

В. Ф. Сагач, Г. Л. Вавілова, О. В. Рудик, Н. А. Струтинська

Вивільнення неідентифікованих речовин мітохондріального походження – показник відкриття мітохондріальної пори серця щурів

В опытах in vitro на митохондриях, изолированных из ткани сердца крысы, было показано, что в условиях моделирования оксидативного стресса с помощью индуктора митохондриальной поры (permeability transition pore, PTP) фениларсеноксида (ФАО) и в условиях перегрузки кальцием (CaCl₂) происходит активация PTP. Открытие PTP регистрировали спектрофотометрически ($\lambda = 520$ нм) по снижению оптической плотности (OD) в результате набухания митохондрий, а также наблюдали высвобождение неидентифицированных веществ митохондриального происхождения (митохондриального фактора, МФ), регистрируемое спектрофотометрически в диапазоне длин волн $\lambda = 230-260$ нм. Отмечена корреляция между набуханием митохондрий и высвобождением МФ в условиях действия ФАО в диапазоне концентраций $10^{-7}-10^{-4}$ моль/л, а также CaCl₂ в диапазоне концентраций $10^{-6}-10^{-4}$ моль/л. Классический ингибитор митохондриальной PTP циклоспорин А в концентрации 10^{-5} моль/л полностью препятствовал набуханию митохондрий и высвобождению МФ. Полученные экспериментальные данные подтверждают митохондриальное происхождение фактора и его высвобождение в результате открытия PTP в условиях действия индукторов – ФАО и CaCl₂. Набухание митохондрий сопровождается высвобождением фактора, что может служить показателем открытия митохондриальной PTP и использоваться при оценке чувствительности митохондрий по отношению к действию различных индукторов и ингибиторов PTP различных тканей при нормальных и патологических состояниях организма.

ВСТУП

Мітохондрії відіграють важливу роль у запрограмованій клітинній смерті. Зміни проникності внутрішньої мембрани мітохондрій є одним із наслідків перевантаження клітини кальцієм або токсичної дії на мітохондрії вільних радикалів при оксидативному стресі. Це призводить до масивного набухання і деполяризації мітохондрій внаслідок утворення так званих мітохондріальних пор – МП – (permeability transition pore, PTP) – неселективних білкових мегаканалів із проникністю для речовин з молекулярною масою понад 1500 Да [12, 13, 19].

Протягом останніх років у літературі активно обговорюється роль МП при розвитку цілої низки патологічних станів організму, пов'язаних насамперед з надлишком вільних радикалів, як ішемія – реперфузія [14, 15], гіпоксія [15], старіння [17], діабет [10] тощо. З часу відкриття МП та обґрунтування їх ролі в патогенезі порушень в першу чергу серцево-судинної та інших систем, постає актуальним питання стосовно вивчення чутливості мітохондріальної пори до її активаторів та інгібіторів при різних патологічних станах.

Раніше нами в досліджах in vitro на ізольованих мітохондріях тканини серця мор-

ських свинок за умов моделювання ішемії – реперфузії за допомогою аноксії – реоксигенації та дії індуктора МП феніларсиноксиду (ФАО) було показано вивільнення стабільного фактора [3], що являє собою суміш неідентифікованих речовин мітохондріального походження. В дослідях на ізольованих за методом Лангендорфа серцях морських свинок було показано, що саме такий фактор вивільняється під час реперфузії ішемізованого серця у відтікаючий від серця розчин [5, 6]. В дослідях *in vivo* також було показано вивільнення фактора як маркера оксидативних уражень цілого організму. Фактор реєструється спектрофотометрично в ультрафіолетовому діапазоні довжин хвиль 230-260 нм з максимумом поглинання при 240-250 нм [3, 6]. Ми зазначили, що однією з передумов вивільнення даного фактора є оксидативний стрес, який, як відомо, супроводжується порушенням окисного фосфорилування в мітохондріях і відкриттям МП [19]. Вивільнення фактора з мітохондрій, як було показано в дослідях *in vitro*, інгібувалося класичним інгібітором МП циклоспорином А. Згідно з цими даними ми зробили припущення про зв'язок між вивільненням згаданого фактора та відкриттям МП в тканинах серця щурів за умов моделювання оксидативного стресу [3,4].

Активация мітохондріальної пори, зумовлена перевантаженням кальцієм та оксидативним стресом, призводить до набухання мітохондрій [8-10, 17, 18], що можна спостерігати внаслідок зниження оптичної густини даної суспензії в часі (від 5 хв до 1 год) при довжині хвилі 520 нм.

Метою наших досліджень було встановити, чи існує залежність між набуханням мітохондрій внаслідок відкриття мітохондріальної пори та вивільненням неідентифікованих речовин (фактора) з мітохондрій тканин серця щурів за умов перевантаження кальцієм (CaCl_2) та дії ін-

дуктора МП ФАО, що надалі може бути використане для визначення чутливості відкриття МП в різних тканинах при різних станах організму.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили на 5-місячних білих щурах лінії Вістар масою 200 – 250 г (5 міс.) Тварин утримували на стандартному раціоні віварію.

