

Реперфузионное повреждение и феномен «no reflow», роль супероксидного аниона и пероксинитрита

Лыско А.И., Дудченко А.М.

Институт общей патологии и патофизиологии Российской Академии наук

В представленном кратком обзоре мы попытались привлечь внимание к недооцененной роли супероксидного аниона в явлении «no reflow» и реперфузионном повреждении. Под последним подразумевается такое повреждение ткани, которое имеет место после того как кровоснабжение ткани уже восстановлено и когда период ишемии и недостаточной подачи кислорода закончился. После окончания периода ишемии наблюдается резкое возрастание концентрации супероксидного аниона. Супероксид является крайне активным радикалом, он образуется при одноэлектронном восстановлении молекулы кислорода. Супероксидный анион с очень высокой скоростью взаимодействует с окисью азота (NO). Присутствующая супероксид-дисмутаза в данной ситуации не может конкурировать за супероксидный анион. В результате чего в системе происходит резкое падение концентрации NO, этого важнейшего вазодилататора, что приводит к вазоконстрикции. Кроме того, в результате реакции супероксидного аниона с окисью азота образуется пероксинитрит (ONOON), который является короткоживущим, но мощным оксидантом, вызывающим гибель клеток. Указывается на возможный фармакологический подход, позволяющий ингибировать образование пероксинитрита и осуществлять его безопасное разложение.

Ключевые слова: ишемия, гипоксия, реперфузия, реперфузионное повреждение, «no reflow», супероксидный анион, пероксинитрит, атеросклеротическая бляшка

Термин *реперфузионное повреждение* означает, что повреждение ткани наступает уже после восстановления кровообращения (постишемической реоксигенации) в органе по истечении более 10-минутного периода ишемии. То есть это происходит даже после успешной реализации тромболитических мероприятий.

При реперфузии (полное или частичное восстановление кровотока в ишемизированной зоне органа) отмечается явление реперфузионного повреждения, одним из проявлений которого в ишемизированной зоне является феномен невосстановления кровотока или «no reflow».

Феномен «no reflow» (микроваскулярная обструкция) проявляется в период постишемической реоксигенации, когда на результаты, сложившиеся в период ишемии (аноксии), накладываются факторы, действующие в последующий период относительной гипероксии (реоксигенации). В период реоксигенации клетки и ткани органов испытывают оксидативный стресс.

Феномен «no reflow» означает отсутствие дистальной реперфузии миокарда (или другого органа), несмотря на успешную реканализацию окклюзированной артерии. За нарушение кровотока отвечают как механические, так и функциональные факторы. Механические факторы включают в себя обструкцию просвета сгустками нейтрофилов и атеротромботическими эмболами, тромбоцитами, а также отек эндотелиальных клеток и внешнее сдавливание венечных артерий, вызванное ишемией и кровоизлиянием. Явление «no reflow» наблюдается как в условиях эксперимента, так и в клинике.

Феномен специфичен не только для коронарных сосудов, он может наблюдаться на уровне любых других органов и тканей, в том числе в системе кровоснабжения головного мозга. Сам термин «no reflow» был предложен Majno et al. [26], которые исследовали процесс восстановления кровоснабжения мозга после церебральной ишемии.

Реперфузионное повреждение является также серьезной проблемой при трансплантации (аллотранспланта-

ции) печени [6, 12, 13, 17, 24]. Гепатоциты и синусоидальные эндотелиальные клетки (СЭК) печени начинают погибать уже в самом начале процесса реперфузии [13, 24]. И, как было показано на различных моделях [11, 15, 26], степень гибели СЭК является критическим фактором приживания пересаженной ткани.

Реперфузионное повреждение является также одной из принципиальных проблем при рансплантации легких [9] и почек [7].

При реперфузии имеет место значительное повреждение мембран эндотелиальных клеток, тромбоцитов, лейкоцитов и других клеток крови. Активированные нейтрофилы генерируют супероксид, который, если не взаимодействует с NO, дисмутирует с образованием перекиси водорода. Миелопероксидаза нейтрофилов превращает перекись водорода в молекулу хлорноватистой кислоты, которая, взаимодействуя с супероксидом, вызывает образование гидроксильных радикалов. Процесс агрегации эритроцитов у выхода из капилляров заставляет лейкоциты взаимодействовать с эндотелиальными клетками, в результате чего увеличивается адгезия лейкоцитов [33]. Причем адгезия лейкоцитов (и реперфузионное повреждение) оказывается выражена в более значительной степени у животных старшего возраста [38].

Немаловажную роль в явлении «no reflow» играют эйкозаноиды, образующиеся из арахидоновой кислоты (в особенности лейкотриены), значительно увеличивающие адгезию лейкоцитов и тромбоцитов к стенкам капилляров, приводя к закупориванию их. Кроме того, супероксид и сам по себе увеличивает адгезию лейкоцитов к стенкам капилляров [21]. Происходящее истощение по АТФ значительно снижает способность эритроцитов к вынужденной деформации [43]. Все указанные явления приобретают особое значение при реперфузии, способствуя блокированию капилляров и развитию феномена «no reflow».

Кроме того, нередко в качестве основной причины явления «no reflow» называется тромботическая коронарная

окклюзия, происходящая в результате отрыва нестабильной атеросклеротической бляшки [14].

Изучение феномена началось в конце 60-х — начале 70-х годов прошлого века. Этот эффект наблюдался в экспериментальных исследованиях на головном мозге, почках, коже, а затем и на миокарде.

Клонер Р. и соавт. [22] на собаках показали, что явление «no reflow» возникает после продолжительной окклюзии (90 мин) и последующей реперфузии коронарной артерии. Причем, в последнем случае перевязке подвергались не измененные атеросклерозом коронарные артерии, поэтому полученные результаты не могут быть объяснены результатами тромботической коронарной окклюзии в результате отрыва атеросклеротической бляшки. Продукты тромболитических мероприятий, которые нередко указываются в качестве главной причины «no reflow», в данном случае отсутствовали.

Таким образом, несмотря на достаточно длительную историю исследований в указанной области, нельзя сказать, что достигнуто отчетливое понимание природы рассматриваемого явления.

Хотя представления о роли продуктов тромболитических мероприятий (атероматозных и тромботических масс, устремляющихся в более дистальные сосуды), судя по данным публикаций, стали каноническими объяснениями сути явления «no reflow», на наш взгляд, следует обратить особое внимание на недооцененную роль супероксидного аниона ($O_2^{\bullet-}$) самого по себе.

Наиболее значимый вклад в феномен «no reflow» вызывает появление ненормально высокой концентрации супероксида при реперфузии, который превращает почти весь имеющийся в наличии оксид азота в пероксинитрит. Это, во-первых, приводит к катастрофическому падению в капиллярной сети концентрации этого важнейшего вазодилатора, а, во-вторых, образующийся пероксинитрит рассматривается как агент, отвечающий за наибольшее повреждение эндотелиальных клеток капиллярной сети мозга [44].

При ишемии создаются условия для лавинообразного нарастания уровня супероксида при последующей реперфузии. Каким образом создаются эти условия?

При относительно продолжительной ишемии происходит нарушение работы калий-натриевого насоса, сопровождающееся увеличением поступления через клеточную мембрану натрия и кальция. АДФ распадается до адеинозина и затем — до инозина, гипоксантина и ксантина. В присутствии избыточного количества кальция и внутриклеточных протеолитических ферментов происходит превращение ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу. После чего при реперфузии, когда в ткани поступает богатая кислородом кровь, ксантиноксидаза катализирует реакцию взаимодействия гипоксантина и молекулы кислорода, в результате которой образуется мочевая кислота и супероксидный анион.

Кроме того, при относительно длительном периоде гипоксии (ишемии), когда в тканях или жидкостях неизбежно создается избыток восстановительных эквивалентов, в процессе реперфузии имеют место и другие процессы, вызывающие лавинообразную генерацию супероксидного аниона.

Изучению механизма образования супероксидного аниона в митохондриях было уделено достаточно внимания. В настоящее время полагают, что при обратном пе-

реносе электронов [10] супероксид образуется в процессе перехода электрона от сукцината через комплекс I на NAD^+ [42, 39].

Действительно, стандартный редокс-потенциал пары NAD^+/NAD^{\bullet} (-320 mv) достаточен, чтобы восстанавливать молекулярный кислород до $O_2^{\bullet-}$, по формуле (1):



В настоящее время в качестве главного источника образования супероксидного радикала в процессе реперфузии рассматриваются митохондрии, а не ксантиноксидаза [16].

