

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

Чутливість феніларсиноксидіндукованого відкриття мітохондріальної пори в серці старих щурів і за умов впливу на них інтервальних гіпоксичних тренувань

На митохондриях, изолированных из ткани сердца взрослых, старых, а также старых крыс в условиях их интервальных гипоксических тренировок (ИГТ) изучали чувствительность открытия митохондриальной поры (МП) к ее индуктору феніларсиноксиду (ФАО) по двум показателям: изменению набухания митохондрий и высвобождению веществ митохондриального происхождения (митохондриального фактора). Показано, что митохондрии сердца старых крыс более чувствительны к действию ФАО, который вызывает открытие циклоспоринчувствительной МП и МП-зависимое высвобождение фактора, по сравнению с таковыми митохондрий сердца взрослых крыс. Установлено повышение содержания стабильного метаболита активного кислорода перекиси водорода (H_2O_2) и гидроксильного радикала ($\cdot OH$) в сердце старых крыс. ИГТ достоверно уменьшали содержание H_2O_2 и $\cdot OH$ в тканях сердца старых крыс. Наблюдали также корригирующее влияние ИГТ на ФАО-индуцируемое открытие МП и МП-зависимое высвобождение митохондриального фактора из сердца старых крыс, что в дальнейшем может быть использовано как защитный прием, предотвращающий открытие МП при старении и, возможно, ряде хронических патологических состояний организма, связанных с развитием оксидативного стресса.

ВСТУП

Процес старіння супроводжується розладом нормальних фізіологічних функцій організму та зменшенням його адаптивних можливостей до виживання. Однією з причин такого прогресуючого з віком ослаблення метаболічних процесів вважається хронічний оксидативний стрес – надмірне накопичення вільних радикалів кисню [11], одним із джерел яких є мітохондрії [12]. Ці органели [11], завдяки дії оксидантів, відіграють ключову роль у регуляції апоптозу в серці з віком, внаслідок чого відбувається зменшення загальної кількості кардіоміоцитів [5, 11]. Крім того, дисфункція мітохондрій може бути наслідком підвищеної їх чутливості до індукторів відкриття мітохондріального мегаканалу або так званої мітохондріальної пори (МП),

активація якої за умов оксидативного стресу і/або навантаження внутрішньоклітинним кальцієм, викликає смерть клітини [8, 9].

Будь-які цілеспрямовані втручання на клітинному рівні з метою зменшення чутливості кардіоміоцитів до індукторів відкриття МП (зокрема до дії оксидантів), можуть зменшити прогресуючу з віком втрату клітин і поліпшити стан старого серця за умов оксидативного стресу.

Інтервальні гіпоксичні тренування (ІГТ), що успішно використовуються для комплексної адаптивної перебудови організму [2] та для поліпшення стану, зокрема, серцево-судинної системи у хворих на артеріальну гіпертонію та ішемічну хворобу серця [1], створюють сприятливі умови для синтезу низки протекторних органічних речовин і підвищення активності основних

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

антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази). ІГТ, або короткі періоди гіпоксії, що чергуються з нормоксичними чи менш гіпоксичними умовами, трапляються в організмі за багатьох обставин. Більшість авторів, котрі вивчають це питання, порівнюють кардіопротекторну дію інтервальної гіпоксії з ефектом ішемічного прекодиціювання – явища, при якому короткі періоди ішемії роблять серце толерантним до подальшого летального ішемічно-реперфузійного пошкодження. Останнім часом обговорюється ідея стосовно того, що в основі кардіопротекторної дії прекодиціювання є зменшення ймовірності відкриття МП у відповідь на оксидативний стрес [9].

Нині існує мало відомостей щодо досліджень чутливості відкриття МП до її індукторів у тканині серця при старінні [13] та відносно впливу на неї ІГТ. З огляду на це, доцільним було дослідити вплив ІГТ на чутливість феніларсиноксидіндукованого відкриття МП, що визначали за двома показниками: зміною ступеня набухання мітохондрій і вивільненням неідентифікованих речовин мітохондріального походження (мітохондріального фактора) в тканині серця старих щурів. Оскільки одним із основних індукторів відкриття МП взагалі та при старінні зокрема є вільні радикали, які накопичуються з віком і є токсичними для організму, то предметом наших досліджень було також вивчення вмісту вільнорадикальних продуктів метаболізму кисню, а саме пероксиду водню, гідроксильного та супероксидного радикалів, у тканині серця старих щурів та після дії на них ІГТ.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на дорослих (6 міс, маса 220–250 г) і старих (24 міс, маса 300–350 г) щурах лінії Вістар. Тварин утриму-

вали на стандартному раціоні віварію. У кожній серії дослідів використано не менше ніж 10–12 тварин. ІГТ старих щурів здійснювали 5 разів на день з використанням газової суміші, що містила 10% кисню в азоті, впродовж 10 хв з 10-хвилинним інтервалом протягом 7 діб.

Виділення мітохондрій із тканин серця. Серця, видалені з декапітованих щурів, промивали охолодженим 0,9%-м розчином КСІ (4°C). Мітохондрії виділяли за описаним нами методом [3] і в суспензії визначали вміст білка за Лоурі.

Дослідження відкриття МП. Відкриття МП реєстрували на спектрофотометрі за зниженням оптичної густини (D) ізольованих мітохондрій при довжині хвилі 520 нм після їх набухання за умов дії індуктора феніларсиноксиду (ФАО) в інкубаційному середовищі (3 мл) ізотонічного складу протягом 20 хв, а також за визначенням МП-залежного вивільнення неідентифікованих речовин – мітохондріального фактора в діапазоні довжин хвиль 230–260 нм, як описано нами раніше [3].

Дослідження вмісту активних метаболітів кисню. В гомогенатах тканин серця дорослих і старих щурів визначали вміст активних метаболітів кисню, а саме: пероксиду водню (H_2O_2), гідроксильного ($\cdot OH$) і супероксидного ($\cdot O_2^-$) радикалів.

Визначення вмісту H_2O_2 . Аліквоти проб гомогенату тканини серця щурів (100–250 мкг білка) додавали у кварцеву кювету (1 см), що містила 2 мл розчину 0,1 моль/л КІ, надлишок лактопероксидази (50 нмоль) у 0,05 моль/л фосфатному буфері (рН 7,33). Зміни екстинції проб реєстрували спектрофотометрично при довжині хвилі 353 нм. Вміст H_2O_2 виражали в пікомольях на 1 мг білка, використовуючи його коефіцієнт молярної екстинції $\epsilon = 26\ 000\ \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ [10].

Визначення вмісту $\cdot OH$ -радикала. Готували інкубаційну суміш (20 ммоль дезоксирибози, 1 ммоль H_2O_2 в 20 ммоль/л натрій-фосфатного буфера (рН 7,4); вміст

білка в пробі становив 100–250 мкг. Пробу інкубували протягом 60 хв при 37 °С, після чого додавали 0,5 мл 1%-го розчину тіобарбітурової кислоти в 50 ммоль/л NaOH і 0,5 мл 2,8%-го розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували 20 хв на водяній бані (100 °С), охолоджували та реєстрували величину екстинції при $\lambda=532$ нм. Вміст $\cdot\text{OH}$ -радикала, що генерувався при цьому за період інкубації 30 хв, виражали в умовних одиницях $\Delta E \cdot 10^2$ за 30 хв на 1 мг білка проби [6].

Визначення вмісту $\cdot\text{O}_2^-$. Вміст $\cdot\text{O}_2^-$ в гомогенатах тканин серця визначали за окисненням цитохрому *c* у 10 ммоль/л HCl-трис-буфері (рН 7,4 при 37°C) [14], фіксуючи

зміни екстинції при $\lambda=550$ нм після інкубації проби при 37°C протягом 30 хв. Вміст $\cdot\text{O}_2^-$, генерованого пробами під час інкубації, визначали за коефіцієнтом молярної екстинції $\epsilon = 21\ 000$ моль⁻¹ · см⁻¹.

Отримані результати обробляли з використанням програмного забезпечення Origin 6.0 фірми Microcal Inc. (США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами виявлено, що мітохондрії серця старих щурів мають значно більший ступінь набухання за відсутності індуктора ФАО (контроль) порівняно з мітохондріями серця дорослих тварин (рис. 1,а). Це узгоджується

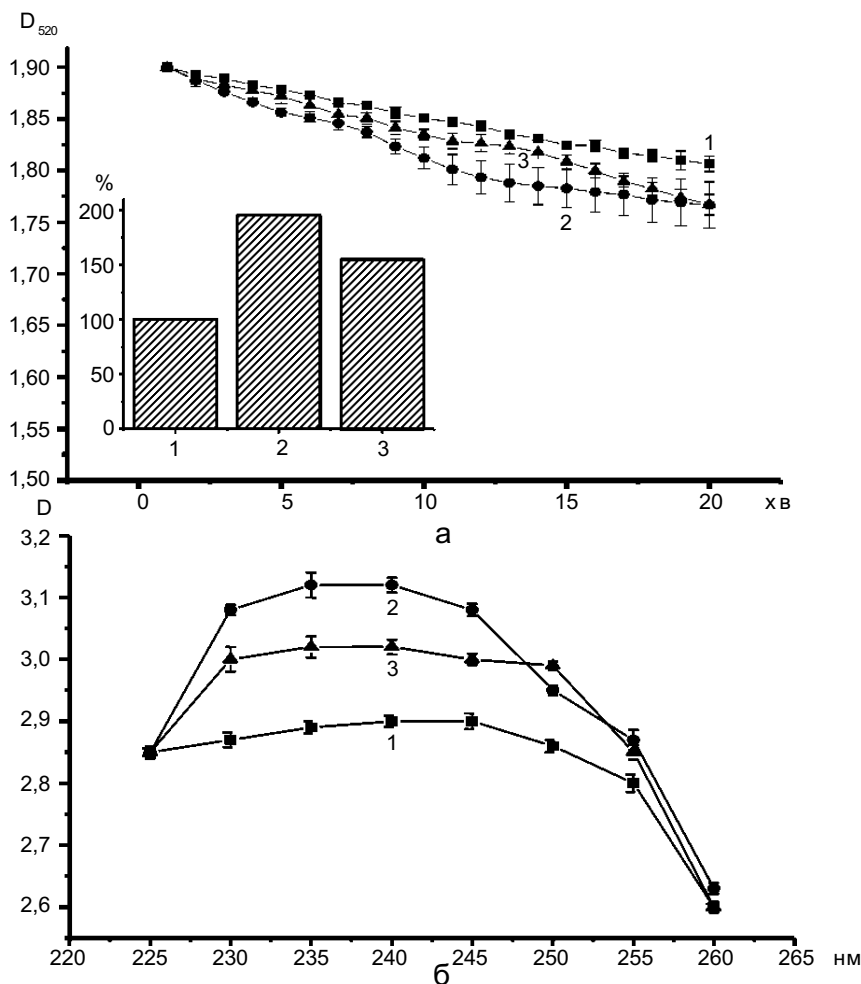


Рис. 1. Набухання мітохондрій (а) та вивільнення фактора з мітохондрій (б), ізолюваних з серця щурів за відсутності дії феніларсиноксиду (контроль) у щурів різного віку: 1 – дорослих; 2, 3 – старих щурів до і після інтервальних гіпоксичних тренувань відповідно

ся з даними про те, що мітохондрії серця старих щурів мають також здатність вивільнювати мітохондріальний фактор за відсутності дії ФАО, на відміну від мітохондрій дорослих тварин (див. рис. 1,б). Ці дані свідчать про посилення при старінні організму окисних процесів, які викликають ушкодження мітохондрій серця.

Для відтворення дії на мітохондрії *in vitro* оксидативного стресу і для визначення чутливості відкриття МП у серці щурів використовували модифікатор сульфгідрильних груп ФАО.

Раніше нами [4] було показано, що за умов дії на мітохондрії серця як дорослих, так і старих щурів індуктора МП ФАО в діапазоні концентрацій 10^{-8} – 10^{-4} моль/л спостерігалось їх набухання, причому було виявлено, що ступінь набухання мітохондрій старих тварин за тих самих умов дії ФАО перевищував такий для мітохондрій дорослих тварин. Цей факт свідчив про підвищену чутливість ФАО-індукованого відкриття МП у серці старих щурів. Слід зазначити, що відкриття МП у мітохондріях серця дорослих щурів пригнічувалося класичним інгібітором МП циклоспорином

А (ЦСА) у концентрації 10^{-5} моль/л повністю, а у старих тварин – лише частково (рис.2,а).

У дослідах з індуктором МП ФАО встановлено, що за умов його дії в діапазоні концентрацій 10^{-8} – 10^{-4} моль/л на мітохондрії серця дорослих і старих щурів вивільнюється мітохондріальний фактор, який, як доведено нами раніше, може бути показником відкриття МП [3]. Слід зазначити, що вивільнення фактора із мітохондрій серця старих щурів за умов дії ФАО відбувалося з максимумом поглинання при двох довжинах хвиль: $\lambda=230$ нм (I пік) та $\lambda=245$ нм (II пік), що свідчить про відсутність чіткої дозозалежної дії ФАО порівняно з такою для мітохондрій серця дорослих щурів (див. рис. 2,б). ЦСА в концентрації 10^{-5} моль/л практично повністю попереджав ФАО-індуковане вивільнення мітохондріального фактора із серця старих щурів з максимумом поглинання при $\lambda=245$ нм (II пік), але не при $\lambda=230$ нм (I пік).

Результати цих експериментів можуть свідчити про те, що в мітохондріях серця старих щурів поряд з утворенням класичної МП, спостерігається часткове утворення неспецифічної, ЦСА-нечутливої пори.

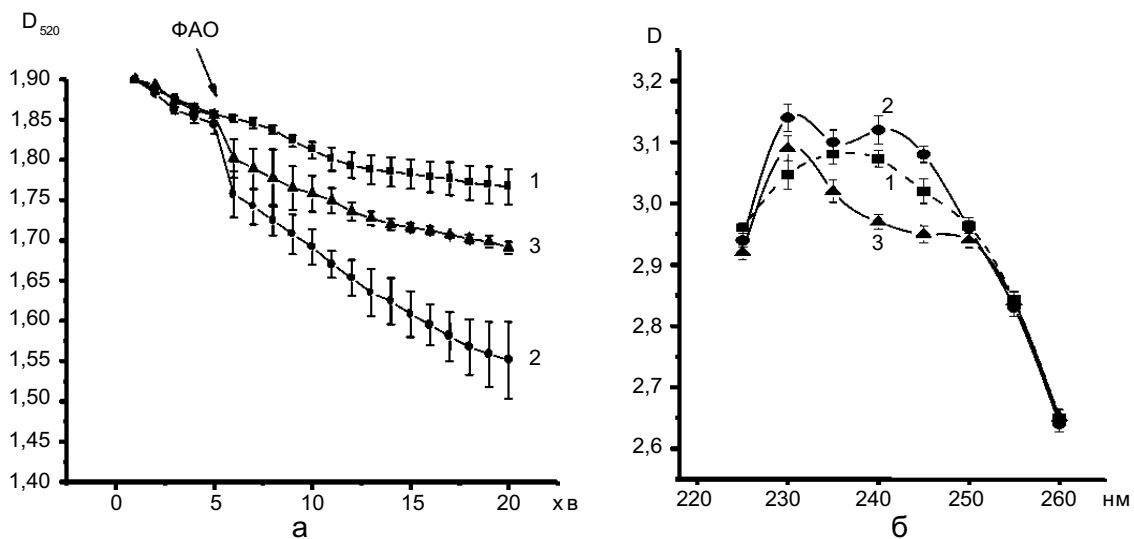


Рис. 2. Набухання мітохондрій (а) та вивільнення фактора з мітохондрій (б), ізольованих із серця старих щурів: 1 – контроль (без дії феніларсиноксиду); 2 – дія феніларсиноксиду (10^{-5} моль/л); 3 – преінкубація з циклоспорином А (10^{-5} моль/л), дія феніларсиноксиду (10^{-5} моль/л)

Підтвердженням посилення розвитку оксидативного стресу в серці старих тварин є результати біохімічних досліджень з визначення вмісту активних форм кисню. Показано, що вміст пероксиду водню (H_2O_2) та гідроксильного радикала помітно збільшуються в серці щурів з віком (рис. 3,а,б). Зокрема вміст H_2O_2 в серці старих щурів становить $(23,75 \pm 3,93)$ пмоль/мг білка, а гідроксильного радикала – $(3,69 \pm 0,81) \Delta E \cdot 10^2 \cdot 30 \text{ хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка порівняно з дорослими тваринами $(5,56 \pm 0,47)$ пмоль/мг білка і $(1,18 \pm 0,22) \Delta E \cdot 10^2 \cdot 30 \text{ хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка відповідно. Водночас вміст супероксидного радикала ($\cdot O_2^-$) з віком достовірно зменшується і становить $(1,73 \pm 0,33)$ нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка в серці старих тварин на відміну від дорослих – $(4,02 \pm 0,97)$ нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка (див. рис. 3,в). Таке різке зменшення вмісту $\cdot O_2^-$ корелює зі збільшенням вмісту H_2O_2 в серці старих щурів порівняно з дорослими, адже стабільний метаболіт H_2O_2 , як відомо, є продуктом дисмутації $\cdot O_2^-$ за допомогою супероксиддисмутази. Це все вказує на те, що з віком у серці розвивається оксидативний стрес, який може бути однією з причин підвищеної чутливості МП як результату розвитку мітохондріальної дисфункції при старінні.

Дослідження щодо наявності оксидативного стресу в старих тварин проводилися і раніше. Хронічний оксидативний стрес характеризується підвищенням перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), активності ферментів Mn-супероксиддисмутази та глутатіонпероксидази [11]. Крім того, мітохондрії, ізольовані з серця старих тварин, з більшою швидкістю продукують кисневі радикали, порівняно з дорослими тваринами [12]. Відомо, що збільшення продукції активних форм кисню мітохондріями у тканинах старого організму в свою чергу призводить до посилення окисних процесів у мітохондріях, включаючи окиснення білкових сульфгідрильних груп, ПОЛ і пошкодження мембран.

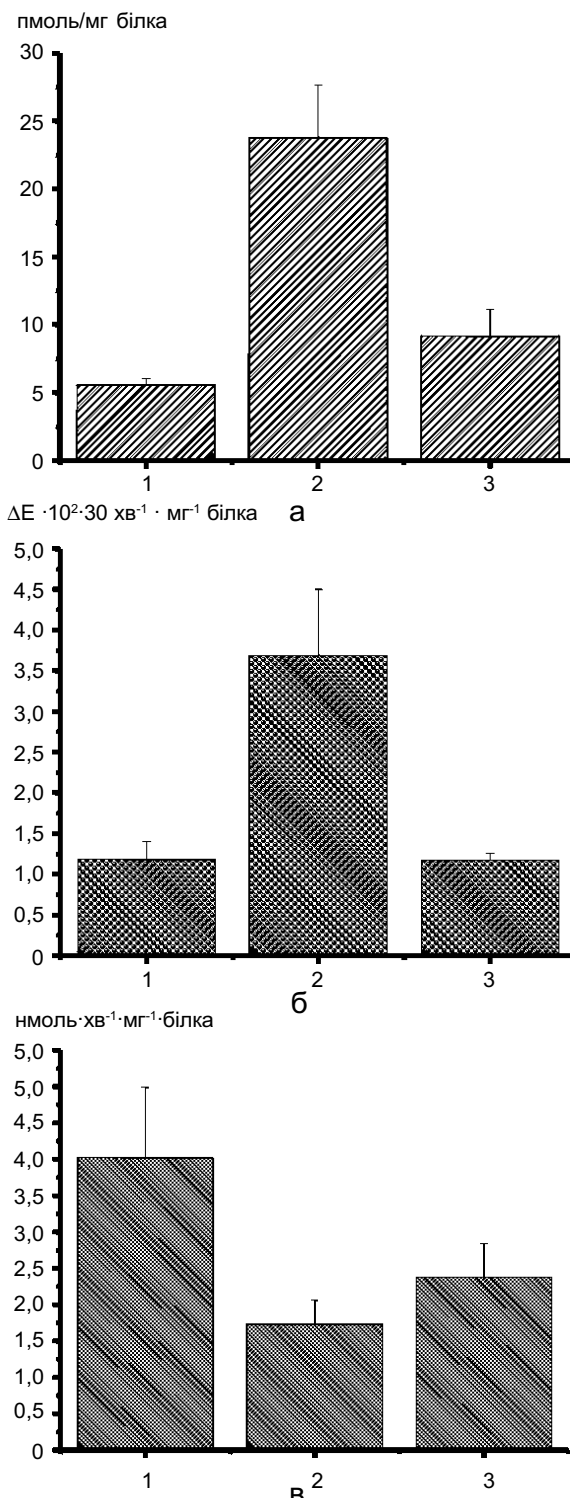


Рис. 3. Вміст пероксиду водню (а), гідроксильного радикала (б) та супероксидного радикала (в) у тканинах серця щурів: 1 – дорослі; 2 – старі, до інтервальних гіпоксичних тренувань; 3 – старі щурі після інтервальних гіпоксичних тренувань

Іншим фактором, що визначає підвищену чутливість МП у старому серці може бути посилена експресія апоптичних білків – маркерів відкриття МП. Так, у 24-місячних щурів значно збільшується вміст цитозольного цитохрому *c* порівняно з 6-місячними [11]. Методами Вестерн-блотингу [5] та полімеразної ланцюгової реакції [4] було показано, що в старому серці щурів лінії Вістар збільшується експресія м-РНК і білка проапоптичного агента Вах порівняно з дорослими, натомість експресія антиапоптичного білка Bcl-2 у самців лінії Fischer 344 з віком, навпаки, знижується [11].

Таким чином, старіння, що супроводжується підвищенням оксидативного стресу, викликає підвищення чутливості до індукторів відкриття МП за умов дії оксидантів (ФАО), а також спричиняє утворення неспецифічної ЦсА-нечутливої пори в серці щурів.

Для оцінки впливу ІГТ досліджували чутливість відкриття МП і вміст активних форм кисню в серці старих щурів. На рис. 4 представлено результати експериментів, в яких вивчали вплив ІГТ на набухання мітохондрій і МП-залежне вивільнення

фактора в серці старих щурів за умов дії індуктора ФАО.

Було виявлено коригуючий вплив ІГТ на відкриття МП і вивільнення мітохондріального фактора у старих щурів, який полягав, насамперед, у зниженні чутливості ФАО-індукованого відкриття МП. Зокрема набухання мітохондрій серця старих щурів після ІГТ за умов дії ФАО в концентрації 10^{-5} моль/л зменшувалось і наближалось до такого у дорослих тварин (див. рис.4,а). Слід зазначити, що ситуація з набуханням мітохондрій серця старих щурів після ІГТ за відсутності дії ФАО (контроль) має тенденцію до поліпшення порівняно зі старими тваринами, особливо в перші 15 хв реєстрації (див. рис.1,а), однак ці зміни не є достовірними. Характер спектра фактора з мітохондрій серця старих щурів після ІГТ без дії ФАО (контроль) (див. рис. 1,б) та за умов його дії (10^{-5} моль/л) також був подібним до такого мітохондрій серця дорослих тварин (див. рис. 4,б). Крім того, після ІГТ відновлювалася дозозалежна дія ФАО на МП-залежне вивільнення фактора з серця старих щурів. Слід зазначити, що спостерігалось також відновлення захисної дії ЦсА (10^{-5} моль/л) щодо набухання

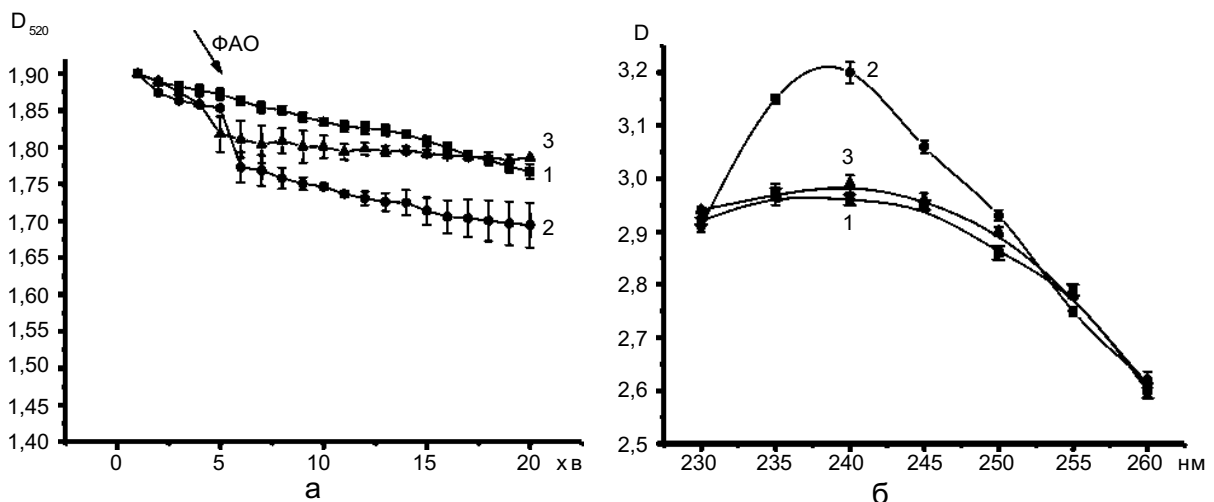


Рис. 4. Набухання мітохондрій (а) та вивільнення фактора з мітохондрій (б), ізованих з серця старих щурів після інтервальних гіпоксичних тренувань: 1 – контроль (без дії феніларсиноксиду); 2 – дія феніларсиноксиду (10^{-5} моль/л); 3 – преінкубація з циклоспорином А (10^{-5} моль/л), дія феніларсиноксиду (10^{-5} моль/л)

мітохондрій серця старих щурів після ІГТ (див. рис. 4,а), а також відсутність ЦсА-нечутливого вивільнення мітохондріального фактора (І пік), який, як показано на рис. 2,б, залишається у нетренованих тварин після преінкубації мітохондрій з ЦсА (10^{-5} моль/л) (див. рис. 4,б), що підтверджує захисну роль ІГТ тренувань щодо розвитку мітохондріальної дисфункції при старінні.

Результати біохімічних досліджень свідчать про те, що ІГТ викликають достовірне зменшення вмісту H_2O_2 та $\cdot OH$ у тканинах серця старих щурів ($9,18 \pm 1,95$) пмоль/мг білка і ($1,74 \pm 0,09$) $\Delta E \cdot 10^2 \cdot 30 \text{ хв}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ білка відповідно) (див. рис. 3,а,б), наближуючи їх значення до такого в тканині серця дорослих щурів (контроль). Натомість вміст $\cdot O_2^-$ хоч і дещо підвищується в серці старих щурів після ІГТ порівняно зі старими тваринами і становить ($2,38 \pm 0,46$) нмоль \cdot хв \cdot мг $^{-1}$ білка, але не сягає контрольного рівня (див. рис. 3,в). Ці результати, безперечно, свідчать про те, що ІГТ викликає зменшення продукції активних форм кисню в серці старих щурів, однак їх значення все ще перевищують контрольні. Можливо, більш високі значення маркерів оксидативного стресу у старих щурів після ІГТ порівняно з дорослими тваринами зумовлені накладеним на оксидативний стрес індукованим гіпоксією посиленням генерації активних форм кисню, що розвивається при старінні (і експериментально ніби передувє дії власне ІГТ).

Отже, протекторний ефект ІГТ на ФАО-індуковане відкриття МП у серці старих щурів супроводжується зниженням вмісту стабільного метаболіту активного кисню пероксиду водню та гідроксильного радикала.

Літературні дані стосовно впливу ІГТ та ішемічного прекодиціювання на старий організм нечисленні та суперечливі. Показано, що ішемічне прекодиціювання забезпечує незначну кардіопротекцію в старому серці щурів [17] і серці людини [12]. Однак

в останніх публікаціях все частіше показано позитивний вплив інтервальної гіпоксії загалом і на мітохондрії серця зокрема. Так, доведено [7], що ІГТ попереджають ішемічно-реперфузійні пошкодження ізольованого, перфузованого за Лангендорфом серця щурів, за допомогою посиленого відновлення кардіальної функції при реперфузії, зменшення фрагментації ДНК і TUNEL-позитивних ядер, а також зменшення експресії Вах у цитозольній і мембранній фракціях клітин, зменшуючи таким чином ступінь апоптозу кардіоміоцитів при реперфузії. Інтервальна гіпоксія поліпшувала відновлення постішемічної скоротливої функції серця і зменшувала зону інфаркту. Причому було показано, що кардіопротекторний механізм довготривалої адаптації до дії інтервальної гіпоксії здійснюється за допомогою відкриття мітохондріальних АТФ-залежних калієвих каналів [15].

За допомогою полімеразної ланцюгової реакції і електронної мікроскопії було встановлено, що адаптація до періодичної гіпоксії зменшує кількість делецій мітохондріальної ДНК і сприяє збереженню нативної структури мітохондрій, забезпечуючи тим самим підтримку мітохондріальної функції та захист міокарда за умов гострої ішемії – реперфузії [19].

Деякі автори припускають [16], що інгібування комплексу І мітохондріального електронно-транспортного ланцюга за умов ІГТ є одним із джерел ІГТ-індукованого накопичення активних форм кисню. Разом з тим ІГТ не лише призводять до накопичення продукції активних форм кисню, але й викликають пов'язану з цим зміну функціональної активності ферментної антиоксидантної системи [1].

Що стосується молекулярних механізмів дії періодичної гіпоксії, то в експериментах на ізольованих клітинах феохромацитоми (PC12) показано, що інтервальна гіпоксія різко підвищує вміст м-РНК так

званих “ранніх” генів, а саме *c-fos*, активує транскрипцію AP-1 і продукту його регуляції – тирозингідроксилази. Інтервальна гіпоксія призводить також до збільшення вмісту супероксидного аніона в мітохондріях і зменшення активності комплексу IV електронно-транспортного ланцюга в мітохондріях. Це наводить на думку, що *c-fos* опосередкована транскрипційна активність, як результат інтервальної гіпоксії, включає оксидативний стрес [18].

У наших експериментах захисний вплив ІГТ стосовно зменшення чутливості відкриття МП до оксидантів у серці старих щурів можна пояснити зменшенням кількості активних форм кисню у серці старих щурів, що суттєво зменшує навантаження оксидативним стресом. Імовірно, що за таких умов включаються антиоксидантні ферменти завдяки індукції експресії їх генів субстратами цих ферментів – вільними радикалами кисню.

Слід зазначити, що вплив ІГТ істотно знижує індуковане ішемією навантаження кальцієм в ізольованих кардіоміоцитах [20]. У нашій попередній роботі [4] показано, що мітохондрії серця старих щурів є більш чутливими до навантаження кальцієм, а, як відомо, саме це навантаження є одним із чинників, які здійснюють відкриття МП при ішемії–реперфузії [8]. Незважаючи на те, що вже з’ясовано деякі механізми впливу ІГТ, зокрема на ФАО-індуковану чутливість відкриття МП у серці старих щурів, поглиблене вивчення чутливості кальційіндукованого відкриття МП при старінні потребує подальших досліджень.

Таким чином, нами було встановлено, що мітохондрії серця старих щурів є більш чутливими до ФАО-індукованого відкриття МП і МП-залежного вивільнення мітохондріального фактора порівняно з таким дорослих щурів. Однією з причин підвищеної чутливості відкриття МП до ФАО є розвиток оксидативного стресу з віком. Підвищення вмісту пероксиду водню і гідрок-

сильного радикала у серці старих щурів підтверджує цей факт. Виявлено коригуючий вплив ІГТ на ФАО-індуковане відкриття МП і вміст пероксиду водню і гідроксильного радикала в серці старих щурів, що надалі може бути використано як захисний прийом для запобігання відкриття МП при старінні і, можливо, деяких хронічних патологічних станів організму. Отримані нами результати підтверджують перспективність використання ІГТ помірним оксидативним стресом для профілактики та лікування патологічних станів серцево-судинної системи, що розвиваються з віком, пов’язаних, насамперед, з хронічним оксидативним стресом.

**O.V. Rudyk, G.L. Vavilova, N.A. Strutynska,
A.V. Kotsuruba, V.F. Sagach**

SENSITIVITY OF PHENYLARSINEOXIDE-INDUCED MITOCHONDRIAL PERMEABILITY TRANSITION PORE OPENING IN OLD RAT HEART AND UNDER CONDITION OF INTERMITTENT HYPOXIC TRAINING

We studied the sensitivity of mitochondrial permeability transition pore (MPTP) opening to its inductor – phenylarsineoxide (PAO) in adult (6 months), old rat heart (24 months) and in old rat heart under conditions of intermittent hypoxic training (IHT). We defined the sensitivity of MPTP opening on two parameters: the alterations in mitochondrial swelling and the release of mitochondrial substances (mitochondrial factor). It was shown that mitochondria of old rat heart are more sensitive to PAO which caused opening of cyclosporin-sensitive MPTP and MPTP-dependent factor release, in comparison with those of adult rat heart mitochondria. One of the causes of increased sensitivity of MPTP opening to PAO is development of an oxidative stress with age that was accompanied by increase of an active metabolite of oxygen: hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical ($\cdot OH$) in old rat heart mitochondria. It was observed corrective effect of IHT on PAO-induced MPTP-opening and MPTP-dependent factor release from old rat heart mitochondria. IHT also reduced the content of H_2O_2 and $\cdot OH$ in old rat hearts. IHT can be used as protective procedure preventing MPTP opening in aging and, probably, in a numerous chronic pathological states of organism under oxidative stress.

A.A. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ельчанинова С.А., Смагина И.В., Кореньяк Н.А., Варшавский Б.Я. Влияние интервальной гипоксической тренировки на процессы перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов // Физиология человека. – 2003. – **29**, №3. – С.72–75.
2. Колчинская А.З., Цыганова Т.Н., Остапенко Л.А. Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте. – М.: Медицина, 2003. – 408 с.
3. Сагач В.Ф., Вавилова Г.Л., Рудик О.В., Струтинська Н.А. Вивільнення неідентифікованих речовин мітохондріального походження – показник відкриття мітохондріальної пори серця щурів // Фізіол. журн. – 2003. – **49**, №5. – С.3–12.
4. Сагач В.Ф., Вавилова Г.Л., Струтинська Н.А., Рудик О.В. Старіння підвищує чутливість до індукторів мітохондріальної пори в серці щурів // Там само. – 2004. – **50**, №2. – С.49–63.
5. Centurione L., Antonucci A., Miscia S. et al. Age-related death-survival balance in myocardium: an immunohistochemical and biochemical study // Mech. Ageing and Develop. – 2002. – **123**. – P.341–350.
6. Conte D., Narindrasorosa K.S., Sarcar B. In vivo and in vitro iron-replaced zinc finger generated free radicals and causes DNA damage // J.Biol.Chem. – 1996. – **271**, №9. – P.5125–5130.
7. Dong J.W., Zhu H.F., Zhu W.Z. et al. Intermittent hypoxia attenuates ischemia/reperfusion induced apoptosis in cardiac myocytes via regulating Bcl-2/Bax expression // Cell research. – 2003. – **13**, №5. – P.385–391.
8. Halestrap A.P., Clarke S.J., Javadov S.A. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – a target for cardioprotection // Cardiovasc. Res. – 2004. – **61**. – P.372–385.
9. Hausenloy D.J., Yellon D.M., Mani-Babu S., Duchon M.R. Preconditioning protects by inhibiting the mitochondrial permeability transition // Amer. J. Physiol Heart Circulat. Physiol. – 2004. – in press.
10. 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.
11. Leeuwenburgh C., Phaneuf S. Cytochrome c release from mitochondria in the aging heart: a possible mechanism for apoptosis with age // Amer. J. Physiol Reg. Int. Comp. Physiol. – 2002. – **282**. – P. R423–R.430.
12. Lesnefsky E.J., Hoppel C.L. Ischemia-reperfusion injury in the aged heart: role of the mitochondria. // Arch. Biochem. and Biophys. – 2003. – **420**, № 2. – P.287–297.
13. Mather M., Rottenberg H. Ageing enhances the activation of the permeability transition pore in mitochondria // Biophys. and Biochem. Res.Com. – 2000. – **273**. – P.603-608.
14. McCord J.M., Fridovich I. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // Biochem J. – 1982. – **203**, №3. – P.551–558.
15. Neckar J., Szarszoi O., Koten L. Effect of mitochondrial K(ATP) modulators on cardioprotection induced by chronic high altitude hypoxia in rats // Cardiovasc. Res. – 2002. – **55**, №3. – P.567–575.
16. Prabhakar N.R., Kumar G.K. Oxidative stress in the systemic and cellular responses to intermittent hypoxia // Biol. Chem. – 2004. – **385**, №3–4. – P.217–221.
17. Tani M., Suganuma Y., Hasegawa H. et al. Decrease in ischemic tolerance with aging in isolated perfused Fischer 344 rat hearts relative to increases in intracellular Na⁺ after ischemia // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1997. – **11**. – P.3081–3089.
18. Yuan G, Adhikary G, McCormick A. et al. Role of oxidative stress in intermittent hypoxia-induced immediate early gene activation in PC12 cells // J Physiol. – 2004. – **157**, №5. – P.773–783.
19. Zhong N., Zhang Y., Zhu H.F., Zhou Z.N. Intermittent hypoxia exposure prevents mtDNA deletions and mitochondrial structure damage produced by ischemia/reperfusion injury // Sheng Li Xue Bao. – 2000. – **52**, №5. – P.375–380.
20. Zhu H. F., Dong J.W., Zhu W.Z. et al. ATP-dependent potassium channels involved in the cardiac protection induced by intermittent hypoxia against ischemia/reperfusion injury // Life Sci. – 2003. – **73**. – P.1275–1287.

In-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ

Матеріал надійшов до редакції 14.09.2004