Виділення мітохондрій із тканини серця. Серця, видалені з декапітованих тварин, ретельно промивали охолодженим 0,9%-м розчином КСІ (при 2°C), подрібнювали і гомогенізували в 9-кратному об'ємі середовища (ммоль/л): сахароза – 250, тріс-НСІ буфер – 20, ЕДТА – 1; рН 7,4. Мітохондрії виділяли за методом Костеріна та співавт. [2] в нашій модифікації. Для виділення мітохондрій гомогенати тканин центрифугували при 2500 об хв⁻¹ протягом 7 хв, (2° С). Потім супернатант центрифугували повторно при 12500 об хв⁻¹ протягом 15 хв (2° С). Отриманий осад – мітохондрії – суспендували в розчині, що містив (ммоль/л): сахароза – 250, тріс-НСІ буфер (рН 7,2 при 23 °С) – 25, та одразу використовували в експериментах протягом 4 – 6 год. Вміст білка в суспензії мітохондрій визначали за методом Lowry [16].

Реєстрація мітохондріальної МП. Відкриття мітохондріальної пори оцінювали за зниженням оптичної густини ізольованих мітохондрій до (5 хв) і після (15 хв) їх набухання за умов дії індуктора в інкубаційному середовищі з одночасною реєстрацією на спектрофотометрі (СФ-46) при довжині хвилі 520 нм [9]. Для цього мітохондрії інкубували в 3 мл інкубаційного середовища наступного складу (ммоль/л): КСІ - 120, тріс-НСІ - 25, KH_2PO_4 – 3, сукцинат натрію – 5; рН 7,4, при 23° С). Концентрація білка становила 0,8 мг/мл. Як контроль використовували суспензію мітохондрій в інкубацій-

ному середовищі за відсутності індукторів з реєстрацією оптичної густини при $\lambda=520$ нм протягом 20 хв. Відкриття пори індукували модифікатором сульфгідрильних груп ФАО і CaCl_2 . Для підтвердження того, що зниження оптичної густини відбувається завдяки відкриттю мітохондріальної пори, мітохондрії перед додаванням індуктора ще й інкубували з класичним інгібітором МП, циклоспорином А (10^{-5} моль/л) протягом 5 хв.

Вивчення МП-залежного вивільнення неідентифікованих речовин мітохондріального походження. Мітохондрії інкубували в 4 мл середовища наступного складу (ммоль/л): тріс- HCl (рН 7,2 при 23 °С) – 50, MgCl_2 – 1, KCl – 125, $\text{Na}_2\text{-ATP}$ – 3, сукцинат натрію – 3, CaCl_2 – 0,01, фосфатний буфер (KH_2PO_4) (рН 7,2) – 2. Концентрація білка становила 0,25 – 0,3 мг/мл. З метою визначення вивільнення фактора з мітохондрій в інкубаційне середовище вводили розчини ФАО і CaCl_2 , дія яких тривала 10 хв. Після цього мітохондрії, як оброблені, так і нативні, відразу центрифугували при 13000 об хв $^{-1}$ протягом 20 хв. Надосадову рідину використовували для виміру оптичної густини в діапазоні довжин хвиль 230-260 нм щодо ди-

стильованої води. Контролем були показники оптичної густини надосадового розчину нативних мітохондрій без попередньої обробки досліджуваними індукторами.

Для проведення досліджень використовували реактиви: ФАО ("Sigma", США), циклоспорин А ("Fluka", Швейцарія), аденозинтрифосфат-динатрієву сіль, тріс ("Reanal", Угорщина), додецилсульфат натрію ("Fluka", Швейцарія). Інші реактиви були вітчизняного виробництва ("Реакхім").

Отримані результати оброблені методами варіаційної статистики з використанням програми Origin 6.0 від фірми Microcall Inc. США.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис. 1 наведено характерні графіки реєстрації відкриття мітохондріальної пори внаслідок набухання мітохондрій, ізольованих з тканин серця щурів в безкальцієвому середовищі (контроль) протягом 20 хв, і за умов дії CaCl_2 протягом 15 хв після додавання CaCl_2 в пробу. Спостерігається дозозалежне набухання мітохондрій при дії CaCl_2 у діапазоні концен-

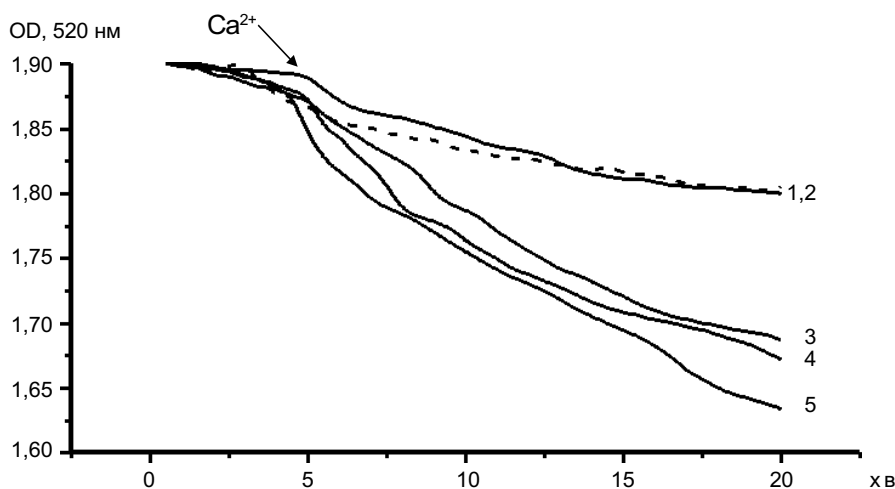


Рис. 1. Вплив різних концентрацій кальцію (Ca^{2+}) на відкриття мітохондріальної пори в тканині серця щурів: 1 - контроль; 2 - 10^{-7} моль/л; 3 - 10^{-6} моль/л; 4 - 10^{-5} моль/л; 5 - 10^{-4} моль/л

трацій 10^{-7} – 10^{-4} моль/л. При цьому набухання при дії CaCl_2 в концентрації 10^{-7} моль/л практично не відрізняється від такого суспензії мітохондрій в інкубаційному середовищі без додавання кальцію (контроль). Різниця набухання (Δ) становить 5%, $P < 0,05$. При додаванні до суспензії мітохондрій CaCl_2 в концентраціях 10^{-6} – 10^{-5} моль/л, набухання є практично однаковими, але водночас значно відрізняються від контролю ($\Delta = 12\%$, $P < 0,05$ порівняно з контролем). А при дії CaCl_2 в концентрації 10^{-4} моль/л величина набухання становить 14%, $P < 0,05$ порівняно з контролем. Отримані результати вказують на відкриття мітохондріальної пори, викликане дією CaCl_2 у діапазоні концентрацій 10^{-6} – 10^{-4} моль/л. Свідченням цього є дозозалежне набухання мітохондрій з максимумом набухання при дії CaCl_2 в концентрації 10^{-4} моль/л (перевантаження кальцієм). Очевидно, що вплив кальцію в концентрації 10^{-7} моль/л (концентрація, яка відповідає внутрішньоклітинній концентрації кальцію в стані спокою) на набухання мітохондрій можна пояснити його фізіологічною дією, тобто такою, що не призводить до біохімічних змін в цих органелах.

Отже, перевантаження кальцієм спричинює відкриття МП, при цьому спостерігається дозозалежний ефект.

Причиною набухання мітохондрій, а, відповідно, і зміни в проникності їх мембрани є відкриття неспецифічної пори у внутрішній мітохондріальній мембрані. Це фундаментальне явище супроводжується розладом окисного фосфорилування, набуханням матриксу, як вже зазначалося вище, і розгортанням крист внутрішньої мембрани, котре зрештою призводить до клітинної смерті.

Раніше при реперфузії ізольованого ішемізованого серця морської свинки було показано вивільнення фактора (неідентифікованих речовин), що спричинює розвиток аритмій, пригнічення скорочувальної

активності міокарда, депресію скорочувальної активності передсердної трабекули і артеріальної судинної смужки [5]. Було зроблено припущення про мітохондріальне походження цього фактора та його причетність до відкриття мітохондріальної пори [3, 6]. Для встановлення співвідношень між відкриттям МП і вивільненням неідентифікованих речовин (фактора) було проведено дослідження вивільнення фактора за умов, аналогічних дослідженням набухання мітохондрій і відкриття МП. Так, спостерігався дозозалежний ефект впливу CaCl_2 в діапазоні концентрацій 10^{-7} – 10^{-3} моль/л на вивільнення неідентифікованих речовин з мітохондрій тканин серця щурів. Максимальне вивільнення фактора відбувалося при дії CaCl_2 починаючи з концентрації 10^{-4} моль/л (рис. 3).

Таким чином, ми спостерігали пряму залежність між набуханням суспензії мітохондрій, ізольованих із серця щурів за умов дії індуктора МП CaCl_2 і вивільненням неідентифікованих мітохондріальних речовин (фактора).

Існує декілька пояснень запропонованого механізму активації МП за допомогою перевантаження кальцієм. Зокрема, вважають, що навантаження іонами Ca^{2+} посилює генерацію мітохондріями вільних радикалів у результаті пригнічення окисного фосфорилування, які, як відомо, активують МП [10]. За іншими даними, кальцій змінює активність тіолових груп мітохондріальних мембранних білків [7] або прямо регулює відкриття мітохондріальної пори. В оточенні мітохондріальних мегаканалів, а також у складі білків, що утворюють МП, розміщуються сульфгідрильні групи, модифікація яких є одним із механізмів впливу модифікаторів SH-груп на стабільність і проникність мітохондріальних мембран [8, 13].

Наступним етапом нашої роботи було визначення впливу штучного окисника,

модифікатора сульфгідрильних груп білків ФАО на відкриття МП і вивільнення мітохондріального фактора. Відомий як потенційний індуктор мітохондріальної пори в ізолюваних мітохондріях [8], ФАО викликає відкриття мітохондріальної пори за допомогою прямої взаємодії з сульфгідрильними групами мембранних білків, що утворюють МП-комплекс [7, 14], моделюючи, таким чином, умови оксидативного стресу незалежно від дії вільних радикалів.

Вважають, що індукція МП за допомогою ФАО стимулюється наявністю цитозольного кальцію і не потребує його наявності в мітохондріальному матриксі [8, 13]. Позамітохондріальний кальцій знижує концентрацію ФАО, необхідну для індукції МП за допомогою збільшення спорідненості зв'язування з тіоловими групами мітохондріальних мембранних білків або збільшення ймовірності відкриття мітохондріальної пори [8, 13]. Це може бути корисним для розуміння механізму утворення МП при таких патологічних станах, як ішемія – реперфузія та фізіологічне старіння, коли концентрація цитозольного кальцію підвищується. У зв'язку з цим в наших наступних досліджах у середовищі для набухання мітохондрій ми використа-

ли добавки CaCl_2 (10^{-7} моль/л) за умов дії різних концентрацій ФАО (10^{-8} – 10^{-4} моль/л).

На рис. 2 наведені характерні графіки реєстрації відкриття МП, що супроводжуються набуханням мітохондрій тканини серця щурів за відсутності ФАО (контроль) і за умов дії ФАО в діапазоні концентрацій 10^{-8} – 10^{-4} моль/л. При дії ФАО на мітохондрії відбувається їх набухання і спостерігається дозозалежний ефект з максимальним набуханням при концентрації ФАО – 10^{-4} моль/л ($\Delta = 17\%$, $P < 0,05$ порівняно з контролем). ФАО в концентрації 10^{-8} – 10^{-7} моль/л помітно не впливає на набухання мітохондрій, оскільки величина набухання ($\Delta = 6\%$, $P < 0,05$) майже не відрізняється від такої в контролі ($\Delta = 5\%$, $P < 0,05$). Про індукцію МП можна судити за різницею набухання порівняно з контролем при дії ФАО в діапазоні концентрацій 10^{-6} – 10^{-4} моль/л.

В досліджах *in vitro* за умов моделювання оксидативного стресу за допомогою модифікатора SH-груп ФАО в діапазоні концентрацій 10^{-8} – 10^{-4} моль/л за наявності іонів Ca^{2+} в інкубаційному середовищі (10^{-5} моль/л CaCl_2) було досліджено вивільнення неідентифікованих речовин в діапазоні довжин хвиль 230–260 нм (див. рис.4).

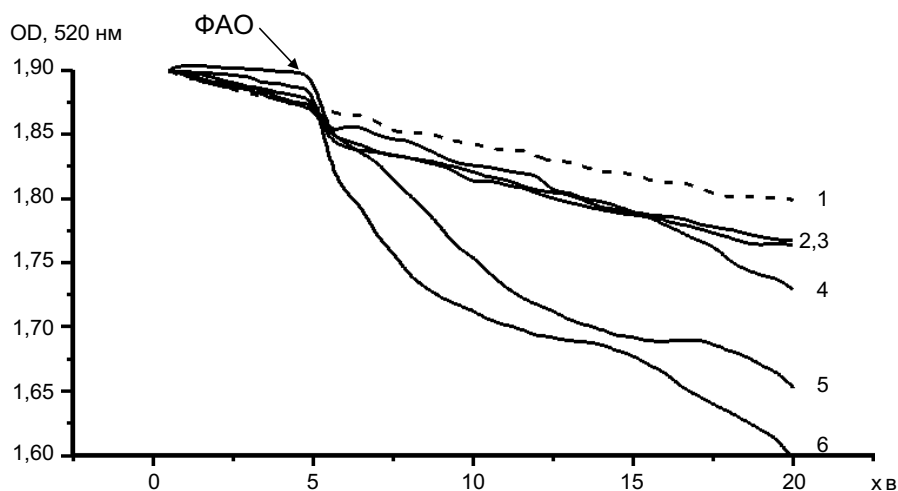


Рис. 2. Вплив різних концентрацій феніларсиноксиду (ФАО) на відкриття мітохондріальної пори в тканині серця щурів: 1 – контроль; 2 – 10^{-8} моль/л; 3 – 10^{-7} моль/л; 4 – 10^{-6} моль/л; 5 – 10^{-5} моль/л; 6 – 10^{-4} моль/л

Максимальне поглинання спостерігалось при дії ФАО в концентрації 10^{-5} моль/л. Це оптимальна концентрація ФАО, яку доцільно використовувати для вивчення ФАО-індукованого вивільнення мітохондріальних речовин. Вивільнення фактора з мітохондрій за умов дії ФАО корелює зі зміною оптичної густини речовин, які вивільняються під час реперфузії ізолюваного ішемізованого серця морської свинки [3], а також, що дуже важливо, з набуханням мітохондрій за таких самих умов дії ФАО.

Оскільки прямим доказом причетності індукції МП до набухання мітохондрій є використання прямих інгібіторів мітохондріальної пори, ми в своїй роботі використали класичний інгібітор МП циклоспорин А. В експериментах встановлено, що попередня інкубація мітохондрій з циклоспорином А за умов дії кальцію в концентрації 10^{-4} моль/л (максимальне набу-

хання) та за умов дії ФАО в концентрації 10^{-5} моль/л перешкоджала їх набухання (рис. 5 і 6), що є прямим доказом причетності набухання мітохондрій, ізолюваних з тканин серця щурів до відкриття мітохондріальної пори. Чутливість ФАО-індукованого вивільнення речовин до дії циклоспорину А (рис. 7) дає основу стверджувати, що вивільнення мітохондріальних речовин відбувається через відкриття МП і може бути її показником.

Актуальним залишається з'ясування структури мітохондріальної пори. Відомо, що МП утворюється при контакті ділянок-білків між внутрішньою і зовнішньою мітохондріальними мембранами. Halestrap та співавт. [13] стверджують, що основними білками, які утворюють пору, є транслокатор аденінового нуклеотиду (ANT) на внутрішній мембрані, до якого в матриксі приєднується циклофілін D (Cyp D). Crompton [11] припускає існу-

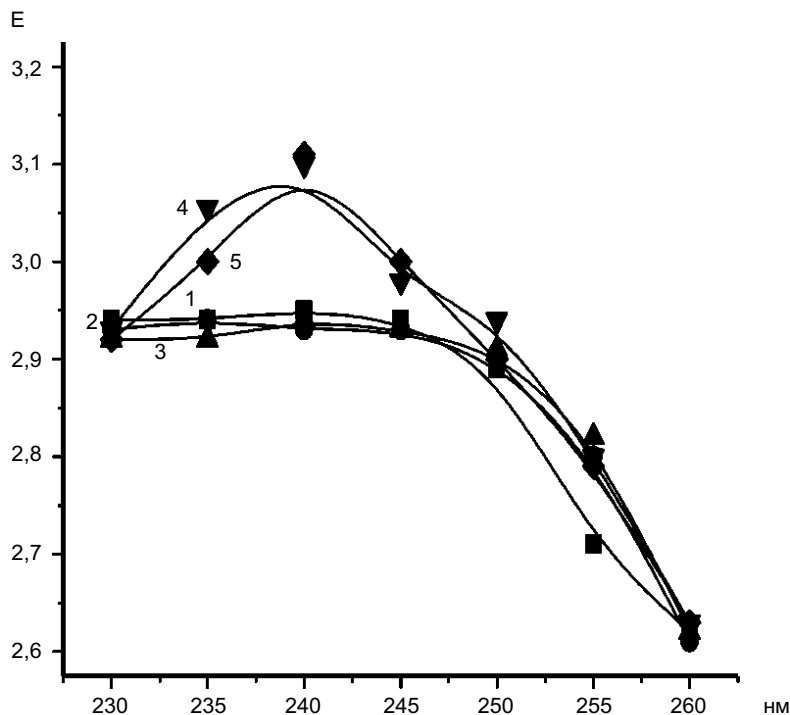


Рис.3. Вплив різних концентрацій кальцію (Ca^{2+}) на вивільнення фактора з мітохондрій тканини серця щурів: 1 – 10^{-7} моль/л; 2 – 10^{-6} моль/л; 3 – 10^{-5} моль/л; 4 – 10^{-4} моль/л; 5 – 10^{-3} моль/л

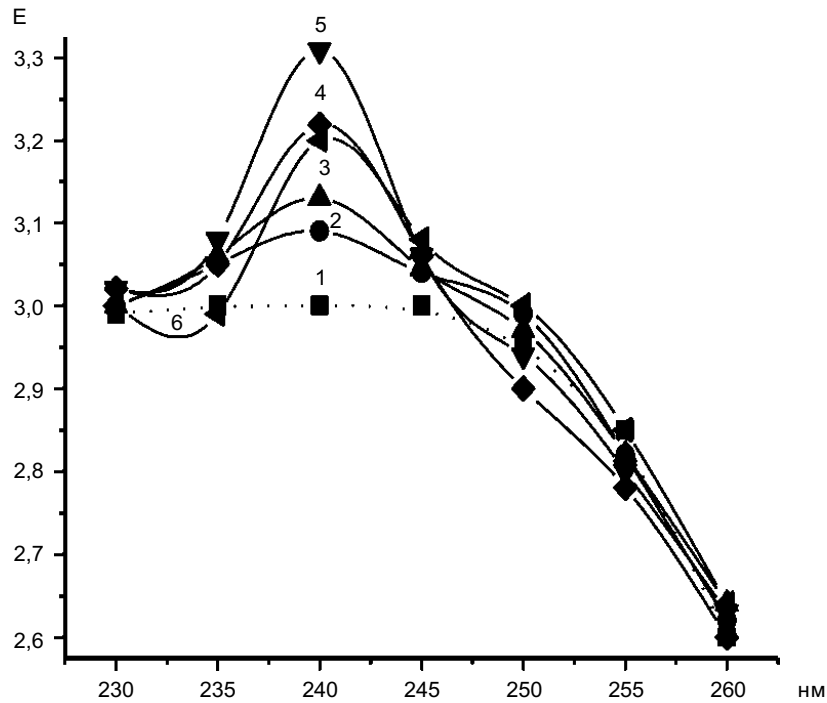


Рис.4. Вплив різних концентрацій феніларсиноксиду (ФАО) на вивільнення фактора з мітохондрій тканини серця щурів: 1 – контроль (мітохондрії без обробки ФАО); 2 – 10^{-8} моль/л; 3 – 10^{-7} моль/л; 4 – 10^{-6} моль/л; 5 – 10^{-5} моль/л; 6 – 10^{-4} моль/л

вання на зовнішній мітохондріальній мембрані ще одного пороутворювального білка, потенціалзалежного аніонного каналу (VDAC). Серед “допоміжних” білків,

що сприяють активації пори, розрізняють бензодіазепінові рецептори та окремі білки родини Vcl-2 [11-13].

Приєднання кальцію до субстратзв'я-

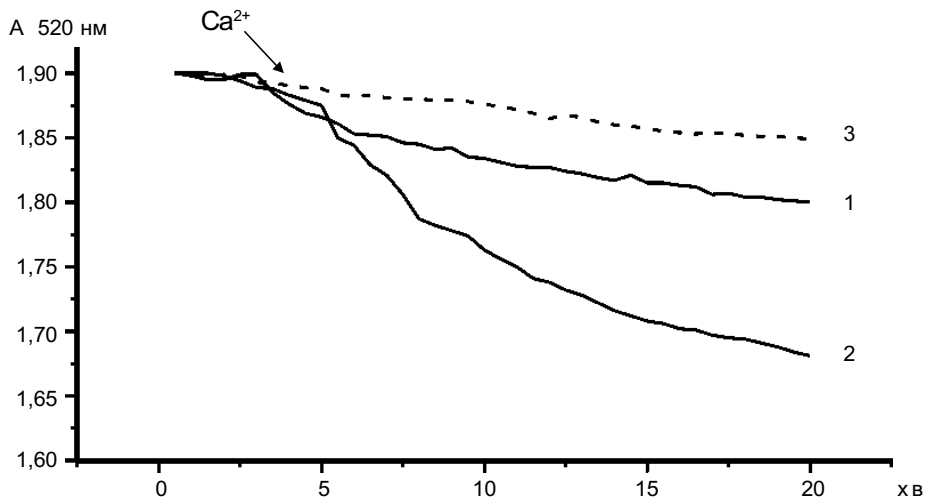


Рис. 5. Вплив циклоспорино А на відкриття мітохондріальної пори тканини серця щурів за умов перевантаження кальцієм: 1 – контроль (мітохондрії в безкальцієвому середовищі); 2 – дія кальцію, Ca^{2+} , 10^{-4} моль/л; 3 – преінкубація з циклоспорином А, 10^{-5} моль/л

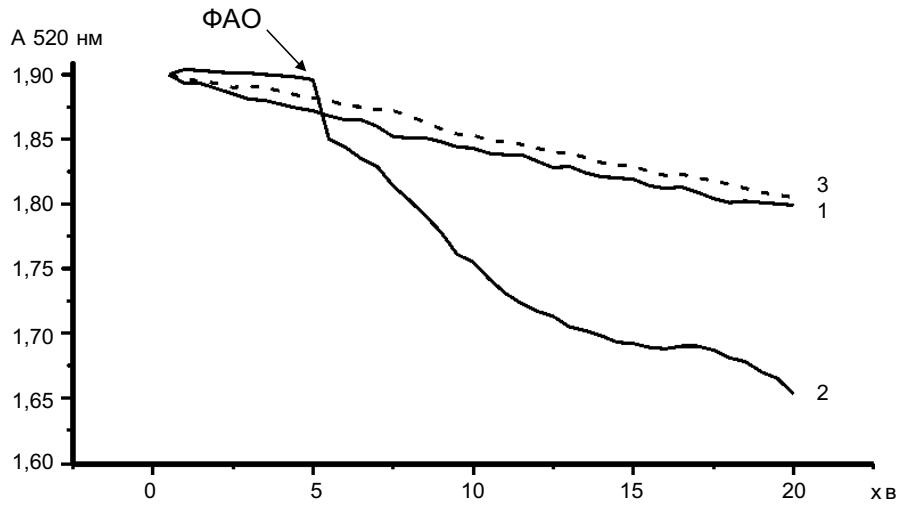


Рис. 6. Вплив циклоспорину А на відкриття мітохондріальної пори тканини серця щурів за умов дії феніларсиноксиду (ФАО): 1 – контроль (мітохондрії без обробки ФАО); 2 – дія ФАО, 10^{-5} моль/л; 3 – преінкубація з циклоспорином А, 10^{-5} моль/л

зувальних сайтів на ANT вважається тригером конформаційних змін, необхідних для відкриття МП [13]. Модифікація спе-

цифічних тіолових груп на ANT оксидативним стресом або тіоловими реагентами також зменшує приєднання субстра-

