

УДК 577.115.3+576.311.347

ВПЛИВ ОМЕГА-3 ПОЛІНЕНАСИЧЕНИХ ЖИРНИХ КИСЛОТ НА СИСТЕМУ NOS, ІНТЕНСИВНІСТЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ФУНКЦІЇ МІТОХОНДРІЙ СЕРЦЯ ЩУРА

Жуковська А.С., Шиш А.М., Коцюрuba А.В.
 Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України

Виявлено, що застосування Й-3 ПНЖК викликало зростання ефективності використання кисню за менших енергетичних затрат, підвищення коефіцієнту фосфорилування АДФ/О, а також збільшення використання АДФ мітохондріями серця щурів. Показано, що Й-3 ПНЖК модулюють активність NOS, вільнорадикальні процеси та підвищують величину індексу оксигенації. Таким чином, Й-3 ПНЖК позитивно впливають на функціональні показники мітохондрій за рахунок стабілізації клітинних мембран.

Ключові слова: мітохондрії, омега-3 поліненасичені жирні кислоти, синтаза оксиду азоту, перекисне окиснення ліпідів.

Дослідженнями останніх років показана пряма залежність між співвідношенням w-6/w-3 ПНЖК та смертністю від серцево-судинних захворювань [4, 6]. Й-3 ПНЖК вбудовуються в мембрану та зв'язуються з мембранними білками, змінюючи їх функції, активність ферментів і транспортних молекул. Відомо, що NO є ендogenous регулятором стану мітохондрій (мембранного потенціалу, дихання та синтезу АТФ). Він виступає як інгібітор мітохондріального дихання, його підвищений вміст у тканинах організму посилює гліколіз і знижує споживання кисню мітохондріями. Більшість експериментальних робіт присвячена вивченню впливу Й-3 ПНЖК на серцево-судинну систему за патологічних умов [3, 6]. У той же час мало відомо про вплив Й-3 ПНЖК на функціональні показники мітохондрій та систему NOS за фізіологічних умов. Метою нашого дослідження було вивчити вплив Й-3 ПНЖК на показники дихання ізольованих мітохондрій серця щурів, активність системи NOS та інтенсивність вільнорадикальних процесів.

Матеріал та методи

Дослідження проводили на щурах-самцях з масою тіла 210-310 г. У роботі використовували 2 групи тварин: 1 – контрольні щури, 2- щури, яким давали препарат «Епадол» протягом 4 тижнів в дозі 0,1 мг/100 г маси тіла. Епадол містить 45% Й-3 ПНЖК тваринного походження (суміш ЕПК та ДГК з риб'ячого жиру). Мітохондрії виділяли з серця за методом диференційного центрифугування. Дихання і окиснювальне фосфорилування в мітохондріях вивчали полярографічним методом [2] із використанням закритого електрода Клар-

ка та прилада оксиграф (Hansatech, England). Активне дихання ізольованих мітохондрій індукували додаванням 200 мкМ АДФ. На отриманих полярограмах обчислювали: швидкість дихання у стані відносного спокою (V_2), швидкість фосфорильованого та контрольованого дихання за Чансом у метаболічних станах 3 (V_3) і 4 (V_4), коефіцієнт дихального контролю (V_3/V_4), коефіцієнт ефективності фосфорилування (АДФ/О) та швидкість фосфорилування (V_ϕ). В суспензії мітохондрій серця біохімічним методом визначали активність iNOS та cNOS [5]. Оцінювали вміст МДА, рівень генерації супероксид-аніону та визначали величину індексу оксигенації у пробах суспензії мітохондрій [8]. Експериментальні дані обробляли з використанням t критерію Стьюдента та програми Origin.

Результати та їх обговорення

Раніше нами було показано, що Й-3 ПНЖК суттєво впливають на жирнокислотний склад фосfolіпідів клітинних мембран, зокрема зменшують вміст Й-6 ПНЖК та збільшують вміст Й-3 ПНЖК [3]. Отримані нами дані свідчать про вірогідне зростання коефіцієнту фосфорилування АДФ/О, деяке зниження показників швидкості дихання у стані відносного спокою V_2 , фосфорильованого (V_3) та контрольованого дихання (V_4). Виявлено збільшення швидкості фосфорилування V_ϕ мітохондрій серця щурів з Й-3 ПНЖК, тоді як значення коефіцієнту дихального контролю V_3/V_4 не відрізняється від контрольованого показника (табл. 1). Наші результати свідчать про ефективніше використання кисню мітохондріями за менших енергетичних затрат, посилення використання мітохондріями

АДФ за умов отримання Й-3 ПНЖК. З літературних даних відомо, що споживання докозагексаєнової кислоти запобігає порушенню функцій мітохондріальних систем, зв'язаних з мембраною, в тому числі активності мітохондріальної креатин кінрази і чутливості мітохондрій до АДФ [9]. Зниження споживання кисню міокардом у щурів, які отримували Й-3 ПНЖК передбачає наявність метаболічного резерву, який може сприяти більш ефективному його використанню і підтриманню трансмембранних потенціалів [10].