Хотя сам по себе супероксидный анион-радикал $O_2^{\bullet-}$ не является сильным прооксидантом, пара ($O_2 / O_2^{\bullet-}$) имеет достаточно низкий стандартный редокс-потенциал ($E_0' = -330$ mv), поэтому анион $O_2^{\bullet-}$ легко отдает электрон. Но супероксидный анион в процессе реперфузии с большой скоростью взаимодействует с окисью азота [7].



В результате реакции двух свободных радикалов (2) образуется пероксинитрит, который сам по себе свободным радикалом не является, но оказывается прооксидантом, мощным фактором наблюдаемого реперфузионного повреждения. Пероксинитрит необратимо инактивирует не только супероксиддисмутазу (СОД), но и комплексы I и II дыхательной цепи митохондрий.

При этом особенно важно отметить, что в системе кровообращения в результате реакции (2) должно наступить резкое падение концентрации NO^{\bullet} (важнейшего физиологического вазодилатора), что, как следует ожидать, будет вызывать вазоконстрикцию, т.е. явление «no reflow». В пользу этого указывают, например, данные о интракоронарном введении нитропруссид натрия, оказавшегося эффективным для профилактики и устранения феномена «no reflow» [28]. Известно, что нитропруссид является источником NO^{\bullet} , который в норме активизирует гуанилатциклазу. При этом в гладкомышечных клетках сосудистой стенки увеличивается образование цГММ, вызывающего вазодилатацию. При падении концентрации NO^{\bullet} будет наблюдаться вазоконстрикция.

Если образование $O_2^{\bullet-}$ и NO^{\bullet} *in situ* происходит на достаточно близком друг от друга расстоянии, они взаимодействуют со скоростью, контролируемой диффузией. Константа скорости реакции (1) составляет $k = 1,9 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [5]. Работа Beckman J.S. с соавторами является первой, где рассматривается образование пероксинитрита в биологических тканях и его патофизиологический потенциал. То есть в результате реакции двух свободных радикалов образуется пероксинитрит, который, хотя сам по себе не является свободным радикалом, но является мощнейшим оксидантом, нестабильным структурным изомером нитрата, NO_3^- .

Каким образом можно предотвратить дефицит окиси азота, наступающий при реперфузии? Очевидный ответ — вовремя устранять образующийся супероксид-анион. Супероксид-анион ($O_2^{\bullet-}$) устраняется *in situ* участием СОД:



Однако, хотя СОД обладает исключительно высокой константой скорости реакции ($k_{\text{СОД}} = 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), скорость образования пероксинитрита на целый порядок выше ($k = 1,9 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), поэтому нативная СОД не может

конкурировать с реакцией (2), в результате чего и наблюдается вазоконстрикция, то есть явление «no reflow».

Как оказалось, при подаче самой по себе окиси азота или доноров NO (до наступления ишемического периода) наблюдается ослабление последствий ишемии и последующей реперфузии, снижается размер зоны инфаркта и степень выраженности эндотелиальной дисфункции [8]. Кроме того, предварительное введение лекарств, увеличивающих высвобождение NO, например статинов [24], некоторых антагонистов кальция [4], ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) [19] или дексаметазона [18] защищают миокард от реперфузионного повреждения. Данные по рассматриваемой проблеме подробно изложены в обзоре [40].

Однако резкое падение парциального давления NO в процессе реперфузии следует рассматривать только как явление первого порядка.

Как явление второго порядка по времени наступления, но не по значимости, безусловно должно рассматриваться действие образовавшегося пероксинитрита в реакции (2). Пероксинитрит является сильным окислителем и нитрирующим агентом.

Одной из основных реакций пероксинитрита в биологической системе является его взаимодействие с двуокисью углерода. *In vivo* концентрация двуокиси углерода составляет около 1 мМ, поэтому ее реакция с ONOO⁻ протекает с очень высокой скоростью, что в физиологических условиях приводит к образованию нитропероксикарбоната (ONOOOC₂⁻), который гомолизируется с образованием карбонатного радикала (CO₃^{•-}) и радикала двуокиси азота (*NO₂) [37]. Радикал диоксида азота вступает в реакцию с биомолекулами, приводя к образованию нитрозилированных соединений.

Следует также помнить, что углекислый газ является мощным вазодилататором, действующим непосредственно на сосудистую стенку. Дефицит углекислого газа в крови приводит к нарушению важнейших биохимических процессов. Например, в отсутствие молекулы углекислоты молекула кислорода не может высвободиться из связанного состояния с гемоглобином (эффект Вериги—Бора), что ведет к кислородному голоданию даже при высокой концентрации кислорода в крови.

С другой стороны, сама по себе молекула ONOON подвергается гомолитическому расщеплению с образованием таких известных оксидантов, как гидроксильный радикал (*OH) и радикал (*NO₂). Эта реакция в гидрофобной фазе будет приводить к инициированию перекисного окисления липидов [36].

Патофизиологические эффекты пероксинитрита исключительно многообразны. Пероксинитрит является триггером как апоптоза, так и некротической гибели клеток. По этой теме опубликован большой обзор [41].

Пероксинитрит взаимодействует с липидами, белками, ДНК и другими молекулами. Образование пероксинитрита *in vivo* является ключевым звеном таких патологических процессов как инсульт, инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность, диабет, циркуляторный шок, хронические воспалительные процессы, онкологические болезни, а также нейродегенеративные заболевания [30].

Скорость образования пероксинитрита в отдельных компартментах *in vivo* оценивается величиной порядка 50—100 мкМ в минуту [3]. Хотя равновесная концентра-

ция при этом оценивается в наномолях, но она, тем не менее, может поддерживаться на протяжении достаточно длительного периода времени (часы) [29, 35].

Эффект «no reflow» проявляется в условиях постишемической реоксигенации, когда на результаты, сложившиеся в период ишемии (аноксии), накладываются факторы, действующие в последующий период реоксигенации (относительной гипероксии). В период реоксигенации клетки и ткани органов испытывают *оксидативный стресс*.

Резкое падение концентрации NO является существенным фактором явления «no reflow». В пользу этого предположения указывают, например, данные о интракоронарном введении нитропруссид натрия, оказавшегося эффективным для профилактики и устранения феномена «no reflow» [31]. Известно, что нитропруссид является источником NO, которая активизирует гуанилатциклазу. При этом в гладкомышечных клетках сосудистой стенки увеличивается образование цГММ, вызывающего вазодилатацию. То есть, введение нитропруссид снимает дефицит окиси азота, образовавшийся в результате указанной реакции.

Таким образом, микроэмболизация, вызываемая продуктами распада в результате активного разрушения атеросклеротической бляшки, что часто выдвигается в качестве основной причины этого явления, здесь отсутствовала.

Хотя представления о роли продуктов тромболитических мероприятий (атероматозных и тромботических масс, устремляющихся в более дистальные сосуды), остаются одним из объяснений, нельзя исключить механизм, суть которого описывается реакцией (2).

В связи с рассматриваемой ролью супероксидного аниона в реперфузионном повреждении возникает вопрос о возможной его коррекции. Повреждающее действие реперфузии клинически проявляется резким нарастанием угнетения сократительной функции и быстрым развитием контрактуры миокарда. В отечественной научной литературе предположение о возможности прерывания цепи свободнорадикальных процессов, лежащих в основе указанных явлений, было высказано в работе [2]. Для этого авторы использовали препарат цитохрома С в качестве редокс-медиатора. Следует отметить, что цитохром С и, в первую очередь, получаемые из него в результате протеолиза гемин-пептиды, правомерно отнести к группе каталитических антиоксидантов [1]. Авторы исследования [2] показали, что применение цитохрома С в постишемическом периоде вызывало быстрое восстановление коронарного кровотока, а также параметров кардио- и системной гемодинамики у пациентов.

Как указывалось выше, нативная СОД, присутствующая *in situ*, реакция (3), не может конкурировать с реакцией (2). Кроме того, есть сообщения, указывающие на то, что активность СОД в данной ситуации сама по себе оказывается сниженной.

Предварительное введение фармакологических средств (перед реперфузией), обладающих супероксиддисмутазной активностью, как можно ожидать, должно предупреждать эффект «no reflow». По крайней мере, в случаях обратимого «no reflow». В связи с этим необходимо отметить работы, в которых показано, что супероксиддисмутазной активностью обладают наночастицы оксида церия. Более того, они проявляют как супероксиддисму-

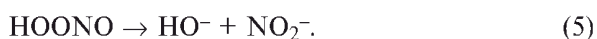
тазную, так и каталазную активности [5, 6]. А самое главное, константа скорости каталитического устранения O_2^- значительно превосходит таковую для нативной СОД. Это открывает возможности для фармакологической коррекции реперфузионного повреждения.

Возвращаясь к роли пероксинитрита (2) в патогенезе различных заболеваний становится очевидной актуальность задачи поиска фармакологических средств защиты от этого мощного прооксиданта и нитрозилирующего агента. В связи с этим, следует обратить внимание на разработку таких каталитических антиоксидантов (КА) [1].

Для этого необходимо выявлять такие КА, которые могли бы вызывать реакцию изомеризации пероксинитрита с образованием нитрата (4):



Или восстанавливать пероксинитрит до нитрита с использованием соответствующих восстановительных эквивалентов (восстановленного глутатиона, аскорбата, НАД(Ф)Н или того же супероксидного аниона.



С точки зрения фармакологии такие КА могут быть интересны, в частности, в связи с проблемой толерантности к опиатным анальгетикам. Соединения, вызывающие каталитическое расщепление пероксинитрита (при одновременном введении опиатных анальгетиков), значительно тормозили биохимические изменения, вызывающие привыкание к наркотическим препаратам. Своевременное устранение пероксинитрита в нервных клетках значительно усиливало противоболевое действие наркотических анальгетиков [28].

Каталитические антиоксиданты могут также найти свое применение в крионике, когда криосохраняемый субъект подлечит физиологическому восстановлению и неизбежно должен пройти через реперфузионные мероприятия, чтобы избежать реперфузионного повреждения органов и тканей.

Список литературы

1. Лыско А.И., Дудченко А.М. Каталитические антиоксиданты: потенциальные терапевтические средства для коррекции патологий, вызываемых оксидативным стрессом // Патогенез. — 2013. — Т. 11. — С. 22—28.
2. Яковлев Ф.Ю., Бояринов Г.А., Бояринова Л.В., Мухина И.В., Тезяева С.А. Влияние пихтохрома С на миокард во время реперфузии // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1999. — №4. — С. 20—25.
3. Alvarez M.N., Piacenza, Irigoien F., Peluffo G., Radi R. Macrophage-derived peroxynitrite diffusion and toxicity to *Trypanosoma cruzi* // Arch. Biochem. Biophys. — 2004. — Vol. 432. — P. 222—232.
4. Asanuma H., Kitakaze M., Funaya H., Takashima S., Minamoto T., Node K., Sakata Y., Asakura M., Sanada S., Shinozaki Y., Mori H., Kuzuya T., Tada M., Hori M. Nifedipin limits infarct size via NO-dependent mechanisms in dogs // Basic Res. Cardiol. — 2001. — Vol. 96. — P. 497—505.
5. Beckman J.S., Beckman T.W., Chen J., Marshall P.A., Freeman B.A. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implication for endothelial injury from NO and superoxide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87. — P. 1620—1624.
6. Bilzer M., Gerbes A.L. Preservation injury of the liver: mechanisms and novel therapeutic strategies // J. Hepatol. — 2000. — Vol. 32. — P. 508—515.
7. Bird J.E., Milhoan K., Wilson C.B., Young S.G., Mundy C.A., Parthasarathy S., Blantz R.C. Ischemic acute renal failure and antioxidant therapy in the rat: the relation between glomerular and tubular dysfunction // J. Clin. Invest. — 1988. — Vol. 81. — P. 1630—1638.
8. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade research // J. Mol. Cell Cardiol. — 2001. — Vol. 33. — P. 1897—1918.
9. Botha P., Jeykathan M., Rao J.N., Fisher A.J., Prabhu M., Dark J.H., Clark S.C. Inhaled nitric oxide for modulation of ischemia-reperfusion injury in lung transplantation // J. Heart and Lung Transplantation. — 2007. — Vol. 26. — P. 1199—1205.
10. Boveris A., Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen // Biochem J. — 1973. — Vol. 134. — P. 707—716.
11. Caldwell-Kenkel J.C., Thurman R.G., Lemasters J.J. Selective loss of nonparenchymal cell viability after cold ischemic storage of rat livers // Transplantation. — 1988. — Vol. 45. — P. 834—837.
12. Clavien P.A., Harvey P.R.C., Strasberg S.M. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts // Transplantation. — 1992. — Vol. 53. — P. 957—978.
13. Clavien P.A. Sinusoidal endothelial cell injury during hepatic preservation and reperfusion // Hepatology. — 1998. — Vol. 28. — P. 281—285.
14. Fuster V., Moreno P.R., Fayad Z.A., Corti R., Badimon J.J. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts // J. Am. Coll. Cardiol. — 2005. — Vol. 46. — P. 937—954.
15. Gao W., Bentley R., Madden J.F., Clavien P.A. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation // Hepatology. — 1998. — Vol. 27. — P. 1652—1660.
16. Gonzalez-Flecha B., Cutrin J.C., and Boveris A. Time course and mechanism of oxidative stress and tissue damage in rat liver subjected to in vivo ischemia-reperfusion // J. Clin. Invest. — 1993. — Vol. 91(2). — P. 456—464.
17. Gujral J.S., Bucci T.J., Farhood A, Jaeschke H., Mechanism of cell death during warm hepatic ischemia-reperfusion in rats: apoptosis or necrosis? // Hepatology. — 2001. — Vol. 33. — P. 397.
18. Hafezi-Moghadam A., Simoncini T., Yang Z., Limbourg F.P., Plumier J.-Ch., Rebsamen M.C., Hsien Ch.-M., Chui D.-Sh., Thomas K.L., Prorock A.J. Acute cardiovascular protective effects of corticosteroids are mediated by non-transcriptional activation of endothelial nitric oxide synthase // Nat. Med. — 2002. — Vol. 8. — P. 473—479.
19. Hartman J.C., Kure G.M., Hullinger T.G., Wall T.M., Sheehy R.M., Shebuski R.J. Inhibition of nitric oxide synthase prevents myocardial protection by ramipril // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1994. — Vol. 3. — P. 1071—1076.
20. Huie R.E., Padmaja S. The reaction rate of nitric oxide with superoxide // Free Rad. Res. Commun. — 1993. — Vol. 18. — P. 195—196.
21. Ishikawa M., Sekizuka E., Sato S., Yamaguchi N., Inamasu J., Bertalanffy H. And Kawase T. Effects of moderate hypothermia on leukocyte-endothelium interaction in the rat pial microvasculature after transient middle cerebral artery occlusion // STROKE. — 1999. — Vol. 30(8). — P. 1679—1686.
22. Kloner R.A., Ganote C.E., Jennings R.B. The «no-reflow» phenomenon after temporary coronary occlusion in dogs // J. Clin. Invest. — 1974. — Vol. 54. — P. 1496—1508.
23. Korsvik C., Patil S., Seal S., Self W.T. Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles // Chemical Commun. (Camb.). — 2007. — Vol. 10. — P. 1056—1058.
24. Lefer A.M., Campbell B., Shin Y.K., Scalia R., Hayward R., Lefar D.J. Simvastatin preserves the ischemic-reperfused myocardium in normocholesterolemic rat hearts // Circulation. — 1999. — Vol. 100. — P. 178—184.
25. Lemasters J.J., Thurman R.G. Reperfusion injury after liver preservation for transplantation // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. — 1997. — Vol. 37. — P. 327—338.
26. Majno G., Gilmore V., Leventhal M. On the mechanism of vascular leakage caused by histamine type mediators. A microscopic study in vivo // Circulation Research. — 1967. — Vol. 21. — P. 833—847.
27. McKeown C.M.B., Edwards V., Philips M.J., Harvey P.R.C., Petrunka C.N., Strasberg S.M. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat // Transplantation. — 1988. — Vol. 46. — P. 178—191.
28. Muscoli C., Cuzzocrea S., Ndengele M., Mollace V., Porecca F., Fabrizi F., Esposito E., Masini E., Matuschak G.M., Salvemini D. Therapeutic manipulation of peroxynitrite attenuates the develop-

ment of opiate-induced antinociceptive tolerance in mice // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117. — P. 3530–3539.

29. Nalwaya N., Deen W.M. NO, oxygen and superoxide formation and consumption in macrophage cultures // *Chem. Res. Toxicology.* — 2005. — Vol. 18. — P. 486–495.

30. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and Peroxynitrite in Health and Disease // *Physiol. Rev.* — 2007. — Vol. 87. — P. 315–424.

