

В.Ф.Сагач, Ю.П. Коркач, А.В. Коцюрба, О.В. Рудик, Г.Л. Вавілова

Пригнічення відкривання мітохондріальної пори екдистероном у серці старих щурів

Окись азота взаимодействует с супероксиданионом ($O_2^{\cdot-}$), образуя сильный окислитель пероксинитрит ($ONOO^-$). В митохондриях сердца старых крыс количество синтезируемых NO и $O_2^{\cdot-}$ увеличивается, таким образом митохондрии могут быть основным местом образования $ONOO^-$, а он, в свою очередь, причиной развития окислительного стресса. Окислительный стресс индуцирует циклоспорин А-чувствительный выход ионов кальция и проапоптотических факторов из митохондрий путем открывания митохондриальной поры (МП), что может приводить к повреждению сердца и митохондриальной дисфункции у старых крыс. Для того, чтобы определить, может ли одновременное ингибирование генерации и NO , и $O_2^{\cdot-}$ в митохондриях сердца старых крыс ингибировать открытие МП, мы одновременно исследовали уровни генерации NO и $O_2^{\cdot-}$, а также открытие МП (по набуханию митохондрий) такими индукторами как ионы кальция и фениларсиноксид при действии антиоксиданта и сквенджеера свободных радикалов экзогенного фитогормона экдистерона. C_{27} – стероидный гормон экдистерон (10 мкг/100 г, per os, 2 нед) мимикрирует действие своего структурного аналога стероидного гормона кальцитриола (1 α , 25-дигидроксивитамина D3) и защищает сердце старых крыс от последствий открывания МП, ингибируя ее открывание путем снижения генерации в митохондриях супероксида и синтеза оксида азота (индуцибельного – ферментом митохондриальной индуцибельной NO -синтазой ($mtiNOS$) и восстановительного – НАДН-зависимой нитратредуктазой) с эффективностью, равной таковой гормона мелатонина, которая была установлена нами ранее [5]. Кроме того, экдистерон значительно увеличивал активность митохондриальной конститутивной NO -синтазы ($mtcNOS$). Эти данные предполагают возможность прямой регуляции МП сигнальными путями зависимыми от экдистерона. Одним из таких путей может быть $PI3K/Akt/PKB$ сигнальный путь, приводящий к суперактивации митохондриальной $cNOS$, активируемый в митохондриях экдистероном через взаимодействие с эстрогеновым рецептором, локализованным на внешней митохондриальной мембране.

ВСТУП

Протягом останніх десятиліть інтенсивно вивчається роль мітохондріальної пори (МП) неспецифічної провідності (від англ. mitochondrial permeability transition pores, МРТР) як у реалізації фізіологічних процесів, так і у розвитку їх порушень, зокрема тих, що виникають при старінні [18]. Найпоширенішими є порушення в роботі міокарда, наприклад зниження з віком властивої йому резистентності до ішемічно-реперфузійних та інших ушкоджень, що призводять до розвитку таких серцевих

хвороб при старінні, як інфаркт міокарда, гіпертензія, кардіоміопатії та атеросклероз [8]. В основі розвитку цих хвороб лежить порушення метаболізму активних форм кисню (АФК) та азоту (АФА) в мітохондріях, що призводить до підвищення мітохондріальної проникності та збільшення чутливості МП до її індукторів, спричинені розвитком оксидативного стресу, а також недостатністю антиоксидантного захисту, зокрема при старінні [7, 13].

Відомо, що деякі гормональні препарати, наприклад мелатонін [17] і C_{27} -стероїдний гормон кальцитриол (1 α , 25-дигід-

