

СИНДРОМ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

НЕБЫЛИЦИН Ю.С.¹, ЛАЗУКО С.С.², КУТЬКО Е.А.²

¹Клиника Витебского государственного медицинского университета, г. Витебск, Республика Беларусь

²Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2018. – Том 17, №6. – С. 18-31.

ISCHEMIA-REPERFUSION SYNDROME OF LOWER LIMBS

NEBYLITSIN Y.S.¹, LAZUKO S.S.², KUT'KO E.A.²

¹Vitebsk State Medical University Clinic, Vitebsk, Republic of Belarus

²Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2018;17(6):18-31.

Резюме.

Термин «синдром ишемии-реперфузии» отражает совокупность патологических процессов, развивающихся при остром нарушении артериального кровообращения в нижней конечности с последующим его восстановлением. В данном синдроме можно выделить две разные по механизму развития, но в то же время взаимосвязанные друг с другом фазы – ишемии и реперфузии.

В fazu ишемии начинается повреждение тканей в связи с развивающимся дефицитом кислорода и нарушением синтеза высокоэнергетических субстратов клетки. В результате гипоксии запускается каскад патологических реакций, которые приводят к нарушению функции жизненно важных структур клетки. В исследованиях показано, что необратимые изменения в мышцах конечности начинаются после 3 часов полной ишемии и практически полностью завершаются к 6 часам.

Фаза реперфузии начинается сразу же после восстановления кровотока в нижней конечности, в случае необратимых повреждений тканей. В данную fazu происходит усугубление повреждения конечности, причем выраженность повреждения тем больше, чем дольше продолжалась фаза ишемии. Основными повреждающими факторами в эту fazu являются активные формы кислорода и азота (АФК и АФА) и лейкоциты. АФК и АФА ведут к развитию «окислительно-нитрозилирующего стресса», что приводит к запуску путей гибели клетки – апоптозу и некротизу.

Важными аспектами патогенеза синдрома ишемии-реперфузии являются процесс деградации эндотелиального гликокаликса и развивающаяся дисфункция эндотелия. В разных отделах микроциркуляторного русла преобладает нарушение определенной функции эндотелия: в артериолах – нарушение регуляции сосудистого тонуса, в посткапиллярных венулах – нарушение барьерной функции и контроля адгезии лейкоцитов. Выраженность дисфункции эндотелия можно лабораторно оценить с помощью «маркеров дисфункции эндотелия», выявление которых очень важно для характеристики степени тяжести развивающейся дисфункции эндотелия и возможного поиска терапевтических целей для профилактики ее развития.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, воспаление, микроциркуляция.

Abstract.

A block of pathologic processes, developing in the lower limbs in case of acute disturbance of the arterial blood flow with its subsequent recovery refers to the term «ischemia-reperfusion syndrome». This syndrome can be divided into two phases, different in pathogenesis, but at the same time interconnected with each other – ischemia and reperfusion.

In ischemia phase tissue damage begins due to the developing oxygen deficit and the disturbance of high-energy cell substrates synthesis. Because of hypoxia the cascade of pathologic reactions is triggered, which lead to function disturbance of vitally important cell structures. The researches show, that irreversible changes in lower limb muscles start after 3 hours of absolute ischemia and almost completely finish by 6 hours.

Reperfusion phase starts immediately after the recovery of lower limb blood flow in case of irreversible tissue damages.

In this phase the aggravation of limb damage occurs, its severity being greater when the ischemia phase lasts for a longer period of time. The main damaging factors in this phase are reactive oxygen and nitrogen forms (ROF and RNF) and leukocytes. ROF and RNF lead to «oxidative-nitrosative stress» development which results in the triggering of cell death pathways – apoptosis and necroptosis.

The process of endothelial glycocalyx degradation and the developing endothelial dysfunction are important aspects of the ischemia-reperfusion syndrome pathogenesis. In different parts of the microvascular beds the disorder of the certain endothelial function dominates: the vascular tone regulation disorder in the arterioles, disorder of the barrier function and leukocyte adhesion control in postcapillary venules. The degree of endothelial dysfunction can be evaluated in the laboratory with the help of «endothelial dysfunction markers», the identification of which is very important for describing the severity of the developing endothelial dysfunction and possible searching for therapeutic targets for the prevention of its development.

Key words: *ischemia, reperfusion, inflammation, microcirculation.*

Ишемические повреждения нижних конечностей являются одной из самых актуальных проблем сосудистой хирургии. Неблагоприятные результаты лечения острой артериальной недостаточности связаны, в том числе, и с развитием синдрома ишемии-реперфузии, что обусловлено местным и общим неблагоприятным влиянием этого синдрома на организм [1]. Все это диктует необходимость проведения исследований, направленных на выявление более тонких селективных механизмов развития данной патологии, что может позволить разработать критерии прогнозирования течения заболевания, методы лечения и профилактики.

История изучения синдрома ишемии-реперфузии и изменения терминологии данного понятия

На данный момент в литературе нет единого мнения в терминологической трактовке патологических процессов, развивающихся в нижней конечности при острой ишемии и ее последующей реваскуляризации. В современной литературе чаще всего используется несколько терминов: «реперфузионный синдром», «реперфузионно-реоксигенационный синдром» и «синдром ишемии-реперфузии» [2, 3]. Наиболее точно суть процессов отражает термин «синдром ишемии-реперфузии». Сам синдром состоит из двух фаз: ишемической и реперфузионной. Ишемическая фаза включает в себя совокупность повреждений тканей конечности при возникновении ишемии. Реперфузионная фаза развивается после восстановления кровотока в тканях с уже произошедшими необратимыми повреждениями клеток. Однако, несмотря на спасение конечности от ишемии, повреждение мягких тканей нижней конечности усугубляется.

Вероятно, отправной точкой в истории синдрома ишемии-реперфузии можно считать ишемическую контрактуру Фолькмана, описанную им в 1881 г. как первое клиническое подтверждение осложнения, связанного с ишемическим повреждением мышц. В дальнейшем, на протяжении многих лет появлялось большое количество публикаций, в которых авторы описывали клинические проявления данного синдрома. В 1923 г. в своей работе, посвященной связи шока и токсических факторов, Cannon W.B. описал системные эффекты восстановления кровотока в ишемизированной ткани и тем самым создал основу для характеристики осложнений, связанных с реперфузией. В 1937 г. Husbeldt E. и Bjering T. описали повреждение почек как результат травматического шока после автокатастроф. В 1944 г. Bywaters E. опубликовал крупный клинический опыт развития почечной недостаточности после сдавления конечностей при бомбардировках Лондона во время Второй мировой войны и, таким образом обозначил актуальность проблемы реперфузии конечностей. В это же время в СССР в 1954 г. Хенкин В.Л. писал, что после восстановления кровообращения в ишемизированной конечности происходит высвобождение токсических веществ, образовавшихся в фазу ишемии, и развитие вторичного токсического шока. Однако именно Haimovici H. в 1960 г. документально отразил риск восстановления кровотока в ишемизированной конечности, описав случаи развития острой почечной недостаточности после артериальной реваскуляризации, вследствие поступления миоглобина в общий кровоток из-за обширного некроза мышц. В 1965 г. Stewart J. и соавт. описали развитие гиперкалиемии вследствие развития декомпенсированного метаболического ацидоза у пациента после эмболэктомии из подвздошной артерии. В 1969 г. Stallone R.J.

и соавт. сообщили, что у пациентов с параличом и мраморным рисунком кожи нижней конечности причиной летальности в 85% случаях была именно сердечно-легочная, а не острые почечные недостаточности. В этом же году в России Корнилов В.А. описал случай развития тяжелой пневмонии, приведшей к летальному исходу, после восстановления кровотока в подколенной артерии.

Параллельно с этими сообщениями многие исследователи в своих экспериментах старались объяснить патофизиологические аспекты синдрома ишемии-реперфузии, причем первые работы были выполнены на экспериментальных моделях миокарда лабораторных животных. Впервые концепция реперфузионного повреждения начала зарождаться после работы Tennant R. и Wiggers C. в 1935 г., в которой они отметили возникновение фибрилляции желудочков при экспериментальном инфаркте миокарда с последующим восстановлением кровотока в окклюзированных коронарных артериях. Однако только в 1960 г. Jennings R.B. и соавт. в экспериментах на сердце собаки заключили, что реперфузия «ускоряет» прогрессирование постишемического повреждения. В 1966 г. Krug A. первым описал феномен «no-reflow» на модели инфаркта миокарда у кошек, однако же более точное определение было дано Ames A. в 1968 г. Стоит отметить, что еще в 1922 г. Brooks B., не зная о феномене «no-reflow», обнаружил и описал его патологические изменения: после длительного периода артериальной окклюзии он наблюдал зоны локального нарушения перфузии после восстановления кровотока, несмотря на сохранение хорошей пульсации сосудов [4]. Таким образом, в конце 1960-х г. – начале 1970 г. в литературе начало появляться большое количество работ (Shen A.C. (1972), Hearse D. (1973), Ganote C.E. (1976), Ku D.D. (1982), Murry C.E. (1986), Griffiths E.J. (1995), Yellon D.M. (1999) и многих других авторов [5, 6]), в которых постепенно раскрывались механизмы развития синдрома ишемии-реперфузии. Однако в иностранной литературе данный синдром назывался по-разному: «reperfusion damage», «reperfusion injury» (реперфузионное повреждение), «postischemic injury» (постишемическое повреждение), «мионефропатический-метаболический синдром» (Haimovici H., 1979 г.) и только ближе к середине 1980-х г. начал появляться термин «ischemia-reperfusion injury» («синдром ишемии-реперфузии»). Таким образом, исследователи объединили процессы, происходящие в фазу ишемии и реперфузии, в

два взаимосвязанных, следующих друг за другом процесса. Огромный вклад в изучение данного вопроса внесла Биленко М.В., которая в 1989 г. выпустила свою монографию «Ишемические и реперфузионные повреждения органов», в которой очень подробно описала молекулярные патофизиологические механизмы повреждения органов при ишемии и их последующей реперфузии. В 1997 г. Menger M.D. и соавт. описали механизм развития феномена «no-reflow» в поперечнополосатой мышце при данном синдроме, указывая на ключевую роль дисфункции капилляров в механизмах развития данного феномена [6].

Патофизиология синдрома ишемии-реперфузии

Патофизиология фазы ишемии

Патофизиология синдрома ишемии-реперфузии складывается из совокупности патологических процессов, происходящих в ишемическую и реперфузионную фазы, которые неотъемлемо связаны между собой.

При внезапном нарушении артериального кровообращения нижней конечности наступает острая ишемия, в результате чего возникает повреждение тканей нижней конечности. В основе механизма повреждения лежит циркуляторная гипоксия, приводящая к истощению запасов кислорода и высокоэнергетических субстратов клетки, таких как аденоинтрифосфат (АТФ) и креатинфосфат (КФ). Необходимо подчеркнуть, что устойчивость мышечной ткани к ишемии зависит не только от ее метаболических потребностей, но еще и от типа мышечных волокон. В своем составе большинство мышц имеют 2 типа волокон с различным метаболизмом, а, соответственно, и различной устойчивостью к ишемии (первый тип, или красные и второй тип, или белые). В нижней конечности передняя группа мышц имеет преимущественно первый тип волокон, а задняя группа – второй тип. Первый тип волокон получает энергию в основном за счет окислительного фосфорилирования, а второй тип – за счет анаэробного гликогенолиза. В связи с этим передняя группа мышц нижней конечности более чувствительна к ишемии, чем задняя [7]. Физиологические и анатомические исследования показывают, что необратимые изменения начинаются в мышцах конечностей после 3 часов полной ишемии и практически полностью завершаются к 6 часам [4]. На ишемизированной тонкой мышце соба-

ки Swartz W.M. и соавт. показали четкую связь между некрозом мышечных волокон и концентрацией АТФ. Они установили, что даже после 6 часов ишемии концентрация АТФ остается на уровне 20% от доишемического уровня, однако это все же приводит к полному некрозу мышцы [8]. При исследовании конечности человека было показано, что содержание КФ через 30 минут снижалось до 52%, через 60-90 минут до 40% от доишемического уровня, в то время как концентрация АТФ оставалась на исходном уровне [9]. Это можно объяснить включением механизмов поддержания парциального давления кислорода в клетке. Labbe R. и соавт. отметили, что процент погибших клеток после 3, 4 и 5 часов ишемии с последующей фазой реперфузии длительностью 48 часов составлял 2, 30 и 90% от общего объема мышцы соответственно [10]. Petrasek P.F. и соавт. также подтвердили, что степень некроза зависит от 2 факторов: времени острой ишемии и типа мышечного волокна. Причем в эксперименте они обнаружили, что дистально расположенные мышцы имели менее выраженные повреждения по сравнению с проксимально расположенными, так как они быстрее охлаждались, что позволило сделать вывод о том, что быстрое охлаждение играет защитную роль в сохранении конечности [11].

