

Омега-3 поліненасичені жирні кислоти нормалізують функцію мітохондрій, ферментів про- та антиоксидантної системи та експресію цитохрому P450 2E1 при ізопротереноліндукованому пошкодженні серця

О.С. Панасюк, А.М. Шиш, **О.О.Мойбенко**

Інститут фізіології ім.О.О.Богомольця НАН України, Київ; e-mail: panasiuk@biph.kiev.ua

Досліджено вплив ω -3 поліненасичених жирних кислот (ω -3 ПНЖК) на функціонування інтерфібрилярної та субсарколемальної фракцій мітохондрій міокарда щурів, зміни рівня експресії цитохрому P450 2E1 (CYP2E1) та активність ферментів антиоксидантного захисту за умов ізопротереноліндукованого ураження міокарда. У досліджах із застосуванням ω -3 ПНЖК (препарат епадол 0,1мл/100г протягом 4 тиж) при пошкодженні серця (ізопротеренол 60 мг/кг двічі на добу, підшкірно) було показано зменшення набухання субсарколемальної та інтерфібрилярної фракцій мітохондрій (на 54,84 та 65,52 % відповідно), що свідчить про попередження порушення функції. Встановлено, що ω -3 ПНЖК за умов ураження міокарда запобігають зниженню активності ферментів антиоксидантного захисту каталази та супероксиддисмутази (у 2,6 та 7,1 раза відповідно). Виявлений нами розвиток оксидативного стресу при ізопротереноліндукованому пошкодженні міокарда може бути спровоковано значним підвищенням експресії цитохрому P450 2E1 (на 73,3%), що попереджується при застосуванні ω -3 ПНЖК.

Ключові слова: субсарколемальні, інтерфібрилярні мітохондрії; ізопротеренол; ω -3 поліненасичені жирні кислоти; малоновий діальдегід; супероксиддисмутаза; каталаза; цитохром P450 2E1.

ВСТУП

Нині доведено, що важливою ланкою в патогенезі серцево-судинних захворювань є розвиток мітохондріальної дисфункції [1]. В ізопротереноловій моделі пошкодження міокарда важливе значення відводиться погіршенню функціонування дихального ланцюга мітохондрій кардіоміоцитів, дії вільних радикалів, які утворюються в результаті процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [2]. Важливу роль у порушенні різних клітинних функцій відіграє кальційзалежна циклоспоринчутлива мітохондріальна пора (МП) [1, 3], яка вважається потужним фармакологічним об'єктом при корекції хвороб, пов'язаних з мітохондріальною дисфункцією

та індукцією клітинної смерті [2, 4–6].

У кардіоміоцитах є дві функціонально відмінні субпопуляції мітохондрій, локалізованих у різних регіонах клітини: субсарколемальні (ССМ), розташовані під сарколемою, та інтерфібрилярні (ІФМ), розташовані між міофібрилами [4, 7]. Відрізняються вони білковим і ліпідним складом, біохімічними властивостями та функціями [4]. Хоча ІФМ-фракція сягає 80% загального мітохондріального вмісту [4], більшість досліджень на ізольованих мітохондріях виконано на субпопуляції ССМ. Оскільки мітохондрії є основними продуцентами активних форм кисню (АФК), то ці органели являють собою важливі мішені для нових терапевтичних засобів. Водночас лишається

© О.С. Панасюк, А.М. Шиш, **О.О.Мойбенко**

недослідженим ефект ω -3 ПНЖК на ССМ-та ІФМ-фракції мітохондрій серця при ізопротереноловому ураженні серця.

ω -3 ПНЖК відіграють надважливу структурно-функціональну роль, формуючи фосфоліпідну складову біомембран, забезпечують нормальний трансмембранний транспорт і функціонування комплексів мембрано-асоційованих ензимів [8, 9], контролюють транскрипцію багатьох генів у клітинах. Раніше нами було показано на суспензії мітохондрій, що при застосуванні ω -3 ПНЖК знижувалася швидкість генерації супероксид-аніона, а також спостерігалось ослаблення вільнорадикальних процесів за умов цукрового діабету [10].

Вважають, що при адренергічному пошкодженні важливим механізмом патогенезу є оксидативний стрес, який розвивається внаслідок дисбалансу про- та антиоксидантних процесів у клітинах різних органів. Одним з визначальних факторів, що регулюють такий баланс у клітинах є цитохром P450 2E1 [11]. Зміни рівня його експресії можуть призводити до порушення функціонування організму як на клітинному, так і на системному рівнях [12]. Підвищення за певних умов експресії цитохрому P450 2E1 спричиняє надлишкове утворення АФК та їхніх метаболітів, що може викликати виснаження системи антиоксидантного захисту, посилення пероксидних процесів та розвитку оксидативного стресу в клітині [11, 12]. Тому питання про можливість регуляторного впливу на процеси оксидативного стресу лишається актуальним. Зокрема, не з'ясовано, чи мають захисний вплив ω -3 ПНЖК на оксидативні процеси та цитохром P450 2E1 при ізопротереноловому ураженні серця.

Метою нашої роботи було дослідити вплив ω -3 ПНЖК на ССМ та ІФМ за умов ізопротереноліндукованого пошкодження міокарда щурів та оцінити зміни експресії цитохрому P450 2E1, активність ферментів антиоксидантної системи супероксиддисмутази (СОД) та каталази.

МЕТОДИКА

Експериментальні дослідження були проведені на 24 самцях щурів лінії Вістар масою 280–300 г, віком 4 міс. У роботі використовували 3 групи щурів: I - контрольні (n=7), II - щури, яким вводили підшкірно розчин ізопротеренулу («Sigma», США) в дозі 60 мг/кг двічі з інтервалом 24 год (n=7), III - тварини, яким давали препарат епадол у дозі 0,1 мл/100 г протягом 4 тиж, а потім вводили ізопротеренол, як і у II групі (n=10). Епадол (Київський вітамінний завод) містить не менш ніж 43% ω -3 ПНЖК тваринного походження (суміш ейкозапентаєнової і докозагексаєнової кислот з риб'ячого жиру).

Дві субпопуляції мітохондрій серця виділяли відповідно до методу, описаного Palmer [7]. Серця промивали льодовим 0,9%-м NaCl та подрібнювали в буфері А (ммоль/л): сахароза – 250, тріс-НСІ – 20; рН 7,2, який містив 1 ммоль/л EGTA, 0,5% бичачого сивороваткового альбуміну. Подрібнену тканину розтирали тефлоновим гомогенізатором. Гомогенат центрифугували при 700g і 2°C, з супернатанту виділяли ССМ методом диференційного центрифугування. Осад, що залишився, ресуспендували в буфері А, і обробляли протеазою Nagarse («Sigma Chemical Co.», США) в концентрації 2,5 мг/г тканини і гомогенізували. Гомогенат розводили в 2 рази буфером А і з нього виділяли ІФМ диференційним центрифугуванням.

Дослідження набухання мітохондрій проводили методом спектрофотометричної ресстрації, часовий хід визначали в низько-кальцієвому розчині (без EGTA дистильована вода містить $(1-3) \cdot 10^{-5}$ моль/л вільних іонів кальцію) та при дії високих (кінцева концентрація 10^{-4} моль/л CaCl_2) концентрацій кальцію, як циклоспорин А-чутливе набухання. Мітохондрії поміщали в інкубаційне середовище ізотонічного складу (ммоль/л): КСІ - 120, тріс-НСІ -10, KH_2PO_4 -10, сукцинат Na -10; рН 7,2, і ресстрували зниження оп-

тичної густини суспензії мітохондрій при $\lambda = 520$ нм протягом 10 хв. Результати представлені як ΔD – різниця між показником оптичної густини на n -й хвилині та значенням на 1-й хвилині. Розчин CaCl_2 додавали на 5-й хвилині інкубації. Концентрація білка становила 0,1 мг/мл.

