

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ, АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ОРГАНОВ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСТРЕАНИМАЦИОННОГО ПЕРИОДА

УДК 612.015.11:577.158:616–036.882–08

Поступила 27.03.2012 г.



Н.Н. Андреева, д.б.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ученый секретарь;

Т.И. Соловьева, к.б.н., старший научный сотрудник ЦНИЛ НИИ ПФМ;

М.В. Баландина, к.б.н., научный сотрудник ЦНИЛ НИИ ПФМ;

Е.И. Яковлева, к.б.н., старший научный сотрудник ЦНИЛ НИИ ПФМ

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1

Цель исследования — изучение в эксперименте изменения уровня продуктов перекисного окисления липидов, активности супероксиддисмутазы, каталазы, содержания субстратов углеводного обмена и ультраструктуры мозга, сердца и печени на 30-е сутки постреанимационного периода.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на белых нелинейных крысах-самцах. Клиническую смерть моделировали путем пережатия сердечно-сосудистого пучка. Период прекращения кровообращения составил 10 мин. Органы у наркотизированных животных забирали на 40-й минуте (n=12) и на 30-е сутки постреанимационного периода (n=8).

Результаты. Показано, что на 30-е сутки постреперфузионного периода по сравнению с контролем (40 мин) увеличилось содержание продуктов перекисного окисления липидов (триеновых конъюгатов — в мозге и печени, малонового диальдегида — в миокарде) на фоне снижения активности супероксиддисмутазы во всех исследуемых органах; соотношение лактат/пируват превышало исходные показатели. Полученные данные свидетельствуют о наличии мембранодеструктивных процессов на 30-е сутки постреанимационного периода, что подтверждалось исследованием ультраструктуры: наблюдались митохондрии с нечеткой или поврежденной наружной мембраной и дезориентацией крист. Указанные изменения повышают риск развития необратимых нарушений мембранных структур и, следовательно, развития полиорганной дисфункции в отдаленном постреанимационном периоде.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, ПОЛ, ультраструктура органов, постреперфузионный период.

English

The study of the activity of lipid peroxidation, antioxidant system and ultrastructure of organs in a long-term postresuscitative period

N.N. Andreeva, D.Bio.Sc., Professor, the Department of Normal Physiology, Academic Secretary;

T.I. Soloviyova, PhD, Senior Research Worker, Central Scientific Research Laboratory, Scientific Research Institute of Applied Fundamental Medicine;

M.V. Balandina, PhD, Research Worker, Central Scientific Research Laboratory, Scientific Research Institute of Applied Fundamental Medicine;

E.I. Yakovleva, PhD, Senior Research Worker, Central Scientific Research Laboratory, Scientific Research Institute of Applied Fundamental Medicine

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005

The aim of the investigation is to study experimentally the change of the lipid peroxidation processes, the activity of superoxide dismutase, catalase, the content of the substrates of the carbohydrate metabolism, and the brain, heart and liver ultrastructure in rats on the 30th day of the postresuscitative period.

Для контактов: Андреева Наталья Николаевна, тел. раб. (831)465-42-81, тел. моб. +7 910-873-98-65; e-mail: nn.andreeva@mail.ru

Materials and methods. The experiments were carried on white nonlinear male rats. Clinical death was simulated by clamping cardiovascular bundle. The stagnation of the circulation was 10 min. The organs of the anesthetized animals were taken on the 40th minute (n=12) and on the 30th day of the postresuscitative period (n=8).

Results. Lipid peroxidation products (conjugated trienes in the brain and the liver and malonic dialdehyde in the myocardium) were shown to increase on the 30th day of the postperfusion period compared to the control group (40 min) against the background of the activity decrease of superoxide dismutase in all the studied organs. The lactate/pyruvate ratio exceeded the baseline. The mitochondria with an indistinct or damaged outer membrane, and the disorientation of the cristas were demonstrated by an electron-microscopic research. The findings indicated membrane destruction processes on the 30th postresuscitative day. The mentioned changes increase the risk of irreversible damage of membrane structures, and therefore, multi-organ dysfunction in a long-term postresuscitative period.

Key words: lipid peroxidation processes, ultrastructure, postresuscitative period.

Изменение уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) характерно для многих физиологических процессов, так как ПОЛ является одним из механизмов, ответственных за модификацию состава и физико-химических свойств мембран, а соотношение проантиоксидантных систем отражает адаптивные возможности ткани, органа [1, 2]. На раннем этапе ишемии процессы ПОЛ носят защитно-приспособительный характер, умеренно увеличивая проницаемость мембран, облегчая работу липидзависимых мембранных белков, что имеет определенную биологическую целесообразность [3].

При восстановлении кровообращения развитие вторичной гипоксии в сочетании с реоксигенацией приводит к чрезмерной активации ПОЛ на фоне истощения антиоксидантной системы защиты тканей [4, 5]. Негативные последствия этих процессов проявляются на ультраструктурном уровне и выражаются прежде всего в образовании микроразрывов в клеточных и субклеточных мембранах, повреждении структуры митохондрий и, соответственно, нарушении их энергообразующей функции [6–8]. Важным фактором, усугубляющим нарушение биомембран, является также развитие метаболического ацидоза [3, 7].

Активность процессов ПОЛ, состояние антиоксидантной системы, ультраструктура органов при ишемии и в раннем реперфузионном периоде изучены достаточно полно [3, 7, 9–11], однако актуальным остается их изучение в отдаленные сроки постреанимационного периода.