Из-за снижения парциального давления кислорода в крови в клетках происходит нарушение окислительного фосфорилирования в митохондриях и тем самым переключение энергетически-выгодного аэробного гликолиза клетки на анаэробный. При этом происходит метаболизм гликогена до лактата с образованием недостаточного количества АТФ, что приводит к нарушению работы АТФ-зависимых ионных каналов мембранны клетки. Наиболее важным из них является Na^+/K^+ -АТФаза, при нарушении работы которой происходит накопление ионов Na^+ внутри клетки и вымывание ионов K^+ из клетки. В то же время, происходит накопление H^+ в клетке и развитие внутриклеточного ацидоза, из-за чего в работу включается Na^+/H^+ -антитортер, который приводит к еще большему увеличению внутриклеточной концентрации ионов Na^+ . В свою очередь, высокая концентрация ионов Na^+ блокирует работу $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -антитортера, а, возможно, и заставляет его работать в обратном направлении, что приводит к повышению концентрации ионов Ca^{2+} внутри клетки. В связи с низким потенциалом сарколеммы ионы Ca^{2+} также поступают внутрь через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы

L-типа. Также было отмечено, что при прогрессировании ишемии вначале происходит повышение пассивной проницаемости сарколеммы для ионов Ca^{2+} и только затем нарушение работы Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума [12]. В попытке уменьшить цитоплазматическую концентрацию ионов Ca^{2+} начинает работать Ca^{2+} -униporter в мемbrane митохондрий, что приводит к повышению уровня ионов Ca^{2+} в матриксе митохондрий [13]. Увеличение цитоплазматической и внутримитохондриальной концентрации ионов Ca^{2+} является одним из самых важных механизмов ишемического повреждения клетки. Вследствие этого происходят активация фосфолипазы A_2 с последующим разрушением липидов мембранны и образованием фактора активации тромбоцитов, тромбоксана A_2 , семейства молекул простагландинов и лейкотриенов, активация нуклеаз, протеаз семейства кальпанинов, разрушающих белки цитоскелета, эндоплазматического ретикулума и митохондрий, каспаз, играющих роль в апоптозе и некротозе (регулируемом некрозе) клетки, нарушение барьера функции мембранны, в том числе и внутриклеточных, а также экспрессия молекул клеточной адгезии, в первую очередь, высвобождение Р-селектина на поверхность эндотелия, увеличение образования интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), ИЛ-6, ИЛ-8 и других провоспалительных факторов с последующим привлечением нейтрофилов в очаг ишемии. Некоторые авторы связывают высокую концентрацию ионов Ca^{2+} в матриксе митохондрий с утратой ее главной, энергосинтезирующей, функцией [14], т.е. развивается так называемая дисфункция митохондрий. Высокая концентрация ионов Na^+ и нарушение барьера функции мембранны приводят к набуханию клетки, а также внутриклеточных органелл, таких как эндоплазматический ретикулум и митохондрии, усугубляя повреждение клетки. Вдобавок к нарушению функции ионных каналов мембранны, истощение запасов АТФ замедляет АТФ-зависимые процессы reparации поврежденных структур клетки [15]. В результате нарушения синтеза АТФ из аденоzinмонофосфата (АМФ) происходит его катаболизм до инозина и в дальнейшем до гипоксантина, при метаболизме которого в фазе реперфузии происходит образование АФК под действием фермента ксантиноксидазы. Опять же, это возможно только в условиях ишемии, так как в норме гипоксантин метаболизируется до ксантина под действие фермента ксантиндегидрогеназы, который при ги-

поксии превращается в ксантиноксидазу [16]. В некоторых источниках указывается, что в мышце, подвергнутой ишемии, происходит образование АФК. В своем исследовании Wright V.P. и соавт. полагают, что АФК оказывают защитный эффект на мышцу, снижая ее сократительную способность. Имеются предположения, что АФК «защищают» мышцы от дальнейшего стрессового воздействия [17].

В механизмах повреждения мышечных клеток также необходимо отметить значение «переходной поры проницаемости мембранны митохондрий». Она представляет собой неселективный канал, располагающийся во внутренней мембране митохондрий и проницаемый для любой молекулы массой менее 1,5 кДа. В нормальных условиях пора остается закрытой. В условиях ишемии она становится готова к открытию за счет высокой концентрации ионов Ca^{2+} и нейтрального фосфата в матриксе митохондрий, накопления продуктов деградации адениловых нуклеотидов и образования активных форм кислорода, однако остается закрытой за счет сниженного pH клетки [18]. Это довольно важно, поскольку открытие данной поры привело бы к быстрой гибели клетки.

Таким образом, ишемия вызывает особое состояние уязвимости клеток, приводящее к их дальнейшему повреждению после восстановления кровотока.

Патофизиология фазы реперфузии

Фаза реперфузии начинается сразу же после восстановления кровотока в зоне необратимо поврежденных тканей нижней конечности и характеризуется целой чередой событий, приводящей к дальнейшему повреждению ишемизированных тканей. Причем выраженность реперфузионного повреждения напрямую зависит от длительности фазы ишемии: чем дольше фаза ишемии, тем более выражено поражение. По сути, данный эффект является парадоксом, поскольку приток кислорода, электролитов и различных питательных веществ, так необходимых для спасения конечности, вызывает дальнейшее повреждение ее тканей. Поэтому своевременное восстановление кровотока при острой ишемии конечности является неотъемлемым этапом лечения острой ишемии конечности.

В фазу реперфузии клетки неспособны метаболизировать кислород как раньше в связи с развитием в фазу ишемии дисфункции ми-

тохондрий и замедлением процессов синтеза АТФ. В результате этого возникающий избыток кислорода метаболизируется клеткой с образованием АФК, что и лежит в основе реперфузионного повреждения. К наиболее важным относятся супероксид-анион (O_2^-), гидроксил-радикал ($\text{OH}\cdot$), перекись водорода (H_2O_2), пероксинитрит (ONOO^-) и OCl^- - HOCl (гипохлорид-гипохлоридная кислота). Существует несколько источников образования АФК. Наибольшее количество супероксид-аниона образуется в электрон-транспортной цепи митохондрий за счет взаимодействия накопленных в фазу ишемии восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (НАД-Н⁺) с цитохромом Р-450-редуктазой [19]. Еще одним источником АФК является фермент ксантиноксидаза, образующийся в фазу ишемии и содержащийся в эндотелиальных клетках. При наличии кислорода данный фермент метаболизирует гипоксантин в соли мочевой кислоты с образованием супероксид-аниона и перекиси водорода. Их дальнейшее взаимодействие в присутствии ионов Fe^{3+} (реакция Фентона) приводит к образованию гидроксил-радикалов. Пероксинитрит образуется в результате взаимодействия оксида азота и супероксид-аниона и является наиболее химически активным из всех активных форм кислорода и азота (АФА). В клетке присутствуют и другие менее значимые ферментные системы, приводящие к образованию АФК, например циклооксигеназа и пероксидаза [20]. В результате наличия свободного радикала в своем составе АФК и АФА являются чрезвычайно химически активными и вызывают окисление многих веществ в клетке с развитием окислительного и нитрозилирующего стресса [21]. Наиболее значимым является их взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами клеточных мембран с развитием перекисного окисления липидов, что приводит к повреждению мембран, нарушению работы ионных каналов, увеличению проницаемости и, в конечном итоге, к гибели клеток.

В результате повреждающего действия АФК, АФА на поверхности клеток появляются клеточные белковые фрагменты и продукты окисления липидов и белков, которые распознаются Toll-like рецепторами (TLR) эндотелиоцитов и клеток иммунной системы как молекулярные фрагменты опасности (Damage-assosiated molecular patterns, DAMPs). Активация TLR приводит к запуску сигнальных путей, действие ко-

торых опосредовано в том числе и через ядерный фактор транскрипции kB (NF-kB) [22], который запускает выделение клеткой провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли а (ФНО-α), ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8, а также молекул межклеточной адгезии ICAM-1, VCAM-1, что вызывает воспаление и активное привлечение лейкоцитов и макрофагов в очаг реперфузии.

Важным источником повреждения в фазу реперфузии являются лейкоциты, которые в результате процесса дегрануляции выделяют большое количество ферментов, таких как протеазы, эластазы, коллагеназы, фосфатазы. Также необходимо отметить, что лейкоциты и макрофаги играют немаловажную роль в образовании АФК за счет НАДФН-оксидаз, миелопероксидаз и некоторых других ферментных систем внутри фагоцитов [23].

Таким образом, вызывая дальнейшее повреждение клетки, АФК приводят к запуску путей программируемой гибели клетки, апоптозу и некроптозу. Необходимо отметить, что данные многих авторов сводятся к тому, что при воздействии АФК гибель клеток, главным образом, осуществляется путем некроптоза, а не апоптоза (Nakagawa, 2005). Можно выделить 2 главных пути, ведущих к некроптозу клетки:

1. Первый и наиболее главный путь гибели клетки путем некроптоза осуществляется путем открытия «переходной поры проницаемости мембранны митохондрий» (ППП) [24, 25]. Как было отмечено выше, данная пора остается закрытой в связи с внутриклеточным ацидозом, однако после восстановления кровотока происходит повышение pH внутри клетки, при этом все еще сохраняется высокая концентрация ионов Ca²⁺ и неорганического фосфата, происходит избыточное образование АФК, что и приводит к открытию данной поры. Результатом этого является разобщение процессов дыхания и окислительного фосфорилирования за счет нарушения трансмембранных градиентов H⁺ на внутренней мемbrane митохондрий с последующим ингибированием синтеза АТФ и дальнейшим прогрессированием энергетического дефицита клетки. Также открытие данной поры приводит к транспорту воды внутрь митохондрий, их набуханию, повреждению, а иногда и к разрыву.

Также было отмечено, что развивающаяся дисфункция митохондрий и гиперпродукция АФК приводят к митоптозу, т.е. программируемой гибели митохондрий, которая имеет двой-

ственное значение. С одной стороны, происходит устранение неадекватно функционирующих и продуцирующих большое количество АФК митохондрий, что уменьшает окислительный стресс, с другой стороны, происходит выделение проапоптотических белков и цитохрома с из мембран митохондрий, запускающих процесс апоптоза. Существуют 2 варианта утилизации разрушенных компонентов митохондрий: путем запуска митофагии и формирования митофагосомы и путем образования митоптотических телец, которые в последующем эвакуируются во внеклеточное пространство [26].

2. Второй путь запуска некроптоза осуществляется посредством образования некросомы, которая образуется за счет активации рецепторов ФНО, связанных с доменами смерти (TRADD), действие которых опосредовано через белки, взаимодействующие с рецепторами (RIP1 и RIP3) [27].

Гибель клетки путем апоптоза осуществляется через семейство протеинов BCL-2. В данной системе выделяют проапоптотические белки, BAX и BAK, вызывающие апоптоз, и противоапоптотические белки, BCL-2 и BCL-XL, препятствующие этому. Действие АФК опосредовано через подсемейство белков BH3-only, которые запускают активацию проапоптотических факторов и увеличивают проницаемость наружной мембранны митохондрий, что приводит к высвобождению цитохрома с, в результате чего запускается АТФ-зависимый путь гибели клетки через ферментативную систему каспаз [28].

В настоящий момент ведутся многие экспериментальные работы по поиску ключевых молекулярных механизмов реперфузионного повреждения и гибели клетки, ингибирование которых будет способствовать уменьшению выраженности реперфузионного повреждения. К таким молекулам можно отнести: семейство митоген-активируемых протеинкиназ (JNLs, p38 MAPKs), δ-изоформу протеинкиназы С, кальций-кальмодулин- зависимую протеинкиназу и некоторые другие.

Таким образом, патогенез клеточного повреждения при синдроме ишемии-реперфузии имеет очень сложный характер, берущий начало в фазе ишемии и продолжающийся в фазе реперфузии. Необходимо дальнейшее изучение молекулярных механизмов патогенеза данного синдрома для разработки терапевтических целей в профилактике реперфузионного повреждения.

Роль дисфункции микроциркуляторного русла в патогенезе синдрома ишемии-реперфузии

Уже давно известно, что эндотелий, выстилающий сосуды микроциркуляторного русла, является активным «эндокринным органом», который играет ключевую роль в поддержании сосудистого гомеостаза. При синдроме ишемии-реперфузии происходит нарушение четырех его главных функций: барьевой функции; регуляции сосудистого тонуса; контроля процессов адгезии и транссосудистой миграции клеток крови, главным образом лейкоцитов, и поддержания гемостатических и реологических свойств крови, т.е. происходит развитие дисфункции эндотелия.

1. Нарушение барьевой функции

В нормальных условиях целостность эндотелиального барьера поддерживается межклеточными контактами между соседними эндотелиоцитами. Выделяют 2 главных типа контактов, регулирующих проницаемость эндотелия: плотные и адгезивные контакты, внутриклеточные домены белков которых связаны с белками цитоскелета эндотелиоцитов. Первые изменения в фазу ишемии происходят в эндотелиоцитах капилляров. При этом развиваются пальцевидные протрузии в просвет сосуда и инвагинации в цитоплазму эндотелиоцита. С прогрессированием ишемии увеличивается количество эндотелиальных пиноцитозных пузырьков, что приводит к формированию широких щелей между соседними эндотелиоцитами [12]. В фазу реперфузии происходит выделение большого количества провоспалительных медиаторов, которые индуцируют фосфорилирование белковых компонентов этих контактов, что в итоге приводит к ослаблению контактов между соседними эндотелиоцитами. Также провоспалительные медиаторы вызывают фосфорилирование киназы легких цепей миозина, которая, в свою очередь, приводит к сокращению цитоскелета [29]. Это ведет к формированию щелей между соседними эндотелиоцитами, вследствие чего еще больше увеличивается проницаемость эндотелия. В некоторых экспериментах также отмечается роль гиперпродукции АФК и адгезии лейкоцитов в увеличении проницаемости эндотелия, так как при использовании ингибиторов данных процессов происходило уменьшение экстравазации белков плазмы крови [30]. Вследствие формирования щелей между эндотелиоцитами происходит «просачи-

вание» белков плазмы крови, главным образом, альбумина, который, увеличивая онкотическое давление интерстиция, «притягивает» воду из сосудистого русла. В результате развивается отек интерстициального пространства, приводящий к сдавлению сосудов микроциркуляторного русла и уменьшению их просвета. Интересно отметить, что нарушение барьевой функции наиболее выражено в посткапиллярных венулах, тогда как в артериолах преобладает нарушение регуляции сосудистого тонуса. В капиллярах также происходит увеличение скорости фильтрации жидкости, что связывают с активацией индуцированной NO-синтазы (iNOS) [31].

Также нельзя забывать, что в фазу ишемии, а затем и в фазу реперфузии эндотелиоциты синтезируют большое количество медиаторов, часть из которых также влияет на проницаемость эндотелия. К таким химическим веществам можно отнести фактор, активирующий тромбоциты, брадикинин, гистамин, газотрансмиттеры (NO, CO, H₂S), которые также повышают сосудистую проницаемость [32].

2. Регуляция сосудистого тонуса

Регуляция величины артериального давления и потока крови осуществляется благодаря интегральному взаимодействию рефлекторного, гуморального и локального механизмов регуляции тонуса сосудов. Одним из локальных механизмов регуляции сосудистого тонуса является эндотелий-зависимая регуляция сократительной активности гладкомышечных клеток артериальных сосудов. В основе этой регуляции лежит способность эндотелиоцитов синтезировать и высвобождать большое количество разнообразных соединений, обладающих вазоактивными свойствами. В нормальных условиях эндотелий поддерживает тонус сосудистой стенки за счет баланса между синтезом вазоконстрикторных и вазодилатирующих факторов. NO, простациклин и эндотелиальный фактор гиперполяризации (EDHF) были идентифицированы как главные факторы релаксации эндотелиального происхождения.

В экспериментальных исследованиях было доказано, что при синдроме ишемии-реперфузии происходит нарушение эндотелий-зависимой NO-опосредованной релаксации сосудистой стенки, при сохранении эндотелий-независимой релаксации, что доказывает развитие дисфункции эндотелия на фоне нормального функционирования гладкомышечных клеток артериол. Причем

данное нарушение связывают с гиперпродукцией АФК эндотелиоцитами и лейкоцитами, так как при использовании супероксид-дисмутазы и других антиоксидантов происходит восстановление опосредованной NO релаксации сосудистой стенки [33]. В механизме нарушения вазодилатации также лежит снижение продукции NO эндотелиальной и нейрональной изоформами NO-синтазы, присутствующими в скелетных мышцах. Нарушение синтеза NO также связано с конкурентным ингибированием NO-синтазы ферментом аргиназой, который уменьшает количество субстрата для синтеза NO. В некоторых исследованиях показана роль NO-синтазы как источника супероксид-аниона в условиях разобщения данного фермента со своим кофактором, тетрагидробиоптерином, [34], что происходит при синдроме ишемии-реперфузии.

При синдроме ишемии-реперфузии важная роль в механизмах повреждения клеток принадлежит еще одной изоформе NO-синтазы – индуцированной NO-синтазе (iNOS). При ее активации NO продуцируется в количествах, тысячекратно превышающих его нормальную продукцию, что приводит к токсическому действию NO на клетки, в том числе и через образование пероксинитрита. Zhu T. в своем исследовании показал, что индуцированная NO-синтаза также запускает процесс гибели клеток [37].

Таким образом, при синдроме ишемии-реперфузии артериолы сужены из-за преобладания выделения сосудосуживающих веществ (эндотелина-1 [38], фактора активации тромбоцитов и тромбоксана A₂) и нарушения процессов релаксации сосудистой стенки.

3. Контроль процессов адгезии и транссосудистой миграции клеток крови

В патогенезе синдрома ишемии-реперфузии важное место занимает острое «стерильное» воспаление, вызываемое повреждением эндотелиоцитов и миоцитов. Данное воспаление провоцируется и поддерживается синтезом провоспалительных цитокинов как самим эндотелием, так и другими клетками, главным образом лейкоцитами, макрофагами и мастоцитами. За счет синтеза хемоатрактантов, таких как фактор активации тромбоцитов, лейкотриен B₄, ИЛ-8, DAMPs, анафилотоксинов C_{3a}, C_{5a}, происходит привлечение большого количества лейкоцитов к месту повреждения [39]. Необходимо отметить, что процессы повышенной адгезии и транссосудистой миграции лейкоцитов осуществляются

исключительно в посткапиллярных венулах [40]. Сам процесс лейкоцитарной миграции состоит из 4 этапов: краевого стояния, так называемого «роллинга» (перекатывания), адгезии и миграции [41]. Процесс миграции лейкоцитов начинается еще в fazu ишемии, однако из-за стаза данный процесс идет очень медленно. В fazu реперфузии возобновление кровотока стимулирует взаимодействие между эндотелиоцитами и лейкоцитами. «Роллинг» осуществляется за счет связывания Р-селектина на поверхности эндотелия, выделяющегося из «телец Вайбеля – Паладе», с гликопротеиновым лигандом Р-селектина-1 на поверхности лейкоцита. Однако данное взаимодействие является непрочным. Третий этап, адгезия, обеспечивает прочное прикрепление лейкоцита к эндотелиоциту и происходит за счет взаимодействия β₂-интегрина CD11a/CD18 на поверхности лейкоцита с эндотелиальной молекулой межклеточной адгезии (ICAM-1), экспрессия которой повышается при активации ядерного фактора NF-kB [42]. Четвертый этап, транссосудистая миграция, обеспечивается за счет молекулы адгезииPECAM-1, которая располагается в области эндотелиальных контактов. После попадания активированного лейкоцита в интерстициальное пространство он начинает выделять АФК, протеазы, которые ведут к повышению сосудистой проницаемости, внеклеточному отеку, тромбозу и гибели клеток [43]. Немаловажную роль в облегченной транссосудистой миграции лейкоцитов играет нарушение барьера функции эндотелия. Таким образом, повреждение посткапиллярных венул выражено намного значительнее, чем других отделов микроциркуляторного русла именно за счет миграции активированных нейтрофилов.

4. Поддержание гемостатических и реологических свойств крови

В нормальных условиях эндотелий обладает как проокоагулянтными, так и антикоагулянтными свойствами.

При синдроме ишемии-реперфузии можно выделить несколько путей, приводящих к формированию тромбов в микроциркуляторном русле: 1) стаз крови в сосудах микроциркуляции; 2) адгезия тромбоцитов к интактному эндотелию, а также к субэндотелиальному слою за счет уменьшения толщины эндотелиального гликокаликса и формирования щелей между эндотелиоцитами; 3) активация тромбоцитов при их адгезии с выделением разнообразных гранул, содержащих

большое количество провоспалительных, протромбогенных и митогенных факторов, таких как фактор активации тромбоцитов, тромбоксан А₂, простагландин Е₂, сфингозин-1-фосфат, серотонин, многочисленные факторы роста (VEGF, ECGF, PDGF, TGF-β, IGF-I) и хемокины лейкоцитов [44]; 4) изменение секретирующего фенотипа эндотелия (выделение тканевого фактора, увеличение образования ингибитора тканевого активатора плазминогена, уменьшение образования тромбомодулина и тканевого активатора плазминогена, уменьшение количества антитромбина III, нарушение сродства эндотелиального рецептора к протеину [45]). Адгезия тромбоцитов к эндотелию происходит за счет взаимодействия GPIba и GPIb-IIIa рецепторов ($\alpha_{IIb}\beta_3$) на поверхности тромбоцита с Р-селектином и витронектин-рецептором ($\alpha_v\beta_3$) со стороны эндотелия с участием фибриногена и фибронектина [44].

В настоящее время в патогенезе синдрома ишемии-реперфузии важная роль отводится деградации эндотелиального гликокаликса (ЭГ),

представляющего собой комплекс разнообразных молекул, связанных с люминальной поверхностью эндотелиоцита и выполняющих многочисленные функции, поддерживающие сосудистый гомеостаз (Максименко, 2014). Эндотелиальный гликокаликс состоит из протеогликанов, гликопротеинов и гиалуронана. Протеогликаны являются опорными структурами для остальных молекул ЭГ и представляют собой вытянутые белковые молекулы, с которыми ковалентно связываются гликозаминогликаны (ГАГ). Важнейшими ГАГ, входящими в состав протеогликанов, являются гепаран-сульфат (ГС), хондроитин-сульфат (ХС), соотношение которых в ЭГ составляет 4:1. Еще одним важным ГАГ является гиалуронан (ГН), связанный с гиаладгерином мембранны эндотелия и образующий гелеподобную подложку, которая стабилизирует вытянутые структуры протеогликанов. Гликопротеины представляют собой мембранные белки, к внеклеточной части которых присоединяются короткие олигосахариды, их углеводная цепь завершается сиаловыми

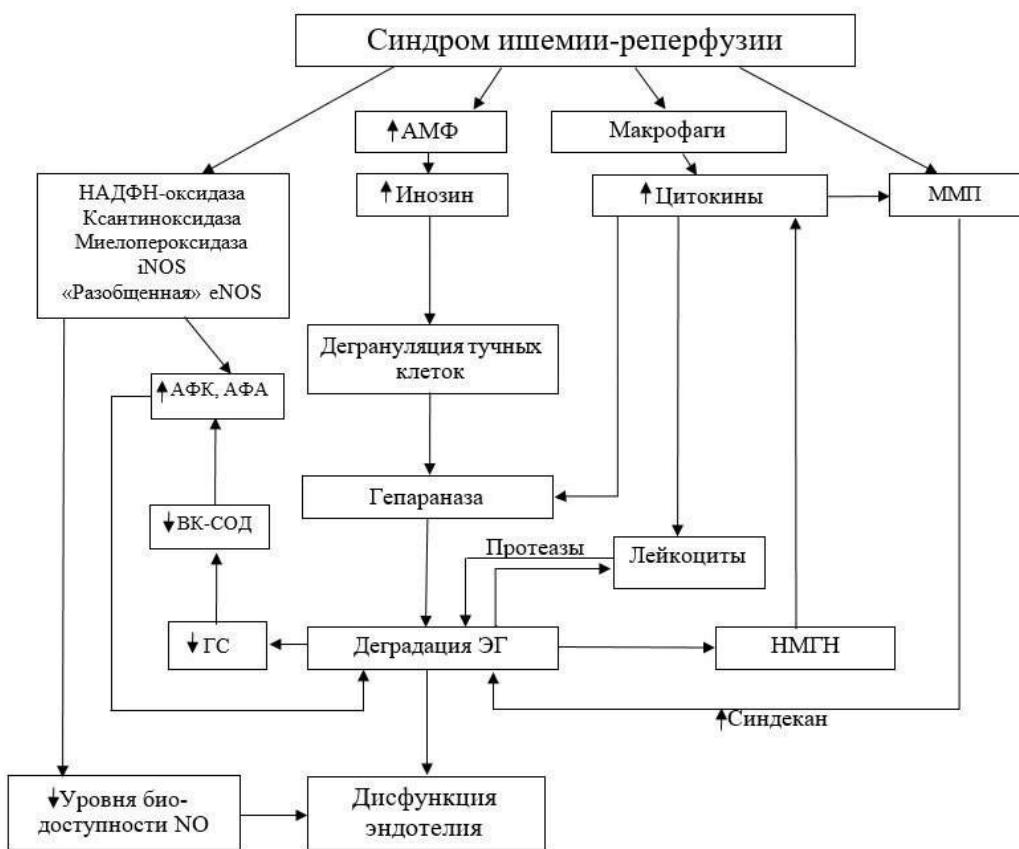


Рисунок – Упрощенный механизм повреждения эндотелиального гликокаликса при синдроме ишемии-реперфузии: АМФ – аденоzinмонофосфат; АФА – активные формы азота; АФК – активные формы кислорода; ВК-СОД – внеклеточная супероксиддисмутаза; ГС – гепаран-сульфат; ММП – матриксы металлопротеиназы; НМГН – низкомолекулярный гиалуронан, ЭГ – эндотелиальный гликокаликс.

Таблица – Маркеры дисфункции эндотелия

NO (нитраты, нитриты)	Тканевый активатор плазминогена
sICAM-1	Тканевый фактор
sVCAM-1	Эндотелин-1
E-, P-селектины	Гомоцистеин
Тромбомодулин	Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF)
Фактор Виллебранда	

кислотами. К важнейшим гликопротеинам относятся интегрины, селектины, тромбомодулин и гликопротеиновый макрокомплекс Ib-IX-V. Эти гликопротеины участвуют в процессах адгезии молекул к сосудистому эндотелию и являются компонентами антикоагулянтной системы эндотелия. В нормальных условиях толщина ЭГ в капиллярах приблизительно равна 500 нм, что превышает высоту молекул клеточной адгезии, и они как бы «замаскированы» от циркулирующих клеток крови, однако при синдроме ишемии-реперфузии происходит деградация ЭГ, что приводит к его истончению, экспозиции молекул клеточной адгезии и связыванию с ними лейкоцитов. Деградация ЭГ также приводит к уменьшению содержания внеклеточной супероксиддисмутазы, связанной с гепаран-сульфатом ЭГ [46]. В целом, механизм деградации ЭГ представлен на рисунке.

Из рисунка видно, что многие факторы, участвующие в деградации ЭГ, взаимно активируют друг друга, образуя «порочные круги» и усиливая процесс деградации гликокаликса. В итоге разрушение ЭГ приводит к дисфункции эндотелия.

Выраженность развивающейся при синдроме ишемии-реперфузии дисфункции эндотелия можно лабораторно оценить по изменению синтеза определенных веществ эндотелиальными клетками. Данные вещества называются «маркерами дисфункции эндотелия» (табл.) [47-50].

Также можно выделить маркеры деградации эндотелиального гликокаликса, концентрация которых многократно увеличивается при синдроме ишемии-реперфузии: синдекан-1, гепаран-сульфат (ГС), гиалуронан (ГН) [46].

Таким образом, дисфункция эндотелия микроциркуляторного русла, развивающаяся в фазу ишемии и усугубляющаяся в фазу реперфузии, ведет к развитию феномена «по-reflow», который характеризуется расстройством перфузии раннее

ишемизированных тканей на микроциркуляторном уровне при восстановленном кровотоке в магистральных сосудах. Дисфункция эндотелия играет важную роль в патогенезе синдрома ишемии-реперфузии и отражает всю многогранность процесса его развития. На основании точного понимания молекулярных и клеточных механизмов развития дисфункции эндотелия необходимо вести поиск терапевтических целей в профилактике ее развития в fazu rеперфузии.

Заключение

Высокая летальность в послеоперационном периоде у пациентов с острой ишемией нижней конечности связана с развитием синдрома ишемии-реперфузии. В основе данного синдрома лежит комплекс взаимосвязанных процессов, приводящих, в итоге, к массовой гибели клеток, несмотря на восстановление кровотока. Ключевым звеном в патофизиологии синдрома ишемии-реперфузии является развивающаяся дисфункция эндотелия, важную роль в появлении которой играет процесс деградации эндотелиального гликокаликса. Выраженность данных процессов можно оценить с помощью маркеров дисфункции эндотелия и деградации эндотелиального гликокаликса. Дальнейшее изучение молекулярных основ патогенеза синдрома ишемии-реперфузии позволит раскрыть и обозначить новые терапевтические стратегии для ликвидации развивающихся патологических процессов при этом синдроме.

Литература

1. Acute limb ischemia / C. Gilliland [et al.] // Tech. Vasc. Interv. Radiol. – 2017 Dec. – Vol. 20, N 4. – P. 274–280. doi:10.1053/j.tvir.2017.10.008
2. Засимович, В. Н. Реперфузионно-реоксигенационный синдром как проблема реконструктивной хирургии ар-

- терий при хронической ишемии нижних конечностей атеросклеротического генеза / В. Н. Засимович, Н. Н. Иоскевич // Новости хирургии. – 2017. – Т. 25, № 6. – С. 632–642.
3. Маршалов, Д. В. Реперфузионный синдром: понятие, определение, классификация / Д. В. Маршалов, А. П. Петренко, И. А. Глушач // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2008. – № 3. – С. 67–72.
 4. Blaisdell, F. W. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review / F. W. Blaisdell // Cardiovasc. Surg. – 2002 Dec. – Vol. 10, N 6. – P. 620–630.
 5. Myocardial reperfusion injury as a New Frontier for Clinical Therapy / D. J. Hausenloy [et al.] // Management of Myocardial Reperfusion Injury / ed.: D. J. Hausenloy [et al.]. – London : Springer; 2012. – P. 3–10.
 6. Patlola, R. R. Acute Ischemic Syndromes of the Peripheral Arteries / R. R. Patlola, C. Walker // Lanzer, P. PanVascular Medicine / P. Lanzer. – 2nd ed. – Berlin : Springer; 2015. – P. 3073–3098.
 7. The effect of ischemia/reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle / T. F. Lindsa [et al.] // J. Vasc. Surg. – 1990 Jul. – Vol. 12, N 1. – P. 8–15.
 8. The effect of prolonged ischemia on high energy phosphate metabolism in skeletal muscle / W. M. Swartz [et al.] // Surg. Gynecol. Obstet. – 1978 Dec. – Vol. 147, N 6. – P. 872–876.
 9. Haljamäe, H. Human skeletal muscle energy metabolism during and after complete tourniquet ischemia / H. Haljamäe, E. Enger // Ann. Surg. – 1975 Jul. – Vol. 182, N 1. – P. 9–14.
 10. Labbe, R. The extent and distribution of skeletal muscle necrosis after graded periods of complete ischemia / R. Labbe, T. Lindsay, P. M. Walker // J. Vasc. Surg. – 1987 Aug. – Vol. 6, N 2. – P. 152–157.
 11. Petrasek, P. F. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle / P. F. Petrasek, S. Homer-Vanniasinkam, P. M. Walker // J. Vasc. Surg. – 1994 Apr. – Vol. 19, N 4. – P. 623–631.
 12. Szydlowska, K. Calcium ischemia and excitotoxicity / K. Szydlowska, M. Tymianski // Cell. Calcium. – 2010 Feb. – Vol. 47, N 2. – P. 122–129.
 13. Mitochondria: the calcium connection / L. Contreras [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2010 Jun-Jul. – Vol. 1797, N 6/7. – P. 607–618.
 14. Mitochondrial Dysfunction and Myocardial Ischemia-Reperfusion: Implications for Novel Therapies / E. J. Lesniewsky [et al.] // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2017 Jan. – Vol. 57. – P. 535–565.
 15. Andrews, N. W. Damage Control: Cellular Mechanisms of Plasma Membrane Repair / N. W. Andrews, P. E. Almeida, M. Corrotte // Trends Cell. Biol. – 2014 Dec. – Vol. 24, N 12. – P. 734–742.
 16. Granger, D. N. Physiology of reperfusion injury / D. N. Granger, S. Homer-Vanniasinkam // White, R. A. Vascular Surgery: Basic Science and Clinical Correlations / R. A. White, L. H. Hollier. – 2nd ed. – Oxford : Blackwell Publishing; 2005. – P. 245–250.
 17. Superoxide scavengers augment contractile but not energetic responses to hypoxia in rat diaphragm / V. P. Wright [et al.] // J. Appl. Physiol. – 2005 May. – Vol. 98, N 5. – P. 1753–1760.
 18. Bernardi, P. The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection / P. Bernardi, F. Di Lisa // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2015 Jan. – Vol. 78. – P. 100–106.
 19. Biphasic modulation of the mitochondrial electron transport chain in myocardial ischemia and reperfusion / H. L. Lee [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2012 Apr. – Vol. 302, N 7. – P. H1410–H1422.
 20. Биленко, М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов: (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения) / М. В. Биленко. – М. : Медицина, 1989. – 368 с.
 21. Oxidative and nitrosative stress during pulmonary ischemia-reperfusion injury: from the lab to the OR / J. F. Gielis [et al.] // Ann. Trans. Med. – 2017 Mar. – Vol. 5, N 6. – P. 131.
 22. Toll-like receptors: new players in myocardial ischemia-reperfusion injury / T. Ha [et al.] // Antioxid. Redox. Signal. – 2011 Oct. – Vol. 15, N 7. – P. 1875–1893.
 23. Granger, D. N. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept / D. N. Granger, P. R. Kvietys // Redox. Biology. – 2015 Dec. – Vol. 6. – P. 524–551.
 24. Halestrap, A. P. A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection / A. P. Halestrap // Biochem. Soc. Trans. – 2010 Aug. – Vol. 38, N 4. – P. 841–860.
 25. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion / G. Loor [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2011 Jul. – Vol. 1813, N 7. – P. 1382–1394.
 26. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury / M. Y. Wu [et al.] // Cell. Physiol. Biochem. – 2018. – Vol. 46, N 4. – P. 1650–1667.
 27. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation / Y. S. Cho [et al.] // Cell. – 2009 Jun. – Vol. 137, N 6. – P. 1112–1123.
 28. Regulation of mitochondrial respiration and apoptosis through cell signaling: cytochrome c oxidase and cytochrome c in ischemia/reperfusion injury and inflammation / M. Hüttemann [et al.] // Biochim. Biophys. Acta. – 2012 Apr. – Vol. 1817, N 4. – P. 598–609.
 29. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation / P. Kumar [et al.] // Expert Rev. Mol. Med. – 2009 Jun. – Vol. 11. – P. e19.
 30. Cell biology of ischemia/reperfusion injury / T. Kalogeris [et al.] // Int. Rev. Cell. Mol. Biol. – 2012. – Vol. 298. – P. 229–317.
 31. Evaluation of iNOS-dependent and independent mechanisms of the microvascular permeability change induced by lipopolysaccharide / E. Fujii [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2000 May. – Vol. 130, N 1. – P. 90–94.
 32. Moody, B. F. Emergent role of gasotransmitters in ischemia-reperfusion injury / B. F. Moody, J. W. Calvert // Med. Gas Res. – 2011 Apr. – Vol. 1, N 1. – P. 3.
 33. Harrison, D. G. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction / D. G. Harrison // J. Clin. Invest. – 1997 Nov. – Vol. 100, N 9. – P. 2153–2157.
 34. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling / S. Luo [et al.] // Curr. Pharm. Des. – 2014. – Vol. 20, N 22. – P. 3548–3553.
 35. Parish, J. M. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease / J. M. Parish, V. K. Somers // Mayo Clin. Proc. – 2004 Aug. – Vol. 79, N 8. – P. 1036–1046.
 36. Intermittent hypoxia conditioning prevents endothelial dysfunction and improves nitric oxide storage in

- spontaneously hypertensive rats / E. B. Manukhina [et al.] // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2011 Jul. – Vol. 236, N 7. – P. 867–873.
37. iNOS Induces Vascular Endothelial Cell Migration and Apoptosis Via Autophagy in Ischemia/Reperfusion Injury / T. Zhu [et al.] // Cell. Physiol. Biochem. – 2016. – Vol. 38, N 4. – P. 1575–1588.
 38. Huribal, M. Role of Endothelin in Ischemia-Reperfusion Injury / M. Huribal, M. A. McMillen // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1994 Jun. – Vol. 723. – P. 484–485.
 39. Phillipson, M. The neutrophil in vascular inflammation / M. Phillipson, P. Kubes // Nat. Med. – 2011 Nov. – Vol. 17, N 11. – P. 1381–1390.
 40. Granger, D. N. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease / D. N. Granger // Microcirculation. – 1999 Sep. – Vol. 6, N 3. – P. 167–178.
 41. Springer, T. A. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm / T. A. Springer // Cell. – 1994 Jan. – Vol. 76, N 2. – P. 301–314.
 42. Activation of NF- κ B and Expression of ICAM-1 in Ischemic-reperfused Canine Myocardium / B. Sun [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2001 Jan. – Vol. 33, N 1. – P. 109–119.
 43. Carden, D. L. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury / D. L. Carden, D. N. