 мл на 1 мл супернатанту та залишали на льоду на 20 хв. Суміш центрифугували 20 хв. за 2500 g та відкидали осад. Супернатант розділяли на 2 частини. У першій визначали фракцію олігопептидів. Для цього супернатант розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10 та спектрофотометрували за довжини хвилі 210 нм. Другу частину доосаджували етанолом до кінцевої концентрації 80% протягом 10 хв. та центрифугували протягом 15 хв за 2500 g. У надосадовій рідині визначали молекули середньої маси. Для цього супернатант розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10 та спектрофотометрували за довжини хвилі 210 нм.

Кількість білка визначали за методом Бредфорд [20], що базується на здатності білків зв'язуватися з кумасі діамантовим синім G-250.

Результати та їх обговорення. Роль антитіл як фактора ризику судинних уражень є предметом інтенсивних досліджень [21]. Раніше було встановлено зв'язок між наявністю у периферичній крові антифосфоліпідних антитіл та розвитком патологій серцево-судинної системи. Високі рівні антифосфоліпідних антитіл, особливо антитіл класу IgG, пов'язані з високим ризиком розвитку тромбозу [22]. Вважається, що первинною мішенню для антифосфоліпідних антитіл є саме фосфоліпідзв'язувальні білки, а не окремі молекули фосфоліпідів. У хворих із позитивними рівнями антитіл до кардіоліпіну та бета-2-глікопротеїну-1 частіше діагностували інсульти, інфаркти, артеріальні тромбози судин нижніх кінцівок, судинний головний біль та ураження клапанного апарату серця. Відомо, що взаємодія антитіл із бета-2-глікопротеїном-1 проходить на мембранах ендотеліоцитів та викликає ураження ендотелію, що спричиняє ендотеліальну дисфункцію та серцево-судинні ускладнення [23]. Також показано, що дана група антитіл може взаємодіяти з протромбіном. Антитіла до протромбіну, зокрема, можуть впливати на результати хронометричних тестів *in vitro*, виступаючи компонентом системи патологічних інгібіторів зсідання. Ряд дослідників розглядають антифосфоліпідні антитіла як незалежний фактор ризику серцево-судинних захворювань [24-26].

Накопичення антитіл до власних антигенів може провокувати порушення у системі гемостазу в напрямку посиленого тромбоутворення. У зв'язку з цим нами було досліджено концентрацію IgG у сироватці крові за розвитку різних підтипів ішемічного інсульту. Відбір зразків крові хворих здійснювали при надходженні до стаціонару, через 7 та 14 днів перебування у лікарні на стаціонарному лікуванні.

Було показано, що у пацієнтів з атеротромботичним ішемічним інсультом при надходженні до стаціонару та на 7-у добу перебування на лікуванні концентрація IgG знаходиться у межах норми. На 14-у добу розвитку хвороби відмічалось падіння рівня IgG у межах даної групи хворих відносно донорів (Табл. 1.).

Таблиця 1. Концентрація IgG у плазмі крові хворих з різними підтипами ішемічного інсульту

Групи	IgG, мг/мл
Донори	7,58 ± 0,02
AI при надходженні до стаціонару	7,0 ± 0,5
AI на 7-а доба перебування у стаціонарі	7,66 ± 0,71
AI на 14-а доба перебування у стаціонарі	5,96 ± 0,73*
KI при надходженні до стаціонару	5,0 ± 0,35*
KI на 7-а доба перебування у стаціонарі	9,25 ± 0,34*
KI на 14-а доба перебування у стаціонарі	10,7 ± 0,97*

* – достовірні зміни відносно донорів, p ≤ 0,05

При надходженні до стаціонару у хворих з кардіо-емболічним ішемічним інсультом на фоні миготливої аритмії відзначалося значне зниження концентрації IgG до 5,0±0,35 мг/мл відносно донорів. На 7-у та 14-у добу

розвитку хвороби у пацієнтів спостерігалось значне зростання концентрації IgG відносно рівня, встановлено при надходженні до стаціонару.

Встановлене зростання рівня IgG за кардіоемболічного ішемічного інсульту на фоні миготливої аритмії, на нашу думку, не може бути наслідком введення хворим низькомолекулярних гепаринів, оскільки подібний ефект не був характерним для пацієнтів з атеротромботичним ішемічним інсультом, які отримували лікування за аналогічною схемою.

Подальше дослідження якісного складу фракцій та ефектів, які вони викликають дозволять встановити специфічні антитіла, які впливають на функціонування системи гемостазу та можуть бути мішенями білкової терапії.

Нами було виявлено значне зростання рівня молекул середньої маси за розвитку атеротромботичного ішемічного інсульту протягом усього часу дослідження (табл. 2). На 7-у добу перебування у стаціонарі було зафіксовано максимальний рівень молекул середньої маси, що перевищував показник донорів у 3,3 рази.

Також було встановлено зростання рівня олігопептидів у плазмі крові, який досягав 0,43±0,25 мг/мл на 7-у добу перебування у стаціонарі та перевищував показник донорів у 3,6 рази.

Таблиця 2. Динаміка показників ендотоксемії за атеротромботичного ішемічного інсульту

Показник	Донори	При надходженні до стаціонару	На 7-у добу перебування у стаціонарі
Загальний білок, мг/мл	2,23±0,14	2,30±0,36	2,38±0,49
Молекули середньої маси, у.о.	0,31±0,15	0,97±0,41*	1,04±0,46*
Фракція олігопептидів, мг/мл	0,12±0,09	0,37±0,33*	0,43±0,25*

* – достовірні зміни відносно донорів, $p \leq 0,05$

Загальний білок за даного патологічного стану залишався у межах норми протягом усього часу дослідження.

За кардіоемболічного ішемічного інсульту на фоні миготливої аритмії також спостерігалось зростання рівня маркерів ендогенної інтоксикації (табл. 3.). На 7-у добу перебування у стаціонарі рівень молекул середньої маси перевищував показник донорів у 2,6 рази. Концентрація

олігопептидів у зразках плазми крові хворих також значно перевищувала нормальний показник – у 2,2 рази. При цьому спостерігалась тенденція до зниження концентрації загального білка плазми крові від 2,23±0,14 мг/мл (показник донорів) до 1,63±0,17 мг/мл у хворих на 7-у добу перебування у стаціонарі.

Таблиця 3. Динаміка показників ендотоксемії за кардіоемболічного ішемічного інсульту на фоні миготливої аритмії

Показник	Донори	При надходженні до стаціонару	На 7-у добу перебування у стаціонарі
Загальний білок мг/мл	2,23±0,14	1,68±0,30	1,63±0,17
Молекули середньої маси, у.о.	0,31±0,15	0,79±0,28*	0,82±0,33*
Фракція олігопептидів, мг/мл	0,12±0,09	0,30±0,13*	0,27±0,16*

* – достовірні зміни відносно донорів, $p \leq 0,05$

Необхідно відмітити, що розвиток атеротромботичного ішемічного інсульту супроводжувався вищою ендогенною інтоксикацією організму хворих у порівнянні з кардіоемболічним ішемічним інсультом на фоні миготливої аритмії. Про це свідчить накопичення значної кількості молекул середньої маси, а також помітно вищий рівень олігонуклеотидів у плазмі крові пацієнтів.

Висновки. Кардіоемболічний ішемічний інсульт на фоні миготливої аритмії супроводжувався зростанням концентрації IgG у плазмі крові у 2 рази на 14-у добу розвитку хвороби відносно рівня, встановленого при надходженні до стаціонару. Розвиток атеротромботичного ішемічного інсульту супроводжувався незначним падінням концентрації IgG на 14-у добу перебування у лікарні. За обох підтипів ішемічного інсульту спостерігалось зростання рівня молекул середньої маси та олігопептидів, що вказує на активацію протеолітичних процесів у організмі. Причому, за атеротромботичного ішемічного інсульту рівень даних маркерів ендогенної інтоксикації перевищував показники, характерні для хворих з кардіоемболічним ішемічним інсультом на фоні миготливої аритмії.

