

А.С. Жуковська, А.М. Шиш, О.О. Мойбенко

Вплив ω -3 поліненасичених жирних кислот на дихання та набухання мітохондрій серця при експериментальному цукровому діабеті

У роботі вивчали вплив ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) на дихання, набухання мітохондрій серця щурів і жирнокислотний склад у гомогенатах тканини серця при цукровому діабеті (ЦД), який моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням 55 мг/кг стрептозотоцину. Виявлено, що застосування цих кислот підвищувало значення показника активного дихання мітохондрій V_3 на 63,7 %, контролюваного дихання V_4 на 30,7 % і швидкості фосфорилювання на 18,9 % у тварин з стрептозотоциніндукованим ЦД. При цьому доведено їх здатність зменшувати набухання мітохондрій серця. Крім того, встановлено зміни жирнокислотного складу клітинних мембрани сердець за умов діабету під впливом ω -3 ПНЖК. Отримані результати дають змогу зробити висновок, що останні позитивно впливають на функціональні показники мітохондрій, внаслідок стабілізації клітинних мембрани серця щурів з ЦД.

Ключові слова: серце, мітохондрії, ω -3 поліненасичені жирні кислоти, цукровий діабет.

ВСТУП

Велика розповсюдженість захворювань на цукровий діабет (ЦД) в українській популяції (більш як 1 млн 200 тис. хворих) і значна смертність від його ускладнень зумовлює необхідність подальшого дослідження патогенетичних механізмів розвитку уражень різних органів.

Найбільшу увагу при ЦД привертують порушення діяльності серцево-судинної системи [5, 10]. Вважається, що існує декілька механізмів, які зумовлюють зв'язок між діабетом і патологією діяльності останньої, а саме: порушення функції ендотелію, що можливо пов'язано з негативним впливом гіперглікемії на експресію та активність ендотеліальної NO-сінтази (eNOS) [30], активація вільнорадикальних процесів – збільшення утворення супероксиду, порушення функції АТФ-залежних калієвих каналів [4, 7]. Усе це підвищує чутливість тканин до ішемічного пошкод-

ження та суттєво змінює діастолічну складову та насосну функцію серця, що зрештою призводить до діабетичної кардіоміопатії.

Останнім часом деякі дослідники звертають увагу також на зміни жирнокислотного складу мембрани кардіоміоцитів при стрептозотоциніндукованому ЦД [24, 28]. На цій моделі діабету було продемонстровано значне зниження вмісту ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) у фосфоліпідах серця і порушення співвідношення ω -6/ ω -3 ПНЖК у бік збільшення перших. Додавання до раціону препаратів ω -3 ПНЖК може відновлювати порушене співвідношення ω -6/ ω -3 ПНЖК і сприяти зниженню ризику серцево-судинних ускладнень при ЦД. Нині відомі поодинокі дослідження, зокрема праця Ovide-Bordeaux і співавт. [25], де показано зміну не тільки жирнокислотного складу клітинних мембрани кардіоміоцитів, а також мембрани мітохондрій серця під дією стрептозотоцину. При цьому спостерігалося підвищення

вмісту ω -6 і зниження ω -3 ПНЖК. Проте у іншому дослідженні не виявлено статистично значимої різниці жирнокислотного складу у нормальніх і «діабетичних» мітохондріях, виділених з серця [16]. Ці суперечливі дані дають підґрунття для подальших досліджень зміни жирнокислотного складу мембрани мітохондрій при ЦД. Небагато відомо про порушення функцій мітохондрій за умов цієї патології. Зокрема описані зміни показників дихання та набухання цих органел при стрептозотоциніндукованому ЦД [31]. Показано, що високий рівень окиснення жирних кислот у серці при цьому захворюванні значно підвищує його потребу в кисні [25]. Однак серед літературних джерел нам не вдалося виявити грунтовних досліджень, які описують роль ω -3 ПНЖК у порушенні дихання та набухання ізольованих з серця мітохондрій при експериментальному ЦД.

Мета нашої роботи – вивчити вплив ω -3 ПНЖК на функцію мітохондрій за даних умов, а саме на показники дихання, набухання ізольованих мітохондрій серця щурів та жирнокислотний склад клітинних мембран серця при стрептозотоциніндукованому ЦД.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на щурах-самцях лінії Вістар масою 140–200 г, віком 3 міс. ЦД моделювали одноразовим введенням стрептозотоцину (“Sigma”, США). Препарат розводили 0,1-молярним цитратним буфером (рН 4,5) і вводили тваринам внутрішньоочеревинно із розрахунку 55 мг/кг. Розвиток гіперглікемії контролювали за підвищеннем вмісту глюкози в крові, який вимірювали за допомогою стандартного набору (глюкометр і тест-смужки Accu-Chek Active, «Roche», Німеччина). Дослідження проводили на тваринах, вміст глюкози яких перевищував 14 ммоль/л. У роботі використовували 3 групи тварин: I – контрольні щури, (n=21), II – щури з ЦД (n=11), III – щури, яким після підтвердження зростан-

ня вмісту глюкози в крові почали давали препарат епадол протягом 4 тиж у дозі 0,1 мг/100 г маси тіла (n=18). Епадол містить 45 % ω -3 ПНЖК тваринного походження (суміш ейкозапентаенової і докозагексаенової кислот з риб'ячого жиру). Після декапітації швидко вилучали серця, вміщували їх у льодяний 0,9%-й розчин KCl до зупинки серця.