© В.Ф.Сагач, Ю.П. Коркач, А.В. Коцюрба, О.В. Рудик, Г.Л. Вавілова

роксивітамін D3) [15], є ефективними кардіопротекторами саме внаслідок нормалізації генерації АФК та АФА в мітохондріях, що і забезпечує внаслідок цього фізіологічну роботу серця. Раніше ми показали високу ефективність мелатоніну як інгібітора Ca^{2+} - і АФК-залежного відкриття МП [5], а також здатність гормональних доз екдистерону, подібно до кальцитріолу, регулювати активності різних ізоформ NO-синтаз (конститутивну NOS (сNOS), до якої належить також мітохондріальна NOS (mtNOS), нейрональну NOS (nNOS) і індукцибельну NOS (iNOS)) та процес апоптозу кардіоміоцитів [4]. Природний аналог кальцитріолу – екзогенний C_{27} -стероїдний гормон екдистерон, виділений із рослини *Serratula coronata*, активує різні сигнальні каскади, наприклад фосфатидилінозитольний, коли відбувається підвищення концентрації іонів кальцію в цитозолі кардіоміоцитів, і сфінгомеліновий, під час якого утворюються регулятори апоптозу кардіоміоцитів і проявляється активність протеїнкінази В (PKB/Akt). Екдистерон внаслідок фосфорилування протеїнкіназою В може активувати, як кальційзалежний, так і кальційнезалежний конститутивний синтез NO в кардіоміоцитах. Відомі також потужні антирадикальні та антиокисні ефекти екдистерону [15]. У зв'язку з тим, що з віком порушується в основному конститутивний синтез оксиду азоту і, навпаки, підвищується його індукцибельний синтез [9], а також значно збільшуються рівні генерації АФК (як супероксидного, так і гідроксильного радикалів) як у цитозолі, так і в мітохондріях кардіоміоцитів, метою нашої роботи було дослідити вплив курсового введення старим щурам екдистерону на чутливість мітохондрій до індукторів МП, зокрема до дії іонів кальцію (Ca^{2+}) та окисника феніларсиноксиду (FAO), а також з'ясувати можливі біохімічні механізми кардіопротекторної дії екдистерону дослідженням його впливу на синтез NO різними

ізоферментами NO-синтаз (nNOS, сNOS, iNOS) у мітохондріях серця старих щурів.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на щурах-самцях лінії Вістар віком 5–6 міс (дорослі) та 24–27 міс (старі), з дотриманням всіх вимог щодо роботи з лабораторними тваринами. Протягом 14 діб перед початком експерименту старим щурам з питною водою вводили екдистерон (по 10 мкг/100 г). Ізольовані мітохондрії, що виділяли методом диференційного центрифугування з серця щурів різного віку [3], досліджували на наступну добу після останнього введення екдистерону.

У мітохондріях серця щурів визначали активність різних ізоферментів NOS – кальційнезалежної iNOS і кальційзалежної nNOS за утворенням цитруліну та виражали у пікомолях NO за 1 хв на 1 мг мітохондріального білка в пробі. Нітратредуктазну активність у мітохондріях визначали за зменшенням вмісту нітрат-аніона в інкубаційному середовищі, аргіназну активність – за утворенню сечовини [6]. Мітохондріальні пули нітрит-аніона визначали за допомогою реактиву Гріса [10], нітрат-аніона – за допомогою бруцинового реактиву [16], високомолекулярних (ВМНТ) та низькомолекулярних (НМНТ) нітрозотіолів – за допомогою модифікованого реактиву Гріса, що містив іони ртуті, необхідні для гідролізу зв'язку S – NO [11]. Інтенсивність окисного метаболізму в мітохондріях серця старих щурів оцінювали за зміною швидкості генерації нестабільного вільного радикала кисню – супероксидного аніон-радикала (O_2^-), змінам вмісту стабільного пероксиду водню (H_2O_2) і пулів дієнових кон'югатів (ДК). Швидкість генерації O_2^- визначали за окисненням цитохрому С [14]. Вміст H_2O_2 вивчали лактопероксидазним методом [12]. Інтенсивність неферментативного вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у мітохондріях серця оцінювали за вмістом ДК – одного з проміжних продук-

тів ПОЛ, використовуючи екстракцію суспензії мітохондрій сумішшю гептану та ізопропанолу (1:1) [2]. Вміст сечовини визначали за допомогою добірки реактивів фірми «Філіст-Діагностика» (Україна). Індекс оксигенації розраховували за формулою: $\text{індекс оксигенації} = [\text{вміст нітрит-аніона}] \cdot 1000 / [\text{вміст нітрат-аніона} + \text{вміст сечовини}]$ і виражали в умовних одиницях.

Дослідження чутливості МП до дії різних індукторів її відкриття – іонів кальцію (кальційіндуковане відкриття) і ФАО (АФК-залежне відкриття) проводили за допомогою спектрофотометричного реєстрування набухання мітохондрій [1, 5]. Специфічність дії індукторів тестували, використовуючи класичний інгібітор МП – циклоспорин А (10^{-5} моль/л). Вміст загального білка мітохондрій визначали методом Бредфорд з використанням барвника *Cumassi G-250* (“Feraк”, Німеччина).

Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням програм *Excell* (MS Office XP) та *Origin 6.0* (“Microcall Inc.”, США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Відомо, що оксидативний стрес в умовах кальцієвого навантаження є одним із найбільш потужних і впливових індукторів

відкриття МП. Курсове введення старим щурам екдистерону достовірно зменшувало кальційіндуковане набухання мітохондрій (рис.1). Так, різниця величини набухання (Δ) мітохондрій серця старих тварин, які отримували екдистерон, у середньому становила 0,15 %, в той час як для старих тварин, яким не давали препарат, вона становила 0,27 %. Кальційіндуковане набухання мітохондрій в обох випадках попереджалося циклоспорином А (10^{-5} моль/л), що є прямим доказом причетності індукції МП до набухання мітохондрій. Однак більш виражену інгібуючу дію циклоспорину А спостерігали саме в мітохондріях серця старих щурів, які отримували екдистерон (див. рис. 1,а,б). Отже, екдистерон не лише зменшував чутливість МП до дії індукторів її відкриття, зокрема іонів кальцію, але й посилював пригнічувальну дію циклоспорину А. Таким чином, механізмами кардіопротекторної дії екдистерону на мітохондрії серця старих щурів може бути як його дія на рівні цитозольного і/або мітохондріального кальцію, так і окисного метаболізму, а саме на рівні генерації АФК у мітохондріях завдяки здатності екдистерону регулювати вміст кальцію в органелах через індукцію мітохондріального вітаміну D – залежного кальційзв’язуючого білка (calbal-

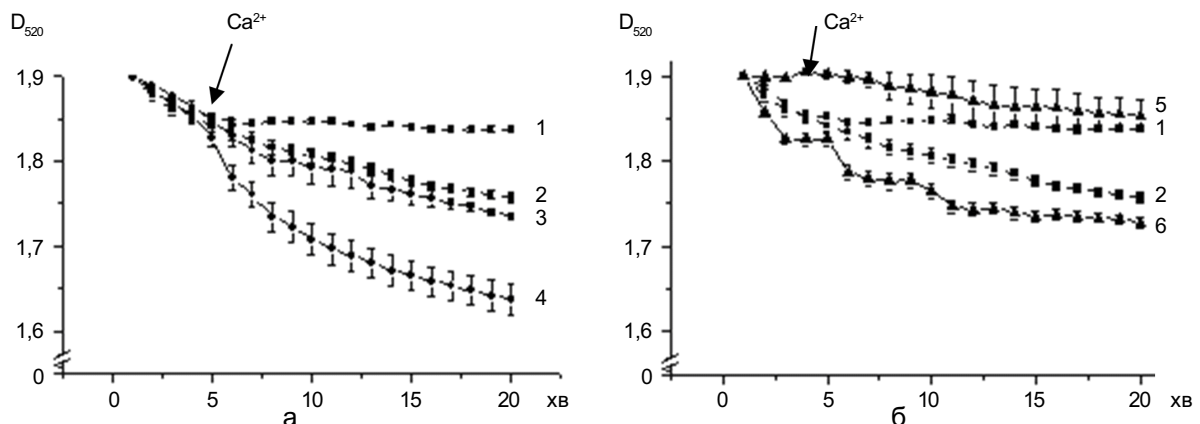


Рис. 1. Дія екдистерону (а) і циклоспорину А (б) на кальційіндуковане набухання мітохондрій серця старих щурів: 1 – екдистерон; 2 – контроль; 3 – кальцій та екдистерон; 4 – кальцій; 5 – кальцій та екдистерон за умов преінкубації з циклоспорином А; 6 – кальцій за умов преінкубації з циклоспорином А

din-D28K) і транспорту кальцію в мітохондрії, а також завдяки його антирадикальній та антиоксидантній дії.

Слід відмітити достовірно, більш ніж удвічі, зменшення величини поглинання ФАО внаслідок індукованого набухання мітохондрій серця старих щурів, які отримували екдистерон (0,17 і 0,36 $\Delta\%$, відповідно) у щурів. Слід зазначити, що циклоспорин А попереджав ФАО-індуковане набухання мітохондрій серця старих щурів лише частково що, згідно з нашими попередніми дослідженнями, є одним із наслідків підвищеної чутливості мітохондрій серця старих щурів до ФАО. Натомість, інгібуюча дія циклоспорину А за умов дії ФАО в мітохондріях серця щурів, які отримували екдистерон протягом 14 діб, повністю відновлювалася до такої, яка притаманна дорослим тваринам (рис. 2).

Таким чином, в основі значної кардіопротекторної дії екдистерону у старих щурів може лежати його інгібуюча дія як на Ca^{2+} (див. рис.1), так і АФК (див. рис.2) індуковане набухання мітохондрій. Кардіопротекторна ефективність екзогенного фітогормону екдистерону в дозі 10 мкг/100 г, що реалізується через інгібувannya МП, виявилася такою самою, як ендогенного гормону мелатоніну в дозі 1,5 мг/кг [5].

Які біохімічні механізми забезпечують реалізацію вперше встановленої нами інгібуючої дії екдистерону на відкриття МП у старих щурів, ще нез'ясовано. З літератури відомо [9], що потужним регулятором (як інгібітором, так і активатором) МП є оксид азоту, в тому числі той, що синтезується безпосередньо в мітохондріях. Ми дослідили, як діє екдистерон на синтез оксиду азоту і пули його стабільних метаболітів у мітохондріях серця старих щурів. Як видно з табл. 1, в мітохондріях серця старих щурів сумарна активність *de novo* синтезу NO, який здійснюється iNOS та cNOS не відрізняється від такої в мітохондріях серця дорослих тварин, але підвищується при введенні екдистерону. Водночас швидкість кальційзалежного конститутивного *de novo* синтезу NO ізоферментом nNOS у мітохондріях серця старих тварин удвічі нижча, ніж у дорослих щурів, причому при введенні екдистерону вона підвищується в 4 рази. При цьому активність кальційнезалежної iNOS з віком у мітохондріях достовірно підвищується (на 50%), а введення екдистерону нормалізує активність ферменту внаслідок його інгібувannya.

Незалежний від L- аргініну реутилізаційний синтез NO в мітохондріях серця

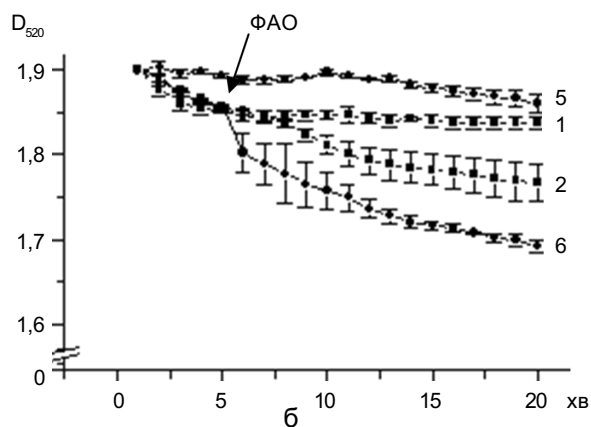
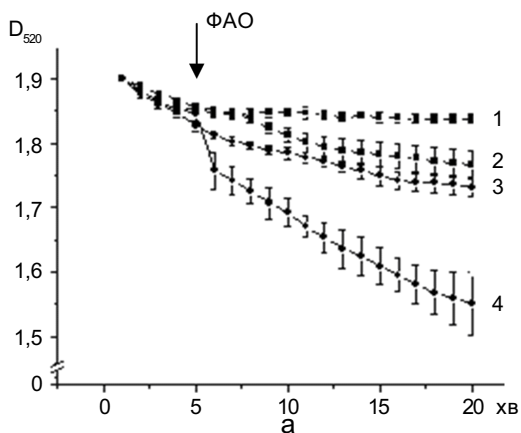


Рис. 2. Дія екдистерону (а) і циклоспорину А (б) на феніларсиноксидіндуковане (ФАО) набухання мітохондрій серця старих щурів: 1 – екдистерон; 2 – контроль; 3 – ФАО та екдистерон; 4 – ФАО; 5 – ФАО та екдистерон за умов преінкубації з циклоспорином А; 6 – ФАО за умов преінкубації з циклоспорином А

Таблиця 1. Вплив курсового введення екдистерону на активність ферментів у мітохондріях серця старих щурів ($M \pm m$; $n = 7-10$)

Група тварин	Мітохондріальна iNOS,	Мітохондріальна cNOS,	Аргіназа II,	Нітратредуктаза,
	пмоль \cdot хв ⁻¹ \cdot мг ⁻¹	пмоль \cdot хв ⁻¹ \cdot мг ⁻¹	нмоль \cdot хв ⁻¹ \cdot мг ⁻¹	нмоль \cdot хв ⁻¹ \cdot мг ⁻¹
Дорослі щури	1,73 \pm 0,14	3,64 \pm 0,27	1,21 \pm 0,12	0,86 \pm 0,05
Старі щури	2,58 \pm 0,33*	1,84 \pm 0,26*	3,33 \pm 0,42*	3,31 \pm 0,82*
Старі щури, яким вводили екдистерон	1,74 \pm 0,15**	7,93 \pm 0,95*,**	0,98 \pm 0,16**	1,43 \pm 0,15*,**

Примітка. В табл. 1–4 * різниця достовірна ($P < 0,05$) відносно значення дорослих щурів, ** відносно старих щурів; результати дослідження перераховано на масу білка.

старих щурів, подібно iNOS, підвищується, про що свідчить збільшення НАДН-залежної нітратредуктазної активності в мітохондріях (див. табл. 1). Екдистерон сприяє зниженню активності цього неконституційного шляху синтезу оксиду азоту, який може здійснюватися різними ферментами, локалізованими в мітохондріях, наприклад цитохром-С-оксидазою або ксантинооксидазою.

Пули стабільних метаболітів NO, які вірогідно можуть бути донорами NO, в мітохондріях старих щурів змінюються порізно (табл. 2): вміст ВМНТ збільшується, тоді як вміст НМНТ і нітрит-, але не нітрат-аніонів, навпаки, знижуються. При введенні екдистерону спостерігали нормалізувальний його вплив на зміни внутрішньомітохондріальних пулів стабільних метаболітів NO.

Крім оксиду азоту та інших активних його метаболітів, потужними регуляторами, зокрема активаторами та інгібіторами МП, є активні метаболіти кисню. Оцінюючи показники, що характеризують інтенсивність вільнорадикальних процесів у мітохондріях серця старих щурів (табл. 3), було

встановлено, що у останніх швидкість генерації $\cdot O_2$ майже втричі вища, ніж у дорослих тварин. Вміст стабільного H_2O_2 , що утворюється за дії марганецьзалежної супероксиддисмутази (MnSOD) у мітохондріях серця старих щурів, також достовірно підвищується у порівнянні зі значеннями у дорослих тварин. При цьому вміст ДК також достовірно підвищується порівняно з контролем, що підтверджує відому вікову інтенсифікацію процесів ПОЛ в мітохондріях внаслідок спонтанного перетворення H_2O_2 на $\cdot OH$ -радикал за наявності вільного негемового заліза.

Курсове введення екдистерону частково нормалізувало окисний метаболізм внаслідок інгібування генерації $\cdot O_2$ в мітохондріях серця старих щурів і його ферментативного перетворення в H_2O_2 , однак останнє не було достовірним, хоча вміст ДК достовірно знижувався в мітохондріях серця старих щурів, яким давали екдистерон (див. табл. 3). Це свідчить на користь інгібування екдистероном спонтанного утворення $\cdot OH$ із H_2O_2 в мітохондріях.

Таблиця 2. Вплив курсового введення екдистерону на вміст активних форм азоту в мітохондріях серця старих щурів ($M \pm m$; $n = 7-10$)

Група тварин	NO ₂ ⁻ , пмоль/мг	NO ₃ ⁻ , нмоль/мг	Нітрозотіоли, пмоль/мг	
			низькомолекулярні	виськомолекулярні
Дорослі щури	126,0 \pm 17,2	76,3 \pm 4,1	130,4 \pm 27,0	411,4 \pm 38,5
Старі щури	39,4 \pm 5,0*	89,4 \pm 9,3	23,2 \pm 3,2*	735,2 \pm 84,9*
Старі щури, яким вводили екдистерон	69,6 \pm 12,7*	72,0 \pm 9,6	102,7 \pm 13,1**	499,8 \pm 51,2**

Таблиця 3. Вплив курсового введення екдистерону на показники, що характеризують інтенсивність вільнорадикальних процесів у мітохондріях серця старих щурів (M±m; n = 7-10)

Група тварин	·O ₂ ⁻ , нмоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹	H ₂ O ₂ , пмоль · мг ⁻¹	Дієнові кон'югати, нг · мг ⁻¹
Дорослі щури	47,1 ± 7,5	12,2 ± 1,6	3,60 ± 0,25
Старі щури	137,2 ± 18,5*	24,0 ± 2,7*	38,12 ± 2,55*
Старі щури, яким вводили екдистерон	45,7 ± 7,0**	18,9 ± 1,6*	13,29 ± 1,50*,**

Парадоксальним є той факт, що значне (більш ніж утричі) підвищення активності аргінази II у мітохондріях серця старих щурів (див. табл. 1) не супроводжується відповідним збільшенням внутрішньомітохондріальних пулів сечовини (табл. 4). Як відомо, сечовина є одним із продуктів аргіназної реакції разом із орнітином, який у мітохондріях переважно метаболізується в глютамінову кислоту. Нещодавно встановлено здатність фізіологічних концентрацій сечовини карбаміювати різні білки та пептиди, що призводить до зміни їх властивостей. Не виключено, що підвищення чутливості МП до її індукторів у серці старих щурів частково опосередковується саме процесом карбаміювання певних білків цього надзвичайно складного мультибілкового комплексу. В такому разі, пригнічувальна дія екдистерону щодо активності мітохондріальної аргінази (див. табл. 1) може бути ще одним механізмом в його кардіопротекторній дії, яка реалізується через інгібування МП. Слід припустити можливість у мітохондріях конкуренції за спільний субстрат – L-аргінін між мітохондріальною аргіназою II і nNOS, які використовують спільний внутрішньомітохондріальний пул L-аргініну. Слід відмітити, що

iNOS використовує інший пул аргініну, що утворюється внаслідок реутилізації цитруліну. В такому разі, інгібування аргінази екдистероном може бути однією з причин значної активації конститутивного de novo синтезу NO мітохондріальною NOS у мітохондріях серця старих щурів, що отримували екдистерон.

Отже, курсове введення екдистерону старим щурам сприяє зменшенню чутливості МП до Ca²⁺- та АФК-індукованого її відкриття внаслідок ефективного, як і на рівні дії потужного антиоксиданта мелатоніну [5], інгібування екдистероном активованого неконститутивного (індуцибельного і відновного) синтезу оксиду азоту та генерації АФК, в нашому випадку ·O₂⁻ і H₂O₂ у мітохондріях серця старих щурів. Така дія екдистерону реалізується внаслідок відновлення пригніченого L-аргінінзалежного конститутивного de novo синтезу NO мітохондріальним ізоферментом мітохондріальною sNOS. Також за допомогою інгібування як аргінінзалежного, так і аргініннезалежного синтезу NO в мітохондріях та зменшення інтенсивності генерації супероксиду та його перетворення в ·OH і аргіназної активності в мітохондріях серця старих щурів. Отримані результати пере-

Таблиця 4. Вплив курсового введення екдистерону на біохімічні показники і їх співвідношення в мітохондріях серця старих щурів (M±m; n = 7-10)

Група тварин	Сечовина, нмоль/мг	Індекс оксигенації, ум. од.	Аргіназа II/NOS, ум. од.	Нітратредуктаза/NOS, ум. од.
Дорослі щури	6,39 ± 0,47	1,52 ± 0,10	392,9 ± 25,2	160,1 ± 21,7
Старі щури	5,21 ± 0,61	0,42 ± 0,07*	1884,6 ± 136,7*	748,9 ± 92,5*
Старі щури, яким вводили екдистерон	2,98 ± 0,36*,**	0,94 ± 0,07*,**	101,3 ± 13,6*,**	147,9 ± 16,2**

конливо свідчать про те, що екдистерон має властивості інгібітора МП і може бути використаний в подальших експериментах з метою корекції та усунення мітохондріальних порушень, пов'язаних з дисфункцією цих органел при старінні внаслідок зниження чутливості відкриття МП до дії екзогенних та ендогенних індукторів апоптозу. Можливим механізмом регуляторної дії екдистерону може бути його взаємодія з естрогеновим широкою специфічності рецептором, експонованим на зовнішній мітохондріальній мембрані, внаслідок чого протеїнкіназа В може активуватися, призводячи до суперактивації мітохондріальної cNOS.

V.F. Sagach, Yu.P. Korkach, A.V. Kotsuruba, O.V. Rudyk, G.L. Vavilova

MITOCHONDRIAL PERMEABILITY TRANSITION PORE OPENING INHIBITION BY ECDYSTERONE IN HEART MITOCHONDRIA OF AGING RATS

Nitric oxide reacts rapidly with superoxide to produce the potent oxidant peroxynitrite. In vivo mitochondria produce superoxide as well as NO. In heart mitochondria of aging rats the amount of NO and $\cdot\text{O}_2^-$ are increased thus the levels of peroxynitrite produced may be increased too, in this reason mitochondria may be a major site of peroxynitrite formation. Oxidative stress induces cyclosporine A-sensitive mitochondrial efflux of calcium and proapoptotic factors through MPTP (mitochondrial permeability transition pore) opening in heart mitochondria which may contribute to tissue damage and mitochondrial dysfunction in aging rats. We tested the levels of NO and superoxide generation in mitochondria simultaneously with cyclosporine A-sensitive MPTP opening by Ca^{2+} and phenylarsine oxide (PAO) to determine whether down-regulation of both NO and $\cdot\text{O}_2^-$ generation in heart mitochondria by potent steroid antioxidant and free radical scavenger ecdysterone may protect heart mitochondria of aging rats against tissue damage. C_{27} -phytosteroid hormone ecdysterone (10mg/100g, per os, 2 weeks) mimics action of its structural analog C_{27} -steroid hormone calcitriol ($1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D_3) and exert its cardio protection in aging heart mitochondria by inhibition of MPTP opening with effectivity of action of hormone melatonin (150mg/100g, 2 weeks [V.F.Sagach et al. Fyziol. J (Ukr), 2006, 52(2), 3-15]). MPTP inhibition is dependent on paradoxically high activation by ecdysterone of oxidative degradation of L-arginine by mtcNOS in mitochondria, by down-regulation of superoxide generation and L-arginine degradation by arginase II and NO generation by mtiNOS in de novo and

by NADP-dependent mtNR (nitrate reductase) in salvage pathways. These results suggest that MPTP opening may be directly influenced by ecdysterone signaling in mitochondria. The signaling pathway by which ecdysterone may coregulate the $\cdot\text{O}_2^-$ and NO generation in heart mitochondria of aging rats may involve an outer mitochondrial membrane estrogen receptor coupled to mitochondrial PI3K/Akt/PKB activation results in superactivation and constitutive NO synthesis by mtcNOS.

O.O. Bogomolets Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;

O.V. Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Вавілова Г.Л., Струтинська Н.А., Коцюруба А.В., Сагач В.Ф. Чутливість феніларсиноксидиндікованого відкриття мітохондріальної пори в серці старих щурів за умов впливу на них інтервальних гіпоксичних тренувань // Фізіол. журн. – 2004. – **50**, № 5. – С.29–37.
2. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара И.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов // Лаб. дело. – 1988. – №2. – С.60–64.
3. Костерин С.А., Браткова Н.Ф., Курский М.Д. Роль сарколеммы и митохондрий в обеспечении кальциевого контроля расслабления миомерия // Биохимия. – 1985. – **50**, №8. – С.1350–1361.
4. Коцюруба А.В., Коркач Ю.П., Рудик Е.В. и др. Эффективность екдистерона как ингибитора МРТ в митохондриях сердца старых крыс; кардиопротекция путем коррекции окислительного (de novo) и восстановительного (salvage) путей синтеза NO в митохондриях: Материалы Междунар. симпоз. «Активные формы кислорода, азота и хлора в регуляции клеточных функций в норме и патологии» (28–29 сент. 2006 г., Гродно). – Ч.1. – С.157–162.
5. Сагач В.Ф., Рудик О.В., Вавілова Г.Л. та ін. Мелатонін відновлює ішемічну толерантність та зменшує чутливість відкриття мітохондріальної пори в серці старих щурів // Фізіол. журн. – 2006. – **52**, № 2. – С.3–15.
6. Шугалей В.С., Козина А.С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклиматизации к холоду // Физиол. журн. СССР. – 1977. – № 8. – С. 1199–1202.
7. Afanas'ev I.B. Signaling functions of free radicals superoxide and nitric oxide under physiological and pathological conditions // Mol. Biotechnol. – 2007. – **37**, №1. – P. 2–4.
8. Di Lisa F., Bernardi P. Mitochondrial function and myocardial aging. A critical analysis of the role of permeability transition // Cardiovascular. Res. – 2005. – **66**, №2. – P.222–232.
9. Davidson S.M., Duchon M.R. Effects of NO on mitochondrial function in cardiomyocytes: Pathophysiologi-

- cal relevance // Cardiovascular. Res. – 2006. – **71**, №1. – P.10–21.
- 10.** Green L.L., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids // Anal. Biochem. – 1982. – **126**, № 1. – P.131–138
- 11.** Gerdel D., Cederbaum A.J. Inhibition of the catalytic activity of alkoholdehydrogenase by NO is associated with S-nitrosylation and the release of zinc // Biochemistry. – 1996. – **35**, № 50. – P.16186–16194
- 12.** Huwiler M., Kohler H. Pseudo-catalytic degradation of hydrogen peroxide in the lactoperoxidase/H₂O₂/iodide system // Eur. J. Biochem. – 1984. – **141**, №1. – P. 69–74.
- 13.** Kakkar P. Singh BK. Mitochondria: a hub of redox activities and cellular distress control // Mol. Cell. Biochem. – 2007. – **305**, №1–2. – P. 235–253.
- 14.** Kuthan H., Ullrich U., Estabrook R.W. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // Biochem. J. – 1982. – **203**, №3. – P. 551–558.
- 15.** Lafont R., Dinan L. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: and update // J. Insect Sci. – 2003. – **3**, №7. – P.1–30.
- 16.** Jsukahara H. Effect of NOS inhibitions on bone metabolism in growing rats // Amer. J. Physiol. – 1996. – **270**, №5. – P. 840–845.
- 17.** Petrossilo G., Di Venosa N., Pistolese M. et al. Protective effect of melatonin against mitochondrial dysfunction associated with cardiac ischemia- reperfusion: role of cardiolipin // FASEB J. – 2006. – **20**, №2. – P. 269–276.
- 18.** Zoratti M., Szabo I., De Marchi U. Mitochondrial permeability transitions: how many doors to the house? // Biochim. and Biophys. Acta. – 2005. – **1706**, №1–2. – P.40–52.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ;
Ин-т біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ
Ruba@biochem.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до
редакції 05.02.2008*