

О возможности применения новых органических синтетических селен-содержащих соединений при гипотермическом хранении органов

А.А. Коваленко, М.А. Голубцова, Т.Н. Овсянникова, В.Д. Дяченко
Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, г. Харьков, Украина

About Possibility of Using New Organic Synthetic Selenium-Containing Compounds During Hypothermic Storage of Organs

A.A. Kovalenko, M.A. Holubtsova, T.N. Ovsyannikova, B.D. Dyachenko
V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

Применение соединений, адресованных в митохондрии, восстанавливает дыхательную активность (прооксидантно-антиоксидантный баланс) и снижает реперфузионные повреждения при гипотермическом хранении печени [Д.В. Черкашина и соавт., 2010, 2011]. Работа ряда антиоксидантных ферментов связана с содержанием селена в их составе.

Цель работы – исследование влияния новых синтетических селен-содержащих органических соединений с предполагаемой антиоксидантной активностью на фосфорилирование в митохондриях печени крыс.

Были исследованы семь новых гетероциклических синтетических селен-содержащих соединений (условно обозначены – 1–7). Влияние на окислительное фосфорилирование изучали полярографически путем, добавляя селен-содержащие растворы в диметилсульфоксиде (ДМСО) к митохондриям печени крыс. Исследуемое соединение добавляли в ячейку полярографа (конечная концентрация 0,1–0,3 мМ, субстрат дыхания – сукцинат) после 2-минутного дыхания не фосфорилирующих митохондрий, продолжали фиксировать процесс в этом же состоянии митохондрий (V_4), затем добавляли Аденозиндифосфат (V_3). Рассчитывали скорость дыхания V_4 , V_3 (нмоль O_2 на 1 мг белка за 1 мин) и коэффициент дыхательного контроля. Антиоксидантные свойства соединений оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах печени крыс при НАДФН-зависимом перекисном окислении липидов (ПОЛ) после их 20-минутной инкубации с растворами соединений в той же конечной концентрации 0,1–0,3 мМ.

Антиоксидантные свойства выявлены у четырех веществ из семи: $5 > 7 > 3 > 6$. Содержание МДА в пробах снижалось по сравнению с контролем до инкубации (без добавок) более чем в 2 раза (контроль до и после инкубации – $1,96 \pm 0,12$) и $(3,99 \pm 0,11)$ нмоль/мг белка соответственно; 5 – до $(1,34 \pm 0,15)$ и после $(1,41 \pm 0,12)$ нмоль/мг белка. Дыхательную активность митохондрий при добавлении соединений изменялась по-разному. Соединения 1, 3, 5 и 6 снижали скорость дыхания примерно в 2 раза в состоянии V_4 , но V_3 уменьшалось незначительно. Вещество 2 снижало дыхание митохондрий во всех состояниях, но не до нулевых значений, вещество 4 снижало V_4 и увеличивало V_3 , Соединение 7 работало подобно динитрофенолу.

Таким образом, выявленные эффекты могут быть обусловлены структурой соединений и их разным взаимодействием с внутренней мембраной митохондрий. Разнонаправленность действия позволяет рекомендовать некоторые из исследуемых соединений для применения на разных этапах гипотермического хранения изолированных органов.

The use of mitochondria – targeted compounds restores the respiratory activity and prooxidant-antioxidant balance, reduces reperfusion damage during liver hypothermic storage [D.V. Cherkashina *et al.*, 2010, 2011]. The functioning of a number of antioxidant enzymes is associated with the content of selenium in their composition.

The aim of the work was to study the effect of new synthetic selenium-containing organic compounds with suspected antioxidant activity on oxidative phosphorylation in rat liver mitochondria.

Seven new heterocyclic synthetic selenium-containing compounds were studied (conventionally designated as 1–7). The effect on oxidative phosphorylation was studied by adding the selenium-containing solutions into dimethyl sulfoxide (DMSO) to rat liver mitochondria, and then placed in a polarography cell to a final concentration of 0.1–0.3 mM, respiration substrate – succinate. The studied compound was added after 2 minutes of respiration of non-phosphorylating mitochondria, continued to fix the process in the same state of mitochondria (V_4), then Adenosine Diphosphate (V_3) was added. The respiration rate V_4 , V_3 (nmol O_2 per 1 mg of protein per 1 min) and the coefficient of respiratory control were calculated. The antioxidant properties of the compounds were evaluated by the accumulation of malondialdehyde (MDA) in rat liver homogenates with NADPH-dependent lipid peroxidation (LPO) after their 20-minute incubation with solutions of the selenium-containing compounds at the same final concentration of 0.1–0.3 mM.

Antioxidant properties were found in 4 substances from 7: $5 > 7 > 3 > 6$. The MDA content in the samples decreased by more than 2 times compared to the control before incubation (without additives) (the control before and after incubation was (1.96 ± 0.12) and (3.99 ± 0.11) nmol/mg protein respectively; 5 – before (1.34 ± 0.15) and after (1.41 ± 0.12) nmol/mg protein). The respiratory activity of mitochondria when adding compounds changed in different ways. Compounds 1, 3, 5 and 6 reduced respiration rate by about 2 times in the V_4 state, while V_3 decrease was not significant. Substance 2 reduced mitochondrial respiration in all states, but not to zero values; substance 4 reduced V_4 and increased V_3 . Compound 7 worked like dinitrophenol.

Thus, the identified effects may be due to the structure of the compounds and their different interactions with the inner mitochondrial membrane. Multidirectional action allows us to recommend some of the studied compounds for use at different stages of hypothermic storage of isolated organs.