Цель исследования — изучение в эксперименте изменения уровня продуктов перекисного окисления липидов, активности супероксиддисмутазы, каталазы, содержания субстратов углеводного обмена и ультраструктуры мозга, сердца и печени на 30-е сутки постреанимационного периода.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на белых нелинейных крысах-самцах массой 180–220 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Для наркоза использовали нембутал (25 мг/кг внутривенно) и эфир. Клиническую смерть моделировали путем пережатия сердечно-сосудистого пучка [12]. Период прекращения кровообращения составил 10 мин. Оживление проводили, применяя непрямой массаж сердца и искусственную вентиляцию легких. Органы у наркотизированных животных забирали на 40-й минуте (контрольная серия, n=12) и на 30-е сутки постреанимационного периода (опытная серия, n=8). Дополнительным контролем служили интактные животные

(n=9). При проведении исследования неукоснительно соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 г. и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006 г.). Липиды экстрагировали по J. Folch [13]. Активность процессов ПОЛ и состояние антиоксидантной защиты клеток оценивали с помощью общепринятых методов по накоплению продуктов перекисаации: диеновых (ДК) и триеновых конъюгатов (ТК) [14], малонового диальдегида (МДА) [15] и активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД) [16] и каталазы [17]. Концентрацию ДК, ТК и МДА выражали в единицах оптической плотности относительно количества общих липидов (ОЛ) (ед.опт.пл./мг ОЛ). Активность СОД выражали в условных единицах активности на грамм ткани в минуту (ед.акт./г ткани-мин). Активность каталазы выражали в условных единицах активности на грамм ткани в секунду (ед.акт./г ткани-с). Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-26 («Ломо Фотоника», С.-Петербург). Количественное определение пирувата и лактата в тканях проводили энзиматическим методом с использованием лактатдегидрогеназы [18]. Содержание пирувата и лактата выражали в мкмоль/г ткани. Для электронно-микроскопического исследования иссекали ткани коры головного мозга, левого желудочка сердца на уровне отхождения передней папиллярной мышцы и правой доли печени. Ткань фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида на фосфатном буфере (рН=7,4) и в 1% растворе четырехоксида осмия [19]. Материал обезвоживали в ЭПОН-812. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме ULTRACUT (Reicher-yung, Австрия), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по методу F.S. Reynolds [20] и просматривали на электронном микроскопе Morgagni 268-D (FEI, Нидерланды).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ BIOSTAT [21]. Статистическую значимость различий показателей средних в сериях определяли с использованием критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ параметров процессов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов у крыс опытной и интактной серий показал, что во всех исследуемых органах на 30-е

сутки постреанимационного периода повысилась интенсивность ПОЛ и угнеталась система антиоксидантной защиты.

В мозге, сердце и печени опытной серии по сравнению с исходными показателями существенно увеличилось содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ: ДК — на 78%, в 2,2 и 2,8 раза соответственно, ТК — в 2,3 раза, на 71% и в 3,7 раза, МДА — на 71%, в 2,5 раза и на 90% соответственно (табл. 1). Однако активность СОД в мозге, сердце и печени на 30-е сутки постреанимационного периода снизилась в 2,2 раза, в 2,5 раза и на 38,5% соответственно; активность каталазы — в 2,5 раза, в 3 раза и на 32% соответственно (табл. 2).

Известно, что чрезмерная интенсификация процессов ПОЛ на фоне истощения антиоксидантной системы защиты при ишемии/реперфузии играет особенно значимую роль в повреждении клеточных и субклеточных мембран [3, 7]. Во-первых, образование гидроперекисей липидов повышает их гидрофильность и в результате гидроперекиси липидов «выталкиваются» в гидрофильную область мембран [22], что облегчает доступность молекул фосфолипидов для фосфолипаз и тем самым потенцирует делипидизацию мембран [7]. Во-вторых, в связи с накоплением в мембранах гидроперекисей липидов, продуктов фосфолиполиза (высших жирных кислот, лизофосфолипидов) нарушаются физико-химические свойства и структура клеточных и субклеточных мембран вплоть до формирования микроразрывов, что приводит к нарушению их функций [3, 22–24]. Следует отметить, что ранее, в работах [25, 26], нами было показано некомпенсируемое уменьшение содержания доминантных мембранных фосфолипидов — фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина — и увеличение количества свободных жирных кислот и лизофосфолипидов в тканях мозга, сердца

и печени на 30-е сутки постишемического периода по сравнению с интактными показателями.

О нарушении в отдаленные сроки постреанимационного периода компенсаторных механизмов, которые обеспечивают защиту клеток от окислительного стресса, развившегося в период рециркуляции и реоксигенации, свидетельствовало увеличение содержания ТК на 30-е сутки постишемического периода относительно контроля в ткани мозга — на 51% и в ткани печени — на 91% (см. табл. 1). Изменение количества МДА в опытной серии по сравнению с контролем в мозге и сердце имело разнонаправленный характер: в мозге — уменьшилось на 71%, в миокарде — увеличилось на 49,5%.

Вторичные продукты ПОЛ — ТК и МДА — образуются при окислительной деструкции фосфолипидов [27]. По нашим данным [25, 26], на 30-е сутки постреанимационного периода относительно раннего реперфузионного периода содержание ненасыщенных фосфолипидов достоверно уменьшается: в мозге — фосфатидилсерина, в миокарде — фосфатидилэтаноламина. Уменьшение содержания МДА в мозге в опытной серии по сравнению с контролем, возможно, обусловлено нарушением процессов репарации фосфолипидов и более существенной делипидизацией мембран еще на раннем этапе реперфузии, так как мозг из-за особенностей липидного состава [28] наиболее подвержен нарушениям липидного обмена при ишемии/реперфузии [3]. МДА, как известно, образуется в основном при окислении линолевой и арахидоновой кислот, входящих в состав ненасыщенных фосфолипидов мембран [3, 27].

Об угнетении антиоксидантной системы защиты на 30-е сутки постреанимационного периода свидетельствовало и снижение активности СОД во всех исследуемых органах по сравнению с ранним реперфузионным периодом (см. табл. 2). Так, активность СОД в опытной серии относительно контроля уменьшилась в

Таблица 1

Содержание продуктов перекисного окисления липидов в постреанимационном периоде (M±m), ед.опт.пл./мг ОЛ

Серии	Мозг			Сердце			Печень		
	ДК	ТК	МДА	ДК	ТК	МДА	ДК	ТК	МДА
Интактная (n=9)	0,74±0,05	0,29±0,04	2,18±0,48	0,62±0,08	0,31±0,09	0,67±0,08	0,53±0,12	0,24±0,05	1,06±0,35
Контрольная (n=12)	1,21±0,17*	0,45±0,15*	4,86±0,49*	1,20±0,20*	0,42±0,10	1,11±0,16*	1,12±0,24*	0,46±0,13*	2,27±0,55*
Опытная (n=8)	1,32±0,12*	0,68±0,09**	3,73±0,22**	1,34±0,13*	0,53±0,07*	1,66±0,20**	1,49±0,19*	0,88±0,10**	2,01±0,34*

* — статистическая значимость различий с интактной серией; * — с контрольной серией, p<0,05.

Таблица 2

Активность супероксиддисмутазы и каталазы в постреанимационном периоде (M±m)

Серии	Мозг		Сердце		Печень	
	Каталаза, ед.акт./г ткани·с	СОД, ед.акт./г ткани·мин	Каталаза, ед.акт./г ткани·с	СОД, ед.акт./г ткани·с	Каталаза, ед.акт./г ткани·мин	СОД, ед.акт./г ткани·с
Интактная (n=9)	0,585±0,089	16,27±0,75	0,820±0,145	19,76±2,52	4,193±0,942	16,42±5,20
Контрольная (n=12)	0,282±0,070*	12,90±0,54*	0,362±0,100*	15,52±0,81	1,98±0,51*	16,63±3,98
Опыт (n=8)	0,230±0,060*	7,49±0,74**	0,269±0,066**	7,83±0,95**	2,843±0,080**	10,12±2,03**

* — статистическая значимость различий с интактной серией; * — с контрольной серией, p<0,05.

ткани мозга на 42%, в миокарде — на 49,5%, в ткани печени — на 38,5%. Активность каталазы изменилась неоднозначно: в мозге она оставалась в пределах контрольного значения, в сердце — уменьшилась на 26%, а в печени — увеличилась на 56%. Согласно данным работы [29], при ишемии/реперфузии в печени возрастает активность каталазы, что косвенно указывает на накопление H_2O_2 . Снижение активности ферментов-антиоксидантов может быть обусловлено мутацией и окислительной деструкцией соответствующих форм ДНК [30] и ингибирующим действием активных форм кислорода: H_2O_2 тормозит активность СОД, а

О[•] — активность каталазы [31]. Снижение активности СОД, возможно, обусловлено и структурными изменениями, в частности гликированием СОД [32].

Существенный вклад в повреждение мембранных структур в период восстановления кровообращения после тотальной ишемии вносит метаболический ацидоз [3, 7]. Соотношение лактат/пируват является показателем интенсивности анаэробного или гликолитического пути превращения углеводов и, соответственно, показателем гипоксии [3, 33].

При определении содержания лактата и пирувата выявлено, что в ткани головного мозга на 30-е сутки постшемического периода уменьшается накопление лактата по сравнению с реперфузионным периодом на 60%, что приводит к нормализации его содержания (рис. 1, а). При этом количество пирувата уменьшилось относительно контроля на 60% и на 45,5% по сравнению с интактной серией. В результате соотношение лактат/пируват статистически значимо от контрольного значения не отличалось, но превышало исходный показатель в 2 раза. Вероятно, выявленное изменение содержания пирувата обусловлено его включением в реакции декарбоксилирования. Повышение соотношения лактат/пируват при нормализации количества лактата и уменьшении содержания пирувата свидетельствует скорее об усилении использования пирувата в энергетическом обмене, чем о преобладании анаэробных путей утилизации глюкозы. Известно, что после непродолжительной ишемии при возобновлении кровообращения уже через 1–2 мин восстанавливаются процессы синтеза АТФ [34]. Однако повреждение процессов энергообмена может происходить не только на этапах синтеза АТФ, но и на этапах ее транспорта и утилизации структурными элементами клетки [34].

Аналогично ткани мозга на 30-е сутки постреанимационного периода в опытной серии по сравнению с контролем наблюдали снижение содержания лактата в миокарде — на 63% (рис. 1, б) и в ткани печени — на 48,5% (рис. 1, в). В миокарде также отмечали уменьшение количества пирувата на 33%, в ткани печени его содержание не изменилось. Соотношение лактат/пируват уменьшилось в миокарде в 2,3 раза, в печени — на 58%, что свидетельствует о снижении степени выраженности лактатацидоза в опытной серии по сравнению с контролем. Тем не менее следует отметить, что содержание лактата превышало исходные показатели в миокарде на 33% и более значительно — в 3,95 раза — в ткани печени. Количество пирувата на 30-е сутки постреанимационного периода по сравнению с интактной серией уменьшилось в миокарде — на 41%, в печени — на 45,5%. По-видимому, снижение содержания пирувата в данном случае обусловлено его включением в цикл трикарбоновых кислот. В результате вышеуказанных изменений соотношение лактат/пируват в опытной серии относительно интактной увеличилось в сердце — на 99%, в печени — в 6,3 раза, что указывает на наличие анаэробного пути утилизации глюкозы и вторичной гипоксии. Возможно, это связано с неполным восстановлением кровотока в органах даже в отдаленные сроки постреанимационного периода, в ре-

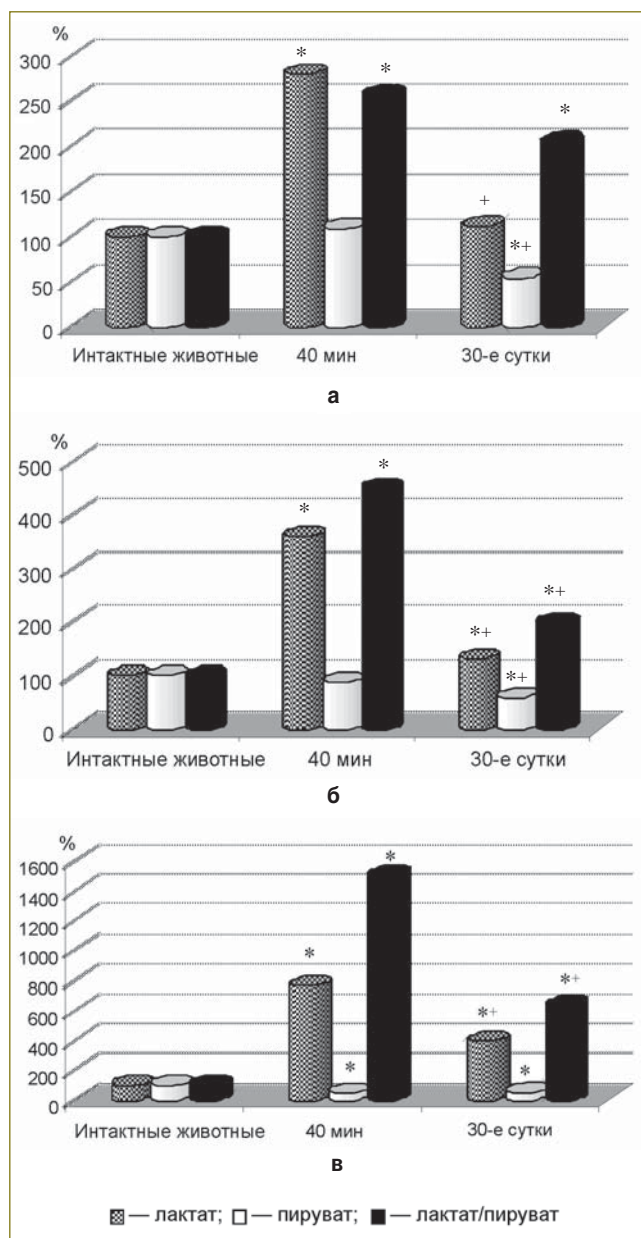


Рис. 1. Содержание субстратов углеводного обмена (в % от исходного значения) в постреанимационном периоде: а — в ткани мозга; б — в ткани сердца; в — в ткани печени; * — статистическая значимость различий значений с интактной серией; + — с ранним постреанимационным периодом (40 мин; контроль); $p < 0,05$

зультате чего нарушается адекватное метаболическим потребностям обеспечение тканей кислородом.

По данным авторов [7], спустя 3 нед после клинической смерти, вызванной острой кровопотерей, и последующего оживления путем нагнетания аутокрови в сердечной мышце выявлялось неравномерное кровенаполнение сосудов.

Структурные изменения в исследуемых нами органах на 30-е сутки постреанимационного периода отражали наличие двух противоположных процессов: регенерации и повреждения.

