

I. Sviezhentseva, PhD stud., D. Bilko, PhD, N. Bilko, DSc.  
National University of "Kyiv-Mohyla Academy", Kyiv, Ukraine,  
I. Dyagil, DSc  
ND "Scientific Center for Radiation Medicine, Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

### FEATURES OF THE ERYTHROPOESIS UPON TREATMENT OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA WITH TYROSINE KINASE INHIBITOR

*A functional activity of erythroid hematopoietic cells of patients with chronic myeloid leukemia, who were treated with tyrosine kinase inhibitor of the first and second generation was investigated. Samples of bone marrow of patients with resistance to tyrosine kinase inhibitor treatment show an increase of erythroid colonies number provided that there is erythropoietin in the culture medium. Furthermore, it was found that clone cells in culture in vitro acquire the ability to differentiate towards erythroid direction in the absence of a culture medium culturing exogenous erythropoietin when they have a resistance to imatinib and nilotinib. Thus, the determination of proliferative activity of erythroid hematopoiesis level in cultured cells in vitro may serve as an important prognostic factor for the further choice of treatment strategy.*

*Key words: chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors, erythropoiesis, cell culture in vitro.*

УДК 577.121.7

К. Дворченко, д-р біол. наук  
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

### ЗМІНИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО БАЛАНСУ ПЕЧІНКИ ТА ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ ПРИ ГІПОАЦИДНОМУ СТАНІ ШЛУНКА ТА ПОШУК ПІДХОДІВ ДО ЙОГО ВІДНОВЛЕННЯ

*Встановлено, що у печінці та підшлунковій залозі щурів при тривалій шлунковій гіпохлоргідрії порушується енергетичний баланс, про що свідчить зниження вмісту АТФ на фоні збільшення рівня АДФ та АМФ. Мультипробіотик "Симбітер®" сприяє відновленню рівноваги аденілових нуклеотидів у досліджуваних органах щурів з гіпоацидним станом шлунка.*

*Ключові слова: тривала шлункова гіпохлоргідрія, підшлункова залоза, аденілові нуклеотиди, мультипробіотик.*

**Вступ.** Значне місце серед патологій травної системи займають гіпоацидні стани, які виникають внаслідок порушення секреції гідрохлоридної кислоти парієтальними клітинами шлунка. Шлункова гіпохлоргідрія має поліетіологічну природу та є наслідком ряду захворювань (атрофічний гастрит, інфекція *H. pylori*, аутоімунні порушення), розвивається при старінні та є результатом прийому фармакологічних препаратів, які гальмують продукування гідрохлоридної кислоти в шлунку (антагоністи H<sub>2</sub>-рецепторів та інгібітори протонної помпи) [1, 2].

Шлункова гіпохлоргідрія призводить до цілої низки негативних наслідків у шлунково-кишковому тракті (ШКТ): зниження активації пепсину та інших протеолітичних ферментів, погіршення процесів розщеплення білків та утворення токсичних проміжних продуктів їх розпаду, порушення моторики шлунка та кишечника, зниження всмоктування мікроелементів (Cu, Zn, Se, ін.), вітаміну В<sub>12</sub>, гіпергастринемії, розмноження патогенної мікрофлори та розвитку дисбіозів [3, 4, 5]. Таким чином, зниження рівня або ж повна відсутність гідрохлоридної кислоти у шлунковому соку є небезпечним станом для здоров'я людини. Зокрема, існує зв'язок між гіпоацидними станами шлунка та можливим розвитком патологічних змін у печінці та підшлунковій залозі [6, 7, 8]. Розвиток патологічних процесів супроводжується зміною енергетичного статусу клітин, від якого залежить баланс та сполучення перебігу біологічних процесів в організмі. Ядром енергетичного обміну клітин є метаболізм аденілових нуклеотидів [9]. Таким чином, баланс АТФ, АДФ та АМФ є інформативним показником при оцінці важкості перебігу патологічного процесу. Для корекції патологічних змін у печінці та підшлунковій залозі щурів з гіпоацидним станом шлунка ми використовували мультипробіотичний препарат ("Симбітер® ацидофільний" концентрований ("Симбітер®")), який здатний зменшувати розлади в травній та інших системах організму [10].

