

Фетальные биорегуляторы снижают повреждения печени при гипотермическом хранении

И.А. СОСИМЧИК, Д.В. ЧЕРКАШИНА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Fetal Bioregulators Attenuate Liver Damage During Hypothermic Storage

I.A. SOSIMCHUK, D.V. CHERKASHINA

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Существующие сегодня консервирующие среды не обеспечивают полной сохранности изолированной печени после долгосрочного гипотермического хранения (ГХ), что может быть связано с отсутствием в них биологически активных соединений, способных регулировать клеточные процессы. Ранее в нашей лаборатории была показана эффективность предварительного введения животным *in vivo* белковых и пептидных биорегуляторов стволовых и прогениторных клеток в составе цитозоля фетальных тканей (ЦФТ) на модели ГХ и нормотермической реперфузии (НР).

Цель работы – оценить влияние ЦФТ в составе раствора хранения на прооксидантно-антиоксидантное, энергетическое и функциональное состояние печени после ГХ и последующей НР.

Цитозоль мягких тканей мезенхимально-мезодермального происхождения плодов крыс 15–16 дней гестации получали путём высокоскоростного ультрацентрифугирования. Печень крыс хранили в течение 24 ч при 4°C в сахарозо-солевом растворе (ССР) с добавлением ЦФТ (100 мкл/100 мл) или без данной добавки, затем реперфузировали 60 мин при 37°C. В качестве контроля использовали свежеизолированную печень. В гомогенатах печени исследовали: дыхательную активность, содержание АТФ, базальный уровень и скорость накопления малонового диальдегида (МДА), активность антиоксидантных ферментов. Спонтанную продукцию активных форм кислорода (АФК) оценивали по интенсивности флуоресценции дигидрорадамина 123. Функцию печени определяли по скорости потока желчи в процессе НР.

Хранение и последующая НР печени приводили к разобщению окислительного фосфорилирования, увеличению спонтанной продукции АФК, базального уровня и скорости накопления МДА, снижению активности антиоксидантных ферментов, уровня АТФ и скорости продукции желчи. Присутствие в среде хранения ЦФТ препятствовало нарушению энергетического сопряжения, что способствовало практически полному восстановлению уровня АТФ. При этом после ГХ снижалась продукция АФК, после НР – базального уровня МДА, а скорость его накопления была ниже контроля и значений ССР-группы на всех этапах эксперимента. В присутствии ЦФТ также наблюдалось частичное восстановление активности всех антиоксидантных ферментов, кроме Г6ФДГ. Внесение ЦФТ в ССР сохраняло скорость продукции желчи на уровне свежеизолированного органа.

Выраженный защитный эффект фетальных биорегуляторов в отношении печени в условиях околонулевых температур определяет перспективность их использования в качестве компонентов растворов для холодового хранения изолированных органов.

Up-to-date preservation media do not ensure sufficient integrity of isolated liver after long-term hypothermic storage (HS). It can be due to the solution deprivation of biologically active substances, which are able to regulate cell processes. It was shown in our laboratory that animal pretreatment *in vivo* with protein and peptide bioregulators of stem and progenitor cells contained in fetal tissue cytosol (FTC) was effective in the model of liver HS and normothermic reperfusion (NR).

The research aim was to investigate the influence of FTC added to storage solution on prooxidant-antioxidant, energetic and functional liver state after HS and following NR.

The cytosol was obtained from mesenchymal-mesodermal tissues of rat fetuses of 15–16 gestation days by high-speed centrifugation. Rat livers were stored during 24 h at 4°C in sucrose-saline solution (SSS) with or without adding of FTC (100 µl/100 ml), then were reperused for 60 min at 37°C. Freshly isolated livers were used as the control. Respiratory activity, ATP level, malone dialdehyde (MDA) basal level and accumulation rate, antioxidant enzyme activities were investigated in liver homogenates. Spontaneous production of reactive oxygen species (ROS) was determined by fluorescence intensity of dihydrorhodamine 123. Liver function was determined by bile flow rate during NR.

Liver storage and following NR led to the uncoupling of oxidative phosphorylation, to the enhancement of ROS spontaneous production, basal level and accumulation rate of MDA and to the decrease of antioxidant enzyme activity, ATP level and bile production rate. The FTC presence in storage solution prevented the impairment of oxidative phosphorylation coupling degree that promoted almost full recovery of ATP level. At this time ROS production decreased after HS and MDA basal level – after NR, but accumulation rate was lower than in the control and in SSS-group at all steps of the experiment. The partial recovery of all antioxidant enzyme activity, excepting G6PDG, was also observed in the presence of FTC. Supplementation of SSS with FTC maintained bile production rate similar to freshly isolated organ values.

Pronounced protective effect of fetal bioregulators on the liver under conditions of near-zero temperatures indicates the prospects of their application as components of solution for isolated organ cold storage.