Электронно-микроскопически в отдаленные сроки

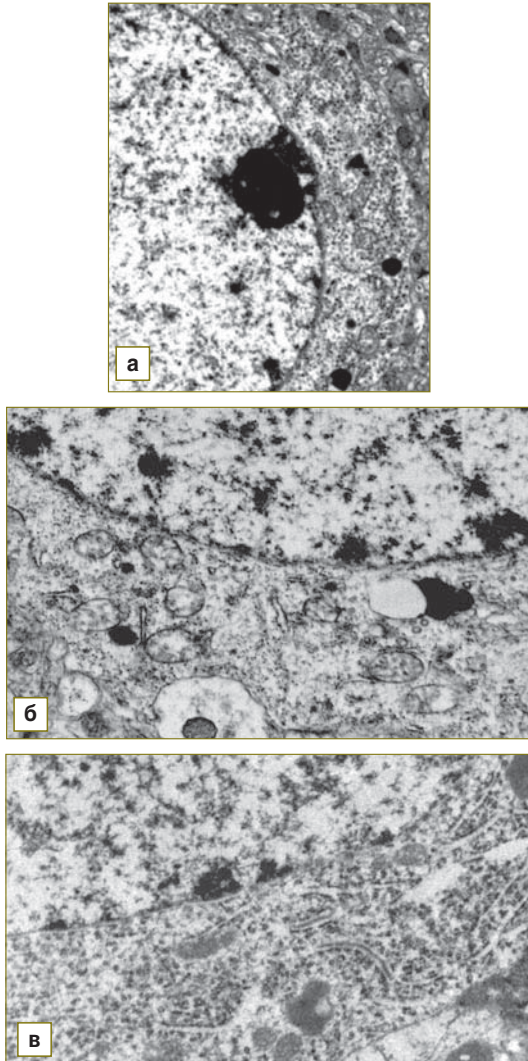


Рис. 2. Ультраструктура нейронов сенсомоторной зоны коры головного мозга: а — нейрон интактного животного (ув. 8000); б — ранний постреперфузионный период: конденсация хроматина на периферии ядра; митохондрии, набухшие с просветленным матриксом, резкой деструкцией крист, нарушением целостности наружной мембраны; фрагментация гранулярной эндоплазматической сети (ув. 13 000); в — 30-е сутки постреперфузионного периода: набухание ядра с просветлением кариоплазмы и конденсацией хроматина по периферии ядра; расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети; митохондрии с нечеткой наружной мембраной, наличие мелких митохондрий с плотным матриксом; большое количество полисом (ув. 10 000)

постишемического периода в нейронах отмечали набухание ядра с просветлением кариоплазмы и конденсацией хроматина по периферии ядра, набухание и разрушение в отдельных участках кариолеммы (рис. 2). Расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети сочеталось с их разрушением и уменьшением доли ее элементов по сравнению с интактной серией. Наблюдали митохондрии с нечеткой наружной мембраной. В то же время регистрировали наличие мелких митохондрий с плотным матриксом, увеличение количества свободных рибосом и полисом, что отражало процессы репарации в нейронах. Встречались вторичные лизосомы.

В кардиомиоцитах опытной серии наблюдали набухание сарколеммы, слабый диффузный внутриклеточный отек, гетерогенность и гиперплазию митохондрий, митохондрии с нарушением четкости наружной мембраны (рис. 3). Большинство митохондрий — с

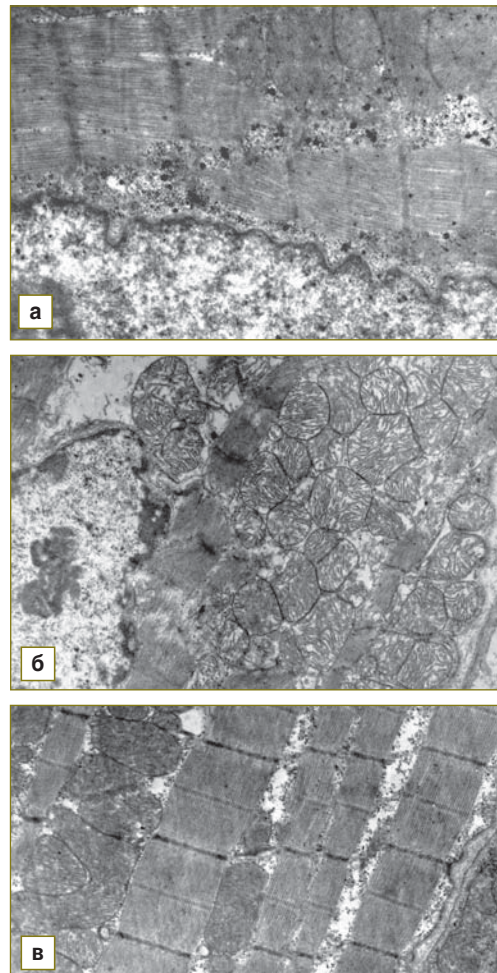


Рис. 3. Ультраструктура миокарда: а — интактного животного (ув. 10 800); б — ранний постреперфузионный период: набухание сарколеммы; внутриклеточный отек; пересокращение и разрывы миофибрилл с участками их расслоения и фрагментацией; набухание митохондрий, просветление их матрикса; маргинация хроматина (ув. 13 000); в — 30-е сутки постреперфузионного периода: слабый диффузный внутриклеточный отек; гетерогенность и гиперплазия митохондрий, митохондрии с нарушением четкости наружной мембраны (ув. 13 000)

плотным матриксом и дезориентацией крист. Структура миофибрилл — без ярко выраженных изменений. Авторы работы [7] отмечали, что к концу месяца после острой кровопотери и оживления в кардиомиоцитах митохондрии располагались в виде многорядных скоплений между миофибриллами, большинство из них сохранены, в некоторых выявлялась гомогенизация крист.

В гепатоцитах на 30-е сутки постреанимационного периода наблюдали митохондрии с плотным матриксом, в большинстве случаев их наружная мембрана не имела четких контуров или была повреждена (рис. 4). В цитоплазме отмечали снижение количества

цитогранул гликогена, наличие вакуолей, миелиноподобных структур, окруженных мембраной и свидетельствующих об активации ПОЛ мембран [35].

Итак, при исследовании ультраструктуры нейронов, кардиомиоцитов и гепатоцитов на 30-е сутки постишемического периода выявлено, что общей закономерностью является наличие митохондрий с нечетко выраженной наружной мембраной, а также митохондрий с плотным матриксом. По мнению авторов [36], лишь повреждение наружных митохондриальных мембран может быть однозначно трактовано как свидетельство разрушения этих органелл, все остальные изменения (набухание митохондрий, пятнистое просветление и гомогенизация митохондриального матрикса, деструкция крист) могут говорить как о деградации, так и о гиперфункции митохондриального аппарата.

