

## АНОТАЦІЯ

**Максимців М.Л. Ефективність нових методів діагностики і прогнозування розвитку та прогресування діабетичної ретинопатії при цукровому діабеті 2 типу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина», 22 «Охорона здоров'я». – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2021.

Дисертація присвячена теоретичному узагальненню та вирішенню актуальної наукової задачі – вдосконаленню діагностики та прогнозування розвитку діабетичної ретинопатії (ДР) у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу на підставі аналізу індивідуальних механізмів регуляції тромбоцитарної ланки гемостазу.

ЦД залишається однією із актуальних медико-соціальних проблем з огляду на його поширеність і розвиток численних ускладнень, що важко піддаються лікуванню. На сьогоднішній день немає чіткої концепції щодо сутності й механізмів дисфункції мікроциркуляторного русла ока за умов ДР, і головне – невідомі фактори, що визначають швидкість і характер розвитку ретинальних геморагій. Важливим учасником розвитку геморагій сітківки ока при ЦД вважаються тромбоцити (Тц). Необхідно визнати, що дотепер керування тромбоцитарною ланкою гемостазу та запальною реакцією при ДР носить виключно емпіричний характер. У зв'язку з цим вважаємо за доцільне вивчити фенотипи Тц і активність рецепторів (кластери функціонально активних рецепторів), які беруть участь в тромбогенезі за умов ДР.

*Задачами дослідження були:*

1. Визначити фактори ризику та провідні патогенетичні чинники, що детермінують розвиток ДР, на основі офтальмологічних, клінічних та лабораторних даних.

2. Встановити особливості індивідуальної реактивності Тц та механізми зміни їх проагрегантного стану у пацієнтів з ДР без змін на очному дні (нема ДР, рівень тяжкості 10).

3. Співставити функціональний стан рецепторів протромбогенного фенотипу Тц у пацієнтів з легкою і помірною стадіями непроліферативної ДР.

4. Встановити можливі кластери функціонуючих рецепторів і фенотип Тц у пацієнтів з проліферативною ДР, що можуть забезпечити прогресування захворювання.

5. Розробити математичні моделі прогнозування стадій ДР на підставі аналізу індивідуальних механізмів регуляції тромбогенезу.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше встановлено, що при ДР у пацієнтів неоднозначно змінюється відповідь Тц на агоністи адреналін, колаген, ангіотензин 2, ФАТ і АДФ, яка обумовлена наявністю різних кластерів функціональної активності рецепторів. Даний феномен пов'язаний із індивідуальною реактивністю організму та проявляється різним впливом гуморальних патогенетичних чинників ЦД на внутрішньоклітинні сигнальні системи Тц, які асоційовані з GPVI-рецепторами до колагену,  $\alpha 2$ -адрено- і AT1-рецепторами, пуриновими (P2Y1 P2Y12) і ФАТ-рецепторами. Доведена взаємодія патогенетичних чинників ЦД 2 типу (експресії колагену і адреналіну) в модуляції функції Тц, що дозволяє конкретизувати індукцію тромбогенезу та порушення мікроциркуляції сітківки ока у хворих із ДР.

Вперше у пацієнтів із непроліферативною ДР виявлено

протромбогенний (гіперадренореактивний) фенотип тромбоцитів, який може створювати умови для прогресування захворювання при дії колагену, ангіотензину-2 і ФАТ. У пацієнтів із проліферативною ДР вперше доведено, що прогресування геморагій, розвиток запалення і неоваскуляризація відбуваються за участю протромбогенного (гіперангіотензинового) фенотипу Тц, який характеризується високою реакцією на АДФ і ФАТ.

Вперше розроблені та впроваджені в практику нейромережеві моделі прогнозування стадій ДР. Лінійна модель прогнозування стадій ДР заснована на аналізі двох факторних ознак – агрегації Тц, індукованої колагеном і АДФ.