Список використаних джерел

- Leslie D. Autoantibodies as predictors of disease / D. Leslie, P. Lipsky, A. L. Notkins // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2001. – 108(10). – P. 1417–1422.
- Sharma S. Identification of Autoantibodies against Transthyretin for the Screening and Diagnosis of Rheumatoid Arthritis / S. Sharma, S. Ghosh, L. K. Singh [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – 9(4). – P. 939-05.
- Cozzani E. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects / E. Cozzani, M. Drosera, G. Gasparini, A. Parodi // *Autoimmune disease* – 2014. – P. 321–359.
- Wenzlau J. M. Novel Diabetes Autoantibodies and Prediction of Type 1 Diabetes / J. M. Wenzlau, J. C. Hutton // *Current Diabetes Reports* – 2013. – 13 (5). – P. 608-615.
- Wang Y. P. Hemoglobin, iron, and vitamin B12 deficiencies and high blood homocysteine levels in patients with anti-thyroid autoantibodies

/ Y. P. Wang, H. P. Lin, H. M. Chen [et al.] // *Journal of the Formosan Medical Association* – 2014. – 113(3). – P. 155-60.

6. Racanelli V. V. Autoantibodies to intracellular antigens: Generation and pathogenetic role / V. V. Racanelli, M. Prete, G. Musaraj [et al.] // *Autoimmunity Reviews*. – 2011. – 10 (8). – P. 503–8.

7. Alabovskii V. V. Medium molecular size peptides of blood plasma in diabetes mellitus / V. V. Alabovskii, D. V. Vasilenko, A. I. Maslov [et al.] // *Klinicheskaia laboratornaia diagnostika* – 2005. – 4. – P. 15-8.

8. Levin G. Y. Egorihina Aggregation of erythrocytes in burn disease / G. Y. Levin, N. Marpha // *International Journal of Burns and Trauma*. – 2011. – 1(1). – P. 34-41

9. Matveyev S. B. The comparative characteristic of coefficients of endogenic intoxication under severe acute pancreatitis / S. B. Matveyev, Y. V. Klytchnikova, A. V. Grishin [et al.] // *Klinicheskaia laboratornaia diagnostika*. – 2013. – 5. – P. 5-7.

10. Reddy B. Bioactive oligopeptides in dermatology: Part I / B. Reddy, T. Jow, B. M. Hantash // *Experimental Dermatology*. – 2012. – 21(8). – P. 563-8.

11. Short-Sequence Oligopeptides with Inhibitory Activity against Mushroom and Human Tyrosinase / A. A. Ubeid, L. Zhao, Y. Wang, B. M. Hantash. // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2009. – 129. – P. 2242–49.

12. van den Berg H. R. Synthetic oligopeptides related to the [beta]-subunit of human chorionic gonadotropin attenuate inflammation and liver damage after (trauma) hemorrhagic shock and resuscitation / H. R. van den Berg, N. A. Khan, M. van der Zee [et al.] // *Shock*. – 2009. – 31(3). – P. 285–291.

13. Карякина Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е. В. Карякина, С. В. Белова // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2004. – № 3. – P. С. 3–8.

14. Ковалевский А. Н. Замечания по скрининговому методу определения молекул средней массы / А. Н. Ковалевский, О. Е. Нифантьев // *Лабораторное дело* – 1989. – № 10. – С. 35–39.

15. Влияние молекул средней массы на механизмы гемостаза / В. А. Сятковский, В. А. Змачинский, Л. П. Василенко, О. И. Ким // *Гематологии и трансфузиологии*. – 1989. – № 6. – С. 45–48.

16. Токар А. В. Сучасні методи лабораторної діагностики внутрішньосудинного мікрозідання крові (методичні рекомендації) / А. В. Токар, Е. М. Макогоненко, Т. М. Платонова. – К., 1994. – С. 23

17. Huse K. Purification of antibodies by affinity chromatography / K. Huse, H. J. Böhme, G. H. Scholz // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. – 2002. – 51(3). – P. 217–231.

18. Weber K. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis / K. Weber, M. Osborn // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1969. – 244 (16). – P. 4406–4412.

19. Николайчик В. В. Способ определения средних молекул / В. В. Николайчик, В. М. Моин, В. В. Кирковский // *Лабораторное дело*. – 1991. – № 10. – С. 13–18.

20. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – 72 (1–2). – 248–254.

21. Cieślak P. Vasculopathy and vasculitis in systemic lupus erythematosus / P. Cieślak, A. Hrycek, P. Kłuciński // *Polish Archives of Internal Medicine*. – 2008. – 118(1-2). – P. 57-63.

22. da Silva F.F. Cardiovascular Risk Factors in the Antiphospholipid Syndrome / F. F. da Silva, R. A. Levy, J. F. de Carvalho // *Journal of Immunology Research*. – 2014. – P. 621–270.

23. Blum A. The antiphospholipid syndrome and endothelial function / A. Blum, C. Simsolo // *Israel Medical Association Journal* – 2004. – 6(9). – P. 556–558.

24. Koniari I. Antiphospholipid syndrome; its implication in cardiovascular diseases: a review / I. Koniari, S. N. Siminelakis, N. G. Baikoussis // *Cardiothorac Surg*. – 2010. – 5. – P. 101.

25. Ruiz-Irastorza G. Stroke and antiphospholipid syndrome: the treatment debate / G. Ruiz-Irastorza, M. A. Khamashta // *Rheumatology (Oxford)*. – 2005. – 44(8). – P. 971-4.

26. Antiphospholipid antibodies and the risk of recurrence after a first episode of venous thromboembolism: a systematic review / D. Garcia, E. A. Akl, R. Carr, C. Kearon // *Blood*. – 2013. – 122(5). – P. 817–824.

Надійшла до редколегії 30.10.14

М. Бурлова-Васильєва, асп., Т. Вовк, канд. биол. наук,
Н. Кравченко, канд. биол. наук, А. Савчук, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
В. Мельник, канд. мед. наук.
Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

КРИТЕРИИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ И КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Определялась концентрация IgG, уровень олигопептидов и молекул средней массы в плазме крови больных атеротромботическим и кардиоэмболическим ишемическим инсультами. В исследовании приняли участие 122 пациента с диагнозом атеротромботический и кардиоэмболический ишемический инсульты и 40 относительно здоровых доноров. Концентрацию IgG определяли методом аффинной хроматографии на протеин А сепфарозе. Уровень олигопептидов и молекул средней массы определяли по методике, описанной Николаичук В.В. и соавторами. Концентрация IgG увеличивалась с развитием кардиоэмболического ишемического инсульта, достигая $10,7 \pm 0,97$ мг/мл на 14 сутки, в то время как при поступлении на стационар показатель составлял $5,0 \pm 0,35$ мг/мл. При атеротромботическом ишемическом инсульте уровень молекул средней массы в плазме крови увеличивался в 3,35 раза, в то время как уровень олигопептидов увеличивался в 3,6 раза относительно показателей доноров. Кардиоэмболический ишемический инсульт сопровождался ростом уровня молекул средней массы в 2,6 раза, олигопептидов – в 2,5 раза относительно показателей доноров. Кардиоэмболический ишемический инсульт сопровождался увеличением концентрации IgG в плазме крови в 2 раза на 14-е сутки развития болезни относительно уровня, установленного при поступлении на стационар. При патологических состояниях наблюдался рост уровня молекул средней массы и олигопептидов, что указывает на активацию протеолитических процессов в организме.

Ключевые слова: атеротромботический ишемический инсульт, кардиоэмболический ишемический инсульт, IgG, молекулы средней массы.

M. Burlova-Vasylieva, PhD stud., T. Vovk, PhD., N. Kravchenko, PhD., Savchuk O. DSc
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
V. Melnyk, PhD.
Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

CRITERIA OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN PATIENTS WITH ATHEROTHROMBOTIC ISCHEMIC STROKE AND CARDIOEMBOLIC ISCHEMIC STROKE

To determine the concentration of IgG, the level of middle mass molecules and oligopeptides in blood plasma of patients with atherothrombotic and cardioembolic ischemic stroke. The study involved 122 patients diagnosed with atherothrombotic and cardioembolic ischemic stroke and 40 relatively healthy donors. The concentration of IgG was determined by affinity chromatography on protein A sepharose. The level of oligopeptides and middle mass molecules were determined by methods described by Nikolaichuk V. and co-authors. IgG concentration increased with the development of cardioembolic ischemic stroke, reaching $10,7 \pm 0,97$ mg/ml on the 14th day, while on admission to hospital was $5,0 \pm 0,35$ mg/ml. For atherothrombotic ischemic stroke the level of middle mass molecules in the plasma was 3.35 times higher, while the level of oligopeptides was 3.6 times higher relative to donors. Cardioembolic ischemic stroke was accompanied by 2.6 times higher level of middle mass molecules and by 2.5 times higher level of oligopeptides relative to donors. Cardioembolic ischemic stroke was accompanied by 2 times higher concentration of IgG in plasma on the 14th day of disease relative to the rate specified on admission to hospital. For both subtypes of ischemic stroke an increase in middle mass molecules and oligopeptides was observed, indicating the activation of proteolytic processes in the organism.

Keywords: atherothrombotic ischemic stroke, cardioembolic ischemic stroke, IgG, middle mass molecules.

УДК 577.112.7

Д. Цимбал, пров. інж., Д. Мінченко, канд. мед. наук,
І. Кривдюк, асп., О. Мінченко, проф.
Інститут біохімії імені О.В. Палладіна, Київ

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ *ATF3*, *FOXF1* ТА *CENPU* У КЛІТИНАХ ГЛІОМИ ЛІНІЇ U87 З ПРИГНІЧЕНОЮ ФУНКЦІЄЮ СИГНАЛЬНОГО ЕНЗИМУ ERN1 ЗА УМОВ ДЕФІЦИТУ ГЛУТАМІНУ І ГЛЮКОЗИ

Встановлено, що рівень експресії генів транскрипційних факторів *ATF3* та *FOXF1* за умов дефіциту глутаміну у середовищі збільшувався у клітинах гліоми лінії U87 з функціонально активним сенсорно-сигнальним ферментом ERN1, а рівень експресії гена *CENPU* за цих умов різко знижувався. В той же час, у клітинах гліоми з пригніченою активністю ERN1 рівень експресії гена *FOXF1* за умов дефіциту глутаміну істотно не змінювався, гена *ATF3* збільшувався, а гена *CENPU* зменшувався, причому пригнічення ERN1 значно посилювало ефект дефіциту глутаміну на експресію гена *ATF3*, але при цьому не змінювало чутливості гена *CENPU* до дефіциту цієї амінокислоти. Експресія гена *FOXF1* за умов дефіциту глюкози пригнічувалася, але лише у клітинах з функціонально активним ERN1. Пригнічення ERN1 зменшувало рівень експресії генів *ATF3* і *FOXF1* та посилювало експресію гена *CENPU* у клітинах гліоми за стандартних умов їх вирощування. Таким чином, гени *ATF3*, *FOXF1* та *CENPU* задіяні у регуляції процесів проліферації у клітинах гліоми і є чутливими до умов дефіциту глюкози і глутаміну в залежності від функції ферменту ERN1.

Ключові слова: експресія генів, *ATF3*, *FOXF1*, *CENPU*, клітини гліоми, дефіцит глюкози і глутаміну, ERN1.

Вступ. Відомо, що ріст злоякісних пухлин, в тому числі гліом, асоціюється з гіпоксією та дефіцитом поживних речовин, а також стресом ендоплазматичного ретикулу, що обумовлений накопиченням у ньому не зго-

рнутих чи неправильно згорнутих протеїнів [1 – 4]. Внутрішньоклітинною структурою, що надзвичайно чутлива до змін гомеостазу, є ендоплазматичний ретикулум, в якому проходить пост-трансляційна модифікація проте-