

Митохондриально адресованный антиоксидант SkQ₁ снижает повреждение печени крыс при гипотермическом хранении

И.А. СОСИМЧИК, Д.В. ЧЕРКАШИНА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Mitochondria-Targeted Antioxidant SkQ₁ Attenuates Rat Liver Damage During Hypothermic Storage

I.A. SOSIMCHIK, D.V. CHERKASHINA

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

Поиск эффективных компонентов растворов хранения для снижения ишемически-реперфузионных повреждений печени является актуальным вопросом криобиологии и трансплантологии. Основным источником активных форм кислорода в условиях ишемии и последующей реоксигенации считаются митохондрии, поэтому митохондриально адресованные антиоксиданты, разработанные группой В.П. Скулачёва, потенциально способны снизить повреждение печени после гипотермического хранения (ГХ) и последующей нормотермической реперфузии (НР) изолированной печени.

Цель работы – исследование влияния SkQ₁ на дыхательную активность митохондрий, интенсивность перекисных процессов, содержание восстановленного глутатиона и АТФ в печени после ГХ и НР.

Печень крыс хранили в течение 24 ч при 4°C в сахарозо-солевом растворе, разработанном в ИПКиК НАН Украины, при отсутствии (контроль) или наличии 1 мкМ SkQ₁. После ГХ и НР скорость поглощения кислорода в гомогенатах печени определяли полярографически, базальный уровень и скорость накопления ТБК-активных продуктов – по образованию комплекса с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), а содержание восстановленного глутатиона (GSH) – по образованию комплекса с аллоксаном. Уровень АТФ в гомогенатах печени определяли кинетически по образованию НАДН в сопряженной реакции.

Показано, что ГХ и последующая НР приводили к разобщению окислительного фосфорилирования (снижение дыхательного контроля за счет увеличения скорости дыхания в состоянии 4), увеличению базального уровня и скорости накопления ТБК-активных продуктов, снижению содержания GSH и уровня АТФ. Присутствие в среде хранения 1 мкМ SkQ₁ приводило к повышению дыхательного контроля митохондрий как после ГХ, так и после НР. SkQ₁ не влиял на базальный уровень ТБК-активных продуктов, однако вызывал снижение скорости их накопления на этапе хранения и после НР. Уровень GSH после ГХ печени в растворе с SkQ₁ был достоверно выше контроля, но реперфузия нивелировала этот эффект. Присутствие SkQ₁ приводило к достоверному повышению содержания АТФ в печени как после ГХ, так и после НР.

Результаты работы свидетельствуют о положительном влиянии SkQ₁ на перекисные процессы в печени после ГХ и НР, которое проявлялось в снижении интенсивности накопления их продуктов и повышении уровня основного внутриклеточного антиоксиданта – GSH. При этом SkQ₁ повышал степень сопряженности окислительного фосфорилирования, что приводило к повышению содержания АТФ.

The search of effective compounds of storage solutions for the prevention of liver ischemia-reperfusion damage is the actual problem of cryobiology and transplantology. Mitochondria are considered the main source of reactive oxygen species at ischemia and following re-oxygenation, so, mitochondria-targeted antioxidants developed by Skulachev V.P. are potentially able to decrease isolated liver damage after hypothermic storage (HS) and following normothermic reperfusion (NR).

The aim of this work was to investigate the influence of SkQ₁ on the mitochondria respiratory activity, peroxidation process intensity, reduced glutathione (GSH) and ATP level in rat livers after HS/NR.

Rat livers were stored during 24 hrs at 4°C in sucrose-saline solution established in IPC&C NAS of Ukraine in the absence (control) or presence of 1 μM SkQ₁. After HS and NR oxygen consumption rate in liver homogenates was polarographically studied, basal level and accumulation rate of TBA-reactive substances was examined by formation of the complex with thiobarbituric acid (TBA), and GSH level was investigated by generation of the complex with alloxan. ATP levels in liver homogenates were determined kinetically by NADH formation in coupled reaction.

It was shown that HS and following NR of rat liver led to the uncoupling of oxidative phosphorylation (respiratory control index diminution by means of the increase of oxygen consumption rate in state 4), to the enhancement of basal level and accumulation rate of TBA-reactive substances, to the decrease of GSH and ATP levels. The presence in storage medium of 1 μM SkQ₁ resulted in the increase of mitochondria respiratory control index both after HS and NR. SkQ₁ didn't affect TBA-reactive substance basal level but caused the decrease of their accumulation rate after HS as well after NR. GSH level after liver HS in the medium with SkQ₁ was significantly higher than in the control group, however, the reperfusion abolished this effect. The presence of SkQ₁ led to significant increase of liver ATP level both after HS and NR.

The obtained results are the evidence of SkQ₁ positive effect on the peroxidation processes in the livers after HS and NR exhibited by the decrease of their product accumulation intensity and by the increase in the level of GSH, the main intracellular antioxidant. At that, SkQ₁ enhanced the degree of oxidative phosphorylation coupling that resulted in the rise of ATP level.