Отримані нами результати засвідчують, що у хворих із ДР без змін на очному дні (нема ДР, рівень тяжкості 10) відсутні значущі розбіжності основних показників функціонального стану ока та даних оптичної когерентної томографії за умов субкомпенсованої та декомпенсованої стадій ЦД. У 18 (47,4%) пацієнтів без змін на очному дні (нема ДР, рівень тяжкості 10) – 1-й кластер, адреналін-індукована агрегація була менше 75%. Функціональний стан досліджених рецепторів тромбоцитів (Тц) характеризувався гіперреактивністю глікопротеїнових рецепторів VI типу (GPVI), ангіотензинових рецепторів 1-го типу (AT<sub>1</sub>) і пуринових (P2Y<sub>1</sub> P2Y<sub>12</sub>) рецепторів, значення якої не відрізнялися між собою ( $p > 0,05$ ). Тільки активність рецептору до фактору активації тромбоцитів (ФАТ) була менше, ніж така GPVI-рецепторів (на 27,8%;  $p < 0,001$ ) і відповідала діапазону нормореактивності. У 20 (52,6%) пацієнтів без змін на очному дні (нема ДР, рівень тяжкості 10) – 2-й кластер, адреналін-індукована агрегація була більше 75%; при цьому зростала реактивність всіх досліджених рецепторів, якщо порівняти з 1-м кластером активності рецепторів Тц. Однак, тільки реактивність GPVI-рецепторів і пуринових рецепторів статистично значуще перевищувала таку в 1-му кластері рецепторів, відповідно на 15,9% ( $p < 0,001$ )

і 11% ( $p=0,003$ ). Виявлено зростання концентрації інтерлейкіну (ІЛ) 1 $\beta$  в сироватці крові в 2 рази до  $38,6 \pm 5,0$  пг/мл ( $p<0,001$ ) у порівнянні з контролем. Наявність високої кореляції ( $r=0,805$ ;  $p<0,001$ ) між значеннями адреналін- і ФАТ-індукованої ( $r=0,604$ ;  $p<0,01$ ) АТц та рівнем ІЛ-1 $\beta$  підтвердила зв'язок між адренореактивністю організму і системною запальною реакцією.

Проведений аналіз легкої стадії непроліферативної ДР не виявив статистично значущої різниці показників функціонального стану і структури сітківки ока при субкомпенсованій і декомпенсованій стадіях ЦД 2 типу. Однак, у пацієнтів без макулярного набряку товщина в центральній зоні і об'єм макулярної сітківки були відповідно на 6,2% ( $p=0,008$ ) і 16% ( $p<0,001$ ) більше, ніж у хворих без змін на очному дні (нема ДР, рівень тяжкості 10). У пацієнтів мала місце гіперреактивність Тц стосовно трьох агоністів: адреналіну, ангіотензину-2 і колагену. Причому реакція Тц на адреналін перевищувала таку у пацієнтів без змін на очному дні на 42,6%, ангіотензин-2 – на 25,7% і колаген – на 18,4% ( $p<0,001$ ). У 8 (42,1%) пацієнтів з непроліферативною ДР функціональна активність рецепторів знижувалася в ряду досліджених наступним чином:  $\alpha_2$ -адренорецептор > GPVI-рецептор > АТ<sub>1</sub>-рецептор > ФАТ-рецептор – пуринові рецептори (3-й кластер рецепторів). Реакція Тц на адреналін перевищувала таку на колаген і ангіотензин-2 відповідно на 7,5% і 22,0% ( $p<0,05$ ). У 11 (57,9%) пацієнтів кластер активності рецепторів декілька змінювався:  $\alpha_2$ -адренорецептор > АТ<sub>1</sub>-рецептор > GPVI-рецептор – ФАТ-рецептор – пуринові рецептори (4-й кластер рецепторів). У всіх обстежених пацієнтів мала місце гіперадренореактивність: реакція Тц на адреналін перевищувала таку на ангіотензин-2, колаген, ФАТ і аденозиндіфосфат (АДФ), відповідно на 23,5%, 31,5%, 32,7% і 37,9% ( $p<0,001$ ). Звертає на себе увагу, що в кластерах відрізнялася ( $p<0,05$ ) тільки реакція на колаген. В 3-му кластері реактивність