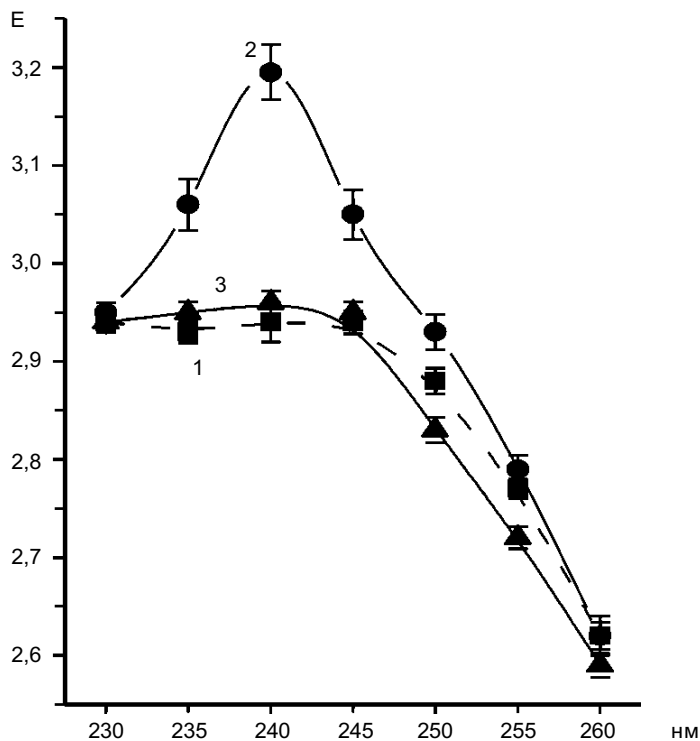


Рис.7. Вплив циклоспорину А на вивільнення фактора з мітохондрій тканини серця щурів за умов дії феніларсиноксиду (ФАО): 1 – контроль (мітохондрії без обробки ФАО); 2 – дія ФАО, 10^{-5} моль/л; 3 – преінкубація з циклоспорином А, (10^{-5} моль/л), дія ФАО, (10^{-5} моль/л)

ту АНТ, аденінових нуклеотидів, і може відповідати за спроможність цих агентів активувати МП.

Така модель будови МП пояснює механізми її інгібування імуносупресорним циклічним пептидом циклоспорином А, який, як відомо з літератури, зв'язується з Сур D і таким чином специфічно блокує мітохондріальну пору [8, 13].

Отже, на підставі отриманих експериментальних результатів можна вважати, що вивільнення мітохондріальних речовин відбувається внаслідок дисфункції мітохондрій, що проявляється підвищенням проникності внутрішніх мітохондріальних мембран в результаті порушення їх бар'єрних властивостей та утворення МП. Отримані результати підтверджують наші попередні дослідження щодо походження фактора, що виділяється з мітохондрій, і свідчать про те, що вивільнення цього фактора відбувається завдяки відкриттю МП. Використані нами інструментальні методи дослідження дають підставу стверджувати існування залежності між набуханням мітохондрій і вивільненням фактора, що може бути використано при визначенні чутливості відкриття мітохондріальної пори в різних тканинах як у межах норми, так і при патологічних станах організму.

Відкритим залишається питання відносно природи та структури неідентифікованих речовин. У матриксі мітохондрій знаходяться протони, Ca^{2+} , ферменти циклу Кребса, антиоксидантні ферменти, відновлений глутатіон і кофактор системи його відновлення - НАДН, розчинні білки, мітохондріальних ДНК тощо, однак вивільнення великих молекул обмежується розміром МП. Відомо, що протекторну від вільних радикалів дію проявляють SH-вмісні агенти, а саме глутатіон, що відіграє важливу роль у функціонуванні мітохондрій. Підтримання вмісту глутатіону в клітинах часто попереджає їх від

клітинної загибелі [1]. Таким чином, можна припустити, що одним із компонентів, що входить до складу досліджуваного нами фактора, є низькомолекулярний пептид глутатіон чи метаболіт глутатіону та NO – нітрозоглутатіон.

V.F. Sagach, H.L. Vavilova, O.V. Rudyk, N.A. Strutyńska

RELEASE OF UNIDENTIFIED MITOCHONDRIAL SUBSTANCES—EVIDENCE FOR MITOCHONDRIAL PERMEABILITY TRANSITION PORE OPENING IN HEART MITOCHONDRIA OF RATS

In experiments in vitro on isolated heart mitochondria of rats, an activation of mitochondrial permeability transition pore (PTP) was induced by either modelling an oxidative stress with PTP-inductor phenylarsine oxide (PAO) or by calcium overload (CaCl_2). PTP-opening was determined spectrophotometrically ($\lambda = 520 \text{ nm}$) by a decrease in an optical density (OD), resulting from mitochondrial swelling. We also observed a release of mitochondrial unidentified substances (mitochondrial factor, MF) registered spectrophotometrically in a range of waves $\lambda = 230\text{-}260 \text{ nm}$. Both correlation between mitochondrial swelling and a release of the mitochondrial factor have been found in experiments with PAO at concentrations $10^{-7}\text{-}10^{-4} \text{ mol/l}$, and in those with CaCl_2 at concentrations $10^{-6}\text{-}10^{-4} \text{ mol/l}$. The classical inhibitor of mitochondrial PTP cyclosporin A (Cs A, 10^{-5} mol/l) inhibited mitochondrial swelling and a release of that factor completely. Our experimental data give evidence for mitochondrial origin of the factor and its release following PTP-opening by PTP-inductors - PAO and CaCl_2 . Mitochondrial swelling that accompanied the factor's release might contribute to PTP-opening and be useful in defining the mitochondrial sensitivity either with inductors or inhibitors of mitochondrial PTP in different tissues under normal and pathological states of organism.