31. Pan W., Wang L.F., Yu J.H., Fan Y., Yang S.S., Zhou L.J., Li Y., Li W.M., Intracoronary nitroprusside in the prevention of the no-reflow phenomenon in acute myocardial infarction // *Chin. Med. J. (Engl.)*. — 2009. — Vol. 122. — P. 2718–2723.

32. Pasternak G.W. When it comes to opiate, just say NO // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117. — P. 3185–3187.

33. Pearson M.J. and Lipowsky H.H., Influence of erythrocyte aggregation on leucocyte margination in postcapillary venules of rat mesentery // *American Journal of Physiology. Heart Circ. Physiol.* — 2000. — Vol. 279(4). — H1460–H1471

34. Pirmohamed T., Dowding J.M., Sigh S., Wasserman B., Heckert E., Karakoti A.S., King J.E., Seal S., Self W.T., Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity // *Chemical Commun.* — 2010. — Vol. 46. — P. 2736–2738.

35. Quijano C., Romero N., Radi R. Tyrosine nitration by superoxide and NO fluxes in biological systems: modeling the impact of superoxide dismutase and NO diffusion // *Free Radic. Biol. Med.* — 2005. — Vol. 39. — P. 728–741.

36. Radi R., Beckman J.S., Freeman B.A. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls: cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide // *J. Biol. Chem.* — 1991. — Vol. 266. — P. 4244–4250.

37. Radi R., Peluffo G., Alvarez M.N., Naviliat M., Cayota A. Unraveling peroxynitrite formation in biological systems. // *Free Radic. Biol. Med.* — 2001. — Vol. 30. — P. 463–488.

38. Ritter L., Funk J., Schenkel L., Tipton A., Downey K., Wilson J., Coull B., McDonagh P., Inflammatory and Hemodynamic Changes in the Cerebral Microcirculation of Aged Rats after Global Cerebral Ischemia and Reperfusion // *Microcirculation.* — 2008. — Vol. 15(4). — P. 279–310.

39. Schonfeld P., Wojtczak L. Fatty acids decrease mitochondrial generation of reactive oxygen species at the reverse electron transport but increase it at the forward transport // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2007. — Vol. 1767. — P. 1032–1040.

40. Schulz R., Kelm M., Heusch G. Nitric oxide in myocardial ischemia/reperfusion injury // *Cardiovascular Research.* — 2004. — Vol. 61. — P. 402–413.

41. Szabo C., Ischiropoulos H., Radi R., Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nature Reviews. Drug Discovery.* — 2007. — Vol. 6. — P. 662–680.

42. Votyakova T.V., Reynolds I.J. DeltaPsi(m)-Dependent and -independent production reactive oxygen species by rat brain mitochondria // *J. Neurochem.* — 2001. — Vol. 79. — P. 266–277.

43. Weed R.I., LaCelle P.L., Merrill E.W. Metabolic dependence of red cell deformability. // *The Journal of Clinical Investigation.* — 1969. — Vol. 48(5). — P. 795–809.

44. Wu S., Tamaki N., Nagashima T., Yamaguchi M. Reactive oxygen species in reoxygenation injury of rat brain capillary endothelial cells // *Neurosurgery.* — 1998. — Vol. 43(3). — P. 577–583.

Поступила 3.07.2014

Reperfusion injury and phenomenon «no reflow». Role of superoxide anion and peroxynitrite

Lysko A.I., Dudchenko A.M.

Institute of General Pathology and Pathophysiology of RAN

In the short review we turned the attention to underestimated role of superoxide anion in the phenomenon «no reflow» and reperfusion injury. Reperfusion injury is the tissue damage caused when blood supply returns to the tissue after a period ischemia or lack of oxygen. After the ischemic period reentry of the blood to tissue causes massive release of superoxide anion. Superoxide is highly reactive compound produced when oxygen is reduced by a single electron. Superoxide anion interacts with NO at very high rate. In given situation superoxide-dismutase can't compete for superoxide anion. The reaction leads to the exhaustion of the NO, the very important vasodilator, and accordingly, — to vasoconstriction. Besides of that, in the result of the reaction the peroxynitrite (ONOO⁻) is produced. Peroxynitrite is a short-lived oxidant species that is a potent inducer of cell death. The possible pharmacological approach to inhibition of its formation or its decomposition are assigned also.

Key words: *ischemia, hypoxia, reperfusion, reperfusion injury, «no reflow», superoxide anion, peroxynitrite, atherosclerotic plaque*