Тому метою роботи було визначити вміст аденілових нуклеотидів у печінці та підшлунковій залозі щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та при введенні мультипробіотика "Симбітер®".

**Об'єкт та методи досліджень.** Дослідження проведені на білих нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 160-200 г з дотриманням загальних етичних

принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. За добу до проведення експерименту тварин піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води. Усіх тварин розділяли на чотири експериментальні групи. Першій групі тварин (контроль) вводили інтраперитонеально 0,2 мл та перорально 0,5 мл води для ін'єкцій один раз на добу упродовж 28 днів. Другій групі тварин (контроль на введення пробіотику) вводили перорально 0,14 мл/кг мультипробіотик "Симбітер®", розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій, один раз на добу 28 днів. Третій групі тварин (модель тривалої шлункової гіпохлоргідрії) вводили інтраперитонеально 14 мг/кг омепразол один раз на добу упродовж 28 днів. Четвертій групі тварин сумісно вводили інтраперитонеально 14 мг/кг омепразол, розчинений у 0,2 мл води для ін'єкцій, та перорально 0,14 мл/кг мультипробіотик "Симбітер®", розчинений у 0,5 мл води для ін'єкцій, один раз на добу 28 днів.

Розділення та кількісне визначення аденілових нуклеотидів у тканині печінки та підшлункової залози проводили методом тонкошарової хроматографії на силуфолових пластинках UV-254 за методом [11]. Пряму денситометрію пластин у відбитому світлі здійснювали на швидкісному сканері денситометра CS-920 "Shimadzu" (Японія) у напрямку руху розчинника при довжині хвилі 260 нм. Вміст досліджуваних сполук у хроматографічних плямах визначали за допомогою калібрувальних кривих залежності площі плями від кількості нанесених хроматографічно чистих препаратів АМФ, АДФ та АТФ. Статистичну обробку результатів дослідження проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Ст'юдента [12].

**Результати та їх обговорення.** Встановлено, що в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії у печінці щурів вміст АТФ знижується в 1,6 раза ( $p < 0,01$ ), при цьому підвищується вміст АДФ та АМФ відповідно в 1,4 раза ( $p < 0,01$ ) та в 1,3 раза ( $p < 0,01$ ) відносно контролю (табл. 1). За даних умов експерименту у печінці сумарний вміст аденіліннуклеотидів та енергетичний заряд клітин печінки знижується в 1,2 раза порівняно з контрольною групою (табл. 1). В умовах введення му-

льтипробіотика "Симбітер<sup>®</sup>" щурам з тривалим зниженням шлункової секреції гідрохлоридної кислоти баланс аденілових нуклеотидів у печінці частково відновлюється: вміст АТФ підвищується в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), при цьому спостерігається тенденція до зниження вмісту

АДФ та АМФ в 1,2 раза ( $p < 0,1$ ) відносно групи щурів з гіпоацидним станом шлунка (табл. 1). Поряд з цим у гепатоцитах сумарний вміст аденінінуклеотидів та енергетичний заряд клітин частково відновлюється (табл. 1).

**Таблиця 1.** Вміст аденілових нуклеотидів у печінці щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії, мкмоль  $\times$  г тканини<sup>-1</sup> ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Показник	Групи тварин	Контроль	Мультипробіотик	Омепразол	Омепразол + мультипробіотик
АТФ		2,61 $\pm$ 0,25	2,78 $\pm$ 0,27	1,59 $\pm$ 0,15**	2,18 $\pm$ 0,21#
АДФ		0,93 $\pm$ 0,08	0,87 $\pm$ 0,08	1,28 $\pm$ 0,09**	1,08 $\pm$ 0,07 <sup>s</sup>
АМФ		0,38 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,04**	0,42 $\pm$ 0,03 <sup>s</sup>
АТФ + АДФ + АМФ		3,92 $\pm$ 0,35	4,01 $\pm$ 0,36	3,38 $\pm$ 0,31	3,68 $\pm$ 0,33
Енергетичний заряд аденілатної системи		0,78 $\pm$ 0,07	0,80 $\pm$ 0,08	0,66 $\pm$ 0,06	0,74 $\pm$ 0,07

\*\* –  $p < 0,01$  відносно контролю; \$ –  $p < 0,1$ ; # –  $p < 0,05$  відносно групи тварин, яким вводили омепразол

В умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії у підшлунковій залозі щурів спостерігається порушення рівноваги аденілових нуклеотидів: вміст АТФ знижується в 2,1 раза ( $p < 0,01$ ), при цьому підвищується вміст АДФ та АМФ відповідно в 1,7 раза ( $p < 0,01$ ) та в 1,5 раза ( $p < 0,01$ ) відносно контрольної групи (табл. 2). За даних експериментальних умов у підшлунковій залозі знижується сумарний вміст аденінінуклеотидів та енергетичний заряд клітин, відповідно в 1,2 раза та в 1,3 раза порівняно з контролем (табл. 2).

У групі щурів з гіпоацидним станом, яким вводили мультипробіотик "Симбітер<sup>®</sup>", у підшлунковій залозі вміст досліджуваних компонентів аденілової системи повертається до фізіологічних значень: АТФ підвищується в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), при цьому вміст АДФ та АМФ знижується відповідно в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ) та в 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) відносно групи щурів з тривалою шлунковою гіпохлоргідрією (табл. 2). У тканині підшлункової залози виявлено незначне відновлення сумарного вмісту аденілових нуклеотидів та енергетичного заряду (табл. 2).

**Таблиця 2.** Вміст аденілових нуклеотидів у підшлунковій залозі щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії, мкмоль  $\times$  г тканини<sup>-1</sup> ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )

Показник	Групи тварин	Контроль	Мультипробіотик	Омепразол	Омепразол + мультипробіотик
АТФ		1,28 $\pm$ 0,12	1,35 $\pm$ 0,13	0,61 $\pm$ 0,06**	0,91 $\pm$ 0,09#
АДФ		0,46 $\pm$ 0,04	0,43 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,07**	0,59 $\pm$ 0,05 <sup>##</sup>
АМФ		0,19 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,02**	0,23 $\pm$ 0,01 <sup>#</sup>
АТФ + АДФ + АМФ		1,93 $\pm$ 0,18	1,96 $\pm$ 0,18	1,67 $\pm$ 0,15	1,73 $\pm$ 0,16
Енергетичний заряд аденілатної системи		0,78 $\pm$ 0,07	0,81 $\pm$ 0,07	0,61 $\pm$ 0,06	0,70 $\pm$ 0,06

+ –  $p < 0,1$ ; \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  відносно контролю; # –  $p < 0,05$  відносно групи тварин, яким вводили омепразол

Аналіз отриманих результатів свідчить, що в умовах нестачі гідрохлоридної кислоти у шлунковому соку у печінці та підшлунковій залозі змінюється баланс аденілового нуклеотидного фонду, що вказує про порушення енергетичного статусу клітин. Оскільки рівень АТФ, АДФ та АМФ відображає рівновагу між реакціями, які призводять до їх утворення та використання, то відповідно для оцінки отриманих результатів необхідно врахувати ряд факторів, що визначають кількість цих нуклеотидів у досліджуваних тканинах.

Рівновага в аденілової системі та її пул залежать від двох типів реакцій в клітині: 1) реакції за участю фосфату; 2) реакції за участю аденіну. Перші умовно можна розділити на фосфоролітичні та пірофосфоролітичні. Якщо фосфоролітичні забезпечують в основному активний перенос різних речовин і деякі інші види роботи, то пірофосфоролітичні, головним чином, беруть участь в реакціях синтезу. Ці два типи реакцій (особливо фосфоролітичні) добре регулюються системними показниками аденілових нуклеотидів, які характеризують ступінь фосфорилування (енергетичний заряд Еткінсона, фосфатний потенціал). Реакції синтезу за участю аденілового кільця є типовими реакціями пірофосфоролізу – синтез РНК, піридинових і флавінаденінових нуклеотидів, коензиму А, синтез сполук типу полі-А. Пул нуклеотидів буде залежати від відношення швидкості реакцій притоку аденілових нуклеотидів та швидкості відтоку (синтез сполук за участю аденілового кільця, розпад

його до сечовини або перетворення в інозинові та гуанінові похідні) [13, 14].

Встановлене нами зниження вмісту АТФ у печінці та підшлунковій залозі щурів з омепразол-індукованою гіпоацидністю може відбуватись за рахунок його посиленого катаболізму та виходу з клітини. Можливий наступний механізм зменшення пула вільних нуклеотидів в клітинах: дефосфорилування АТФ та накопичення АДФ і АМФ, подальше дезамінування АМФ та утворення гіпоксантину, який в свою чергу проникає у позаклітинне середовище. Встановлене нами у попередніх дослідженнях [15, 16] накопичення окислених продуктів структурної організації мембран печінки та підшлункової залози взаємопов'язане з іншими мембраноушкоджуючими механізмами, зокрема, з дефіцитом енергії в клітині. Відомо, що зростання вмісту АМФ є фактором, який призводить до стимуляції процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в клітині. Взаємозв'язок процесів ліпідної пероксидації з порушенням в органах метаболізму багатих енергією сполук реалізується як через виникаючий енергодефіцит, так і через наростаючий ацидоз. Посилення процесів ПОЛ при енергодефіциті пов'язано з низкою факторів: порушенням роботи АТФ і втратою іонного гомеостазу (перевантаження клітини кальцієм), зміною структурної організації мембран через їх дефосфорилування, порушенням синтезу і ресинтезу мембранних фосfolіпідів [17, 18]. Оскільки АТФ є універсальним джерелом енергії, виявлене зниження

рівня АТФ у печінці та підшлунковій залозі в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії сприяє порушенню всіх біосинтетичних процесів та превалюванню катаболічних процесів в клітині.

Порушення балансу аденілових нуклеотидів може спричинити розлад іонного обміну в клітинах печінки та ПЗ. Зокрема, порушити транспорт калію, оскільки АТФ та АДФ у мікромолярних концентраціях пригнічують його транспорт АТФазами. Також, може змінюватись перенесення кальцію, оскільки АДФ є високоспецифічним стимулятором його транспорту, який здатний змінювати конформаційний стан гідрофільної та гідрофобної частин Са-АТФази. Такі зміни впливають і на міжбілкові взаємодії, що модифікують і властивості кальцієвих каналів, які можуть утворюватись на ділянках білок-білкових контактів. Так як тільки у присутності АТФ Са-АТФази знаходяться у зміненому конформаційному стані, то після виснаження цього субстрату молекули субстрату релаксують у вихідне положення. Процес релаксації відбувається повільно, тому ще деякий час канали функціонують [19, 20].

Зниження рівня АТФ також може спричинити порушення блебінгу плазматичних мембран клітин печінки та підшлункової залози, оскільки це енергозалежний процес [21, 22].

Аналіз направленості виявлених при тривалій шлунковій гіпохлоргідрії змін стаціонарного стану системи АТФ-АДФ-АМФ у печінці та підшлунковій залозі вказує на створення у клітинах умов, за яких може змінюватись більшість біохімічних процесів: реакції фосфорилування-дефосфорилування білків (білків-каналів, білків-ферментів та інших білків), ліпідів, вуглеводів та ін. Також, порушення енергетичного обміну, зокрема зниження загального внутрішньоклітинного фонду аденінуклотидів, знижує адаптаційні можливості організму в умовах дії негативних факторів.

Мультипробіотик "Симбітер<sup>®</sup>" сприяє відновленню енергетичного балансу клітин печінки та підшлункової залози щурів з гіпоацидним станом шлунка за рахунок ряду механізмів: зниження розвитку окисного стресу, в результаті чого зменшуються потреби у макроергічних сполуках, та синтез бактеріями речовин, які є біологічно активними субстратами енергетичного обміну клітин [23]. Таким чином, досліджуваний мультипробіотичний препарат здійснює стимулюючий вплив на енергетичний обмін в клітині.

#### Висновки

Показано, що при тривалій шлунковій гіпохлоргідрії порушується рівновага аденілових нуклеотидів у клітинах печінки та підшлункової залози, що супроводжується зростанням вмісту АДФ та АМФ на фоні зниження вмісту АТФ. За даних експериментальних умов зафіксовано зменшення енергетичного заряду клітин, що свідчить про порушення мітохондріального синтезу АТФ, розлади процесів фосфорилування і дефосфорилування макроергічних сполук та превалювання катаболічних процесів у досліджуваних органах.

Виявлено, що введення мультипробіотика "Симбітер<sup>®</sup>" щурам з гіпоацидним станом шлунка сприяє відновленню пулу аденілових нуклеотидів та енергетичного заряду клітин печінки та підшлункової залози. Отри-

мані дані вказують на те, що при тривалій шлунковій гіпохлоргідрії дестабілізація енергетичного балансу печінки та підшлункової залози пов'язана з розвитком дисбіозу травної системи.

#### Список використаних джерел

1. Beales I. L. H. pylori-associated hypochlorhydria / I. L. Beales // *Gastroenterol.* – 1998. – Vol. 3. – P. 618–621.
2. Jensen R. T. Consequences of long-term proton pump blockade: insights from studies of patients with gastrinomas / R. T. Jensen // *Basic & Clin. Pharmacol. & Toxicol.* – 2006. – Vol. 98. – P. 4–19.
3. Williams C. Proton pump inhibitors and bacterial overgrowth / C. Williams, K. E. L. McColl // *Alimentary pharmacol. and Therapeutic.* – 2006. – Vol. 23. – P. 3–10.
4. Fossmark R. Gastric cancer: Animal studies on the risk of hypoacidity and hypergastrinemia / R. Fossmark, G. Qvigstad, H. L. Waldum // *World J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14, № 11. – P. 1646–1651.
5. Canani R. Gastric acidity inhibitors and the risk of intestinal infections / R. Canani, G. Terrin // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2010. – Vol. 26, № 1. – P. 31–35.
6. Acid-suppressing drugs and gastroesophageal reflux disease as risk factors for acute pancreatitis – results from a Swedish Case-Control Study / A. Sundstrom et al. // *Pharmacoepidemiol. Drug Safe.* – 2006. – Vol. 15, № 3. – P. 141–149.
7. Small intestine bacterial overgrowth in patients with chronic pancreatitis / A. Mancilla [et al.] // *Revista medica de Chile.* – 2008. – Vol. 136, № 8. – P. 976–980.
8. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease / V. Braunersreuther et al. // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 18, № 8. – P. 727–735.
9. Энергетический обмен клетки в норме и патологии. Возможности его оценки / Нагорная Н. В. [и др.] // *Здоровье ребенка.* – 2008. – Т. 6, № 15. – С. 69–71.
10. Янковский Д. С. Особенности отечественных мультипробіотиков / Д. С. Янковский, Р. А. Моисеенко, Г. С. Дымент // *Соврем. педиатрия.* – 2009. – № 3, т. 25. – С. 79–86.
11. Майданюк А. В. Методичні аспекти ТШХ аденілових нуклеотидів на силікагелі / А. В. Майданюк // *Вісн. КНУ ім. Т. Шевченка. Біологія.* – 2002. – Вип. 36–37. – С. 94–97.
12. Плохинский М. А. Математические модели в биологии / М. А. Плохинский. – М.: Изд-во Моск. ун-та., 1981. – 265 с.
13. Evidence of a new phosphoryl transfer system in nucleotide metabolism / D. Vannoni et al. // *FEBS J.* – 2009. – Vol. 276, № 1. – P. 271–285.
14. Energy metabolism in eukaryotes biochemistry and evolution of anaerobic / M. Müller et al. // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2012. – Vol. 76, № 2. – P. 444–495.
15. Стрес-респонсивні системи підшлункової залози щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та за введення мультипробіотика "Симбітер<sup>®</sup>" / К. О. Дворченко, С. Є. Вакал, А. С. Драничина, С. А. Сенін, Л. І. Остапченко // *Укр. біохім. журн.* – 2013. – Т. 85, № 2. – С. 62–71.
16. Вплив окисного стресу на рівень експресії генів TGF- $\beta$  і HGF у печінці щурів в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії та за введення мультипробіотика Симбітер / К. О. Дворченко, О. О. Берник, А. С. Драничина, С. А. Сенін, Л. І. Остапченко // *Укр. біохім. журн.* – 2013. – Т. 85, № 5. – С. 114–123.
17. Effect of 5-nitroindole on adenylate energy charge, oxidative phosphorylation, and lipid peroxidation in rat hepatocytes / M. Dubin et al. // *Biochem. Pharmacol.* – 1994. – Vol. 48, № 7. – P. 1483–1492.
18. Energy metabolism and lipid peroxidation of human erythrocytes as a function of increased oxidative stress / B. Tavazzi et al. // *Eur. J. Biochem.* – 2000. – Vol. 267, № 3. – P. 684–689.
19. Interaction of ATP with the phosphoenzyme of the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase / M. Khalid et al. // *Biochem.* – 2010. – Vol. 49, № 6. – P. 1248–1258.
20. Nucleotide activation of the Ca-ATPase / J. M. Autry et al. // *J. Biol. Chem.* – 2012. – Vol. 287, № 46. – P. 39070–39082.
21. Florine-Casteel K. Lipid order in hepatocyte plasma membrane blebs during ATP depletion measured by digitized video fluorescence polarization microscopy / K. Florine-Casteel, J. J. Lemasters, B. Herman // *FASEB J.* – 1991. – Vol. 5, № 7. – P. 2078–2084.
22. Changes in membrane properties during energy depletion-induced cell injury studied with fluorescence microscopy / Y. Wu et al. // *Biophys. J.* – 1996. – Vol. 71, № 1. – P. 91–100.
23. Cani P. D. Gut microbiota, enteroendocrine functions and metabolism / P. D. Cani, A. Everard, T. Duparc // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 13, № 6. – P. 935–940.