Тц стосовно колагену перевищувала таку в 4-му кластері на 24,1% ( $p < 0,001$ ), тоді як реакція Тц на ангіотензин-2, ФАТ і АДФ статистично значуще не відрізнялася ( $p > 0,05$ ). Таким чином, у пацієнтів із легкою стадією непроліферативної ДР виявлено протромбогенний (гіперадренореактивний) фенотип Тц, який характеризується двома кластерами функціонального стану рецепторів, що відрізняються різним ступенем індукуючого впливу колагену на АТц. Співставлення морфо-функціонального стану ока у хворих із легкою та помірною стадіями непроліферативної ДР виявило зниження корегованої гостроти зору (на 61,2%;  $p = 0,004$ ), зростання товщини центральної зони сітківки (на 26,1%;  $p = 0,019$ ) і об'єму макулярної сітківки (на 13,5%;  $p = 0,009$ ) при прогресуванні ДР. При прогресуванні непроліферативної ДР зберігається протромбогенний (гіперадренореактивний) фенотип Тц. У пацієнтів з проліферативною ДР даний фенотип характеризується двома іншими кластерами рецепторів Тц, які відбивають різний функціональний стан АТ<sub>1</sub>-рецепторів, тобто їх нормо- і гіперреактивність. Зокрема, у 5 (41,7%) пацієнтів функціональна активність рецепторів представлена наступним чином:  $\alpha_2$ -адренорецептор = АТ<sub>1</sub>-рецептор > ФАТ-рецептор = GPVI-рецептор = пуринові рецептори (5-й кластер рецепторів). Реакція Тц на ФАТ, колаген і АДФ була менше, ніж на адреналін і ангіотензин-2 (приблизно на 20%;  $p < 0,05$ ). У 7 (58,3%) пацієнтів кластер активності рецепторів декілька змінювався:  $\alpha_2$ -адренорецептор > ФАТ-рецептор > GPVI-рецептор > АТ<sub>1</sub>-рецептор > пуринові рецептори (6-й кластер функціонального стану рецепторів). Реакція Тц на адреналін перевищувала таку на ФАТ, колаген, ангіотензин-2 і АДФ, відповідно на 9,4%, 16,7%, 29,6% і 34,6% ( $p < 0,05$ ). Основною відмінністю 5-го і 6-го кластерів є активність АТ<sub>1</sub>-рецепторів і ФАТ-рецепторів. В 5-му кластері реактивність Тц стосовно ангіотензину-2 перевищувала таку в 6-му кластері на 29,6% ( $p < 0,001$ ), тоді як в 6-му кластері

реакція Тц на ФАТ була більше, ніж в 5-му кластері на 14,3% ( $p < 0,001$ ).

У хворих з проліферативною ДР не виявлена залежність морфофункціонального стану ока від тривалості ЦД 2 типу і стадії компенсації захворювання. Встановлено статистично значуще зниження максимально корегованої гостроти зору, зростання товщини в центральній області і об'єму макулярної сітківки ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з відповідними показниками хворих із непроліферативною ДР. Аналіз функціонального стану Тц у хворих з проліферативною ДР свідчить, про наявність гіперреактивності Тц стосовно всіх п'яти вивчених агоністів: колагену, адреналіну, ангіотензин-2, АДФ і ФАТ. Найбільш специфічним і чутливим діагностичним тестом реактивності Тц у хворих із проліферативною ДР була АДФ-індукована агрегація. У 12 (38,7%) пацієнтів з проліферативною ДР (7-й кластер рецепторів) АДФ-індукована агрегація була менше 65% і у 19 (61,3%) пацієнтів (8-й кластер) – більше 65%. В 7-му кластері найбільш виражену активність проявляли АТ<sub>1</sub>-рецептори ( $72,0 \pm 1,6\%$ ). Даний кластер функціонального стану досліджених рецепторів може бути представлений наступним чином: АТ<sub>1</sub>-рецептор > ФАТ-рецептор > пуринові рецептори > GPVI-рецептор =  $\alpha_2$ -адренорецептор.

У 8-му кластері значення функціональної активності рецепторів до ангіотензину-2 статистично значуще не відрізнялися ( $77,0 \pm 1,4\%$ ;  $p > 0,05$ ) від такої в 7-му кластері. Відтак, у пацієнтів із проліферативною ДР тромбоцити демонструють максимальну активність АТ<sub>1</sub>-рецепторів, значення якої перевершувало активність інших досліджених рецепторів.

Цей кластер функціонального стану рецепторів у хворих з проліферативною ДР може бути представлений наступним чином: АТ<sub>1</sub>-рецептор > пуринові рецептори > ФАТ-рецептор > GPVI-рецептор >  $\alpha_2$ -адренорецептор. Основною відмінністю 7-го і 8-го кластерів є активність пуринових-рецепторів і ФАТ-рецепторів. В 7-му кластері реактивність Тц

стосовно ФАТ перевищувала таку в 8-му кластері на 6,3% ( $p < 0,001$ ), тоді як в 8-му кластері реакція Тц на АДФ була більше ніж в 7-му кластері на 11,1% ( $p < 0,001$ ). Таким чином, у пацієнтів із проліферативною ДР прогресування геморагій і запальної реакції, та неоваскуляризація відбуваються за участю протромбогенного (гіперангіотензинового) фенотипу Тц, який характеризується високою реактивністю на АДФ і ФАТ.

Виявлена індивідуальна реактивність тромбоцитів стосовно впливу патогенетичних факторів ЦД (експозиції колагену, активації симпатoadреналової і ренін-ангіотензинової систем, аутокринної стимуляції тромбоцитів і розвитку запалення) обґрунтовує необхідність розробки моделей прогнозування стадій ДР. Для визначення провідних детермінант розвитку стадій ДР проведено статистичний аналіз з використанням методів побудови багатофакторних нейромережових та логістичних регресійних моделей. Прогнозування стадії ДР в двофакторній лінійній нейромережовій моделі ґрунтувалося на АТц індукованій АДФ і колагеном *in vitro*, тобто аналізі проагрегантного статусу Тц. З 99 випадків прогнозування помилки допущені стосовно 18 пацієнтів, точність прогнозу склала 81,8% (95% ВІ 73,5%-88,8%). Один хворий був виключений із дослідження, оскільки за технічними умовами не було проведене дослідження АТц в повному обсязі. ДР без змін на очному дні прогнозувалася, якщо агрегація індукована колагеном перевищувала 81% і АДФ – 43%, непроліферативна – коли колаген відтворював агрегацію менше 80% та АДФ менше 45%, і проліферативна, якщо ефекти колагену і АДФ перевищували 61%. Отже, аналіз механізмів регуляції тромбоцитарної ланки гемостазу залежно від реактивності організму дозволяє вдосконалити діагностику і прогнозування стадій ДР у хворих із ЦД 2 типу.

Публікації. Основні результати дисертації викладені в 12 публікаціях. З

них 5 робіт – статті в журналах відповідно до «Переліку фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук», з них 1 стаття опублікована у виданні, що входить до наукової бази Scopus; 1 – у періодичному науковому виданні держави, яка входить до Європейського Союзу, з наряду якого підготовлено дисертацію; 5 – тези у матеріалах науково-практичних конференцій.

*Ключові слова:* діабетична ретинопатія, цукровий діабет 2 типу, тромбоцити, функціональна активність рецепторів, прогноз.

## ANNOTATION

***Maksymtsiv M.L. The effectiveness of new methods for diagnosing and predicting the development and progression of diabetic retinopathy in type 2 diabetes. – Qualification scientific work as a manuscript.***

The dissertation on competition of degree of the doctor of philosophy on a specialty 222 «Medicine», 22 «Health Care». – Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2021.

The dissertation is devoted to theoretical generalization and solution of the actual scientific problem – improvement of diagnostics and prognostication of the development of diabetic retinopathy (DR) in patients with diabetes mellitus (DM) type 2 on the basis of the analysis of individual mechanisms of regulation of the platelet linkage hemostasis.

DM remains one of the urgent medical and social problems because of its prevalence and the development of numerous complications that are difficult to treat. Up to date, there is no clear concept about the nature and mechanisms of dysfunction of the eye microcirculation under the conditions of DR, and most



importantly – unknown factors determining the rate and nature of the development of retinal hemorrhages. An important component in the development of hemorrhages of the retina of the eye in case of diabetes are thrombocytes (Tc). It must be admitted that the control of thrombocyte stage of hemostasis and inflammatory response in case of DR is still strictly empirical. In this regard, we consider it expedient to study the phenotypes of Tc and the activity of receptors (clusters of functionally active receptors) that participate in thrombogenesis in conditions of DR.

