

Перспективы применения митохондриально адресованных агентов для гипотермического хранения изолированных органов

Д.В. ЧЕРКАШИНА, И.А. СОСИМЧИК, О.А. СЕМЕНЧЕНКО, А.Ю. СОМОВ, А.Ю. ПЕТРЕНКО
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Prospects of Mitochondria Targeted Agent Application for Hypothermic Storage of Isolated Organs

D.V. CHERKASHINA, I.A. SOSIMCHIK, O.A. SEMENCHENKO, A.YU. SOMOV, A.YU. PETRENKO
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

На сегодня остается актуальной проблема долгосрочного хранения изолированных органов без потери функциональной активности. Важнейшим фактором обеспечения сохранности органа является состав консервирующего раствора. Несмотря на разнообразие существующих сред для гипотермического хранения (ГХ), ни одна из них не способна предотвратить развитие ишемически-реперфузионных повреждений, ключевым звеном которых являются митохондрии. Мы предположили, что внесение в консервирующий раствор биологически активных веществ, способных селективно влиять на состояние митохондрий, позволит снизить повреждение печени в процессе ГХ и последующей нормотермической реперфузии (НР).

В качестве митохондриально адресованных агентов использовали: разобшители 2,4-динитрофенол и бенциклана фумарата, митохондриально адресованный антиоксидант SkQ₁ и цитозоль фетальных тканей мезенхимально-мезодермального происхождения. Печень крыс хранили в течение 18 или 24 ч в сахарозо-солевом растворе при 0...4°C в присутствии агентов и без них, затем подвергали НР. Разобшители отмывали перед реперфузией 1%-м раствором бычьего сывороточного альбумина. В качестве контроля использовали свежееизолированную печень. В гомогенатах печени общепринятыми методами исследовали дыхательную активность, содержание АТФ и прооксидантно-антиоксидантное состояние. Функцию печени определяли по скорости потока желчи в процессе НР.

Хранение и НР печени в растворе без агентов приводили к разобщению окислительного фосфорилирования и снижению уровня АТФ в печени, усилению свободнорадикальных процессов и падению активности антиоксидантных ферментов, что сопровождалось угнетением желчеобразования. Присутствие в среде хранения 2,4-динитрофенола улучшало прооксидантно-антиоксидантное состояние и окислительное фосфорилирование в печени на этапе НР, увеличивая содержание АТФ и продукцию желчи. Положительные эффекты для бенциклана фумарата наблюдались только после ГХ, что, вероятно, было связано с невозможностью полного удаления разобшителя перед реперфузией. Присутствие в растворе хранения SkQ₁ или цитозоля фетальных тканей, несмотря на различные механизмы действия, сходным образом влияло на состояние печени как после ГХ, так и НР: нормализовался прооксидантно-антиоксидантный баланс в печени, улучшалась функция митохондрий, повышался уровень АТФ и восстанавливалась желчеобразующая функция.

Таким образом, возможность селективно регулировать функцию митохондрий путём дополнения консервирующих растворов митохондриально адресованными агентами является перспективным подходом для prolongation сроков безопасного хранения изолированных органов.

Nowadays the problem of long-term storage of isolated organs without functional activity loss remains on top. Composition of preservation solution is the primary factor for providing of organ viability. Despite of variety of existing media for hypothermic storage (HS), none of them is capable to prevent the development of ischemia-reperfusion injuries, key member of which are mitochondria. We supposed that supplementation of preservation solution with biologically active substances, which are able to selectively affect mitochondria state permits to decrease liver damage during HS and following normothermic reperfusion (NR).

As mitochondria targeted agents were used: uncouplers 2,4-dinitrophenol and bencyclane fumarate, mitochondria targeted antioxidant SkQ₁ and cytosol of fetal tissues of mesenchymal-mesodermal origin. Rat livers were stored during 18 or 24 hrs at 0...4°C in sucrose-saline solution in the presence of agents or without them, and then subjected to NR. Uncouplers were removed before reperfusion by 1% solution of bovine serum albumin. Freshly isolated livers were used as the control. In liver homogenates respiratory activity, ATP level and pro-oxidant-antioxidant state were studied by commonly used methods. Liver function was estimated by bile flow rate during NR.

Liver storage and NR in solution without agents led to uncoupling of oxidative phosphorylation and ATP level decrease, enhancement of free radical processes and antioxidant enzyme activity diminution, which was accompanied by depression of bile production. The presence in preservation solution of 2,4-dinitrophenol improves liver pro-oxidant-antioxidant state and oxidative phosphorylation at NR stage, increasing ATP level and bile flow rate. In the case of bencyclane fumarate the positive effects were observed just after HS that probably related to inability of total removal of uncoupler before reperfusion. The presence in storage solution of SkQ₁ or fetal tissue cytosol, despite on different mechanisms of action, similarly affected liver state after HS as well as NR: pro-oxidant-antioxidant balance was normalized, mitochondria function was improved and ATP level increased, bile production was recovered.

Thus, the possibility to selectively regulate mitochondria function by means of supplementation of preservation solutions with mitochondria targeted agents is a prospective approach to prolong terms of isolated organ safe storage.