

# Оценка защитного эффекта тиолсодержащих соединений на митохондриальную функцию гепатоцитов крыс в условиях криоконсервирования

М.Ю. МАЛЮКИНА, Н.С. КАВОК, И.А. БОРОВОЙ, Е.А. АВЕРЧЕНКО

Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, г. Харьков

## Evaluation of Thiol-Containing Compound Protective Effect on Mitochondrial Function of Rat Hepatocytes During Cryopreservation

M.YU. MALYUKINA, N.S. KAVOK, I.A. BOROVY, E.A. AVERCHENKO

Institute for Scintillation Materials of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

В литературе имеются сведения, что окислительный стресс, переживаемый клетками в процессе их выделения, может впоследствии проявляться в повышении их чувствительности к повреждающим воздействиям и, как следствие, к снижению жизнеспособности, в том числе при криоконсервировании. В настоящем исследовании оценивали защитный эффект тиолсодержащих соединений на митохондриальную функцию гепатоцитов и ее восстановление после криоконсервирования. В качестве критерия, свидетельствующего о состоянии митохондриальной функции изолированных гепатоцитов, использовали показатель  $\Delta\Psi_m$  и его изменения в процессе краткосрочной гормональной стимуляции клеток фенилэфрином.

Моделирование окислительного стресса с помощью органического (50 мкМ терт-бутилгидропероксида (tert-BHP)) и неорганического (500 мкМ  $H_2O_2$ ) пероксида позволило оценить степень влияния прооксидантов на  $\Delta\Psi_m$ , а также способность тиоловых антиоксидантов (2–10 мМ N-ацетилцистеина и 2 мМ GSH) препятствовать повреждающим эффектам прооксидантных соединений. Было установлено, что в условиях развития окислительного стресса наиболее эффективным протектором является GSH. Предынкубация клеток с GSH течение 1 часа перед внесением прооксидантов отменяет падение  $\Delta\Psi_m$ , вызванное их действием. При этом GSH не влияет на  $\Delta\Psi_m$  в гепатоцитах и значения интенсивности флуоресценции J-агрегатов не отличаются от контрольных. В то же время предынкубация клеток с GSH увеличивает амплитуду ответа  $\Delta\Psi_m$  на краткосрочное воздействие  $10^{-5}$  М фенилэфрина ((307 ± 51)% от контроля), а также повышает выживаемость гепатоцитов по сравнению с контролем после криоконсервирования. Однако чувствительность митохондрий после криоконсервирования к стимулирующему действию фенилэфрина под влиянием антиоксидантного соединения не восстанавливалась. Таким образом, для полного восстановления митохондриальной функции наряду с обеспечением клеток антиоксидантами, по-видимому, необходимо использовать дополнительные соединения с протекторными свойствами на этапе, предшествующем криоконсервированию, и подбор соответствующего состава криоконсервирующих сред.

There are the data, demonstrating the oxidative stress, survived by cells during their isolation, as capable to be later manifested in increasing their sensitivity to damaging effects and as a result in a decreased viability, including during cryopreservation as well. In this research a protective effect of thiol-containing compounds on mitochondrial function of hepatocytes and its recovery after cryopreservation was assessed. The index of  $\Delta\Psi_m$  and its changes during short-term hormonal stimulation of cells by phenylephrine was used as the criterion, testifying to mitochondrial function state in isolated hepatocytes.

Oxidative stress modeling with organic (50  $\mu$ M tert-BHP) and inorganic (500  $\mu$ M  $H_2O_2$ ) peroxide enabled to estimate the prooxidant effect extent on  $\Delta\Psi_m$ , as well as the capability of thiol antioxidants (10 mM 2-N-acetylcysteine and 2 mM GSH) to prevent the damaging effects of prooxidant compounds. Under oxidative stress development the GSH was established to be the most efficient protectant. Cell preincubation with GSH for 1 hr before introducing prooxidants cancels the  $\Delta\Psi_m$  fall, caused by their action. In this case GSH does not affect  $\Delta\Psi_m$  in hepatocytes and the values of fluorescence intensity of J-aggregates do not differ from the control ones. At the same time the cell pre-incubation with GSH increases the  $\Delta\Psi_m$  response amplitude to a short-term effect of  $10^{-5}$  M phenylephrine ((307 ± 51)% of control), as well as enhances the hepatocyte survival compared to the control after cryopreservation. However, the mitochondrial sensitivity after cryopreservation to phenylephrine stimulating effect under the influence of antioxidant compound was not reduced. Thus, for a complete recovery of mitochondrial function together with providing cells with antioxidants, it is apparently necessary to use the additional compounds with protective properties at the stage, preceding the cryopreservation, and select the appropriate composition for cryopreserving media.