Мітохондрії виділяли з серця за методом диференційного центрифугування в середовищі виділення наступного складу (ммоль/л): сахароза – 250, тріс-HCl – 20, EGTA – 1 (рН 7,2-7,4) та 0,5%-го бичачого сироваткового альбуміну. Дихання і окисне фосфорилювання в мітохондріях вивчали полярографічним методом із використанням закритого електрода Кларка та прилада оксиграф (“Hansatech”, Велика Британія). Середовище інкубації ізотонічного складу містило (ммоль/л): KCl – 120, тріс-HCl – 25, KH_2PO_4 – 3, сукцинат Na – 5 (рН 7,2–7,4) [3]. Як субстрат окиснення використовували сукцинат 10 ммоль/л. Активне дихання ізольованих мітохондрій індукували додаванням 200 мкмоль/л АДФ. На отриманих полярограмах (рис. 1) обчислювали: швидкість дихання у стані відносного спокою (V_2), швидкість фосфорилюваного та контрольованого дихання за Чансом у метаболічних станах 3 (V_3) і 4 (V_4), коефіцієнт дихального контролю (V_3/V_4), коефіцієнт ефективності фосфорилювання (АДФ/О) та швидкість фосфорилювання (V_ϕ). Концентрацію білка визначали за методом Louri.

Дослідження набухання мітохондрій проводили спектрофотометричним методом. Сусpenзію мітохондрій поміщали у 1 мл інкубаційного середовища ізотонічного складу (ммоль/л): KCl – 120, тріс-HCl – 25, KH_2PO_4 – 3, сукцинат Na – 5 (рН 7,2–7,4) та за допомогою спектрофотометра реєстрували зниження оптичної густини ізольованих мітохондрій до (за 5 хв) і після (через 10 хв) дії розчину CaCl_2 при $\lambda=520$ нм. Набухання мітохондрій індукували додаванням CaCl_2 (кінцева концентрація 10^{-4} моль/л). Концентрація білка становила

0,4 мг/мл. Як контроль використовували суспензію мітохондрій в інкубаційному середовищі за відсутності індуктора, оптичну густину реєстрували при $\lambda=520$ нм протягом 15 хв. Для підтвердження того, що набухання відбулося внаслідок відкривання мітохондріальної пори, пробу перед додаванням індуктора додатково інкубували 5 хв з класичним інгібітором – циклоспорином А 10^{-5} моль/л («Fluka», Швеція).

Вміст жирних кислот у гомогенатах тканини серця визначали методом газової хроматографії. Гомогенат тканини серця переносили в мірну пробірку і заливали екстрагуючою сумішшю, далі проводили гідроліз і метилювання вищих жирних кислот фосфоліпідів тканин, двічі екстрагували метильовані жирні кислоти гексан-ефірною сумішшю і аналізували спектр жирних кислот на хроматографі серії „Цвет-500”. Кількісну оцінку спектра жирних кислот фосфоліпідів виконували за методом нормування вимірюванням площи піків метильованих похідних жирних кислот і визначення їх складу у відсотковому співвідношенні до загального вмісту жирних кислот, який приймали за 100 %.

Експериментальні результати обробляли з використанням критерію t Стьюдента та програми Origin.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При розвитку експериментального ЦД вміст глюкози у крові щурів достовірно збільшувався. Так, через 4 тиж у крові щурів II групи він становив 33 ммоль/л \pm

0,01 ммоль/л ($P<0,05$), у контролі (І група) – 7,8 ммоль/л \pm 0,2 ммоль/л. Застосування ω-3 ПНЖК (ІІІ група) призводило до «пом’якшення» гіперглікемії (19,2 ммоль/л \pm 2,7 ммоль/л, $P<0,05$). Слід відмітити, що у тварин з розвиненим ЦД знижувалася маса тіла (177,5 г \pm 8 г щодо контролю 232,85 г \pm 6,15 г, $P<0,05$), а отримання ω-3 ПНЖК запобігало цьому (219,7 г \pm 12,65 г, $P<0,05$). У мітохондріях серця щурів дещо знижувався вміст білка. Водночас при вживанні препарату ω-3 ПНЖК він відновлюється майже до контрольного рівня (табл. 1).

Розвиток ЦД (ІІ група) призводив до суттєвого збільшення вмісту арахідонової кислоти, що досить негативно, (на 71 %, $P<0,05$) та деякого зменшення α-ліноленової кислоти порівняно з контролем. Вміст насычених і ненасичених жирних кислот змінювався різнонаправлено: лінолевої, пальмітинової і олеїнової дещо зменшувався, а стеаринової незначно збільшувався (табл. 2).

Застосування епадолу у тварин ІІІ групи змінює жирнокислотний склад гомогенату тканини серця. Поряд зі збільшенням вмісту α-ліноленової кислоти більш ніж удвічі (на 157,2 %) значно зменшився вміст арахідонової кислоти (на 28,8 %; $P<0,05$; див. табл. 2). Вміст інших насычених жирних кислот під впливом дієти, збагаченої ω-3 ПНЖК, змінювався різноспрямовано та менш виражено. Встановлено статистично значиме підвищення вмісту суми насычених жирних кислот, мононенасиченої – олеїнової, поліненасиченої лінолевої кислоти в

Таблиця 1. Загальні показники досліджуваних груп щурів

Показники	Контроль (І група, n=21)	Цукровий діабет (ІІ група, n=11)	Цукровий діабет і ω-3 ПНЖК (ІІІ група, n=18)
Маса тіла, г	232,85 \pm 6,15	177,5 \pm 8*	219,7 \pm 12,65**
Глюкоза в крові, ммоль/л	7,8 \pm 0,2	33 \pm 0,01*	19,2 \pm 2,7**
Вміст білка в мітохондріях, мг/мл	1,5 \pm 0,17	1,3 \pm 0,1	1,6 \pm 0,1

Примітка. Тут і в табл. 2 і 3 *вірогідно у порівнянні з контролем, ** вірогідно у порівнянні з цукровим діабетом; $P<0,05$.

Таблиця 2. Вміст (%) жирних кислот у гомогенаті тканини міокарда щурів при цукровому діабеті та за впливу ω -3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК)

Жирні кислоти	Контроль (І група)	Цукровий діабет (ІІ група)	Цукровий діабет і ω -3 ПНЖК (ІІІ група)
Пальмітинова 16:0	18,45±0,4	14,45±0,5*	19±1,1**
Стеаринова 18:0	12,4±0,4	14,3±0,7	13,9±0,5
Олеїнова 18:1	9,9±0,35	7,3±0,35*	8,7±0,7
Лінолева 18:2	24,27±1,0	17,2±1,4*	19,5±1,8
α -ліноленова 18:3	0,4±0,1	0,35±0,05	0,9±0,3
Арахідонаова 20:4	23,42±0,93	40,15±1,7*	28,6±3,5**
Σ Жирних кислот			
насичених	36,7±1,4	34,95±0,6	42,2±2,4**
ненасичених	63,3±1,4	65,05±0,6	57,8±2,4**
поліненасичених	48,09±1,2	57,45±0,8*	49,1±2,9**

гомогенатах тканини серця. Слід відмітити суттєве збільшення вмісту ω -3 ПНЖК, зокрема α -ліноленою кислотою в ІІІ групі тварин. Більшістю дослідників зазначається, що жирні кислоти, які вбудовуються в мембрани внаслідок отримання тваринами ω -3 ПНЖК можуть змінювати такі внутрішньоклітинні та мембрани функції, як потік іонів, транспорт електронів, активність мембраних ферментів, функції рецепторів і внутрішньоклітинних вторинних месенджерів. Так, Holguin і співавт. показали, що збагачення раціону α -ліноленою кислотою покращує автономну функцію серця і має антиаритмічний вплив [17]. Раніше Шиш та співавт. засвідчено,

що зниження вмісту арахідової кислоти сприяє зменшенню кількості прозапальних цитокінів, тромбозу, набряку, вазоконстрикції коронарних судин, ішемічних та аритмогенних реакцій [2]. Також є відомості, що використання ω -3 ПНЖК може сприяти більш ефективному використанню кисню і утилізації енергії через активацію метаболічного резерву серця [25].

Проведені нами дослідження показали, що при ЦД спостерігається зниження рівня АДФ-стимульованого дихання мітохондрій міокарда за умов окиснення сукцинату (табл. 3) у порівнянні з групою контролю (рис. 1, а). Вірогідно знижувалися значення показників V_3 (на 41,12 %) і V_4 (на 40,4 %)

Таблиця 3. Показники АДФ-стимульованого дихання мітохондрій міокарда при цукровому діабеті за наявності в середовищі інкубації сукцинату в різних функціональних станах

Показники	Контроль (І група, n=21)	Цукровий діабет (ІІ група, n=11)	Цукровий діабет і ω -3 ПНЖК (ІІІ група, n=18)
Швидкість дихання, нмоль $O_2 \cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$ білка у стані			
відносного спокою (V_2)	50,1±4	47,3±3,9	53,7±4,4
фосфорильованого (V_3)	130,1±12,8	76,6±6,6*	125,4±12,4**
контрольованого (V_4)	36,6±5,3	21,8±4*	28,5±2,4
Дихальний контроль (V_3/V_4)	3,70±0,41	3,45±0,35	4,2±0,3
Коефіцієнт ефективності фосфорилювання (АДФ/О)	1,59±0,05	1,24±0,077*	1,56±0,082**
Швидкість фосфорилювання, мкмоль АДФ $\cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$ білка (V_{ϕ})	113,3±10,3	70,2±14,2*	83,45±11

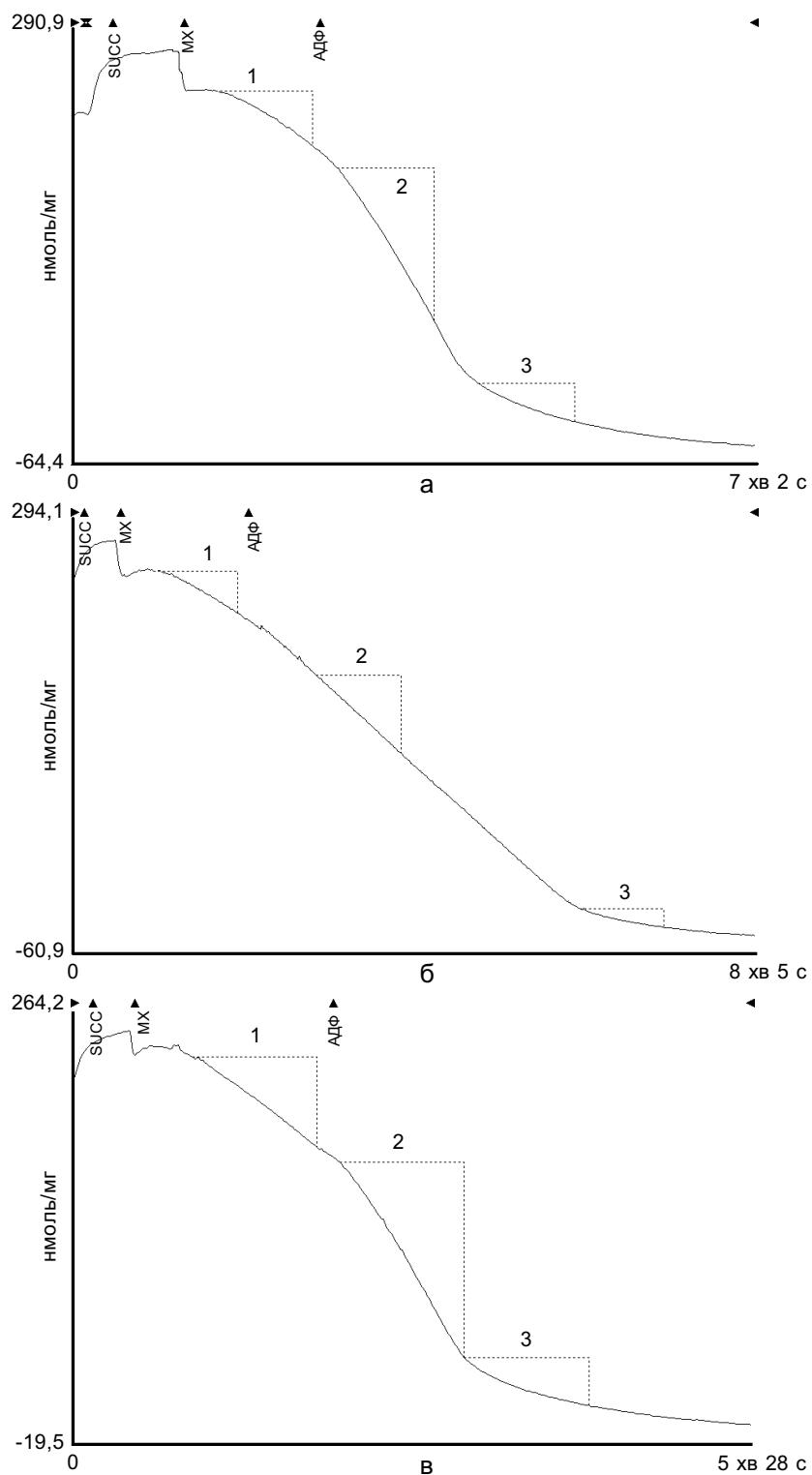


Рис. 1. Зміни показників АДФ-стимульованого дихання в мітохондріях контрольної групи (а), щурів з цукровим діабетом (б), тварин, що при цукровому діабеті отримували ω -3 поліненасичені жирні кислоти (в) за наявності в середовищі інкубації сукцинату: 1 – швидкість дихання у стані V_2 , 2 – швидкість дихання у стані V_3 , 3 – швидкість дихання у стані V_4

відповідно, та V_{ϕ} (на 38,04%) і зменшення коефіцієнта АДФ/О (на 22 %) порівняно зі значеннями, отриманими для I групи тварин. Розвиток ЦД призводив до деякого зниження, на рівні тенденції, значень V_2 та V_3/V_4 у тварин II групи порівняно з контролем. Після отримання щурами ω -3 ПНЖК відмічено статистично значиме підвищення показників V_3 (на 63,7 %) і V_{ϕ} (на 18,9 %) та V_4 (на 30,7 %). А показники V_2 та V_3/V_4 майже не зазнавали змін порівняно зі значеннями при ЦД (див. рис. 1б,в).

Таким чином, у наших експериментах підтверджено порушення біоенергетичних функцій мітохондрій серця при стрептозотоциніндукованому ЦД. Вважають, що вони полягають в перевазі використання жирних кислот порівняно з глюкозою при синтезі енергії в серці, зниженні споживання кисню мітохондріями і збільшенні потреби в ньому [15]. Нами показано зниження V_3 і V_4 за Чансом та V_{ϕ} , що може свідчити про уповільнення процесу утворення АТФ у мітохондріях серця [25], а також зменшення ефективності споживання кисню мітохондріями згідно зі значенням співвідношення АДФ/О. Наші результати узгоджуються з даними інших дослідників, в яких виявлено порушення засвоєння кисню, як наслідок оксидативного стресу при ЦД [13, 14]. Один з механізмів, який може пояснити ці порушення – розвиток, так званої, псевдогіпоксії [15]. Автори вважають, що остання виникає через порушення функціонування дихального ланцюга, а саме його другого комплексу – сукцинатдегідрогенази, у серцях при ЦД погіршується функція утилізації кисню, кардіоміоцити починають страждати від дефіциту енергії і серце активує механізми ендогенної кардіопротекції. При цьому спостерігається функціональне ремоделювання мітохондрій, зміна фізичних і хімічних властивостей мітохондріальних мембрани і значне зниження подачі кисню до кардіоміоцитів. Водночас Mazumder і співавт. доводять, що ЦД

викликає роз'єднання окиснення і фосфорилювання мітохондрій, що відображає співвідношення V_3/V_4 [20]. А за нашими результатами при стрептозотоциніндукованому ЦД (II група) цей показник майже не відрізняється від контролю (I група).

Додавання до раціону ω -3 ПНЖК посилило стійкість сердець за умов ЦД до порушень біоенергетичних функцій мітохондрій серця щурів, які виникили при стрептозотоциніндукованому ЦД. ω -3 ПНЖК (III група) викликають вірогідне збільшення V_3 та V_{ϕ} , практично не впливаючи на V_3/V_4 і наближаючи до контрольних значення коефіцієнта АДФ/О мітохондрій серця щурів з ЦД. З літературних даних відомо, що експозиція кардіоміоцитів з довголанцюговими жирними кислотами викликає пригнічення окиснення жирних кислот і активує GLUT 4 (білок-транспортер глюкози), що сприяє посиленню транспорту глюкози [20]. Суттєву роль також може відігравати активація ферменту карнітин-пальмітоїлтрансферази 1, яка опосередковує транспорт довголанцюгових жирних кислот через мембрани мітохондрій. Адже описано зниження її активності при ЦД, що сприяє переключенню окиснення глюкози на жирні кислоти у міокарді і як наслідок призводить до зниження ефективності роботи серця [20]. Оскільки відомо, що при утворенні АТФ з глюкози серце потребує менше кисню, ніж при продукції її із жирних кислот. З'ясовано, що при стрептозотоциніндукованому ЦД пригнічується і активність ферменту Δ 6-десатурази, що перешкоджає включенням докозагексаенової кислоти до мембрани фосфоліпідів. Проте в разі введення її до раціону харчування, вона компенсує пригнічену активність ферменту через посилену інкорпорацію кислоти в мембрани серця, в тому числі – мітохондрій. Результати наших досліджень корелюють з даними про підвищення чутливості до інсуліну, що підтверджується вірогідним зниженням вмісту глюкози крові

в 1,7 раза і узгоджуються з літературними відомостями [25]. Також відомо, що при ЦД 1-го типу в мітохондріях спостерігається низька активність ферменту сукцинатдегідрогенази [16]. Це підтверджено в нашому досліді вірогідним зниженням значення V_3 із використанням як субстрату окиснення сукцинату – головного учасника II комплексу електронного транспортного ланцюга. Застосування ω-3 ПНЖК привело до вірогідного збільшення значення V_3 . Припускаємо, що це можливо через активацію сукцинатдегідрогенази. Відомо, що сукцинат є ФАД-залежним субстратом, а при стрептозотоциніндукованому ЦД спостерігається виснаження запасів НАД. Тому для з'ясування ролі НАД-залежного дихання мітохондрій міокарда при ЦД у подальших дослідженнях буде оцінено показники дихання мітохондрій серця щурів за умов даної патології та при додаванні ω-3 ПНЖК з використанням НАД-залежних субстратів.

На підтвердження отриманих результатів ми також дослідили вплив ω-3 ПНЖК на набухання ізольованих мітохондрій серця щурів. На рис. 2 зображене харак-

терні графіки реєстрації набухання мітохондрій з сердець дослідних тварин за контрольних умов, без дії індукторів. Нами показано, що у групі з ЦД підвищується величина набухання мітохондрій як контрольного показника, так і кальційіндукованого на 93,75 ($P<0,05$) та 11,18 % відповідно в порівнянні з контролем (рис. 3). Слід зазначити, що попередня інкубація мітохондрій з циклоспорином А за умов дії кальцію попереджувала їх набухання. Оскільки набухання мітохондрій є одним з показників відкривання мітохондріальної пори, можемо припустити, що набухання мітохондрій, яке ми спостерігали при ЦД може бути пов'язане з ним.

Обґрунтовуючи наші результати зазначимо, що в міокарді діабетичного серця зростають прояви стресу ендоплазматичного ретикулума, який призводить до набухання мітохондрій через відкривання мітохондріальної пори. Так, Miki i співавт. було встановлено підвищення експресії маркерів стресу ендоплазматичного ретикулума – білків GRP78, GRP94 у міокарді щурів з ЦД [22]. У деяких інших сучасних

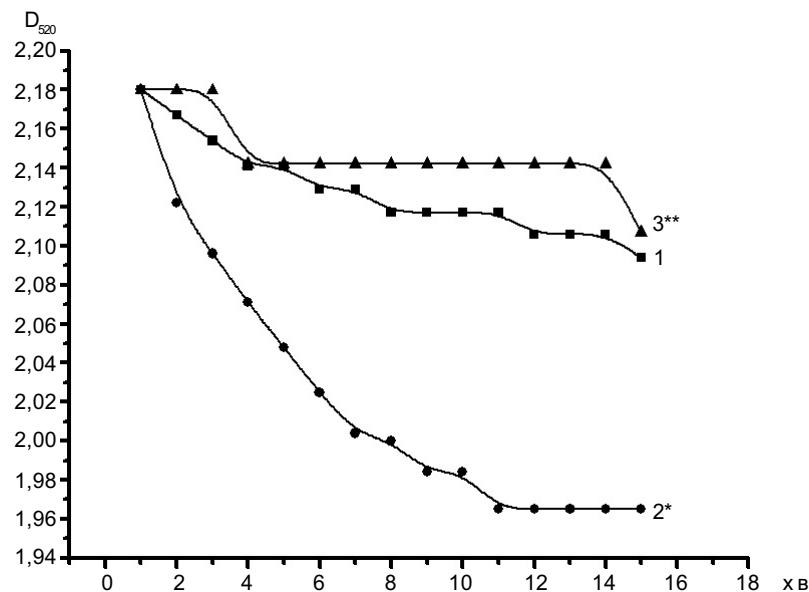


Рис. 2. Часова залежність світлопоглинання мітохондрій, виділених з сердец тварин з діабетом та за умов впливу ω-3 поліненасичених жирних кислот (ПНЖК): 1 – I група (контроль), 2 – II група цукровий діабет (ЦД), 3 – III група (ω-3 ПНЖК на фоні ЦД); * вірогідно у порівнянні з контролем, ** у порівнянні з ЦД; $P<0,05$

дослідженнях також показано порушення кальційопосередкованої проникності мітохондріальної пори в мітохондріях, ізольованих з серця тварин з діабетом [8]. Зниження швидкості споживання кисню мітохондріями, пов'язане з порушенням роботи переносників електронів може бути також наслідком набухання мітохондрій і розриву їх зовнішніх мембрани, внаслідок чого з цих органел виходить цитохром с, який є одним з переносників електронів по дихальному ланцюгу.

