

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія»  
Українське біохімічне товариство



*Присвячується 100-річчю ДНУ*

Четверта міжнародна наукова конференція  
**АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ СУЧАСНОЇ БІОХІМІЇ  
ТА КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ**

Дніпро, 5-6 жовтня 2017

**The 4th International Scientific Conference  
CURRENT PROBLEMS OF BIOCHEMISTRY  
AND CELL BIOLOGY**

Dnipro, 5-6 October, 2017





приймаючих АРТ, но без признаков токсического поражения печени, частота встречаемости данного гена составляет 23%.

*Выводы:* Риск развития гепатотоксичности при проведении антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных пациентов ассоциирован с полиморфными вариантами генов и метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR (C677T) и редуктазы метионинсинтазы MTRR (Ile22Met).

## **ВИЗНАЧЕННЯ ВІЛЬНОЇ ДНК ТА ПОЛІФОСФАТІВ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ІНФАРКТ МІОКАРДА: МЕТОДОЛОГІЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ**

**Юлія Гордієнко<sup>1</sup>, Анастасія Скоромна<sup>1</sup>, Олена Коваль<sup>1</sup>,  
Юрій Кот<sup>2</sup>, Алла Шевцова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпро, Україна

<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна МОН України  
gordienko.ju@gmail.com

## **DETERMINATION OF FREE DNA AND POLYPHOSPHATES IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION: METHODOLOGY AND PERSPECTIVES**

**Iuliia Gordiienko<sup>1</sup>, Anastasiia Skoromna<sup>1</sup>, Olena Koval<sup>1</sup>, Yurii Kot<sup>2</sup>, Alla Shevtsova<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>SE "Dnepropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine", Dnipro, Ukraine

<sup>2</sup>V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

The determination of free DNA (fDNA) and polyphosphates (PP) in the blood is area of interest of different researchers because these molecules take a part in the process of coagulation. This work presents the results of pilot studies on the development of a highly sensitive method for determining fDNA and PP in the blood of patients with acute myocardial infarction (AMI). The prospects of using this method for detection of hemostasis disorders in patients with AMI are considered.

*Обґрунтування та мета.* Серцево-судинні захворювання зазвичай супроводжуються розладами у системі гемостазу, тому невід'ємною складовою лікування цих захворювань є контроль за показниками зсідальної системи крові. Але навіть усунення усіх механізмів, що призводять до посилення згортання крові, може не дати бажаного результату. Дослідження таких випадків, дозволили з'ясувати, що крім низки факторів судинно-тромбоцитарної та коагуляційної ланок гемостазу посиленню гемокоагуляції можуть сприяти і неспецифічні складові – вільна ДНК та поліфосфати.

Концентрація вільної ДНК (вДНК) є маркером процесів, що супроводжуються руйнуванням великої кількості клітин організму. За умов гострого інфаркту міокарда джерелом вДНК вважають не лише



загиблі кардіоміоцити, а й лейкоцити, зокрема активовані нейтрофіли. Стимуляція нейтрофіла прозапальними цитокінами (ІЛ8, ФНП $\alpha$ ) або взаємодія з активованими тромбоцитами сприяє утворенню позаклітинних пасток, що формуються з ДНК. Ці пастки слугують основою, на якій відбувається нагромадження інших лейкоцитів, еритроцитів, агрегація тромбоцитів, фібриногену, ф. XII. Гістони H3 і H4 здатні стимулювати експресію тромбоцитами ф. V і вивільнення поліфосфатів (ПФ) з цих клітин. В організмі людини з щільними гранулами тромбоцитів асоційовані ПФ з кількістю мономерів 65 та 75+. Вивільнення відбувається під час активації тромбоцитів. ПФ ініціюють згортання крові за рахунок прискорення активації факторів V, X та XII та посилення стійкості тромбу до дії ферментів фібринолізу. Відтак комплекс вДНК-ПФ може провокувати виникнення тромботичних ускладнень. Проте даних щодо впливу вДНК та ПФ на систему зсідання крові за умов серцево-судинних захворювань замало і вони носять неоднозначний характер.

Метою даної роботи було провести пілотні дослідження стосовно розробки методу та оцінки рівня вДНК та ПФ у плазмі крові хворих на серцево-судинні захворювання.

*Методи.* Для дослідження використовували венозну цитратну плазму крові здорових донорів ( $n = 7$ ) та плазму крові отриману з коронарного русла та вени пацієнтів з гострим інфарктом міокарда (ГІМ) на різних етапах госпітального та післягоспітального періодів ( $n = 11$ ). Концентрування та виділення вДНК з плазми здійснювали за допомогою сорбенту, використовуючи комерційний набір реагентів (Синтол, Росія). Рівень вДНК та ПФ визначали за допомогою ДНК-специфічного флуоресцентного барвника 4,6-діамідино-2-феніліндолу (ДАФІ) (Sigma). В роботі використовували планшети GE Healthcare Imaging plate (США). Флуоресценцію вимірювали на рідері Bio-Tek FL600 (США). Визначення ДНК проводили, використовуючи хвилю збудження 360 нм, детекцію емісії – при 460 нм, для ПФ – при 400 нм/550 нм відповідно.

*Результати.* ПФ у комплексі з ДАФІ зсувають пік емісії ДАФІ з 460 до 525 нм за збудження при 360 нм. За цих обставин крім комплексу ПФ-ДАФІ флуоресцирують і комплекси ДНК-ДАФІ, тому для запобігання цього перекривання застосовали збудження ПФ при 400 нм з реєстрацією флуоресценції ПФ-ДАФІ при 550 нм. У цих умовах світіння ДАФІ і ДНК-ДАФІ мінімальне, що робить сигнал ПФ-ДАФІ високоспецифічним.

За результатами досліджень встановлено, що рівень вільної ДНК у плазмі крові хворих на ГІМ становить  $315 \pm 9$  нг/мл, що відповідає клінічній картині гострої стадії захворювання. Вірогідних змін рівня ПФ у досліджуваних нами хворих на ГІМ не виявлено, проте спостерігалась тенденція до підвищення цього показника у коронарному руслі.



*Висновок.* Концентрацію вільної ДНК у плазмі крові можна використовувати як показник, що відбиває стадію захворювання, а також для моніторингу ефективності антитромботичної терапії.

*Перспективи.* Враховуючи, що для лікування хворих з ГІМ у якості антикоагулянту застосовують гепарин, який здатний до флуоресценції за тих же умов, що й ПФ, слід провести додаткові дослідження для відокремлення спектрів ПФ та глікозаміногліканів.

*Подяка.* Автори висловлюють щире подяку завідувачу кафедри біохімії Харківського національного університету Перському Є. Е. за надану можливість користуватися якісним обладнанням та консультативну допомогу.

## **ВПЛИВ МЕТФОРМІНУ ТА АЛЬФА-ЛІПОЄВОЇ КИСЛОТИ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ПАРАМЕТРИ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ СПОЖИВАННІ КРОХМАЛЮ НА ОСНОВІ АМІЛОЗИ**

**Андрій Клоновський, Олександра Абрat**

ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника», м. Івано-Франківськ, Україна  
[aklonovskiy@ukt.net](mailto:aklonovskiy@ukt.net)

### **EFFECT OF METFORMIN AND ALPHA-LIPOIC ACID ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS *DROSOPHILA MELANOGASTER* UNDER CONSUMPTION OF AMYLOSE STARCH**

**Andrii Klonovskyi, Oleksandra Abrat**

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Diets with high concentrations of amylose starch shorten lifespan and cause triacylglyceride and peroxide lipids accumulation in fruit flies. Food supplementation with metformin partly attenuated the negative effects of starch on oxidative damage and lipid content in drosophila but shortened the lifespan of the insects. Complex effect of metformin and  $\alpha$ -lipoic acid partly attenuated the negative effects metformin on the lifespan *D. melanogaster*.

*Обґрунтування та мета.* Загальновідомо, що надмірне споживання вуглеводів є причиною розвитку метаболічних захворювань. Одним із підходів для зменшення ризику метаболічних порушень є споживання вуглеводів, які повільно перетравлюються. До них належить крохмаль із високим вмістом амілози. Також до раціону часто додають препарати, які можуть попереджувати потенційний негативний вплив при споживанні полісахаридів. Серед рекомендованих агентів є метформін та  $\alpha$ -ліпоєва кислота. В літературі є дані, що метформін має чітко виражену антиглікемічну та антиліпедемічну дію, тоді як  $\alpha$ -ліпоєва кислота проявляє