

Митохондриально-адресованные антиоксиданты снижают интенсивность свободнорадикальных процессов и нарушение дыхательной активности печени крыс при гипотермическом хранении

И.А. Сосимчик, Д.В. Черкашина, А.С. Лебединский, А.Ю. Сомов
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Mitochondria-Targeted Antioxidants Decrease Free Radical Process Intensity and Impairment of Respiratory Activity in Rat Liver After Hypothermic Storage

I.A. SOSIMCHYK, D.V. CHERKASHINA, A.S. LEBEDINSKY, A.YU. SOMOV
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Одним из основных факторов повреждения органа при гипотермическом хранении (ГХ) является усиление продукции активных форм кислорода (АФК). Дыхательная цепь митохондрий считается главным источником АФК в процессе ишемии печени и, следовательно, поиск и применение соединений, которые защищают орган от перепроизводства свободных радикалов при холодовом хранении печени, является перспективным направлением в криобиологии и трансплантологии. В связи с этим особого внимания заслуживают митохондриально-адресованные антиоксиданты, открытые группой В.П. Скулачёва. В частности, на ряде моделей *in vitro* и *in vivo* было показано, что пластохинонил-децил-трифенилфосфоний (SkQ₁), избирательно накапливаясь в митохондриях, проявляет мощную антиоксидантную активность. Однако эффективность SkQ на модели холодового ишемического повреждения печени до настоящего времени показана не была.

Цель работы – исследование влияния присутствия SkQ₁ в растворе хранения на дыхательную активность и интенсивность перекисных процессов в печени после гипотермического хранения.

Печень крыс хранили в течение 18 ч при 4°C в сахарозо-солевом растворе, содержащем SkQ₁ в концентрациях от 0,1 до 5 мкМ. Скорость поглощения кислорода после ГХ устанавливали в гомогенатах печени с помощью электрода Кларка. Уровень ТБК-активных продуктов в гомогенатах определяли в бутанольной фракции, спектрофотометрируемой при 535 нм. Интенсивность Fe²⁺-аскорбат индуцированного перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли по скорости образования ТБК-активных продуктов.

Показано, что гипотермия приводит к увеличению базального уровня ТБК активных продуктов, интенсивности индуцированного ПОЛ, а также к снижению дыхательного контроля (ДК) за счет повышения скорости дыхания в состоянии 4. Это свидетельствует о нарушении ионной проницаемости внутренней мембраны митохондрий.

Введение в среду хранения SkQ₁ в концентрации 100 нМ не влияло на интенсивность ПОЛ и на дыхательные параметры. При повышении концентрации SkQ₁ дозозависимо снижал накопление ТБК-активных продуктов в ходе ГХ, а также интенсивность Fe²⁺-индуцированного ПОЛ. В концентрациях 500 нМ и 1 мкМ SkQ₁ вызывал увеличение ДК за счет снижения скорости дыхания в состоянии 4 до исходного уровня. Однако при концентрации 5 мкМ угнетал скорость дыхания в состоянии 3.

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что введение в среду ГХ SkQ₁ в концентрациях от 500 нМ до 1 мкМ предотвращает активацию свободнорадикальных процессов, что позитивно влияет на уровень энергетического сопряжения митохондрий.

It is well-known that one of the main factors of organ impairment after hypothermal storage (HS) is reactive oxygen species (ROS) overproduction. Respiratory chain of mitochondria is the major ROS source during liver ischemia, and therefore the search and application of substances that can protect organ against free radicals during hepatic preservation is hopeful trend for cryobiology and transplantology. Therefore, mitochondria-targeted antioxidants developed by Skulachev's group deserve special attention. Particularly, it was demonstrated that plastoquinonil-decyl-triphenylphosphonium (SkQ₁) selectively accumulates in mitochondria and displays strong antioxidant activity in models *in vitro* and *in vivo*. However, SkQ efficiency was not shown in the model of cold ischemia hepatic injury up to the present moment.

The aim of the research was to verify the efficiency of SkQ₁ presence in preservation medium on liver lipid peroxidation (LPO) intensity and mitochondrial respiratory parameters after cold storage.

Rat livers were stored during 18 hrs at 4°C in sucrose-based solution contained SkQ₁ in concentrations from 0.1 to 5 μM. Oxygen consumption rate in liver homogenates after HS was examined with a Clark oxygen electrode. TBARS levels in homogenates were studied in n-butanol-extracted lipid fractions spectrophotometrically at 535 nm. Fe²⁺-ascorbate induced LPO intensity in liver homogenates was determined by TBARS accumulation rate.

It was shown that hypothermia resulted in the increase of TBARS basal level and induced LPO intensity, as well as in decrease of respiratory control index (RCI) due to the increasing of respiratory rate in state 4. This testify to indicating of inner mitochondrial membrane ionic permeability impairment.

Addition of 100 nM SkQ₁ to the preservation solution had no influence on free radical processes and respiratory parameters. Increasing of SkQ concentration led to TBARS level and induced LPO intensity reduction in dose-dependent manner during HS. Concentrations of 500 nM and 1 μM of SkQ₁ induced RCI increase due to the reduction of respiration in state 4 up to the initial level. But SkQ in 5 μM concentration depressed respiratory rate in state 3, so RCI was not recovered.

This research proves that supplementation of HS solution with SkQ₁ in concentrations from 500 nM to 1 μM prevents activation of free radical reactions, positively affecting a mitochondrial energetic coupling level.