Зміна жирнокислотного складу клітинних мембрани серця (ІІI група) викликала зниження показника контрольного набухання мітохондрій на 51,61 % ($P<0,05$) порівняно з групою ЦД (ІІ група; рис. 2, 3). Реакція мітохондрій на наявність Ca^{2+} у шурів ІІI групи була на 45,91 % ($P<0,05$) нижчою щодо ІІ групи. Встановлено, що застосування циклоспорину А, класичного інгібтора мітохондріальної пори, знижувало оптичну густину ізольованих мітохондрій на 38,37 % у тварин ІІI групи у порівнянні зі значеннями у тварин з діабетом. Таким чином, можна припустити, що ω -3 ПНЖК запо-

бігають відкриванню мітохондріальної пори.

За деякими даними [9] відомо, що безпосередня інкубація ізольованих мітохондрій з вільними ПНЖК (арахідоновою, докозапентасновою, ейкозапентасновою) стимулює набухання та деполяризацію їх мембрани, мітохондріальна пора виявились підвищено чутливою до циклоспорину. Автори вважають, що вплив ПНЖК може бути частково зумовлений активацією каспазного шляху через вивільнення цитохрому с у поєднанні з деполяризацією мітохондріальної мембрани.

У наших експериментах ω -3 ПНЖК виявляли протекторну дію відносно кальційіндукованого набухання мітохондрій, попередивши його. Відомо, що за умов оксидативного стресу різко зростає проникність мітохондріальної мембрани внаслідок зміни властивостей її фосфоліпідів. Через це збільшується колоїдно-осмотичний тиск з наступним набуханням і можливим розривом зовнішньої мембрани мітохондрій, що призведе до руйнування органел. Уже показано, що ω -3 ПНЖК мають антиоксидантний і мембраностабілізувальний ефек-

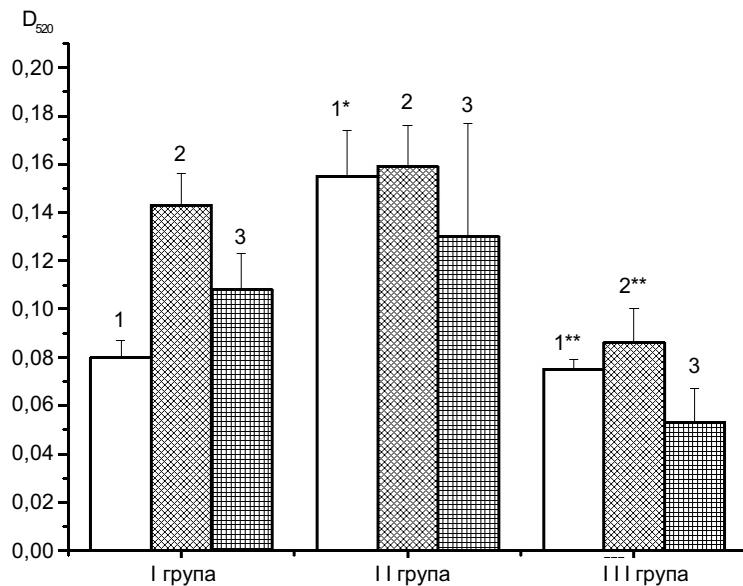


Рис. 3. Вплив ω -3 поліненасичених жирних кислот на зміну світлопоглинання мітохондрій з тканини серця шурів з діабетом за умов дії кальцію: 1 – контроль (мітохондрії в безкальцієвому середовищі), 2 – дія Ca^{2+} (10^{-4} моль/л), 3 – преінкубація мітохондрій з циклоспорином А (10^{-5} моль/л); * вірогідно у порівнянні з контролем, ** вірогідно у порівнянні з цукровим діабетом; $P<0,05$

ти. Це може пояснювати протекторну дію при індукції набухання. Раніше отримані дані підтверджують, що ці кислоти підвищують стійкість клітинних мембран до пошкоджувальної дії стресорних факторів [6]. Основою цього, на нашу думку, є збереження цілісності клітинних мембран та значною мірою зменшення руйнування мітохондрій у серці під впливом ω-3 ПНЖК. Зважаючи на літературні дані і наші результати можна припустити, що ω-3 ПНЖК зменшують набухання мітохондрій за допомогою пригнічення вільнорадикальних процесів і проявів стресу ендоплазматичного ретикулума в міокарді.

Таким чином, застосування ω-3 ПНЖК викликало вірогідне підвищення показників фосфорилюваного дихання та спряження його з фосфорилюванням, що свідчить про зростання ефективності споживання кисню мітохондріями, ізольованими з серця щурів зі стрептозотоциніндукованим ЦД.

Отримані результати дають змогу припустити, що одним із позитивних механізмів ω-3 ПНЖК є здатність інгібувати набухання мітохондрій у серці, отже вони можуть бути використані для корекції та профілактики дисфункцій мітохондрій за умов різноманітної серцево-судинної патології на фоні ЦД.

Збагачення раціону ω-3 ПНЖК призводить до зміни жирнокислотного складу клітинних мембрани серця за умов експериментального ЦД, що свідчить про виражені протекторні властивості досліджуваних кислот і перспективність подальших досліджень із застосуванням їх при цьому захворюванні.

А. С. Жуковская, А. М. Шиш, А. А. Мойбенко

ВЛИЯНИЕ ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ НА ДЫХАНИЕ И НАБУХАНИЕ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

В работе изучали влияние ω-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) на дыхание, набухание митохондрий сердца крыс и жирнокислотный состав в гомогенатах ткани сердца при сахарном диабете (СД), который моделировали

однократным внутрибрюшинным введением 55 мг/кг стрептозотоцина. Выявлено, что применение этих кислот повышало значение показателя активного дыхания митохондрий V_3 на 63,7 %, контролируемого дыхания V_4 на 30,7 % и скорости фосфорилирования на 18,9 % у животных со стрептозотоцининдуцированным СД. При этом доказана их способность снижать набухание митохондрий сердца. Кроме того, установлено изменения жирнокислотного состава клеточных мембран сердец в условиях диабета под влиянием ω-3 ПНЖК. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что ω-3 ПНЖК положительно влияют на функциональные показатели митохондрий, вследствие стабилизации клеточных мембран сердца крыс с СД.

Ключевые слова: серце, митохондрии, ω-3 полиненасыщенные жирные кислоты, сахарный диабет.

A.S. Zhukovska, A.M. Shysh, A.A. Moybenko

STUDY OF THE IMPACT OF OMEGA-3 PUFA ON FATTY ACID COMPOSITION OF HEART, BREATH AND SWELLING OF MITOCHONDRIA OF THE HEART IN DIABETES

We studied the influence of ω-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on respiration, swelling of rat heart mitochondria and changes in rat heart fatty acid composition in tissue homogenate in rats with streptozotocin induced diabetes mellitus (diabetes), which was induced by single intraperitoneal administration of 55 mg/kg streptozotocin. We found that application of these acids increased parameters of active mitochondrial respiration V_3 at 63.7%, controlled breathing V_4 at 30.7% and the rate of phosphorylation by 18.9% in animals with experimental diabetes. We proved their ability to reduce swelling of mitochondria in heart at streptozotocin induced diabetes. In addition, we established changes of fatty acid composition of cell membranes in hearts under diabetic conditions with ω-3 PUFAs influence. The obtained results allow to conclude that the ω-3 PUFA have a positive effect on functional parameters of mitochondria due to stabilization cell membranes of rat heart with diabetes.

Key words: heart, mitochondria, ω-3 polyunsaturated fatty acids, diabetes.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology Ukrainian National Academy of Science, Kyiv

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. Кукоба Т. В., Шиш А.М., Мойбенко О.О., Коцюруба А.В., Харченко О.В. Вплив омега-3 поліненасичених жирних кислот на перекисне окиснення ліпідів // Фізiol. журн. – 2005. – **51**, №1. – С. 26–32.
2. Мойбенко А.А., Досенко В.Е., Пархоменко А.Н. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца. – К.: Наук. думка, 2008. – 520 с.