Вміст білка P450 2E1 у серці визначали методом імуноблотингу, використовуючи специфічні поліклональні антитіла: анти-P450 2E1 (раніше отримані у відділі молекулярної онкогенетики Інституту молекулярної біології і генетики НАН України) та анти- β -актин («Sigma», США). Тотальний білок кожного зразка (по 50 мкг) розділяли за допомогою електрофорезу у 12% -му поліакриламідному гелі за наявності 0,1% додецилсульфату натрію [13]. Імуноблотинг із застосуванням антитіл до P450 2E1 та β -актину проводили згідно з рекомендаціями фірми виробника («Sigma», США). Результати візуалізували та обраховували за допомогою спеціального обладнання ChemiDoc™ XRS+ System with Image Lab™ Software («Bio-Rad», США). Вміст білка P450 2E1 у серці тварин вираховували як відношення кількості досліджуваних білків до білка β -актину в одному і тому самому зразку. Білок β -актин було використано як внутрішній контроль завантаження тотального білка до гелю.

Біохімічними методами у плазмі крові тварин визначали вміст продуктів ПОЛ малонового діальдегіду (МДА) [14] та активність антиоксидантних ферментів СОД [14] та каталази [15]. Обчислювали антиоксидантний коефіцієнт (АК), який визначали як співвідношення активності СОД•каталаза/МДА [14].

Для оцінки відмінності між показниками, отриманими у досліджуваних групах, використовували критерій t Стьюдента. Значення $P \leq 0,05$ розглядали як вірогідні. Результати представлено у вигляді середніх значень для $n = 7-10$ із зазначенням середніх квадратичних відхилень.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При порівнянні фракцій ССМ та ІФМ у тварин I та II групи спостерігалось вірогідне зменшення світлопоглинання за відсутності дії індуктора від $0,06 \pm 0,01$ і $0,08 \pm 0,01$ до $0,31 \pm 0,03$ і $0,29 \pm 0,03$ відповідно (рис. 1). Максимальний рівень зниження світлопоглинання в II групі, незалежний від дії кальцію, зростав в 3,5 раза для ІФМ та в 5,16 раза для ССМ. Але вірогідної різниці в реакції між фракціями ССМ та ІФМ не виявлено. Слід зазначити, що в фракції ІФМ ступінь набухання був меншим порівняно з ССМ за умов ізопротереноліндукованого пошкодження міокарда. У разі навантаження контрольних мітохондрій кальцієм рівень набухання зростав до $0,33 \pm 0,05$ для ССМ та $0,37 \pm 0,66$ для ІФМ.

Надалі було виявлено, що при попередньому застосуванні ω -3 ПНЖК при пошкодженні міокарда рівень кальцій-незалежного набухання мітохондрій дійсно є меншим на 54,84% для ССМ та на 65,52% для ІФМ порівняно з II групою. Значення ΔD знижується до $0,14 \pm 0,02$ та $0,1 \pm 0,03$ відповідно (див. рис. 1). Встановлено, що при застосуванні ω -3 ПНЖК фракція ІФМ менш чутлива до набухання порівняно з ССМ в умовах пошкодження міокарда.

У результаті біохімічних досліджень виявлено зростання інтенсивності перекисних процесів у плазмі крові тварин за умов ураження міокарда. Так, показано, що у II групі концентрація МДА у плазмі крові була на 84% вищою щодо контролю (таблиця). Встановлено, що розвиток пошкодження серця призводив до зниження активності каталази у 1,46 раза та СОД у 8 разів ($P < 0,05$) порівняно з групою контролю. Застосування ω -3 ПНЖК за умов ураження міокарда попереджує зниження активності ферментів антиоксидантного захисту. Зокрема, активність каталази і СОД внаслідок модифікації жирнокислотного складу клітинних мембран була вищою в 2,65

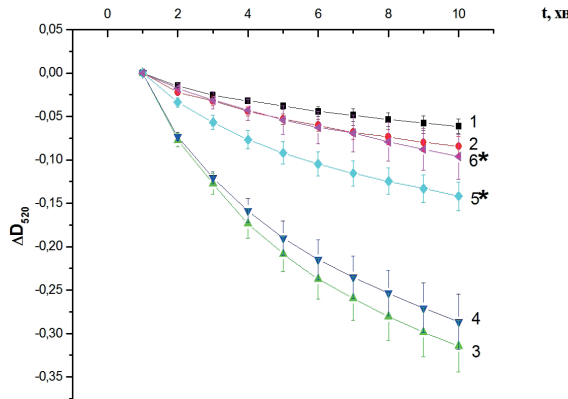


Рис. 1. Часова залежність світлопоглинання суспензії мітохондрій виділених з сердець тварин, яким вводили ізопротеренол: 1 – субсарколемальні мітохондрії (контроль); 2- інтерфібрилярні мітохондрії (контроль); 3– субсарколемальні мітохондрії, виділені з пошкодженого міокарда; 4- інтерфібрилярні мітохондрії виділені з пошкодженого міокарда; 5 - субсарколемальні мітохондрії, виділені з пошкодженого міокарда за впливу ω-3 ПНЖК; 6 - інтерфібрилярні мітохондрії, виділені з пошкодженого міокарда за впливу ω-3 ПНЖК; * P<0,5 вірогідно порівняно з відповідною контрольною групою

(P<0,05) та 7,1 (P<0,05) раза порівняно з II групою. Об’єктивним показником зміни прота антиоксидантної рівноваги є інтегральний показник – фактор антиоксидантного стану або АК, який свідчить про підсилення окисних процесів чи активацію ферментів антиоксидантного захисту. Встановлено, що при ізопротереноліндукованому ураженні міокарда АК був знижений (оскільки активність СОД знижувалася, а вміст МДА, навпаки, підвищувався). За умов застосування ω-3 ПНЖК він підвищувався та наближався до значень контрольної групи (див. таблицю).

Виявлений нами розвиток оксидативного

стресу за умов пошкодження міокарда може бути спровоковано значним підвищенням експресії цитохрому P450 2E1 – одного з найпотужніших прооксидантів клітин. Так, дійсно в II групі рівень експресії білка P450 2E1 збільшився на 73,3% порівняно з контролем (рис. 2). Застосування ω-3 ПНЖК за умов пошкодження міокарда призводило до зниження вмісту білка цитохрому P450 2E1 (рис. 2). Це могло бути спричинено змінами експресії гена ферменту на всіх етапах регуляції його біосинтезу, зокрема на транскрипційному рівні. Аналіз літературних даних показав, що ω-3 ПНЖК активують PPARα (від англ. peroxisome proliferator-activated receptor), що

Вплив застосування ω-3 ПНЖК на про- та антиоксидантні процеси в плазмі крові щурів при ізопротереноліндукованому пошкодженні серця (M ± m; n=10).

Показники	Контроль (I група)	Ізопротеренол (II група)	Ізопротеренол на фоні дії ω-3 ПНЖК (III група)
Малоновый діальдегід, мкмоль · мг ⁻¹ білка	0,94±0,02	1,73±0,15*	1,71±0,26
Супероксиддисмутаза, ум.од. · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка	3,84±0,75	0,47±0,8*	3,34±0,42**
Каталаза, ммоль · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка	30,46±5,89	20,82±3,5	55,28±4,8**
Антиоксидантний коефіцієнт, ум.од.	124,43	5,65	107,97

* P<0,05 порівняно з контролем; ** P<0,05 порівняно з групою тварин, яким вводили ізопротеренол.

призводить до індукції експресії генів ензимів мікосомного окиснення жирних кислот [9]. Разом з цим ω -3 ПНЖК можуть модулювати вміст ферменту і на пострасляційному рівні регуляції його експресії. Також показано, що ці речовини є ефективними альтернативними субстратами у шляхах цитохром-залежного метаболізму арахідонової кислоти у клітинах. При цьому цитохром P450 2E1 окиснює ω -3 навіть більш ефективно, ніж ω -6 ПНЖК [16]. Такі зміни експресії ферменту не призводили до зрушення гомеостазу, а саме порушення балансу про- та антиоксидантних процесів в клітинах досліджуваного органа. Пошкодження мітохондріального метаболізму відіграє важливу роль при серцевій недостатності [8, 17, 18]. Новизною нашої роботи є те, що було порівняно ступінь пошкодження двох фракцій мітохондрій при дії ізопротеренолу, а також виявлено рівень захисного впливу ω -3 ПНЖК. Варто зазначити, що ці кислоти однаково вбудовуються в мембрану кожної субпопуляції [18], тобто виявлена нами різниця в ефекті зумовлена властивостями самих фракцій мітохондрій. Так, показано, що ССМ мають вищий вміст кардіоліпіну, а ІФМ - вищу експресію ключових компонентів пори, зокрема, потенціалзалежного аніонного каналу і циклофіліну D, крім того, вищий вміст цитохрому с [4].

Серед можливих механізмів негативної дії ізопротеренолу на мітохондрії може бути також те, що катехоламіни спричиняють

вивільнення вільних жирних кислот, які в свою чергу діють як роз'єднувачі окисного фосфорилування та індуюють відкриття мітохондріальної пори, знижуючи мембранний потенціал нижче від порогового рівня чи прямо взаємодіючи з компонентами пори, зокрема з аденіннуклеотидтранслоказою [6]. Водночас ω -3 ПНЖК знижують вміст вільних жирних кислот [8]. Тим не менш, чи відрізняються в чутливості дві фракції мітохондрій до індукції мітохондріальної пори при їх дії, даних нема.

Хоч і високий мембранний потенціал мітохондрій більш вигідний щодо попередження відкриття МП, але встановлено прямий зв'язок між рівнем мембранного потенціалу та продукцією АФК. І, дійсно, ССМ, які мають вищий рівень продукції АФК, мають і вищий потенціал [4]. ω -3 ПНЖК, в свою чергу, знижують мітохондріальний мембранний потенціал [19].

Показано, що ω -3 ПНЖК знижують також вміст мітохондріального кальцію [20], водночас ізопротеренол підвищує внутрішньоклітинну його концентрацію [21]. Наші попередні дані [5] та інших авторів вказують, що застосування ω -3 ПНЖК зменшує кальційіндуковане відкриття МП [10]. Все вищесказане може свідчити що така захисна дія ω -3 ПНЖК опосередковується, принаймні, частково через мітохондріальні механізми.

Суперечливі літературні дані щодо порівняння чутливості двох фракцій мітохонд-

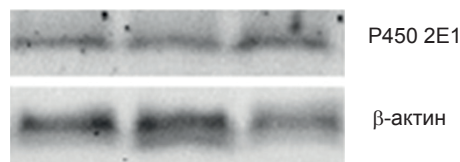
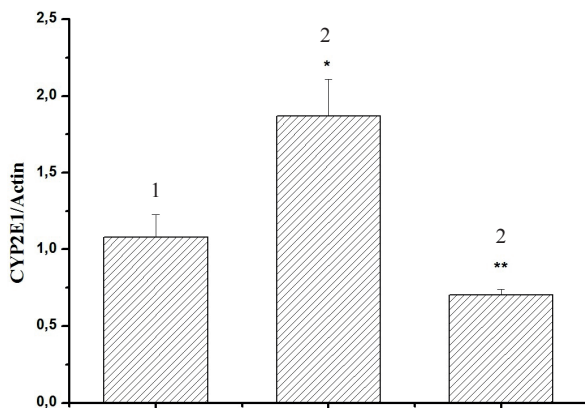


Рис. 2. Експресія білка цитохрому P450 2E1 у тканині серця щурів за умов ізопротереноліндукованого пошкодження міокарда при застосуванні ω -3 ПНЖК: 1- контроль; 2 - ізопротереноліндуковане пошкодження міокарда; 3 – пошкодження міокарда за впливу ω -3 ПНЖК. * $P < 0,05$ порівняно з контролем; ** $P < 0,05$ порівняно з групою тварин, яким вводили ізопротеренол

рій до підвищеного вмісту кальцію. Palmer та співавт. [22], вважають, що ІФМ мають більшу стійкість до навантаження кальцієм, а за даними Adhietty та співавт. [4], ССМ більш стійкі. Згідно з результатами нашої роботи, ці дві фракції не відрізняються за чутливістю до високих концентрацій кальцію. ω -3 ПНЖК більш ефективно захищають фракцію ІФМ, що узгоджується з отриманими раніше даними про протекторний вплив знову таки на цю фракцію при ізопротереноловому пошкодженні міокарда [5].

Відомо що дія ізопротеренолу викликає оксидативний стрес, тоді як застосування антиоксидантів попереджує таке пошкодження [2]. Також відомо, що вільні радикали полегшують відкривання пори при дії кальцію та, можливо, самі індують її відкривання [3]. Тобто пошкоджувальна дія ізопротеренолу на мітохондрії може бути зумовлена саме оксидативним стресом. Одні автори вважають, що ω -3 ПНЖК чутливі до ПОЛ [10], хоча інші стверджують, що вони обмежують оксидативний стрес посиленням антиоксидантного захисту, зокрема підвищуючи вміст мітохондріальної СОД2 та гемоксигенази-1 [23]. Виявлений нами захисний ефект ω -3 ПНЖК при ізопротереноловому пошкодженні, що був у різному ступені виражений між фракціями, може бути пояснено станом про- та антиоксидантної системи. Відомо, що дві фракції мітохондрій мають різний рівень утворення АФК – ССМ в 2,7 раза більше виробляють АФК, ніж ІФМ [4]. За патологічних умов у ССМ підвищується рівень утворення H_2O_2 , в той час як в ІФМ він не змінюється [17]. З іншого боку, є дані, що рівень експресії антиоксидантного ферменту Mn-SOD не відрізняється між субпопуляціями [4].

Раніше нами також було показано, що одним з кардіопротекторних механізмів ω -3 ПНЖК може бути істотне зменшення пошкоджувального впливу вільних радикалів, продуктів ПОЛ за умов ішемії-реперфузії [24]. Вже підтверджено, що ці кислоти підвищують стійкість клітинних мембран до дії стресорних факторів [8, 23]. Аналізуючи

літературні дані і отримані результати, можна припустити, що ω -3 ПНЖК попереджують набухання мітохондрій пригніченням вільнорадикальних процесів і проявів стресу ендоплазматичного ретикулула в міокарді. Відомо, що підвищена продукція АФК в мітохондріях та розвиток оксидативного стресу призводять до зростання утворення пероксинітриду. Зважаючи на це можна передбачити, що при ізопротереноліндукованому ураженні міокарда також спостерігається дисбаланс у неферментній ланці системи антиоксидантного захисту, а саме у системі глутатіону, на що вказують інші праці [24]. Все вищесказане свідчить про протекторний ефект ω -3 ПНЖК та не викликає сумніву у перспективності подальших досліджень і розробок з впровадження ω -3 ПНЖК у клінічну практику.

Таким чином, застосування ω -3 ПНЖК запобігає набухання мітохондрій в серці за умов ізопротереноліндукованого пошкодження міокарда, особливо фракції ІФМ. У разі застосування ω -3 ПНЖК знижується вміст білка цитохрому P450 2E1 та запобігає зниженню активності ферментів антиоксидантного захисту. ω -3 ПНЖК попереджують розвиток дисфункції мітохондрій та можуть бути рекомендовані як компонент лікарської терапії хворих, які перенесли інфаркт міокарда.

**О.С. Панасюк, А.М. Шиш,
А.А. Мойбенко**

ОМЕГА-3 ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ НОРМАЛИЗИРУЮТ ФУНКЦИЮ МИТОХОНДРИЙ, ФЕРМЕНТОВ ПРО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ЭКСПРЕССИЮ ЦИТОХРОМА P450 2E1 ПРИ ИЗОПРОТЕРЕНОЛИНДУЦИРОВАННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ СЕРДЦА

Исследовано влияние ω -3 полиненасыщенных жирных кислот (ω -3 ПНЖК) на функционирование интерфибрилярной и субсарколеммальной фракций митохондрий миокарда крыс, изменение уровня экспрессии цитохрома P450 2E1 (CYP2E1) и активность ферментов антиоксидантной защиты при изопротеренолиндуцированом повреждении миокарда. В экспериментах

с применением ω -3 ПНЖК (препарат эпадол 0,1мл/100г в течение 4 нед) при повреждении сердца (изопроterenол 60 мг/кг/день дважды подкожно) было показано уменьшение набухания субсарколеммальной и интерфибриллярной фракций митохондрий на 54,84 и 65,52 % соответственно, что свидетельствует об уменьшении повреждения функций митохондрий сердца. Было установлено, что применение ω -3 ПНЖК при повреждении миокарда предупреждает снижение активности ферментов антиоксидантной защиты каталазы и супероксиддисмутазы (2,65 и 7,1 раза соответственно). Выявленное нами развитие оксидативного стресса при изопроterenолиндуцированном повреждении миокарда может быть вызвано значительным повышением экспрессии цитохрома P450 2E1 (на 73,3%), что предотвращается применением ω -3 ПНЖК.

Ключевые слова: субсарколеммальные, интерфибриллярные митохондрии; изопроterenол; ω -3 полиненасыщенные жирные кислоты; малоновый диальдегид; супероксиддисмутазы; каталаза; цитохром P450 2E1.

O.S. Panasiuk, A.M. Shysh, O.O. Moibenko

OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS NORMALIZE THE FUNCTION OF MITOCHONDRIA, ACTIVITY OF ENZYMES OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM AND THE EXPRESSION OF CYTOCHROME P450 2E1 AFTER ISOPROTERENOL-INDUCED MYOCARDIAL INJURY

We have studied the influence of dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids (ω -3 PUFA) on the functioning of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondrial fractions of rat myocardium, changes in expression of cytochrome P450 (CYP2E1) and the activity of enzymes of prooxidant-antioxidant system after isoproterenol-induced myocardial injury. It has been found that in vivo administration of ω -3 PUFA (Epadol 0.1 ml/100 gr of weight for 4 weeks) significantly reduced the swelling of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondrial fractions by 65.52% 54.84% respectively, pointing for a decrease of damage of the mitochondrial function evoked by in vivo administration of isoproterenol. In vivo administration of ω -3 PUFAs prevents a decrease in the activity of antioxidant enzymes catalase and superoxide dismutase (2.65 and 7.1-fold, respectively) after isoproterenol-induced myocardial injury. We suggest that the development of oxidative stress after isoproterenol-induced myocardial injury can be caused by a significant increase in the expression of cytochrome P450 2E1 (73.3%), and administration of ω -3 PUFAs prevents such changes.

Key words: mitochondria; subsarcolemmal; interfibrillar; isoproterenol; ω -3 polyunsaturated fatty acid; malondialdehyde; superoxide dismutase; catalase; cytochrome P450 2E1.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

REFERENCES

1. Shimanskaia TV, Strutinskaia NA, Vavilova GL, Goshovskaia IuV, Semenikhina EN, Sagach VF. Cyclosporin A-sensitive mitochondrial pore as a target of cardioprotective action of hydrogen sulfide donor. *Ros Fiziol Zh im I M Sechenova*. 2013 Feb 99(2):261-72. [Russian].
2. Izem-Meziane M, Djerdjouri B, Rimbaud S, Caffin F, Fortin D, Garnier A, Veksler V, Joubert F, Ventura-Clapier R. Catecholamine-induced cardiac mitochondrial dysfunction and mPTP opening: protective effect of curcumin. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012 302:665-74.
3. Galindo MF, Jordán J, González-García C, Ceña V. Reactive oxygen species induce swelling and cytochrome c release but not transmembrane depolarization in isolated rat brain mitochondria. *Br J Pharmacol*. 2003 139:797-804.
4. Adhithetty PJ, Ljubovic V, Menzies KJ, Hood DA. Differential susceptibility of subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria to apoptotic stimuli. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005 Oct;289(4):C994-C1001.
5. Panasiuk O, Shysh A, Bondarenko A, Moibenko O. Omega-3 polyunsaturated fatty acid-enriched diet differentially protects two subpopulations of myocardial mitochondria against Ca²⁺-induced injury. *Exp Clin Cardiol* 2013 18.-e60-e64.
6. Wieckowski MR, Wojtczak L. Fatty acid-induced uncoupling of oxidative phosphorylation is partly due to opening of the mitochondrial permeability transition pore. *FEBS Lett*. 1998 423:339-42.
7. Palmer JW, Tandler B, Hoppel CL. Biochemical properties of subsarcolemmal and interfibrillar mitochondria isolated from rat cardiac muscle. *J Biol Chem*. 1977 Dec 10;252(23):8731-9.
8. De Caterina R. n-3 Fatty Acids in Cardiovascular Disease. *N. Engl. J. Med*. 2011 364:39-50.
9. Jump DB. N-3 polyunsaturated fatty acid regulation of hepatic gene transcription. *Curr Opin Lipidol*. 2008 Jun;19(3):242-7.
10. Zhukovs'ka AS, Shysh AM, Moibenko OO. Study of the impact of omega-3 PUFA on fatty acid composition of heart, respiration and swelling of mitochondria of the heart in diabetes. *Fiziol Zh*. 2012;58(2):16-26. [Ukrainian]
11. Cederbaum AI. Nrf2 and antioxidant defense against CYP2E1 toxicity. *Subcell Biochem*. 2013 67:105.
12. Gonzalez FJ. Role of cytochromes P450 in chemical toxicity and oxidative stress: studies with CYP2E1. *Mutat Res*. 2005 Jan 6;569(1-2):101-10.
13. Laemmli, UK. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227, 680.
14. Stephanov OV. editor. Preclinical studies of drugs. Kyiv: Avicena: 2001. [Ukrainian]
15. Koroliuk M, Ivanova L, Maiorova I, Tokarev V. A method of determining catalase activity. *Lab Delo*. 1988;(1):16-9. [Russian]
16. Arnold C, Konkel A, Fischer R, Schunck WH. Cytochrome P450-dependent metabolism of omega-6 and omega-3

- long-chain polyunsaturated fatty acids. Pharmacol Rep. 2010 May-Jun;62(3):536-47.
17. Chen Q, Lesnefsky EJ. Depletion of cardiolipin and cytochrome c during ischemia increases hydrogen peroxide production from the electron transport chain. Free Radic Biol Med. 2006 Mar 15;40(6):976-82.
 18. Demaison L, Sergiel JP, Moreau D, Grynberg A. Influence of the phospholipid n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio on the mitochondrial oxidative metabolism before and after myocardial ischemia. Biochim Biophys Acta. 1994 Oct 21;1227(1-2):53-9.
 19. Chapkin RS, Hong MY, Fan YY, Davidson LA, Sanders LM, Henderson CE, Barhoumi R, Burghardt RC, Turner ND, Lupton JR. Dietary n-3 PUFA alter colonocyte mitochondrial membrane composition and function. Lipids 2002 Feb;37(2):193-9.
 20. Pepe S, Tsuchiya N, Lakatta EG, Hansford RG. PUFA and aging modulate cardiac mitochondrial membrane lipid composition and Ca²⁺ activation of PDH. Am J Physiol 1999 276.-P.149-58.
 21. Takuwa Y, Takuwa N, Rasmussen H. The Effects of Iso-proterenol on Intracellular Calcium Concentration. J Biol Chem 1988 263:762-8.
 22. Palmer JW, Tandler B, Hoppel CL. Heterogeneous response of subsarcolemmal heart mitochondria to calcium. Am J Physiol. 1986 May;250(5 Pt 2):H741-8.
 23. Kusunoki C, Yang L, Yoshizaki T, Nakagawa F, Ishikado A, Kondo M, Morino K, Sekine O, Ugi S, Nishio Y, Kashiwagi A, Maegawa H. Omega-3 polyunsaturated fatty acid has an anti-oxidant effect via the Nrf-2/HO-1 pathway in 3T3-L1 adipocytes. Biochem Biophys Res Commun. 2013 Jan 4;430(1):225-30.
 24. Shysh AM, Kukoba TV, Tumanov's'ka LV, Moïbenko OO. Phospholipid membrane modification as a protection factor of the myocardium during stress injury. Fiziol Zh. 2005;51(2):17-23. [Ukrainian]

*Матеріал надійшов до
редакції 21.08.2015*