Раніше отримані дані підтверджують, що w-3 ПНЖК підвищують стійкість клітинних мембран до ішемічно-реперфузійного пошкодження [3]. Основою цього, на нашу думку, є збереження цілісності клітинних мембран та в значній мірі зменшення руйнування мітохондрій у серці під впливом Й-3 ПНЖК.

В результаті біохімічних досліджень встановлено, що застосування Й-3 ПНЖК викликає зниження активності iNOS на 15,02% та підвищення sNOS на 49,7% в суспензії мітохондрій серця (табл. 2). Дослідниками виявлено, що надмірна кількість NO, який утворюється при активації iNOS може погіршувати перебіг патологічного процесу [1]. Достовірне зниження активності iNOS призводить до зменшення утворення токсичної кількості NO, знижуючи тим самим вірогідність утворення ONOO⁻. Якщо наномолярні концентрації оксиду азоту призводять до зворотного інгібування мітохондріального дихання, то мікромольні концентрації NO, які виникають за участі iNOS, спричиняють незворотні зміни ферментів дихального ланцюга [7]. Відомо, що підвищена продукція активних форм кисню (АФК) в мітохондріях та розвиток оксидативного стресу можуть призводити до зростання утво-

рення пероксинітриду та виникнення відносного дефіциту оксиду азоту.

При дослідженні рівню процесів вільнорадикального окиснення в суспензії мітохондрій дослідних щурів виявлено, що в разі застосування Й-3 ПНЖК спостерігається зниження швидкості генерації супероксид-аніону, порівняно із контролем. Зокрема, відмічено зниження вмісту маркерів перекисного окиснення ліпідів і оксидативного стресу - супероксид-аніону на 43%, а малонового діальдегіду на 25%. Нами попередньо було показано, що Й-3 ПНЖК сприяють ослабленню вільнорадикальних процесів та підвищують активність ферментів антиоксидантного захисту [3]. Як відомо, NO з великою спорідненістю взаємодіє із супероксид-аніоном з утворенням високотоксичного пероксинітриду. При перевищенні наномолярного рівня концентрацій NO виступає як потужний перехоплювач супероксиду. Особливо важливе значення цей шлях має в разі зростання генерації як АФК, так і NO. Слід зазначити, що w-3 ПНЖК також притаманна виражена антигіпоксична дія, про що свідчить підвищення відносного значення індексу оксигенації (на 37,58%) в суспензії мітохондрій серця (табл. 2).

Висновки

Показано, що Й-3 ПНЖК викликають вірогідне зростання коефіцієнту фосфори-

Таблиця 1

Зміни показників АДФ-стимульованого дихання в мітохондріях міокарда за наявності в середовищі інкубації сукцинату

| Показники | Група контроль | Група з ?-3 ПНЖК |
|---|----------------|------------------|
| V ₂ , нмоль O ₂ , хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка | 50,1 ± 4 | 48,6 ± 4,88 |
| V ₃ , нмоль O ₂ , хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка | 130,1 ± 12,8 | 104,76 ± 8,36 |
| V ₄ , нмоль O ₂ , хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка | 36,6 ± 5,3 | 30,95 ± 4,8 |
| Дихальний контроль, V ₃ /V ₄ | 3,48 ± 0,27 | 3,47 ± 0,6 |
| АДФ/О | 1,45 ± 0,05 | 1,8 ± 0,1* |
| V _ф , мкмоль АДФ · хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка | 113,3 ± 10,3 | 132,8 ± 12,2 |

Примітка: тут і в табл. 2: * - вірогідно у порівнянні з контролем, P < 0,05

Таблиця 2

Вплив ?-3 ПНЖК на активність системи NOS та перекисні процеси в мітохондріях серця щурів

| Показники | Група контроль | Група з ?-3 ПНЖК |
|---|----------------|------------------|
| sNOS, пмоль хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка | 3,64 ± 0,27 | 5,45 ± 0,92 |
| iNOS, пмоль хв ⁻¹ · мг ⁻¹ білка | 1,73 ± 0,24 | 1,47 ± 0,16 |
| Супероксид-аніону | 4,58 ± 0,58 | 2,63 ± 0,36* |
| Малоновий діальдегід, мкмоль мг ⁻¹ білка | 2,06 ± 0,38 | 1,54 ± 0,72 |
| Індекс оксигенації, ум. о. | 3,06 ± 0,23 | 4,21 ± 0,55 |

лювання АДФ/О, ефективніше використан-
ня кисню за менших енергетичних затрат
та посилення використання АДФ мітохон-
дріями, ізольованими з серця щурів. Вияв-
лено модулюючий вплив Й-3 ПНЖК на
обмін оксиду азоту та вільнорадикальні
процеси, що свідчить про перспективність
подальших досліджень та розробок з впро-
вадження Й-3 ПНЖК у клінічну практику.

Література

1. Мойбенко А. А., Досенко В. Е., Пархоменко А. Н. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца. – К.: Наукова думка, 2008, 520 с.
2. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Под ред. В. Г. Франка. М.: Наука. – 1973. – 221 с.
3. Шиш А. М., Кукоба Т. В., Кириленко О. Є., Мойбенко О. О. Вплив препарату „Епадол” на серцево-судинну систему при гострій ішемії-реперфузії міокарда. // Вісник Вінницького Національного медичного університету – 2007. – Т. 11, № 2/1. – с. 496-499
4. Breslow Jan L. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease. // American Journal of Clinical Nutrition – 2006. - Vol. 83, No. 6, S1477-1482S.
5. Chin S.Y., Pandey K.N., Shi S.J. et al. Increased activity and expression of Ca²⁺-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats // Amer J Physiol. - 1999. - 277, № 5. - P. 797-804.
6. Hooper L., Thompson R. L., Harrison R. A., et al. Risks and benefits of omega 3 fats for mortality, cardiovascular disease, and cancer: systematic review // B.M.J.-2006.- Vol.332.-P.752-760.
7. Di Lisa F., Kaludercic N., Carpi A., Menabò R., Giorgio M. Mitochondria and vascular pathology // Pharmacological Reports. – 2009. – N 61. – P.123–130.
8. McCord J., I. Fridovich. A quantitative test for superoxide radicals produced in biological systems // Biochemistry journal. — 1982. — Vol. 203, №3. — P. 551 — 558.
9. Ovide-Bordeaux S., Grynberg A. Docosahexaenoic acid affects insulin deficiency- and insulin resistance-induced alterations in cardiac mitochondria // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol . – 2004. – N 286. – P. 519–527.
10. Pepe S., McLennan P. L. Cardiac Membrane Fatty Acid Composition Modulates Myocardial Oxygen

Consumption and Postischemic Recovery of Contractile Function // Circulation. – 2002. – N 105. – P.2303-2308.

Резюме

ВЛИЯНИЕ ОМЕГА-3
ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ
КИСЛОТ НА СИСТЕМУ NOS,
ИНТЕНСИВНОСТЬ СВО-
БОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И
БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ
МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА КРЫСЫ

Жуковская А.С., Шиш А.М.,
Коцюруба А.В.

Выявлено, что применение Й-3 ПНЖК вызывает рост эффективности использования кислорода при меньших энергетических затратах, повышение коэффициента фосфорилирования АДФ/О, а также увеличение использования АДФ митохондриями сердца крыс. Показано, что Й-3 ПНЖК модулируют активность NOS, свободнорадикальные процессы и повышают величину индекса оксигенации. Таким образом, Й-3 ПНЖК положительно влияют на функциональные показатели митохондрий за счет стабилизации клеточных мембран.

Ключевые слова: митохондрии, омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты, синтаза оксида азота, перекисное окисление липидов.

Summary

OMEGA-3 POLYUNSATURATED FATTY ACIDS INFLUENCE ON NOS SYSTEM, FREE RADICAL PROCESSES INTENSITY AND BIOENERGETICS FUNCTION OF RAT HEART MITOCHONDRIA

Zhukovska A.S., Shysh A.M., &
Kotsiuruba A.V.

The application of Й-3 PUFA led to increased efficiency of oxygen consumption due to lower energy costs, to increase the phosphorylation ratio ADP / O as well as increased use of ADP in rat heart mitochondria. It is shown that Й-3 PUFAs modulate NOS activity, free radical processes and increase the value of oxygenation index. Thus Й-3 PUFA has beneficial effect on functional parameters of mitochondria by stabilizing cell membranes.

Key words: mitochondria, omega-3 polyunsaturated fatty acid, nitric oxide synthase, lipid peroxidation.

Впервые поступила в редакцию 28.03.2012 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования