

УДК 616.36-008.6-002-092:612.014.464

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ

М.Н. Ходосовский (асс., к.м.н.), В.В. Зинчук (проф., д.м.н.)

Гродненский государственный медицинский университет

Анализируются литературные и собственные экспериментальные данные, касающиеся механизмов развития реперфузионных повреждений печени. Рассматриваются патофизиологические аспекты возникновения некроза, воспалительной реакции, апоптоза, а также роль эндотелиальных и других NO-зависимых механизмов (сродство гемоглобина к кислороду, перекисное окисление липидов, факторы антиоксидантной защиты и др.) при данной патологии.

Ключевые слова: *печень, реперфузия, воспаление, активные формы кислорода, оксид азота.*

Literary and our own experimental data concerning the mechanisms of hepatic reperfusion injury development are analyzed. The pathophysiological aspects of necrosis, inflammatory reactions, apoptosis as well as a role of endothelial and other NO-dependent mechanisms (hemoglobin-oxygen affinity, lipid peroxidation, factors of antioxidant defense) in this pathology are considered.

Key words: *liver, reperfusion, inflammation, active oxygen types, nitric oxide.*

Изучение патофизиологических механизмов повреждений, возникающих при реперфузии органов, является актуальной задачей современной медицины. Знание закономерностей развития реперфузионных повреждений необходимо для таких областей медицины, как общая и сосудистая хирургия, травматология, трансплантология, кардиология и др. Ишемия-реперфузия печени часто встречается в клинической практике при травмах, резекциях, трансплантации этого органа, геморрагическом шоке с последующим возмещением кровопотери [6, 32]. Механизмы нарушений в печени, близкие по патогенезу к реоксигенационным, могут наблюдаться при турникетном шоке [47]. Кроме этого, феномен ишемии-реперфузии печени может привести к повреждению и дисфункции других органов [39, 48].

Патофизиологические механизмы реперфузионных повреждений печени интенсивно изучаются в последнее время. В развитии данной патологии показана роль воспаления, апоптоза, нарушений микроциркуляции и т.д. [23, 28, 32, 35]. При ишемии-реперфузии печени установлено нарушение баланса между генерацией активных форм кислорода и факторами антиоксидантной защиты, т.е. прооксидантно-антиоксидантного состояния [2]. Возникающий в процессе ишемии-реперфузии дисбаланс между потребностью ткани в кислороде и его доставкой создаёт условия для усиленного образования свободных радикалов и активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), ведущих, в конечном счёте, к повреждению клеточных и субклеточных мембранных структур [8, 51]. Методы временной остановки кровотока в печени широко используются с целью уменьшения кровопотери при хирургических вмешательствах [13]. Вместе с тем этот орган высокочувствителен к дефициту кислорода. Даже ишемия отдельного

участка печени может привести к дисфункции органа в целом [37]. Представляется важным рассмотреть известные механизмы данного рода нарушений в печени, многие из которых остаются пока недостаточно ясными.

Некроз и воспалительные реакции в реперфузионном периоде

Повреждения, вызываемые ишемией, обычно связывают с некрозом. Коагуляционный некроз - это патологический процесс, характеризующийся клеточным лизисом и ведущий к очаговой деструкции тканей со значительной воспалительной реакцией [33]. Экспериментально доказано, что ишемия печени приводит к центрлобулярным некрозам, что является причиной высокой смертности у экспериментальных животных [4]. Клетки в центре долек находятся в худших условиях оксигенации, поэтому некротические изменения проявляются здесь раньше, чем в других участках [34]. Дефицит кислорода приводит к компенсаторному переходу тканей на анаэробный гликолиз, энергетическая эффективность которого составляет около 6% от аэробного [22]. Продуктами анаэробного гликолиза являются молочная и пировиноградная кислоты, что приводит к развитию метаболического ацидоза. В свою очередь, избыток ионов водорода может тормозить гликолиз. Когда клетки не могут поддерживать адекватную минимальным потребностям продукцию аденозин-5'-трифосфата (АТФ) с помощью анаэробного гликолиза, в них компенсаторно усиливается распад имеющейся АТФ с накоплением гипоксантина. Это ведет к снижению макроэргических фосфатных соединений и невозможности поддержания внутриклеточных ионных концентраций. Нарушение функционирования АТФ-зависимого Na^+/K^+ -насоса приводит к деполаризации клеточных мембран, что приводит к усилению потока Na^+ и Ca^{2+} внутрь клеток и

развитию цитотоксического отёка. Морфологически обнаруживается гидропическая дистрофия, крайнее проявление которой – баллонная – является стадией колликвационного некроза [8].

Некротические изменения в органе наступают при продолжительности гипоксии, превышающей критический период. Продолжительность последнего для различных органов неодинакова и зависит от чувствительности тканей к дефициту O_2 . Ишемические повреждения в печени человека определяются уже после 30 минут её ишемии [11]. Критический период для этого органа составляет около 60 минут [1]. 75 минут полной ишемии печени у мышей приводят к летальному исходу [49]. Если период ишемии был меньше 60 минут, то гепатоциты теоретически способны восстановить свою функцию, однако реализация восстановительных процессов во многом зависит как от условий ишемии, так и от условий реперфузии. Тяжесть реперфузионных повреждений зависит от продолжительности, полноты и температурных условий протекания ишемии, так как многие предпосылки развития этих повреждений, например: накопление гипоксантина, конверсия ксантиндегидрогеназы (КД) в ксантинооксидазу (КО), активация клеток Купфера, эндотелиоцитов и т.д. [1, 32], – формируются во время ишемии. Тем не менее, именно поступление в орган кислорода и усиление генерации активных форм кислорода (АФК) инициирует в печени весь комплекс патологических процессов, приводящих в конечном итоге к дисфункции и даже гибели клеток при реперфузии [43]. Установлено, что при реперфузии печени активация процессов перекисного окисления липидов и снижение содержания ряда антиоксидантов сопровождается уменьшением сродства гемоглобина к кислороду, что предполагает участие последнего в нарушении прооксидантно-антиоксидантного баланса [2].

Как было указано выше, некроз и сопровождающее его воспаление в печени при реперфузии преобладают в центральных участках долек. Однако непосредственно коагуляционный некроз развивается при продолжительности ишемии выше критического времени (около 60 минут) при температуре 37°C , тогда как воспалительная реакция наблюдается при менее длительных сроках ишемии органа и является составным компонентом реперфузионного повреждения [23]. Центральную роль в этом процессе играют купферовские клетки, нейтрофилы и эндотелий [16, 32].

Купферовские клетки. Звёздчатые макрофагоциты печени (клетки Купфера) играют важную роль в повреждениях органа при реперфузии [16, 37]. Активация этих клеток при частичной ишемии печени происходит вначале в ишемизированных, а затем в неишемизированных участках органа, что может стать причиной дисфункции целого органа в случае даже частичной его ишемии, которая ча-

сто наблюдается при выполнении оперативных вмешательств в гепатобиллиарной области [37]. Купферовские клетки являются одним из компонентов окислительного стресса в сосудах печени и идентифицированы в качестве важного источника АФК в начальной фазе реперфузионного повреждения *in vivo* [16, 43].

Клетки Купфера, активируясь при ишемии-реперфузии, вырабатывают АФК, цитокины и протеазы, которые могут изменять активность редокс-чувствительных факторов транскрипции (ядерный фактор κB (NF κB), активаторный белок (AP-1) и тем самым осуществлять регуляцию провоспалительных генов в эндотелиоцитах и гепатоцитах [32]. Звёздчатые макрофагоциты печени при реперфузии являются важным источником цитокинов, таких как фактор некроза опухоли- α (α -TNF) и интерлейкин-1 (ИЛ-1) [23, 37]. Преобладающим эффектом этих первичных цитокинов является активация нейтрофилов и повышение продукции последними АФК [17]. Кроме того, α -TNF и фактор комплемента C_{3a} могут повышать синтез молекулы адгезии-1 из числа β_2 -интегринов (Mac-1), необходимой для опосредуемого нейтрофилами повреждения печени [23]. Считают, что α -TNF может вызывать гибель гепатоцитов при реперфузии механизмами некроза и/или апоптоза [12]. Следует отметить, что различные причины тепловой ишемии печени приводят к неравнозначной активации клеток Купфера. Так, спустя 90 минут после выхода из геморрагического шока продолжительностью 60 или 120 минут у крыс не наблюдалось усиления продукции данными клетками АФК [24]. Однако такие же периоды ишемии-реперфузии, вызванные временной окклюзией сосудов печени, приводили к накоплению окисленного глутатиона в плазме крови и значительному повышению генерации купферовскими клетками супероксидного аниона ($O_2^{\cdot-}$). Повышение уровня цитокинов и АФК приводит к накоплению нейтрофилов в синусоидах [32].

