

АНОТАЦІЯ

Удовенко А.В. Регулювання активності тромбіну і плазміну в процесі формування і розчинення згустку в плазмі крові людини. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія». – Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ, 2026.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню процесів, які лежать в основі формування і розчинення фібринових згустків. Для аналізу зв'язків між формуванням та розчиненням згустку та активацією протромбіну і плазміногену були розроблені методи визначення активності ензимів, які характеризують коагуляційну компоненту активності тромбіну і фібринолітичну активність плазміну на момент повного розчинення згустку в плазмі крові людини.

В процесі дослідження було знайдено, що фібрилярна структура згустку важлива для підтримки активації протромбіну на стадії ініціації зсідання. Фібриноген, під впливом фібриногенази із отрути щитомордника *Agkistrodon halys halys* втрачає більш ніж на порядок здатність підтримувати активацію протромбіну.

Встановлено, що, накопичений на стадії ініціації у згустках, тромбін необхідний для стадії ампліфікації активності тромбіну і перемикання процесу активації системи зсідання на її гальмування. Надлишок тромбіну, який звільняється із згустку на стадії ампліфікації зсідання, зв'язується з FV, FVIII і FXI, що викликає сплеск амідазної активності.

Запропоновано новий спосіб підрахунку активності і концентрації тромбіну в методі TGA, який дозволяє визначити концентрацію тромбіну в кожній момент тромбограми до і після точки перелому кривої.

Аналіз зв'язку процесу активації протромбіну і формування фібринового згустку та активації системи фібринолізу показав, що початок активації системи фібринолізу настає в період завершення формування фібрилярної структури згустку. Це дозволяє припустити, що механізм взаємодії сайтів полімеризації фібрину desA функціонує таким чином, що в процесі зсідання останнього, йде конкурентне витіснення компонентів фібринолітичної системи на поверхню сформованих фібрил згустку, де вони створюють активаційні тріади Glu-Pg-фібрин-Glu-Pm, які запускають механізм фібринолізу.

З використанням методу турбідиметричного аналізу структури фібрил показано, що щільність протофібрил у фібрилі може змінюватись в залежності від ініціатора зсідання плазми крові. Це вказує на те, що параметр щільності протофібрил потенційно може бути використаний для діагностичних цілей.

Таким чином, в в ході виконання дисертаційної роботи було виявлено нові зв'язки між:

- активацією протромбіну і формуванням згустку у часі на стадії ініціації зсідання плазми крові АЧТЧ реагентом або тканинним фактором;
- тривимірною структурою згустку і швидкістю активації протромбіну на стадії ініціації процесу формування згустку;
- механізмом формування структури фібрил і механізмом формування активаційних тріад Glu-Pg-фібрин-Glu-Pm фібринолітичної системи, що носить конкурентний характер.

Ключові слова: полімеризація фібрину, фібриноген, тромбін, активація плазміногену, плазмін, турбідиметрія, електронна мікроскопія, запалення, розчинний фібрин, гемостаз, зсідання крові, фібриноліз, антитіла, діагностика.

ANNOTATION

Udovenko A.V. Regulation of Thrombin and Plasmin activity during clot formation and dissolution in human blood plasma. Qualifying scientific work submitted as a manuscript.

This PhD thesis is devoted to the investigation of the processes underlying the formation and dissolution of fibrin clots. To analyze the relationships between clot formation and dissolution and the activation of prothrombin and plasminogen, methods were developed for determining the activity of enzymes characterizing the coagulation component of thrombin activity and the fibrinolytic activity of plasmin at the moment of complete clot dissolution in human blood plasma.

During the study, it was found that the fibrillar structure of the clot is important for supporting prothrombin activation at the initiation stage of coagulation. Fibrinogen, upon exposure to fibrinogenase from the venom of *Agkistrodon halys halys*, loses more than an order of magnitude of its ability to support prothrombin activation.

It was established that thrombin accumulated within clots during the initiation stage is required for the amplification stage of thrombin activity and for switching the process of coagulation system activation to its inhibition. Excess thrombin released from the clot during the amplification stage of coagulation binds to FV, FVIII, and FXI, which causes a burst of amidolytic activity.

A novel method for calculating thrombin activity and concentration in the thrombin generation assay (TGA) was proposed, which allows the determination of thrombin concentration at every point of the thrombogram before and after the breakpoint of the curve.

Analysis of the relationship between the process of prothrombin activation and fibrin clot formation and the activation of the fibrinolytic system showed that the onset of fibrinolytic system activation occurs during the period of completion of the fibrillar clot structure formation. This suggests that the mechanism of interaction

of fibrin desA polymerization sites functions in such a way that, during clot formation, components of the fibrinolytic system are competitively displaced onto the surface of the formed clot fibrils, where they create Glu-Pg–fibrin–Glu-Pm activation triads that initiate the mechanism of fibrinolysis.

Using a turbidimetric method for the analysis of fibril structure, it was shown that the density of protofibrils within a fibril can vary depending on the initiator of blood plasma coagulation. This indicates that the protofibril density parameter may potentially be used for diagnostic purposes.

Thus, during the course of this dissertation research, new relationships were identified between:

- prothrombin activation and clot formation over time at the initiation stage of blood plasma coagulation induced by an APTT reagent or tissue factor;
- the three-dimensional structure of the clot and the rate of prothrombin activation at the initiation stage of the clot formation process;
- the mechanism of fibril structure formation and the mechanism of formation of the Glu-Pg–fibrin–Glu-Pm activation triads of the fibrinolytic system, which is competitive in nature.

Keywords: fibrin polymerization, fibrinogen, thrombin, plasminogen activation, plasmin, turbidimetry, electron microscopy, inflammation, soluble fibrin, haemostasis, blood coagulation, fibrinolysis, antibodies, diagnostics.

ПЕРЕЛІК ПУБЛІКАЦІЙ

1. P. Yu. Tsap, G. K. Gogolinskaia, T. M. Platonova, R. Yu. Marunych, **A. V. Udovenko**, Ye. M. Makogonenko. Influence of fibrin D and DD fragments on fibrinogen and fibrinogen fragment X polymerization initiated by thrombin or ancistrone. *Biotechnologia Acta*. 2022. Vol. 15, no. 3. P. 20–28. DOI: 10.15407/biotech15.03.023.

*Цап П.Ю., - планування експериментів, аналіз дослідів, написання статті,
Гоголінська Г.К., – виділення фібриногену і його фрагментів;*

Платонова Т.М., – планування дослідів; обговорення результатів;

Маруніч Р.Ю., – хроматографічний аналіз, обговорення результатів;

Удовенко А.В., – турбідиметричний аналіз, характеристика фрагментів;

Макогоненко Є.М. – ідея дослідження, аналіз результатів, написання статті.

2. **Udovenko A. V.** Determination of thrombin and plasmin activity in human blood plasma using the turbidimetric curve of clot formation and dissolution. *Biotechnologia Acta*. 2023. Vol. 16, no. 2. P. 50–52. DOI: 10.15407/biotech16.02.050.

Удовенко, А.В. – виконання експериментальної частини, написання статті.

3. **A. Udovenko**, Y. Makogonenko, D. Korolova, V. Chernyshenko, S. Komisarenko. Formation and elimination of soluble fibrin and D-dimer in the bloodstream. *Croatian Medical Journal*. 2023. Vol. 64, no. 6. P. 421–429. DOI: 10.3325/cmj.2023.64.421. (Q2).

Удовенко А. – підготовка статті до друку, аналіз даних;

Макогоненко Є. – основна ідея дослідження, аналіз даних, написання статті;

Корольова Д. – аналіз даних; написання статті;

Чернишенко В. – аналіз даних, написання статті, загальне керівництво;

Комісаренко С. – загальне керівництво.

4. **A. Udovenko**, Y. Makogonenko, O. Hornytska, O. Yusova, V. Chernyshenko. Determination of thrombin and plasmin activity using the turbidimetric analysis of clot formation and dissolution in human blood plasma. Ukrainian Biochemical Journal. 2024. Vol. 96, no. 2. P. 19–26. DOI: 10.15407/ubj96.02.019 (**Q4**).

Удовенко А. – виконання експериментальної частини, написання та підготовка статті до друку;

Макогоненко Є. – основна ідея дослідження, планування експериментів, аналіз даних та написання статті;

Горницька О. – експерименти з тромбіном, аналіз даних; написання статті;

Юсова О. – виділення і характеристика плазмін(оген), аналіз даних;

Чернишенко В. – обговорення результатів та загальне керівництво.

5. Ye. Makogonenko, V. Chernyshenko, V. Bardyk, **A. Udovenko**, S. Komisarenko. Paralogism in method of Thrombin Generation Assay (TGA) in human blood plasma. Ukr. Biochem. J. 2025; Volume 97, Issue 1, Jan-Feb, pp. 75-79. DOI: 10.15407/ubj97.01.075 (**Q4**).

Є. Макогоненко – основна ідея дослідження, планування експериментів, аналіз результатів та написання статті;

В. Чернишенко – аналіз даних, загальне керівництво;

В. Бардик – аналіз даних та написання статті;

А. Удовенко – турбідиметричний аналіз, аналіз результатів та написання статті;

С. Комісаренко – обговорення результатів, загальне керівництво.

ПЕРЕЛІК ТЕЗ ДОПОВІДЕЙ НА КОНФЕРЕНЦІЯХ

1. **A. Udovenko**, A. Pavlenko, K. Baidakova. Diagnostic algorithm for the assessment of hemostasis system condition. FEBS Congress 2024, P-36-032.

A. Удовенко – виконання експериментальної частини, аналіз результатів та написання статті;

A. Павленко – виконання експериментальної частини, аналіз результатів;

K. Байдакова – виконання експериментальної частини, аналіз результатів.

2. **Anastasiia V. Udovenko**, Yevgen M. Makogonenko, Volodymyr O. Chernyshenko. Role of Fibrinogen in Regulation of Thrombin Generation. Journal of Thrombosis and Haemostasis. ISFP/IFRS Corfu meeting 2025.

A. Удовенко – експериментальна робота, аналіз даних, написання статті;

Є. Макогоненко – основна ідея дослідження, планування експериментів та написання статті;

В. Чернишенко – аналіз даних, загальне керівництво.