Надійшла до редколегії 15.10.14

К. Дворщенко, д-р биол. наук  
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

### ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО БАЛАНСА ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПРИ ГИПОАЦИДНОМ СОСТОЯНИИ ЖЕЛУДКА И ПОИСК ПОДХОДОВ К ЕГО ВОССТАНОВЛЕНИЮ

*Установлено, что в печени и поджелудочной железе крыс при длительной желудочной гипохлоридрии нарушается энергетический баланс, о чем свидетельствует понижение содержания АТФ на фоне повышения уровня АДФ и АМФ. Мультипробиотик "Симбитер<sup>®</sup>" способствует восстановлению равновесия адениловых нуклеотидов в исследуемых органах крыс с гипоацидным состоянием желудка.*

*Ключевые слова: длительная желудочная гипохлоридрия, поджелудочная железа, адениловые нуклеотиды, мультипробиотик.*

K. Dvorshchenko, DSc.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### CHANGES OF ENERGY BALANCE OF RAT LIVER AND PANCREAS UPON GASTRIC HYPOACIDITY AND SEARCH OF APPROACHES FOR ITS RECOVERY

*It was established that the energy balance was disturbed in liver and pancreas of rats with long-term gastric hypochlorhydria, suggesting a decreased of ATP content while ATP and AMP levels were increasing. Multiprobiotic "Symbiter<sup>®</sup>" restored adenine nucleotides balance in the analyzed organs of rats with gastric hypoacidity state.*

*Key words: long-term gastric hypochlorhydria, pancreas, adenine nucleotides, multiprobiotic.*

УДК 577.151.042.5:612.115

N. Raksha, PhD, M. Burlova-Vasylieva, PhD student, E. Torgalo, PhD., A. Savchuk, DSc.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

### THE APPEARANCE OF MOLECULES OF PROTHROMBIN ORIGIN IN BLOOD UPON DEVELOPMENT OF ATHEROTHROMBOTIC AND CARDIOEMBOLIC ISCHEMIC STROKE

*Increase of molecules of prothrombin origin in patients with atherothrombotic and cardioembolic stroke subtypes had been shown. It was found the presence of protein fractions in the range of molecular weights corresponding to both prothrombin molecules and its degraded forms.*

*Key words: prothrombin time, molecules of prothrombin origin, atherothrombotic, cardioembolic stroke.*

**Introduction.** Cerebrovascular diseases are currently the actual problem of modern medicine since they are one of the leading cause of disability and the second most common cause of mortality and morbidity among the working population aged 40-60 years [5]. A dominant role in the structure of all cerebrovascular diseases belongs to acute ischemic cerebrovascular accident – up to 70 % of all strokes are considered as ischemic (cerebral infarction). In accordance with the main mechanism of development there are atherothrombotic and cardioembolic stroke subtypes. In the first case, the acute cerebral blood flow failure is caused by blood clots formation and blockage of the lumen of blood vessels in the place of atherosclerotic plaque localization; occlusion of the arteries that nourish the brain by cardiac emboli takes place in the case of cardioembolic stroke [5]. Clinical features that support the diagnosis of these pathologies include motor, language, visual, coordination and cognitive impairments. More complete laboratory screening of patients with ischemic cerebrovascular disease for currently identified prothrombotic states will probably increase the percentage of strokes attributed to disorders of hemostasis. One of the leading pathogenetic factors of cerebrovascular ischemia is the disruption of homeostasis that results in intravascular thrombosis, changes in blood rheology and microcirculation disturbances in ischemic tissues [12]. Detailed definition of the molecular mechanisms underlying the development of these diseases is crucial not only in terms of the creation of new drugs directed action, guide the most effective care and therapy, but also will provide great perspectives in the field of clinical diagnostic of pathological manifestations of hemostasis.

Given that treatment of stroke is limited, the best way to reduce the negative effects of this pathological condition – timely primary prevention, individual approach to treatment and rehabilitation. Study of the causes and mechanisms of stroke development and search of new biomarkers that can

be used in diagnostics to identify individuals at high risk of disease development is very relevant for today.

Taking into account the involvement of blood coagulation system in the pathogenesis of ischemic strokes, the main goal of our work was to investigate the functional state of prothrombin – a precursor of key regulatory enzyme thrombin that converts soluble fibrinogen to fibrin monomers, further polymerization of that is the basis for the formation of a blood clots.

**Materials and methods.** Donor's plasma (n=66 for patients with atherothrombotic ischemic stroke and n=56 for patients with cardioembolic ischemic stroke) was obtained by cubital vein puncture using tubes with sodium citrate solution (38 g/l) in the final ratio of 9:1. Patients' plasma one day after the ischemic stroke was used in our experimental work. Determination of prothrombin time was supplied by kits and reagents of "Renam" company (Belarus). Prothrombin obtained by sorbing the vitamin K-dependent proteins on barium sulfate followed by extraction with 0.05 M Tris-HCl buffer, pH 7.4, containing 0.2 M NaCl and 0.02 M EDTA. Electrophoresis in polyacrylamide gel in the presence of sodium dodecyl sulfate was performed according to the method Laemmli using tris-glycine system. Immunoenzymatic assay and Western blot method were carried out in consist of standard protocols for soluble proteins [8, 11]. Prothrombin and its derivatives identification was done using rabbit polyclonal antibodies (Shijin International, Mongolia) to prothrombin. Mathematical and statistical processing of obtained results was performed using the computer program Origin 7.0. The difference between groups was analyzed by standard Student's t-test. P values less than 0.05 were considered statistically significant. Present data are typical for series of repeated experiments (at least five in each series).

**Results and discussion.** Hemostasis is one of the most complex physiological self-defense systems which ensure blood fluidity, the maintenance of the rheological