Research objectives were:

1. To identify risk factors and leading pathogenetic factors that determine the development of diabetic retinopathy, based on clinical and instrumental examination and laboratory data.
2. To establish peculiarities of individual Tc reactivity and mechanisms of their proagregant state changes in patients with diabetic retinopathy without changes in the ocular fundus.
3. To compare the functional status of the receptors of prothrombogenic phenotype Tc in patients with mild and moderate stages of nonproliferative diabetic retinopathy.
4. To establish possible clusters of functional receptors and phenotype of thrombocytes in patients with proliferative diabetic retinopathy, which can provide progression of the disease.
5. To develop mathematical models for predicting stages of diabetic retinopathy and the risk of macular edema based on the analysis of individual mechanisms of regulation of thrombogenesis.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, it was found that in DR patients the response of TC to agonists adrenaline, collagen, angiotensin 2, FAT and ADP changes ambiguously, which is due to the presence of different

clusters of functional activity of receptors. This phenomenon is associated with individual reactivity of the organism and is manifested by various influences of humoral pathogenetic factors of diabetes on intracellular Tc signaling systems, which are associated with GPVI-receptors for collagen,  $\alpha$ 2-adreno- and AT1-receptors, purine (P2Y<sub>1</sub> P2Y<sub>12</sub>) and FAT . The interaction of pathogenetic factors of type 2 diabetes mellitus (expression of collagen and adrenaline) in the modulation of TC function has been proved, which allows to specify the induction of thrombogenesis and retinal microcirculation disorders in patients with DR.

For the first time in patients with nonproliferative DR, a prothrombogenic (hyperadrenoreactive) platelet phenotype was detected, which can create conditions for disease progression under the action of collagen, angiotensin-2 and FAT. In patients with proliferative DR, hemorrhage progression, inflammation, and neovascularization have been shown for the first time to involve the prothrombogenic (hyperangiotensin) Tc phenotype, which is characterized by a high response to ADP and FAT.

For the first time, neural network models for predicting DR stages have been developed and implemented in practice. The linear model for predicting the stages of DR is based on the analysis of two factor features - aggregation of TC, induced by collagen and ADP.

Received results confirm that there are no significant differences in the main indicators of the functional state of the eye and the data of the optical coherence tomography in conditions of subcompensated and decompensated stages of diabetes in patients with DR without changes in the fundus. In 18 (47.4%) patients without changes in the fundus (cluster 1), adrenalin-induced aggregation was less than 75%. The functional status of the studied thrombocytes receptors was characterized by hyperreactivity of type II glycoprotein receptors (GPVI), angiotensin receptors type 1 (AT<sub>1</sub>) and purine (P2Y<sub>1</sub> P2Y<sub>12</sub>) receptors whose

values did not differ ( $p > 0,05$ ). Only the activity of the receptor to the platelet activation factor (PAF) was less than that of the GPVI- receptors (27.8%;  $p < 0.001$ ) and corresponded to the range of normal reactivity. In the 20 (52.6%) patients without change in the fundus (cluster 2), adrenalin-induced aggregation was more than 75%. At the same time, reactivity of all investigated receptors increased, if compared with the 1st cluster of activity of receptors Tc. However, only the reactivity of GPVI-receptors and purine receptors statistically significantly exceeded this in the 1st cluster of receptors, respectively, by 15.9% ( $p < 0.001$ ) and 11% ( $p = 0.003$ ). The two-fold increase in the concentration of interleukin (IL)  $1\beta$  to  $38.6 \pm 5.0$  pg / ml ( $p < 0.001$ ) in serum has been found if compared with control. The presence of high correlation ( $r = 0,805$ ;  $p < 0,001$ ) between the values of adrenaline-induced aggregation Tc and the level of IL- $1\beta$  confirms the relationship between adrenoactivity of the organism and systemic inflammatory response.

The analysis of the mild stage of the nonproliferative DR did not reveal a statistically significant difference between the parameters of the functional state and the structure of the retina in the subcompensated and decompensated stages of type 2 diabetes. However, in patients without macular edema, the thickness in the central area and the volume of the macular retinitis were 6.2% ( $p = 0.008$ ) and 16% ( $p < 0.001$ ), respectively more, than in patients without changes in the fundus. Patients had hyperresponsiveness to Tc with respect to three agonists: adrenaline, angiotensin-2, and collagen. Moreover, the reaction of Tc on adrenaline exceeded that in patients without changes in the fundus by 42.6%, angiotensin-2 - by 25.7%, and collagen - by 18.4% ( $p < 0.001$ ). In 8 (42.1%) patients with nonproliferative DR, the functional activity of the receptors decreased in the following series:  $\alpha 2$ -adrenergic receptor > GPVI-receptor >  $AT_1$ receptor > PAF-receptor – purine receptors (3rd cluster of receptors). The response of Tc to adrenaline exceeded that for collagen and angiotensin-2, respectively, by 7.5% and 22.0% ( $p < 0.05$ ). In 11

(57.9%) patients, the receptor activity cluster changed a little:  $\alpha_2$ -adrenoreceptor > AT<sub>1</sub> receptor > GPVI-receptor – PAF-receptor and purine receptors (4th cluster of receptors). Hyperadrenoreceptor activity was observed in all the patients examined: the response of Tc to adrenaline exceeded that for angiotensin-2, collagen, PAF and adenosine diphosphate (ADP), respectively by 23.5%, 31.5%, 32.7% and 37.9% ( $p < 0.001$ ). It is noteworthy that the clusters differed ( $p < 0,05$ ) only the reaction to collagen. In the 3rd cluster, the reactivity of Tc with respect to collagen exceeded that in the 4th cluster by 24.1% ( $p < 0.001$ ), while the Tc response to angiotensin-2, PAF and ADP did not differ statistically significantly ( $p > 0.05$ ). Thus, in patients with a mild stage of nonproliferative DR, a prothrombogenic (hyperadrenoreactive) phenotype Tc was found which is characterized by two clusters of the functional state of the receptors that differ in varying degrees of inducing collagen effect on aggregation. Comparison of the morpho-functional state of the eye in patients with mild to moderate stages of nonproliferative DR showed a decrease in corrected visual acuity (61.2%;  $p = 0.004$ ); increase in the thickness of the central retinal zone (by 26.1%;  $p = 0.019$ ) and the volume of the macular retinitis (13.5%;  $p = 0.009$ ) with the progression of DR. With the progression of nonproliferative DR, the prothrombogenic (hyperadrenoreactive) phenotype Tc is marked. In patients with proliferative DR, this phenotype is characterized by two other cluster of Tc receptors that reflect the different functional status of the AT<sub>1</sub>-receptors, that is, their normal and hyperreactivity. In particular, in 5 (41.7%) patients, the functional activity of the receptors is as follows:  $\alpha_2$ -adrenoreceptor = AT<sub>1</sub> receptor > PAF- receptor = GPVI receptor = purine receptors (5th receptor cluster). The reaction of Tc on PAF, collagen and ADP was less than that of adrenaline and angiotensin-2 (approximately 20%,  $p < 0.05$ ). In 7 (58.3%) patients, the receptor activity cluster changed a little:  $\alpha_2$ -adrenergic receptor > PAF- receptor > GPVI-receptor > AT<sub>1</sub>

receptor purine receptors (6th cluster of functional state of receptors). The reaction of Tc on adrenaline exceeded the following for PAF, collagen, angiotensin-2 and ADP, respectively, by 9.4%, 16.7%, 29.6% and 34.6% ( $p < 0.05$ ). The main difference between the 5th and 6th clusters is the activity of the AT<sub>1</sub> receptors and PAF receptors. In the 5th cluster, the reactivity of Tc with respect to angiotensin-2 exceeded that in the 6th cluster by 29.6% ( $p < 0.001$ ), whereas in the 6th cluster, the Tc response to PAF was greater than in the 5th cluster on 14.3% ( $p < 0.001$ ).

In patients with proliferative DR, the dependence of the morpho-functional state of the eye on the duration of type 2 diabetes and the stage of disease compensation was not revealed. The statistically significant decrease in the maximum corrected visual acuity, the growth of thickness in the central region and the volume of the macular retina ( $p < 0.05$ ) was established in comparison with the corresponding indices of patients with nonproliferative DR. The analysis of the functional state of Tc in patients with proliferative DR testifies to the presence of hyperresponsiveness Tc in relation to all five studied agonists: collagen, adrenaline, angiotensin-2, ADP and PAF. The most specific and sensitive diagnostic test for Tc reactivity in patients with proliferative DR was ADP-induced aggregation. In 12 (38.7%) patients with proliferative DR (7th cluster receptor), ADP-induced aggregation was less than 65% and in 19 (61.3%) patients (cluster 8) - more than 65%. In the 7th cluster, the most pronounced activity was shown by the AT<sub>1</sub> receptors ( $72.0 \pm 1.6\%$ ). This cluster of the functional status of the investigated receptors can be represented as follows: AT<sub>1</sub> receptor > PAF-receptor > purine receptors > GPVI-receptor =  $\alpha_2$ -adrenoreceptor. In the 8th cluster, the values of functional activity of angiotensin-2 receptors were not statistically significantly different ( $77.0 \pm 1.4\%$ ,  $p > 0.05$ ) from those in the 7th cluster. Thus, in patients with proliferative DR, thrombocytes exhibit maximum activity of AT<sub>1</sub> receptors, the value of which exceeded the activity of other investigated receptors. This

cluster of functional state of receptors in patients with proliferative DR can be represented as follows: AT<sub>1</sub> receptor > purine receptors > PAF receptor > GPVI-receptor >  $\alpha_2$ -adrenoreceptor. The main difference between the 7th and 8th clusters is the activity of purine receptors and PAF receptors. In the 7th cluster, the reactivity of Tc with respect to PAF exceeded that in the 8th cluster by 6.3% (p<0.001), while in the 8th cluster, the reaction of Tc on ADP was greater than in the 7th cluster by 11.1 % (p <0.001). Thus, in patients with proliferative DR progression of hemorrhage and inflammatory reaction, and neovascularization occur with the participation of the prothrombogenic (hyperangiotensin) phenotype Tc, which is characterized by high reactivity to ADP and PAF.

The individual thrombocytes reactivity with regard to the influence of pathogenetic factors of the central nervous system (collagen exposure, activation of sympatho-adrenal and renin-angiotensin systems, thrombocytes autocrine stimulation and inflammation) has been shown to justify the development of models for predicting the stages of DM and the risk of macular edema. To determine the leading determinants of the development of DR stages, a statistical analysis was carried out using methods for constructing multi-factor neural network and logistic regression models. The prediction of the DR stage in a two-factor linear neural network model was based on the ATP-induced ADP and collagen in vitro, i.e., the analysis of the progredient status of Tc. Of the 99 cases of mistakes predicted for 18 patients, the prediction accuracy was 81.8% (95% CI 73.5% -88.8%). One patient was excluded from the study, because the technical conditions did not carry out the study of aggregation in full. DR without changes in the fundus was predicted if collagen-induced collagen exceeded 81% and ADP-43%, non-proliferative - when collagen reproduced less than 80% aggregation and less than 45% ADF, and proliferative if collagen and ADP effects exceeded 61%.

Consequently, the analysis of mechanisms of regulation of the thrombocytes

linkage of hemostasis depending on the reactivity of the organism allows to improve the diagnosis and prediction of the stages of DR.

**Publications** The main results of the dissertation are presented in 12 publications.

Of these, 5 works are articles in magazines in accordance with the «List of professional editions of Ukraine», which may publish the results of dissertations for the degree of Doctor of Science, Candidate of Science and Doctor of Philosophy, 1 article is published in scientific edition, which is a part of the scientific base Scopus; 1 in the periodical scientific edition of the state, which is a member of the European Union in the direction of which the dissertation is prepared, 5 – abstracts in materials of scientific and practical conferences.

**Key words:** *diabetic retinopathy, type 2 diabetes mellitus, thrombocytes, functional activity of receptors, prognosis.*

### **Список публікацій здобувача за темою дисертації**

*Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:*

1. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Дослідження тромбоцитів in vitro: пошук лабораторних показників прогресування непроліферативної діабетичної ретинопатії. Архів офтальмології України. 2017; 5(1): 21–27. [https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24\\_af49a35458a0468391e5fa6e738a684e.pdf](https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24_af49a35458a0468391e5fa6e738a684e.pdf) (Особистий внесок – дисертантом проведено збір клінічного та біологічного матеріалу, лабораторні та імуноферментні дослідження, статистична обробка результатів, аналіз отриманих даних і підготовлено матеріал до друку).

2. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Функціональний стан тромбоцитів і порушення мікроциркуляції сітківки у пацієнтів, хворих на цукровий діабет

2-го типу. Архів офтальмології України. 2017; 5(2): 27–33. [https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24\\_49824892ca9d4362a1a1cb3b47f793a0.pdf](https://docs.wixstatic.com/ugd/680f24_49824892ca9d4362a1a1cb3b47f793a0.pdf)  
*(Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні та біохімічні дослідження, статистична обробка результатів, проаналізовано отримані дані та підготовлено статтю до друку).*

3. Гудзь АС, Могілевський СЮ, **Максимців МЛ**. Функціональний стан тромбоцитів у хворих на цукровий діабет II типу при відсутності діабетичних змін на очному дні. Офтальмологічний журнал. 2017; 1: 10–14. <http://www.ozhurnal.com/ru/archive/2017/1/4-abstract>  
*(Особистий внесок – здобувачем проведено збір клінічного та біологічного матеріалу, лабораторні та імуноферментні дослідження, статистична обробка результатів, аналіз отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

4. Гудзь АС, **Максимців МЛ**, Зябліцев СВ, Могілевський СЮ, Гур'янов ВГ. Експертна система прогнозування стадії діабетичної ретинопатії на основі аналізу дисфункції тромбоцитів. Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. 2018; 2(62): 46–52. <http://www.mif-ua.com/archive/article/46080>  
*(Особистий внесок – дисертантом проведені клініко-лабораторні та імуноферментні дослідження, статистичний аналіз, підготовлена стаття до друку).*

5. Гудзь АС, **Максимців МЛ**, Зябліцев СВ, Могілевський СЮ. Протромбогенний фенотип тромбоцитів у пацієнтів із непроліферативною діабетичною ретинопатією. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018; 14(2): 143–147. <http://jcees.endocenter.kiev.ua/article/view/135509>  
*(Особистий внесок – здобувачем проведено збір клінічного та біологічного матеріалу, лабораторні дослідження, статистичну обробку результатів,*



*аналіз отриманих даних та підготовлено статтю до друку).*

6. **Maksymtsiv ML.** Characteristics of the condition of central retina in patients with type 2 diabetes mellitus and proliferative diabetic retinopathy. East European Science Journal. 2019; 12(52): 26-31. <https://eesa-journal.com/2020/01/09/characteristics-of-the-condition-of-central-retina-in-patients-with-type-2-diabetes-mellitus-and-proliferative-diabetic-retinopathy-26-31/>

*(Особистий внесок – дисертантом проведено лабораторні та імуноферментні дослідження, статистична обробка результатів, аналіз отриманих даних і підготовлено матеріал до друку).*

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:*

7. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Реактивність тромбоцитів у хворих із непроліферативною діабетичною ретинопатією. Матеріали науково-практичної конференції офтальмологів Полтавської, Кіровоградської, Сумської, Черкаської, Чернігівської, Харківської областей України. Актуальні питання офтальмології; 2016 Жовтня 5–6; Одеса, Полтава; 2016, с.77–79. *(Особистий внесок – дисертантом проведено огляд літератури, клінічні та біохімічні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку).*

8. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Реактивність тромбоцитів як фактор ризику розвитку діабетичної ретинопатії. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. Філатовські читання – 2017; 2017 Травня 25–26; Одеса; 2017, с.139–140. *(Особистий внесок – здобувачем виконано експериментальну частину, проведено статистичну обробку результатів, проведено аналіз отриманих даних та підготовлено тези до друку).*

9. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Можливі підходи до прогнозування ризику макулярного набряку при діабетичній ретинопатії у хворих на

цукровий діабет 2 типу. Матеріали науково-практичної конференції офтальмологів Чернівецької, Івано-Франківської, Тернопільської, Хмельницької областей України. Актуальні питання офтальмології; 2017 Вересня 20-21; Чернівці, Одеса; 2017, с. 85–87. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клінічні, лабораторні та імуноферментні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку та стендову доповідь).*

10. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Фактори порушення агрегації тромбоцитів і розвитку діабетичної ретинопатії у пацієнтів при цукровому діабеті 2-го типу. Матеріали XIV з'їзду офтальмологів України; 2018 Травня 23–25; Одеса; 2018, с. 168-170.

11. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Агрегація тромбоцитів in vitro як показник прогресування непроліферативної діабетичної ретинопатії. Матеріали науково-практичної конференції офтальмологів України. Шевальовські читання'19; 2019 Червня 20-21; Запоріжжя; 2019, с. 14–16. *(Особистий внесок – дисертантом проведено клініко-лабораторні та біохімічні дослідження, статистичний аналіз та підготовлено матеріали до друку).*

*Наукові праці, які додатково відображають результати дисертації:*

12. Гудзь АС, **Максимців МЛ.** Дослідження агрегації тромбоцитів in vitro: пошук інформативних критеріїв порушення мікроциркуляції ока. Збірник наукових праць Національного військово-медичного клінічного центру «ГВКГ» МО України. Сучасні аспекти військової медицини. Київ; 2016 (23): 35-37. *(Особистий внесок – дисертантом проведено огляд літератури, клініко-лабораторні дослідження, статистична обробка та аналіз результатів, підготовлено матеріали до друку).*