3. Сагач В.Ф., Вавілова Г.Л., Рудик О.В., Струтинська Н.А. Вивільнення неідентифікованих речовин мітохондріального походження – показник відкриття мітохондріальної пори шурів // Фізіол. журн. – 2003. – **49**, № 5. – С. 3–13.
4. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Пивовар С.М., Досенко В.Є., Ягупольський Л.М. АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при цукровому діабеті, викликаному введенням стрепто-зотоцину // Там само. – 2003. – **49**, № 6. – С. 22–30.
5. Тронько М.Д. Аналіз, пріоритети, шляхи виконання державної цільової програми «Цукровий діабет» на 2009–2013 роки // Здоров'я України. – 2010. – № 18. – С. 42–43.
6. Шиш А.М., Кукоба Т.В., Тумановська Л.В., Мойбенко О.О. Модифікація жирнокислотного складу мембрани як фактор захисту міокарда при стресорному пошкодженні серця // Фізіол. журн. – 2005. – 6, № 2. – С. 17–23.
7. Al-Rawi N.H. Oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in the saliva of type 2 diabetics // Diab. Vasc. Dis. – 2011. – № 8. – P. 22–28.
8. Anderson E.J., Rodriguez E., Anderson C.A., Thayne K., Chitwood W.R., Kypson A.P. Increased propensity for cell death in diabetic human heart is mediated by mitochondrial-dependent pathways // Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2011. – 6, № 1. – P. 118–124.
9. Arita K., Kobuchi H., Utsumi T., Takehara Y., Akiyamad J., Hortone A.A., Utsumi K. Mechanism of apoptosis in HL-60 cells induced by n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids // Biochem. Pharmacol. – 2001. – **62**. – P. 821–828.
10. Boudina S., Abel E. D. Diabetic cardiomyopathy, causes and effects // Rev. Endocr. Metab. Disord. – 2010. – № 11. – P. 31–39.
11. Chin S.Y., Pandey K.N., Shi S.J., Kobori H., Moreno C., Navar L.G. Increased activity and expression of Ca^{2+} -dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats // Amer. J Physiol. – 1999. – **277**, № 5. – P. 797–804.
12. Conte D., Narindrasorasa K.S., Sarkar B. In vivo and in vitro iron replaced zinc finger generates free radicals and causes DNA damage // Eur. J. Biochem. – 1996. – **271**, № 9. – P. 5125–5130.
13. Di Lisa F., Kaludercic N., Carpi A., Menabt R., Giorgio M. Mitochondria and vascular pathology // Pharmacol. Reports. – 2009. – № 1. – P. 123–130.
14. Duchen M.R. Roles of mitochondria in health and disease // Diabetes. – 2004. – **53**. – P. 96–102.
15. Ferko M., Habodaszova D., Waczulikova I., Mujkosova J., Kucharska J., Sikurova L., Ziegelhoffer B., Styk J., Ziegelhoffer A. Endogenous protective mechanisms in remodelling of rat heart mitochondria membranes in the acute phase of streptozotocin-induced diabetes // Physiol. Res. – 2008. – **57**. – P. 67–73.
16. Grinblat L., Pacheco Bolanos L.F., Stoppani A.O.M. Decreased rate of ketone-body oxidation and decreased activity of D-3-hydroxybutyrate dehydrogenase and succinyl-CoA: 3-oxo-acidCoA-transferase in heart mitochondria of diabetic rats // Biochem. J. – 1986. – № 240. – P. 49–56.
17. Holguin F., Tellez-Rojo M. M., Lazo M., Manino D., Schwartz J., Hernandez M., Romieu I. Cardiac autonomic changes associated with fish oil vs soy oil supplementation in the elderly // Chest. – 2005. – **127**. – P. 1102–1107.
18. Jsukahara H. Effect of NOS inhibitions on bone metabolism in growing rats // Amer. J. Physiol. – 1996. – **270**, № 5. – P. 840–845.
19. Lashin O., Roman A. Mitochondria respiration and susceptibility to ischemia–reperfusion injury in diabetic hearts // Arch. Biochem. Biophys. – 2003. – **420**. – P. 298–304.
20. Mazumder P.K., O'Neill B.T., Roberts M.W., Buchanan J., Yun U.J., Cooksey R.C., Boudina S., Abel E.D. Impaired cardiac efficiency and increased fatty acid oxidation in insulin-resistant ob/ob mouse hearts // Diabetes. – 2004. – **53**. – P. 2366–2374.
21. McCord J., Fridovich I. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // Biochem. J. – 1982. – **203**, № 3. – P. 551–558.
22. Miki T., Miura T., Hotta H., Tanno M., Yano T., Sato T., Terashima Y., Takada A., Ishikawa S., Shimamoto K. Endoplasmic reticulum stress in diabetic hearts abolishes erythropoietin-induced myocardial protection by impairment of phospho-glycogen synthase kinase-3 β -mediated suppression of mitochondrial permeability transition // Diabetes. – 2009. – **58**. – P. 2863–2872.
23. Nishimura M., Akira N., Toshiaki K., Ohtsuka K., Takahashi H., Yoshimura M. Eicosapentaenoic acid stimulates nitric oxide production and decrease cardiac noradrenaline in diabetic rats // Clin. and Exp. Pharmacol. and Physiol. – 2000. – **27**. – P. 618–624.
24. Ovide-Bordeaux S., Bescond-Jacquet A., Grynberg A. Cardiac mitochondrial alterations induced by insulin deficiency and hyperinsulinaemia in rats: targeting membrane homeostasis with trimetazidine // Clin. and Exp. Pharmacol. and Physiol. – 2005. – **32**. – P. 1061–1070.
25. Ovide-Bordeaux S., Grynberg A. Docosahexaenoic acid affects insulin deficiency- and insulin resistance-induced alterations in cardiac mitochondria // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2004. – **286**. – P. 519–527.
26. Pepe S., McLennan P.L. Cardiac membrane fatty acid composition modulates myocardial oxygen consumption and postischemic recovery of contractile function // Circulation. – 2002. – **105**. – P. 2303–2308.
27. Risjrus U., Willett W.C., Hub F.B. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes // Prog. Lipid. Res. – 2009. – **48**. – P. 44–51.
28. Rizza S., Tesauro M., Cardillo C. Galli A., Iantorno M., Gigli F., Sbraccia P., Federici M., Quon M.J., Lauro D. Fish oil supplementation improves endothelial function in normoglycemic offspring of patients with type

- 2 diabetes // Atherosclerosis. – 2009. – **206**. – P. 569–574.
29. Salter M., Knowles R.G., Moncada S. Widespread tissue distribution, species and changes in activity of Ca^{2+} -dependent and Ca^{2+} -independent nitric oxide syntases // FEBS Lett. – 1991. – **291**, № 1. – P. 145–149.
30. Srinivasan S, Hatley M.E., Bolick D.T., Palmer L.A., Edelstein D., Brownlee M., Hedrick C.C. Hypergly-
- caemia-induced superoxide production decreases eNOS expression via AP-1 activation in aortic endothelial cells // Diabetologia. – 2004. – **47**. – P. 1727–1734.
31. Tomita M., Mukae S., Geshi E., Umetsu K., Nakatani M., Katagiri T. Mitochondrial respiratory impairment in streptozotocin-induced diabetic rat heart // Jap. Circ. J. – 1996. – **60**. – P. 673–682.

Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: a.zhukovska@gmail.com

Матеріал надійшов
до редакції 05.09.2011