Заключение. Результаты исследования активности процессов ПОЛ, антиоксидантных ферментов, содержания субстратов углеводного обмена и ультраструктуры мозга, сердца и печени на 30-е сутки постреанимационного периода позволяют утверждать, что в отдаленные сроки после тотальной ишемии и реперфузии воздействие патогенных факторов усиливается при нестабильности защитно-приспособительных реакций, обеспечивающих репарацию мембран. К их числу следует отнести чрезмерную активацию ПОЛ на фоне истощения антиоксидантного фонда и существенное повышение степени лактатацидоза по сравнению с интактной серией. Указанные изменения повышают риск развития необратимых нарушений мембранных структур и, следовательно, развития полиорганной дисфункции в отдаленном постреанимационном периоде.

Литература

1. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Роль свободнорадикальных процессов в адаптации организма к изменению уровня кислорода. В кн.: Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. Науч. ред. Лукьянова Л.Д., Ушаков И.Б. Москва–Воронеж: Изд-во Истоки; 2004; с. 112–137.
2. Галкина О.В., Путилина Ф.Е., Романова А.А. и др. Изменение перекисного окисления липидов и антиокислительной системы головного мозга крыс в ходе раннего постнатального развития. *Нейрохимия* 2009; 26(2): 111–116.
3. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М: Медицина; 1989; 368 с.
4. Suzuki M., Takeuchi H., Kakita T. et al. The involvement of the intracellular superoxide production system in hepatic ischemia — reperfusion injury. In vivo and in vitro experiments using transgenic mice manifesting excessive CuZn-COD activity. *Free Radic Biol Med* 2000; 29(8): 756–763.
5. Максимович Н.Е., Зинчук В.В., Маслаков Д.А. Степень окислительного стресса головного мозга крыс при ишемии/реперфузии в условиях коррекции L-аргинин-NO-системы. *Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова* 2005; 91(4): 385–393.
6. Литвицкий П.Ф. Патогенетические и адаптивные изменения в сердце при его регионарной ишемии и последующем возобновлении кровотока. *Патол физиология* 2002; 2: 2–12.
7. Долгих В.Т., Кочетков А.М., Долгих С.В. Структурные основы постреанимационной сердечной недостаточности. *Общая реаниматология* 2005; 1(2): 20–25.
8. Андреева Н.Н., Соловьева Т.И., Баландина М.В., Яковлева Е.И. Липидный обмен и ультраструктура гепатоцитов в постреперфузионном периоде при применении озонированного физиологического раствора.

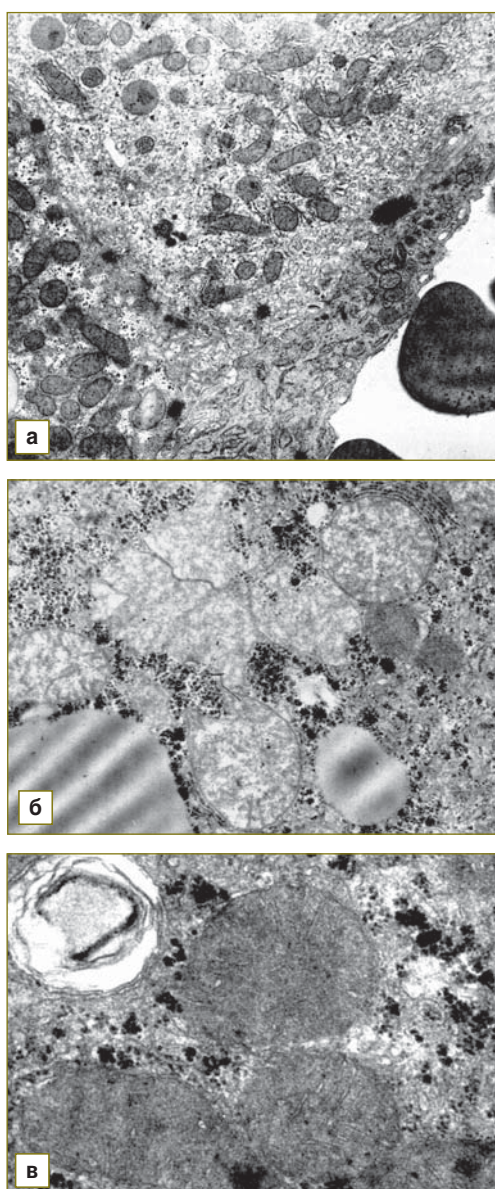


Рис. 4. Ультраструктура ткани печени: а — интактного животного (ув. 3000); б — ранний постреперфузионный период: набухание и деструкция митохондрий с нарушением целостности наружной мембраны; липидные капли (ув. 20 000); в — 30-е сутки постреперфузионного периода: миелиноподобные структуры в гепатоците (ув. 43 000)

логического раствора в эксперименте. *Соврем технол мед* 2009; 2: 15–22.

9. Бульон В.В., Хныченко Л.К., Сапронов Н.С. и др. Коррекция последствий постишемического реперфузионного повреждения головного мозга цитофлавином. *Бюлл эксперим биол и мед* 2000; 29(2): 149–151.

10. Suzuki M., Fukuhara K., Unno M. et al. Correlation between plasma and hepatic phosphatidylcholine hydroperoxidt, energy charge, and total glutathione content in ischemia reperfusion injury of rat liver. *Hepatogastroenterology* 2000; 47(34): 1082–1089.

11. Петров Р.И., Пономарев Э.А., Маскин С.С. и др. Влияние фармакологической нейропротекции на степень повреждения головного мозга при ишемии-реперфузии в эксперименте. *Экспер и клин фармакология* 2011; 74(8): 13–16.

12. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Телль Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. Патол физиология и эксперим терапия 1994; 5: 44–48.

13. Folch J., Less M., Stanley G. A simple metod for the isolated and purification of total lipids from animal tissues. *Biol Chem* 1957; 226(2): 497–509.

14. Ланкин В.З., Герасимова Е.Н., Касаткин Л.Б. Перекиси липидов и атеросклероз. Ферментативная детоксикация перекисей липидов в крови больных ишемической болезнью сердца, обусловленной атеросклерозом коронарных артерий. *Кардиология* 1979; 6: 71–75.

15. Smith J.B., Jngerman C.M., Silver M.J. Malondialdehyde formation as an indication of prostaglandin production by human platelets. *J Lab Clin Med* 1976; 88(1): 167–172.

16. Nishicimi M., Roo A., Xagi K. The occurrence of superoxide anion in reaction of reduced phenaxi-nemetasulfate and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 146(2): 849–854.

17. Aebi H. Methoden der erymatiechen analyses. *Biochemistry* 1970; 2: 636–647.

18. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии. М: Наука, 1965; 541 с.

19. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М: Мир, 1975; 324 с.

20. Reynolds F.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain electron microscopy. *J Cell Biology* 1963; 17: 208–212.

21. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М: Практика; 1999; 459 с.

22. Paradies G., Petrosillo G., Pistolesi M. et al. Lipid peroxidation and alterations to oxidative metabolism in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(1–2): 42–50.

23. Corr P.B., Gross P.W., Sobel B.E. Amphipathic metabolites and membrane dysfunction in ischemic myocardium. *Amer J Physiol* 1982; 242: H456–H461.

24. Проказова Н.В., Звездина Н.Д., Коротаяева А.А. Влияние лизофосфатидилхолина на передачу трансмембранного сигнала внутрь клетки. *Биохимия* 1998; 63(1): 38–46.

25. Андреева Н.Н., Мухина И.В., Лапшин Р.Д. Модификация фосфолипидного компонента мембран кардиомиоцитов и гепатоцитов в постишемическом периоде. *Нижегор мед журнал* 2003; 2: 20–25.

26. Андреева Н.Н., Мухина И.В. Коррекция мексидолом постреперфузионных изменений липидного обмена мозга. *Экспер и клин фармакол* 2005; 68(3): 37–41.

27. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Осис Ю.Г. Моделирование каскада ферментных реакций в липосомах, включающих свободнорадикальное окисление, восстановление и гидролиз полиеновых ацилов фосфолипидов для исследования влияния этих процессов на структурно-динамические параметры мембраны. *Биохимия* 2002; 67(5): 679–689.

28. Туманова С.Ю. Липиды центральной нервной системы и структура клеточных мембран. В кн.: *Нейрохимия*. Науч. ред. Ашмарин И.П., Стукалова П.В. М: Изд-во Ин-та биомедицинской химии РАМН; 1996; с. 96–144.

29. McCord J.M. Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes. *Proc Soc Exp Boil Med* 1995; 209(2): 112–117.

30. Кожура В.Л. Молекулярные и клеточные механизмы ишемического повреждения мозга при геморрагическом шоке. *Анестезиология и реаниматология* 1994; 3: 24–28.

31. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. *Вопр мед химии* 2001; 47(6): 561–581.

32. Arai K. Glycation and inactivation of human Cu-Zn-superoxide dismutase. Identification of the in vitro glycated. *J Biol Chem* 1987; 262: 16969–16972.

33. Сафонова О.А., Попова Т.Н., Макеева А.В. и др. Влияние некоторых бигуанидов на окислительный статус тканей крыс при ишемии/реперфузии головного мозга. *Нейрохимия* 2009; 26(4): 328–332.

34. Newman G.C., Hospod F.E., Trowbridge S.D. Restoring adenosine nucleotides in brain slice model of cerebral reperfusion. *Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18(6): 675–685.

35. Авцын А.П., Шахламов В.А. Ультраструктурные основы патологии клетки. М: Медицина; 1979; 318 с.

36. Фролов В.А., Пухляк В.П. Морфология митохондрий кардиомиоцита в норме и патологии. М: Изд-во Университета дружбы народов; 1989; 139 с.

References

1. Sazontova T.G., Arkhipenko Yu.V. Rol' svobodnoradikal'nykh protsessov v adaptatsii organizma k izmeneniyu urovnya kisloroda. V kn.: *Problemy gipoksii: molekulyarnye, fiziologicheskie i meditsinskie aspekty* [The role of free radical processes in the adaptation of organism to oxygen level change. In: Hypoxia problems: molecular, physiological and medical aspects]. Nauch. red. Luk'yanova L.D., Ushakov I.B. [Scientific editors Lukyanova L.D., Ushakov I.B.]. Moscow; Voronezh: Izd-vo Istoki; 2004; p. 112–137.

2. Galkina O.V., Putilina F.E., Romanova A.A. et al. *Neurokhimiya — Neurochemistry* 2009; 26(2): 111–116.

3. Bilenko M.V. *Ishemicheskie i reperfuzionnye povrezhdeniya organov* [Ischemic and reperfusion injuries of organs]. Moscow: Meditsina; 1989; 368 p.

4. Suzuki M., Takeuchi H., Kakita T. et al. The involvement of the intracellular superoxide production system in hepatic ischemia — reperfusion injury. In vivo and in vitro experiments using transgenic mice manifesting excessive CuZn-COD activity. *Free Radic Biol Med* 2000; 29(8): 756–763.

5. Maksimovich N.E., Zinchuk V.V., Maslakov D.A. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova — Russian Physiological Journal named after I.M. Sechenov* 2005; 91(4): 385–393.

6. Litvitskiy P.F. *Patologicheskaya fiziologiya — Pathological Physiology* 2002; 2: 2–12.

7. Dolgikh V.T., Kochetkov A.M., Dolgikh S.V. *Obshchaya reanimatologiya — General Resuscitation* 2005; 1(2): 20–25.

8. Andreeva N.N., Solov'eva T.I., Balandina M.V., Yakovleva E.I. *Sovrem Tehnol Med — Modern Technologies in Medicine* 2009; 2: 15–22.

9. Bul'on V.V., Khnychenko L.K., Sapronov N.S. et al. *Bull Eksp Biol Med — Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2000; 29(2): 149–151.

10. Suzuki M., Fukuhara K., Unno M. et al. Correlation between plasma and hepatic phosphatidylcholine hydroperoxidt, energy charge, and total glutathione content in ischemia reperfusion injury of rat liver. *Hepatogastroenterology* 2000; 47(34): 1082–1089.

11. Petrov R.I., Ponomarev E.A., Maskin S.S. et al. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya — Experimental and Clinical Pharmacology* 2011; 74(8): 13–16.

12. Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tell' L.Z. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya — Pathological Physiology and Experimental Therapy* 1994; 5: 44–48.

13. Folch J., Less M., Stanley G. A simple metod for the isolated and purification of total lipids from animal tissues. *Biol Chem* 1957; 226(2): 497–509.

14. Lankin V.Z., Gerasimova E.N., Kasatkin L.B. *Kardiologiya — Cardiology* 1979; 6:71–75.

15. Smith J.B., Jngerman C.M., Silver M.J. Malondialdehyde forma-

- tion as an indication of prostaglandin production by human platelets. *J Lab Clin Med* 1976; 88(1): 167–172.
16. Nishicimi M., Roo A., Xagi K. The occurrence of superoxide anion in reaction of reduced phenaxi-nemetasulfate and molecular oxygen. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 146(2): 849–854.
17. Aebi H. Methoden der erymatiechen analyses. *Biochemistry* 1970; 2:636–647.
18. Asatiani V.S. *Novye metody biokhimicheskoy fotometrii* [New biochemical photometry techniques]. Moscow: Nauka, 1965; 541 p.
19. Uikli B. *Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh* [Electron microscopy entry level]. Moscow: Mir, 1975; 324 p.
20. Reynolds F.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain electron microscopy. *J Cell Biology* 1963; 17: 208–212.
21. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika* [Medical and biological statistic]. Moscow: Praktika; 1999; 459 p.
22. Paradies G., Petrosillo G., Pistolesse M. et al. Lipid peroxidation and alterations to oxidative metabolism in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion. *Free Radic Biol Med* 1999; 27(1–2): 42–50.
23. Corr P.B., Gross P.W., Sobel B.E. Amphipathic metabolites and membrane dysfunction in ischemic myocardium. *Amer J Physiol* 1982; 242: H456–H461.
24. Prokazova N.V., Zvezdina N.D., Korotaeva A.A. *Biokhimiya — Biochemistry* 1998; 63(1): 38–46.
25. Andreeva N.N., Mukhina I.V., Lapshin R.D. *Nizhegor Med Z — Nizhny Novgorod Medical Journal* 2003; 2: 20–25.
26. Andreeva N.N., Mukhina I.V. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya — Experimental and Clinical Pharmacology* 2005; 68 (3): 37–41.
27. Lankin V.Z., Tikhaze A.K., Osis Yu.G. *Biokhimiya — Biochemistry* 2002; 67(5): 679–689.
28. Tumanova S.Yu. Lipidy tsentral'noy nervnoy sistemy i struktura kletochnykh membrane. V kn.: *Neyrokhimiya*. [Lipids of central nervous system and the structure of cell membranes. In: Neurochemistry]. Nauch. red. Ashmarin I.P., Stukalova P.V. [Scientific editor Ashmarin I.P., Stukalova P.V.]. Moscow: Izd-vo In-ta Biomeditsinskoy khimii RAMN; 1996; p. 96–144.
29. McCord J.M. Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 209(2): 112–117.
30. Kozhura V.L. *Anesteziol Reanimatol — Anesthesiology and Resuscitation* 1994; 3: 24–28.
31. Dubinina E.E. *Voprosy meditsinskoy khimii — Medical Chemistry Issues* 2001; 47 (6): 561–581.
32. Arai K. Glycation and inactivation of human Cu-Zn-superoxide dismutase. Identification of the in vitro glycated. *J Biol Chem* 1987; 262: 16969–16972.
33. Safonova O.A., Popova T.N., Makeeva A.V. *Neyrokhimiya — Neurochemistry* 2009; 26(4): 328–332.
34. Newman G.C., Hospod F.E., Trowbridge S.D. Restoring adenosine nucleotides in brain slice model of cerebral reperfusion. *Cereb Blood Flow Metab* 1998; 18(6): 675–685.
35. Avtsyn A.P., Shakhlamov V.A. *Ul'trastrukturnye osnovy patologii kletki* [Ultrastructural principles of cell pathology]. Moscow: Meditsina; 1979; 318 p.
36. Frolov V.A., Pukhlyanko V.P. *Morfologiya mitokhondriy kardiomiotsita v norme i patologii* [Morphology of cardiomyocyte mitochondria in health and disease]. Moscow: Izd-vo Universiteta druzhby narodov; 1989; 139 p.