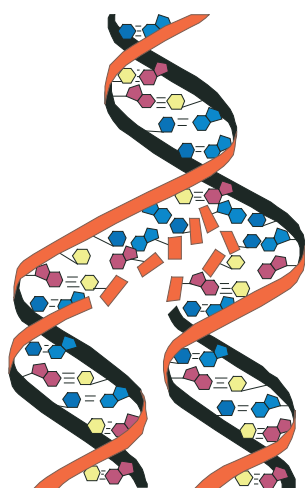


Тернопільський національний медичний університет  
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України  
Інститут фармакології та токсикології НАМН України

# МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

## НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ



*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University  
Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine*

# MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

SCIENTIFIC JOURNAL

**3(80)** ТОМ 21  
2019  
(ДОДАТОК)

- ❖ *Молекулярні механізми розвитку патології*
- ❖ *Біохімія у діагностиці та лікуванні*
- ❖ *Біохімія серцево-судинних хвороб*
- ❖ *Біохімічна гепатологія та нефрологія*
- ❖ *Біохімія ендокринних хвороб*
- ❖ *Патохімія спадкових хвороб*
- ❖ *Патохімія екстремальних станів*
- ❖ *Біохімія в хірургічній клініці*
- ❖ *Нейрохімія та патохімія головного мозку*
- ❖ *Імунохімія*
- ❖ *Біохімія радіаційних уражень*
- ❖ *Біохімічні аспекти моделювання патологічних процесів*
- ❖ *Ксенобіохімія*
- ❖ *Методи біохімічних досліджень*
- ❖ *Історія біохімії*
- ❖ *Проблеми і досвід викладання біологічної та медичної хімії*
- ❖ *Інформація, хроніка, ювілеї*

- ❖ *Molecular Mechanisms of Pathology Development*
- ❖ *Biochemistry in Diagnostics and Treatment*
- ❖ *Biochemistry of Cardiovascular Diseases*
- ❖ *Biochemical Hepatology and Nephrology*
- ❖ *Biochemistry of Endocrinopathy*
- ❖ *Pathochemistry of Hereditary Diseases*
- ❖ *Pathochemistry of Extremal States*
- ❖ *Biochemistry in Surgical Clinics*
- ❖ *Neurochemistry and Pathochemistry of Cerebrum*
- ❖ *Immunochemistry*
- ❖ *Biochemistry of Radiation Injuries*
- ❖ *Biochemical Aspects of Simulation of Pathologic Processes*
- ❖ *Xenobiochemistry*
- ❖ *Methods of Biochemical Investigations*
- ❖ *History of Biochemistry*
- ❖ *Problems and Experience of Biological and Medical Chemistry Teaching*
- ❖ *Information, Chronicle, Jubilees*

# МЕДИЧНА ТА КЛІНІЧНА ХІМІЯ

Науковий журнал

## MEDICAL AND CLINICAL CHEMISTRY

Scientific Journal

ISSN 2410-681X

Виходить щоквартально  
Published 4 times per year

Заснований у січні 2011 р.  
Founded in January 2011

Свідоцтво про державну  
реєстрацію: серія KB № 17435-6185P  
від 18.11.2010 р.

Certificate of state registration:  
series KB № 17435-6185P from 18.11.2010

Передплатний індекс: 22869  
Subscription index: 22869

Журнал включено до Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів кандидата і доктора медичних та біологічних наук згідно з наказом МОН України від 13.07.2015 р. № 747 і фармацевтичних наук відповідно до наказу МОН України від 21.12.2015 р. № 1328.

Журнал включено до Міжнародної наукометричної бази даних Index Copernicus.

Рекомендовано до видання вченою радою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (протокол № 13 від 24 вересня 2019 р.).

### АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:

Журнал "Медична та клінічна хімія"  
Видавництво "Укрмедкнига"  
Майдан Волі, 1  
46001, м. Тернопіль  
УКРАЇНА

EDITORIAL OFFICE ADDRESS:  
Journal "Medical and Clinical Chemistry"  
Publishing House "Ukrmedknyga"  
Maidan Voli, 1  
46001, Ternopil  
UKRAINE

Tel.: (0352) 43-49-56  
(0352) 52-80-09  
Fax: (0352) 52-41-83  
<http://www.tdmu.edu.ua>  
e-mail: [journaldmy@gmail.com](mailto:journaldmy@gmail.com)

За зміст рекламних матеріалів відповідальність несе рекламодавець. При передруці або відтворенні повністю чи частково матеріалів журналу "Медична та клінічна хімія" посилання на журнал обов'язкове.

© Науковий журнал "Медична та клінічна хімія", 2019  
© Scientific Journal "Medical and Clinical Chemistry", 2019

додавання 100 мкМ  $\text{Ca}^{2+}$  супроводжувалось збільшенням концентрації іонізованого Са у 8 разів, проте, за таких умов, реєструється низький рівень загальної акумуляції цього катіона. Нормована флуоресценція  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого зонда Fluo-4 у відповідь на додавання  $\text{Ca}^{2+}$  була понад 2,5 умовних одиниць. У той же час,  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  була значно вище за інкубації мітохондрій у присутності 3 мМ АТФ та 3 мМ  $\text{Mg}^{2+}$ . Подальше додавання 100 мкМ  $\text{Ca}^{2+}$  супроводжувалось збільшенням концентрації іонізованого Са лише у 2,4 раза, проте реєструється високий рівень загальної акумуляції цього катіона. За присутності 3 мМ АТФ та 3 мМ  $\text{Mg}^{2+}$  нормована флуоресценція  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого зонда Fluo-4 у відповідь на додавання  $\text{Ca}^{2+}$  була меншою за 1,3 умовні одиниці. У мітохондріях печінки найвищу швидкість по-

глинання кисню реєстрували у присутності сукцинату ніж пірувату або  $\alpha$ -кетоглутарату. Зауважимо, що за присутності сукцинату нормована флуоресценція  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого зонда Fluo-4 у мітохондріях печінки у відповідь на додавання  $\text{Ca}^{2+}$  була меншою за 1,3 умовні одиниці.

Зроблено висновок про те, що, на моделі ізольованих мітохондрій, низький рівень іонізованого Са у матриці корелює з низькою функціональною активністю і, навпаки, високий рівень  $[\text{Ca}^{2+}]_m$  корелює з високою функціональною активністю. Робиться припущення, що зміни нормованої флуоресценції  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливого зонда у відповідь на додавання  $\text{Ca}^{2+}$  можна використовувати у якості тесту на функціональну активність мітохондрій: менше значення нормованої флуоресценції – більше функціональна активність.

## EVALUATION OF RELAXATION FREQUENCY OF HEMOGLOBIN IN AQUEOUS SOLUTION AT CANCER DISEASES

BATYUK L.V.<sup>1</sup>, BEREST V.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY, UKRAINE;

<sup>2</sup>V. N. KARAZIN KHARKIV NATIONAL UNIVERSITY, UKRAINE;

e-mail: liliya-batyuk@ukr.net

Currently, there is not enough investigated of the mechanisms of the systemic effect of a tumor on the body. It is known that the process of carcinogenesis entails a change, first of all, of the biochemical parameters of the blood. These changes can be measured by the method of dielectrometry in the dispersion of water molecules and applied for investigating aqueous solutions of hemoglobin.

The dependences of the dielectric relaxation frequency of an aqueous solution of hemoglobin of healthy donors and patients for breast cancer at temperatures of 20 °C and 25 °C are investigated. Human blood samples were collected from 20 female patients and 10 donors at age 47 years. All patients were distributed as follows: T2N1M0 (second stage of the disease without signs of distant metastases). The complex dielectric constant of aqueous hemoglobin solution was measured at frequency  $f=9.2$  GHz. A microwave technique allowing settings for real part (dielectric permittivity) and imaginary part of the complex permittivity with an accuracy of 0.05 % and 0.5 % was used. The hemoglobin was prepared by washing erythrocytes several times with 0.9 % NaCl solution, hemolyzing with distilled water, and removing the ghosts by centrifuging for 1 h at 16000 rpm, pH 6.8. Since the obtained data showed a non-parametric nature of the distribution, the Wilcoxon criterion was used to estimate the significant difference in the results

of dielectric values from hemoglobin solution of patients with breast cancer, and Fisher's exact method was used for the data analysis with  $P<0.05$ .

Assuming the hemoglobin's medium has the same dielectric properties as free water, we are using the generally cited values for the hemoglobin concentration inside erythrocytes and calculate a theoretical value of the dielectric permittivity. The analysis of experimental data shows that temperature dependence of the relaxation frequency is exponential; activation energy in the temperature range between 20 and 25 °C is equal to 5.1 kcal/mole for donors and 6.2 kcal/mole for patients with breast cancer. The degree of hydrogen bonding in the water-hemoglobin system is increased by hydrophobic interactions of the solute with water molecules. As known as the dielectric relaxation mechanism for hemoglobin can generally be attributed largely to molecular dipole rotation under the influence of the applied electric field. This polarization mechanism corresponds to the Debye model which considers protein molecules in aqueous solutions as rotating rigid spheroids/ellipsoids. The model allows for the evaluation of the relaxation time which is related to the structural, thermodynamic and orientational properties of the rotating molecules in solution. The theory of dipolar molecules (Debye and Onsager-Kirkwood) gives the formulas for the relation between the observed dielectric parameters and magnitudes

such as dipole moment, size, and shape of the molecule. All our measurements are in close agreement with the formula. The results are discussed in terms of the structure and function interrelationship

of hemoglobin and water solution. We found that the relaxation time of hemoglobin solution for patients with breast tumors decreasing compared with donors and dependence from the temperature.

## THE NEW MODEL OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE HUMAN TRANSLATION ELONGATION COMPLEX eEF1B

BONDARCHUK T.V.<sup>1</sup>, SHALAK V.F.<sup>1</sup>, FATALSKA A.<sup>2</sup>, LOZHKO D.M.<sup>1</sup>, SZCZEPANOWSKI R.H.<sup>3</sup>, DADLEZ M.<sup>2</sup>, NEGRUTSKII B.S.<sup>1</sup>, EL'SKAYA A.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INSTITUTE OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE, KYIV;

<sup>2</sup>INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS, POLAND ACADEMY OF SCIENCES, WARSAW, POLAND;

<sup>3</sup>INTERNATIONAL INSTITUTE OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY, WARSAW, POLAND;  
e-mail: t.v.trosiuk@gmail.com

Ribosomal protein synthesis is one of the key stages of gene expression. It includes three phases: initiation, elongation and termination. After completing the initiation phase, the 80S ribosome begins the polypeptide chain synthesis with the assistance of elongation factors (eEF). In higher eukaryotes, two individual proteins eEF1A and eEF2, and one protein complex, eEF1B, participate in the elongation process. eEF1A in a GTP-dependent manner delivers aminoacylated- tRNA to the A-site of the ribosome, the eEF1B complex insures the GDP/GTP exchange on eEF1A, and eEF2 accelerates ribosomal translocation. The eEF1B complex includes three different proteins, two of them, eEF1Ba and eEF1Bb, are catalytic, while eEF1Bg is a structural component. Currently, the spatial organization of the eEF1B complex is not known. Thus, the **aim** of our work was to study the quaternary organization of the eEF1B complex reconstructed from individual recombinant proteins.

Recombinant eEF1Ba and eEF1Bb were expressed in *E. coli* and purified to homogeneity. These subunits were characterized by analytical gel filtration and analytical ultracentrifugation. To get an insight into conformational dynamics of full-length eEF1Ba, eEF1Bb and eEF1Bg in solution, the method of hydrogen-deuterium exchange coupled with mass spectrometry (HDX-MS) was used. The structural models for eEF1Ba and eEF1Bg were built by using I-TASEER. The structural model for full-length eEF1Bb was created using Small Angle X-ray Scattering

(SAXS) data and computational modeling. The binary eEF1Bag and eEF1Bbg, and ternary eEF1Babg complexes were reconstituted from the isolated subunits and analyzed by different methods in order to determine their molecular masses and subunits stoichiometry. The protein contacts in the complexes were established using site-directed mutagenesis and HDX-MS.

As a result, we showed that all eEF1B subunits belong to the family of intrinsically disordered proteins. All of them are non-globular proteins with a moderately elongated shape having at least two folded domains linked by relatively long disordered regions. eEF1Ba exists as a monomer in solution, eEF1Bb is a stable trimer and eEF1Bg is prone to concentration-dependent self-association. Native gel electrophoresis technique shows that all eEF1B subunits present in the complex in equimolar ratio. Using HDX-MS, we mapped the interaction sites between subunits in eEF1B and revealed their conformational changes during complex formation. Based on the obtained data, we proposed the model of the eEF1B spatial organization.

In conclusion, we suggest that the eEF1B complex may serve in a cell as a huge guanine- nucleotide exchange hub, containing six catalytic domains of eEF1Ba and eEF1Bb. The main role of such a hub is to provide an efficient supply of the GTP-bound form of eEF1A for the actively translating ribosomes.