Нейтрофилы. Предполагается, что накопление нейтрофилов в синусоидах печени и развитие опосредуемого ими окислительного стресса происходит через 6 – 24 ч после начала реперфузии [23, 50]. Более поздняя реакция нейтрофилов при реперфузии объясняется множеством требуемых этапов для этого механизма. Для того, чтобы нейтрофил повредил гепатоцит, должны выработаться медиаторы, усиливающие миграцию в печень, повыситься уровень молекул адгезии и образоваться хемоаттрактанты, вызывающие трансмиграцию нейтрофилов и прилипание их к клеткам паренхимы [32]. Однако, используя прижизненную микроскопию и количественный анализ поведения лейкоцитов и повреждения клеток в печени, определили, что адгезия нейтрофилов быстро возрастала в течение первых 60 минут реперфузии, а их накопление в синусоидах происходило между 60 и 180

минутами постишемического периода [44]. Гистологические данные (атрофия и дегенерация гепатоцитов, а также число погибших клеток на микрофлюорографических снимках) коррелировали со степенью накопления нейтрофилов в синусоидах. Как видим, нет полной ясности относительно точного времени начала повреждений печени, опосредуемых нейтрофилами, при реперфузии.

К медиаторам, вызывающим накопление нейтрофилов в синусоидах печени относятся: фактор комплемента C_{5a} , α -TNF, интерлейкин-1 (ИЛ-1), тромбоцитарный активизирующий фактор (ТАФ) и хемоаттрактанты класса С-Х-С [23, 32, 43, 44]. Ингибирование системы комплемента способствует улучшению микроциркуляции в печени при реперфузии [31]. Известно, что ТАФ может участвовать в регуляции продукции цитокинов и активации нейтрофилов [50]. Авторы установили, что ТАФ стимулирует продукцию АФК ксантиноксидазой и способствует накоплению нейтрофилов именно в участках синусоидов, расположенных в центре печеночных долек. Использование специфического ингибитора ТАФ WEB 2170 оказывало такое же защитное действие на печень при реперфузии, как и лейкопения, индуцированная винбластином. Выше было сказано, что продукция этих медиаторов может регулироваться купферовскими клетками через продукцию АФК. ИЛ-1 и α -TNF могут стимулировать экспрессию молекул адгезии в эндотелиальных клетках, а также активировать нейтрофилы [44]. При ишемии-реперфузии печени среди молекул адгезии в патогенезе цитотоксического эффекта, связанного с АФК, большое значение имеет Mac-1 [23].

В адгезии нейтрофилов к эндотелию участвуют селектины, β_4 -интегрины, γ -интерферон, молекулы межклеточной адгезии-1 (ICAM-1) и молекулы адгезии сосудистых клеток (VCAM) [23, 30]. По другим данным, накопление нейтрофилов в синусоидах при реперфузии печени может быть обусловлено механическими факторами [14]. К ним относятся набухание и повреждение эндотелиальных клеток в синусоидах, повышенная выработка вазоконстрикторов и сниженная деформируемость подвергшихся воздействию провоспалительными медиаторами нейтрофилов. По-видимому, при реперфузии в печени адгезия нейтрофилов обусловлена комплексом механических и химических факторов.

Для продвижения лейкоцитов в паренхиму печени необходим градиент хемотоксических факторов. Роль хемоаттрактантов, обеспечивающих хемотаксический градиент, при ишемии-реперфузии печени могут выполнять ТАФ, лейкотриен B_4 , а также продукты ПОЛ – особенно в позднюю фазу реперфузионного периода, когда провоспалительные медиаторы истощаются [17, 38]. Завершившие трансмиграцию нейтрофилы вызывают мест-

ную деструкцию, высвобождая АФК, протеолитические ферменты (коллагеназу, эластазу, катепсин G) и пероксидазу [27, 32]. Использование перед оперативными вмешательствами на печени синтетического ингибитора протеаз (мезилят габексата) оказывает защитный эффект на гепатоциты, уменьшая количество постоперационных осложнений, связанных с синдромом ишемии-реперфузии [27]. При взаимодействии миелопероксидазы и перекиси водорода (H_2O_2) нейтрофилов могут образовываться чрезвычайно цитотоксичные синглетный кислород (1O_2), гидроксильный радикал (OH^*) и гипохлорная кислота ($HOCl$) [17]. Продукцируемые нейтрофилами АФК, такие как O_2^{*-} , могут вызывать интенсификацию процессов ПОЛ в печени при реперфузии.

Роль механизмов апоптогической гибели клеток в развитии реперфузионных повреждений печени

В последнее время широко обсуждается механизм «программируемой» гибели клеток в печени при реперфузии – апоптоз [18, 20, 28, 41]. Апоптоз, или «самоубийство клеток», – это жестко регулируемый, энергетически зависимый процесс, сопровождающийся активацией синтеза эндонуклеаз *de novo*, приводящей к расщеплению дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК) на множество фрагментов размером 180-200 пар оснований (bp) [18]. Апоптозные клетки морфологически характеризуются вакуолизацией цитоплазмы, ядерной и цитоплазматической конденсацией и последующим разрывом ядерной мембраны и формированием множественных фрагментов конденсированного ядерного материала в цитоплазме (апоптозные тельца). Митохондрии при этом повреждаются в меньшей степени. Апоптоз обычно встречается в отдельных клетках и служит физиологическим механизмом удаления старых, поврежденных или аномальных клеток. Апоптозные клетки поглощаются макрофагами без высвобождения протеолитических ферментов и сопутствующего воспаления [18].

Известно, что апоптоз является первичным механизмом гибели клеток при различных патологических состояниях [45]. Экспериментально подтвержден факт участия апоптоза в патогенезе реперфузионных повреждений печени [28, 41]. Ключевым индуктором апоптоза при реперфузии печени идентифицировано семейство нелизосомальных цитоплазматических Ca^{2+} -зависимых протеаз [18, 49]. Установлено, что АФК могут быть индукторами апоптоза [9].

Впервые термин «апоптоз» для описания гибели некоторых гепатоцитов в ишемизированной печени был применен в 1972 году [26]. В центральной зоне полной ишемии клетки гибли от коагуляционного некроза, процесс сопровождался набуханием и лизисом. Однако на периферии ишемичес-

кой зоны морфология была совершенно иной: в клетках происходила конденсация ядерного материала с последующей гибелью гепатоцитов. Ретроспективно можно предположить, что эти клетки подвергались максимальному окислительному стрессу, т.е. когда поврежденные гепатоциты еще оксигенировались, образование в них АФК могло быть очень высоким. Исследования последних лет подтверждают патогенетическую роль апоптоза как механизма гибели клеток печени при реперфузии [18, 28]. Установлена апоптотическая гибель клеток в перипортальных областях в раннем периоде реперфузии, которая распространялась затем на среднедольковые участки [41]. Авторы указывают на потенциальную роль АФК и окислительного стресса, которые могут инициировать механизмы апоптоза. В другой работе [28] на модели 30-ти и 60-ти минутной 70% ишемии печени крыс с последующей реперфузией в течение 24 часов установлено, что апоптозу подвергаются как эндотелиальные клетки синусоидов, так и гепатоциты. В эндотелиальных клетках синусоидов программируемая гибель клеток проявляется раньше, чем в гепатоцитах, но только после начала реперфузии, а не во время ишемии. Апоптоз становится также более значительным с увеличением времени реперфузии и при более длительных сроках ишемии. Так, количество подвергавшихся апоптозу эндотелиальных клеток синусоидов и гепатоцитов после 60 минут ишемии составило через 60 минут реперфузии 22% и 2%, а через 24 часа реперфузии – 53% и 48% соответственно [28]. Развитие апоптоза гепатоцитов при ишемии-реперфузии печени наблюдается одновременно с инфильтрацией в паренхиму органа нейтрофилов [42]. Индуцировать механизмы апоптоза в печени при реперфузии может α -TNF [40].

В работе [25] исследовали топографию окислительного стресса *in situ* по конверсии нитросинего тетразолия в синий формазан на изолированной печени, которые подвергали 30 или 60 минутам ишемии. Авторы установили, что окислительному стрессу на 30-й минуте реперфузии подвергаются гепатоциты перипортальных участков. Затем, на 60-й минуте реперфузии, окислительный стресс распространялся на среднедольковые участки. Сравнивая топографию гибели клеток, определяемой *in situ* трипановым синим, со степенью окислительного стресса, установили, что гибель гепатоцитов при реперфузии совпадает с максимальной выраженностью окислительного стресса и располагается в перипортальных участках. Эндотелиальные клетки синусоидов подвергаются окислительному стрессу преимущественно в центральнобулярных и среднедольковых отделах на 12-й минуте реперфузии, а их гибель на 30-й минуте реперфузии в перипортальной зоне и среднедоль-

ковых отделах выражена слабо [25]. Интересно отметить, что использование аллопуринола как ингибитора КО в данной работе уменьшало окислительный стресс и гибель гепатоцитов в перипортальных регионах. Установлено, что количество эндотелиальных клеток и гепатоцитов, подвергшихся апоптотическим изменениям после выполнения гепатэктомии, было значительно меньшим у пациентов, которым перед окклюзией афферентных сосудов проводили прекондиционирование [15]. Накопленный материал свидетельствует в пользу высказанной гипотезы McCord J.M. [34] о том, что окислительный стресс может инициировать в клетке механизмы программируемой гибели. Локализация клеток, подвергшихся апоптозу, и окислительного стресса преимущественно в перипортальных областях указывает на кислородзависимый характер данного механизма гибели клеток печени при реперфузии.

Роль эндотелийзависимых механизмов в патогенезе реперфузионных повреждений печени

Эндотелий. Большое значение при ишемии-реперфузии печени имеет повреждение и дисфункция эндотелия [5, 14]. Эндотелиальные клетки регулируют тонус гладкомышечных клеток сосудов через высвобождение различных местных гормонов или аутокоидов. К ним относятся метаболиты арахидоновой кислоты (например, простагландин, тромбоксан A_2 (ThA_2) и лейкотриен B_4), вырабатываемый эндотелием релаксирующий фактор, идентифицированный как оксид азота (NO) и семейство эндотелинов [19, 46]. Другими регулирующими факторами эндотелиоцитов, участвующими в патогенезе реперфузионных повреждений, является ТАФ, комплемент, эндотелиальный фактор роста, фактор роста тромбоцитов-B и ИЛ-6 [5]. Эндотелиальные клетки также модифицируют воспалительный ответ, регулируя экспрессию молекул адгезии (ICAM-1, ICAM-2 и др.) [19]. Показано, что эндотелий синусоидов более чувствителен к действию АФК, чем гепатоциты, предположительно, вследствие недостаточной активности ферментов антиоксидантной системы (супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатионпероксидаза) при ишемии-реперфузии печени [21].

Микроциркуляторная недостаточность (феномен no-reflow). Феномен *no-reflow* (или явление отсутствия возобновления кровотока в органе после ишемии) является парадоксальным ответом микроциркуляторного русла ишемизированной ткани на восстановление кислородного снабжения. Среди факторов, участвующих в развитии феномена *no-reflow*, определенное значение имеет отек эндотелия и интерстициальной ткани, усиленное образование тканевого тромбoplastина в эндотелии, отложение фибрина, адгезия лейкоцитов и

тромбоцитов к эндотелию [23, 35]. Большое значение в механизме этой патологической реакции, по-видимому, имеет вазоконстрикция [46]. Под действием окислительного стресса при ишемии-реперфузии в эндотелиоцитах нарушается сбалансированная выработка вазоконстрикторов и вазодилататоров. С одной стороны, повышение тонуса сосудов увеличивает перфузионное давление в ишемизированном органе и может рассматриваться как компенсаторный механизм [5]. С другой, вазоконстрикция может привести к остановке кровотока в сосудах микроциркуляторного русла. В результате в реперфузионном периоде клетки продолжают находиться в условиях гипоксии, что может способствовать переходу обратимых повреждений в необратимые.

Патогенез феномена *no-reflow* в печени имеет свои особенности, так как даже после неполной ишемии вазоконстрикторная реакция со стороны мелких резистивных артерий и сфинктеров синусоидов может сопровождаться сужением просвета мелких печеночных вен с образованием как "блока притока", так и "блока оттока", превращая орган при ряде генерализованных постишемических расстройств (например, ишемический шок) в депо крови [1]. Предполагают, что развитие данного парадокса в синусоидах печени, где наблюдается стаз, может быть связано с отеком эндотелия и агрегацией форменных элементов крови внутри мелких сосудов [35]. Поскольку нейтрофилы накапливаются именно здесь, первоначально патогенез этого феномена в печени связывали с закупоркой ими синусоидов. Однако было установлено, что во время реперфузии *in vivo* в большинстве содержащих нейтрофилы синусоидах кровоток сохраняется, т.е. прохождение клеток через них замедляется, но не блокируется [23]. Установлено, что развитие феномена *no-reflow* при ишемии-реперфузии печени может быть обусловлено влиянием O_2^* [29]. Внутривенное введение продолжительно действующей формы СОД во время реперфузии значительно снижало микроциркуляторный стаз в синусоидах печени с одновременным уменьшением некротических изменений. Предполагают, что основой патогенеза феномена *no-reflow* при реперфузии является повреждение эндотелия и дисбаланс между продукцией этими клетками эндотелина-1 и NO [43, 46].

В последнее время среди различных АФК особое место отводят NO. NO синтезируется из аминокислоты L-аргинина под влиянием фермента NO-синтазы в присутствии восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ*Н), кальмодулина, тетрагидробиоптерина и некоторых флавиновых кофакторов (L-аргинин-NO система) [3, 36]. По своей природе это свободнорадикальная молекула, способная при взаимодействии с O_2^*

образовывать пероксинитрит [10]. Последний может оказывать прямое цитотоксическое действие на ткани, а также стать источником других АФК:

Возможно образование повышенных концентраций пероксинитрита в непосредственной близости от НАДФ*Н-оксидазы, присутствующей в эндотелиоцитах и гладкомышечных клетках сосудов [5]. В печени повреждающие эффекты NO связывают с активацией индуцибельной изоформы NO-синтазы [6]. Последняя может экспрессироваться почти во всех клетках печени, но особое значение при ишемии-реперфузии отводится клеткам Купфера, гепатоцитам, а также мигрировавшим нейтрофилам. Однако есть сведения о положительном влиянии L-аргинина при ишемии-реперфузии печени [43]. Учитывая неоднозначную роль L-аргинин-NO системы в патогенезе реперфузионных повреждений печени, нами проводилась коррекция L-аргинин-NO системы при ишемии-реперфузии печени у кроликов путем инфузии ингибитора NO-синтазы и L-аргинина [7]. Установлено, что инфузия L-аргинина перед началом реперфузионного периода способствовала уменьшению нарушений прооксидантно-антиоксидантного состояния и нормализации активности аланин- и аспартатаминотрансфераз в крови. Ингибирование NO синтазы перед началом ишемии таким эффектом не обладает.

Таким образом, восстановление кислородного снабжения в органе после ишемического периода является основной и неизбежной причиной развития реперфузионных повреждений печени. Развитие данного рода нарушений в органе может быть результатом сложного взаимодействия различных патофизиологических механизмов, включающих некроз и воспаление, микроциркуляторную недостаточность (феномен *no-reflow*) и апоптоз. Все выше перечисленные механизмы прямо или косвенно связаны с увеличением продукции АФК и недостаточностью механизмов их обезвреживания, т.е. с нарушением прооксидантно-антиоксидантного равновесия при данной патологии.

Литература:

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. - М.: Медицина, 1989. - 267 с.
2. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н., Дремза И.К. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при реперфузии печени // Пат физиол. эксперим. терапия. - 2002. - № 4. - С. 8-11.
3. Марков Х.М. Оксид азота и сердечно-сосудистая система // Успехи физиол. наук - 2001 - Т. 32, № 3. - С. 49-65.
4. Маслаков Д.А. Влияние полиглобулина на выживаемость животных после прекращения артериального кровоснабжения печени // Патол. физиология и эксперим. терапия. - 1973. - № 1. - С. 78.
5. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Функциональное состояние эндотелия при ишемии-реперфузии // Росс. физиол. журн. им. Сеченова - 2000. - Т.86, №2. - С. 148-163.
6. Тэйлор Б.С., Аларсон Л.Х., Биллиар Т.Р. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции // Биохимия - 1998. - №7. - С. 905-923.
7. Ходосовский М.Н., Зинчук В.В. Участие L-аргинин-NO системы в развитии реперфузионных повреждений печени // Эксперим. и клиническая фармакол. - 2003. - Т.66, №3. - С.39-43.
8. Ходосовский М.Н., Лис Р.Е., Зинчук В.В. Морфофункциональ-

- ное состояние при ишемии-реперфузии печени // Вестн НАН Беларуси. Сер. мед. – биол. наук. - 2003. - № 1. - С. 17-20.
9. Generation of free radicals during lipid hydroperoxide-triggered apoptosis in PC12h cells // Aoshima H., Satoh T., Sakai N., et al. *Biochim. Biophys. Acta.* - 1997. - Vol. 1345, № 1. - P. 35-42.
 10. Kinetics of superoxide dismutase- and iron-catalyzed nitration of phenolics by peroxyxynitrite // Beckman J.S., Ischiropoulos H., Zhu L. et al. *Arch. Biochem. Biophys.* - 1992. - Vol. 298, № 2. - P. 438-445.
 11. Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection: a controlled study // Belghiti J., Noun R., Malafosse R., et al. *Ann Surg.* - 1999. - Vol. 229, № 3. - P. 369-375.
 12. Role of anti-tumor necrosis factor-alpha in ischemia/reperfusion injury in isolated rat liver in a blood-free environment // Ben A.Z., Hochhauser E., Burstein I. et al. *Transplantation* - 2002 - Vol. 73, № 12. - P. 1875-1880.
 13. Brancatisano R., Isla A., Habib N. Is radical hepatic surgery safe? // *Am. J. Surg.* - 1998 - Vol. 175, №2. - P. 161-163.
 14. Clavien P.A. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion // *Hepatology.* - 1998. - Vol. 28, № 2. - P. 281-285.
 15. Protective effects of ischemic preconditioning for liver resection performed under inflow occlusion in humans // Clavien P.A., Yadav S., Sindram D. et al. *Ann. Surg.* - 2000. - Vol. 232, № 2. - P.155-162.
 16. Cutrin J.C., Llesuy S., Boveris A. Primary role of Kupffer cell-hepatocyte communication in the expression of oxidative stress in the postischemic liver // *Cell Biochem. Function* - 1998. - Vol. 16, № 1 - P. 65-72.
 17. In situ determination by surface chemiluminescence of temporal relationships between evolving warm ischemia-reperfusion injury in rat liver and phagocyte activation and recruitment // Cutrin J.C., Boveris A., Zingaro B. et al. *Hepatology.* - 2000 - Vol. 31, № 3 - P. 622-632.
 18. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation // Gao W., Bentley R.C., Madden J.F. et al. *Hepatology.* - 1998. - Vol. 27, № 6. - P. 1652-1660.
 19. Grace P.A. Ischaemia-reperfusion injury // *Br. J. Surg.* - 1994. - Vol. 81, № 5 - P. 637-647.
 20. Gujral J.S., Bucci T.J., Farhood A. Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? // *Gujral J.S., Bucci T.J., Farhood A., Jaeschke H. Hepatology.* - 2001 - Vol. 33, № 2. - P. 397-405.
 21. Deleterious effects of xanthine oxidase on rat liver endothelial cells after ischemia/reperfusion // Hamer I, Wattiaux R, Wattiaux D., Coninck S. *Biochim Biophys. Acta.* - 1995 - Vol. 1269, № 2 - P. 145-152.
 22. Hammerman C., Kaplan M. Ischemia and reperfusion injury. The ultimate pathophysiologic paradox // *Clin. Perinatol.* - 1998. - Vol. 25, № 3. - P. 757-777.
 23. Jaeschke H. Mechanisms of reperfusion injury after warm ischemia of the liver // *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* - 1998. - Vol. 5, № 4 - P. 402-408.
 24. Jaeschke H., Farhood A. Kupffer cell activation after no-flow ischemia versus hemorrhagic shock // *Free Radic. Biol. Med.* - 2002 - Vol. 33, № 2. - P. 210-219.
 25. Kato Y., Tanaka J., Koyama K. Intralobular heterogeneity of oxidative stress and cell death in ischemia-reperfused rat liver // *J. Surg. Res.* - 2001. - Vol. 95, № 2. - P. 99-106.
 26. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics // *Br. J. Cancer.* - 1972. - Vol. 26, № 4 - P. 239-257.
 27. Hepatocyte protection by a protease inhibitor against ischemia/reperfusion injury of human liver // Kim Y.L., Hwang Y.J., Song K.E. et al. *J. Am. Coll. Surg.* - 2002. - Vol. 195, № 1. - P. 41-50.
 28. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver // Kohli V., Selzner M., Madden J. F. et al. *Transplantation* - 1999 - Vol. 67, № 8. - P. 1099-1105.
 29. Contribution of no-reflow phenomenon to hepatic injury after ischemia-reperfusion: evidence for a role for superoxide anion // Koo A., Komatsu H., Tao G. et al. *Hepatology* - 1992. - Vol. 15, № 3 - P. 507-514.
 30. Kubes P., Payne D., Woodman R.C. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in posts ischemic liver microcirculation // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* - 2002 - Vol. 283, № 1. - P. G139-G147.
 31. Impact of inhibition of complement by sCRI on hepatic microcirculation after warm ischemia // Lehmann T.G., Koepfel T.A., Munch S. et al. *Microvasc. Res.* - 2001. - Vol. 62, № 3. - P. 284-292.
 32. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury // Lentsch A.B., Kato A., Yoshidome H. et al. *Hepatology.* - 2000. - Vol. 32, № 2. - P. 169-173.
 33. Majno G., Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death // *Am. J. Pathol.* - 1995. - Vol. 146, № 1. - P. 3-15.
 34. McCord J.M. Superoxide radical: controversies, contradictions, and paradoxes // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* - 1995. - Vol. 209, № 2. - P. 112-117.
 35. Role of microcirculation in hepatic ischemia/reperfusion injury // Menger M.D., Richter S., Yamauchi J., Vollmar B. *Hepatogastroenterology.* - 1999. - Vol. 46, № 2. - P. 1452-1457.
 36. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: Physiology, Pathophysiology and pharmacology // *Pharmacol. Rev.* - 1991. - Vol. 44, № 2. - P. 109-142.
 37. Kupffer cell function in ischemic and nonischemic livers after hepatic partial ischemia/reperfusion // Nakamitsu A., Hiyama E., Imamura Y. et al. *Surg. Today.* - 2001. - Vol. 31, № 2. - P. 140-148.
 38. Polyethylene glycol-superoxide dismutase inhibits lipid peroxidation in hepatic ischemia/reperfusion injury // Nguyen W.D., Kim D.H., Alam H.B. et al. *Crit. Care.* - 1999. - Vol. 3, № 5. - P. 127-130.
 39. Xanthine oxidase mediates myocardial injury after hepatoenteric ischemia-reperfusion // Nielsen V.G., Tan S., Baird M.S. et al. *Crit. Care Med.* - 1997 - Vol. 25, № 6. - P. 1044-1050.
 40. Rudiger H.A., Clavien P.A. Tumor necrosis factor alpha, but not Fas, mediates hepatocellular apoptosis in the murine ischemic liver // *Gastroenterology.* - 2002 - Vol. 122, № 1. - P. 202-210.
 41. Activation of apoptosis during the reperfusion phase after rat liver ischemia // Sasaki H., Matsuno T., Tanaka N., Orita K. *Transplant. Proc.* - 1996. - Vol. 28, № 3. - P. 1908-1909.
 42. Cyclosporin A pretreatment in a rat model of warm ischaemia/reperfusion injury // Saxton N.E., Barclay J.L., Clouston A.D., Fawcett J. J. *Hepatology* - 2002. - Vol. 36, № 2. - P. 241-247.
 43. Serracino-Inglott F., Habib N.A., Mathic R.T. Hepatic ischemia-reperfusion injury // *Am. J. Surg.* - 2001. - Vol. 181, № 2. - P. 160-166.
 44. Interleukin-1 receptor blockade attenuates oxygen-derived free radical production and microcirculatory disturbances in ischemia/reperfusion injury in the liver // Shirasugi N., Wakabayashi G., Shimazu M. et al. *Transplant. Proc.* - 1997 - Vol. 29, № 1-2. - P. 371-373.
 45. Thompson C.B. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease // *Science* - 1995. - Vol. 267, № 5203. - P. 1456-1462.
 46. Uhlmann D., Uhlmann S., Spiegel H.U. Endothelin/nitric oxide balance influences hepatic ischemia-reperfusion injury // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* - 2000. - Vol. 36, № 5. - P. S212-S214.
 47. Inhibition of nitric oxide synthesis aggravates hepatic oxidative stress and enhances superoxide dismutase inactivation in rats subjected to tourniquet shock // Vega V.L., Maldonado M., Mardones L. et al. *Shock.* - 1998. - Vol. 9, № 5. - P. 320-328.
 48. Multiple organ dysfunction after remote circulatory arrest: common pathway of radical oxygen species? // Weinbroum A.A., Hochhauser E., Rudick V. et al. *J. Trauma.* - 1999. - Vol. 47, № 4. - P. 691-698.
 49. Ischemic preconditioning protects the mouse liver by inhibition of apoptosis through a caspase-dependent pathway // Yadav S.S., Sindram D., Perry D.K., Clavien P.A. *Hepatology.* - 1999. - Vol. 30, № 5. - P. 1223-1231.
 50. Interaction of platelet activating factor, reactive oxygen species generated by xanthine oxidase, and leukocytes in the generation of hepatic injury after shock/resuscitation // Yamakawa Y., Takano M., Patel M. et al. *Ann. Surg.* - 2000. - Vol. 231, № 3. - P. 387-398.
 51. Zinchuk V.V., Khodosovsky M.N., Maslakov D.A. Influence of different oxygen modes on the blood oxygen transport and prooxidant-antioxidant status during hepatic ischemia/reperfusion // *Physiol. Res.* - 2003. - Vol. 52, № 5. - P. 533-544.

Resume

MECHANISMS OF HEPATIC REPERFUSION INJURY DEVELOPMENT

M.N. Khodosovsky, V.V. Zinchuk

The Grodno State Medical University

We analyzed the mechanisms of reperfusion injury development in the liver. Many pathophysiological pathways can lead to hepatic damage after the reperfusion. The most important of such pathways are necrosis, inflammation, apoptosis and endothelial damaging. All these mechanisms are directly or indirectly related to pro-antioxidant disbalance.