*O.O. Bohomoletz Institute of Physiology
National Academy of Science of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Ю.А. Нарушение барьерных свойств внутренней и наружной мембран митохондрий, некроз и апоптоз // Биол. мембраны. – 2002. – **19**, №5. – С. 356 – 377.
2. Костерин С.А., Браткова Н.Ф., Курский М.Д. Роль сарколеммы митохондрий в обеспечении кальциевого контроля расслабления миомерия // Биохимия. – 1985. – **50**, №8. – С.1350 – 1361.
3. Сагач В.Ф., Вавілова Г.Л., Струтинська Н.А., Акопова О.В. Вплив індукторів та інгібіторів мітохондріальної пори на її утворення та на вивільнення неідентифікованого мітохондріального фак-

- тора // Фізіол. журнал. – 2003. – **49**, №1. – С.3 – 12.
4. Струтинська Н.А., Вавілова Г.Л., Рудик О.В., Сагач В.Ф. Вивільнення мітохондріального фактора та індукція МРТ в кардіоміоцитах старих щурів і за умов впливу на них інтервальної гіпоксії // У кн.: Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2003 (тези доп.). – К., 2003. – С.28-29.
 5. Сагач В. Ф., Дмитрієва А. В., Шиманська Т. В., Надточій С. М. Фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця, дослідження впливу на міокард, коронарні та периферичні судини // Фізіол. журн. – 2002. – **48**, №1. – С.3 – 8.
 6. Сагач В.Ф., Шиманська Т. В., Надточій С.М. Фактор, який вивільнюється під час реперфузії ішемізованого серця може бути маркером відкриття мітохондріальної пори // Там само. – 2003. – **49**, №4. – С.7 – 13.
 7. Bernardes C. F., Fagain M.M., Meyer-Fernandes J.R. et al. Suramin inhibits respiration and induces membrane permeability transition in isolated rat liver mitochondria // *Toxicology*. – 2001. – **169**. – P.17 – 23.
 8. Bernardi P., Vassaneli S., Veronese P. et al. Modulation of the mitochondrial cyclosporin A – sensitive permeability transition pore // *J. Biol. Chem.* – 1993. – **268**. – P.1005 – 1010.
 9. Brookes P. S., Salinas E. P., Darley-Usmar K. et al. Concentration-dependent effect of nitric oxide on mitochondrial permeability transition and cytochrom C release // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, №27. – P. 20474 – 20479.
 10. Bruce S. Kristal, M. Matsuda, B. P.Yu. Abnormalities in the mitochondrial permeability transition in diabetics rats // *Biophys. Biochem. Res. Commun.* – 1996. – **222**. – P. 519 – 523.
 11. Crompton M., Barskly E., Jonson N., Capano M. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death // *Biochemie*. – 2002. – **84**. – P.143 – 152.
 12. Duchen M. R. Mitochondria and calcium: from signalling to cell death // *J Physiol*. – 2000. – **529**, №1. – P.57 – 68.
 13. Halestrap A. P., McStay G. P., Clane S. J. The permeability transition pore complex: another view // *Biochemie*. – 2002. – **84**. – P.153-166.
 14. Korge P., Goldhaber J.I., Weiss J. N. Phenylarsineoxide induces mitochondrial permeability transition hypercontracture, and cardiac cell death // *Amer. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2001. – **280**. – P. H2203 – H2213.
 15. Lesnefsky E. J., Moghaddas S., Tandler B. et al. Mitochondrial dysfunction in cardiac disease: icshemia-reperfusion, ageing and heart failure // *J. Mol. Cardiol.* – 2001. – **33**, №6. – P. 1065 – 1089.
 16. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A.L. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193**, №1. – P. 265 – 275.
 17. Mather M., Rottenberg H. Ageing enhances the activation of the permeability transition pore in mitochondria // *Biophys. Biochem. Res. Commun.* – 2000. – **273**. – P. 603 – 608.
 18. Petit P. X., Gubern M., Diolez P., Susin S. A. et al. Disruption of the outer mitochondrial membrane as a result of large amplitude swelling: the impact of irreversible permeability transition // *FEBS Lett.* – 1998. – **426**. – P. 111 – 116.
 19. Zorov D. B., Filburn C. R., Klotz L.-O. et al. Reactive oxygene species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes // *J. Exp. Med.* – 2000. – **192**, №7. – P.1001 – 1014.

*Ин-т фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 12.09.2003*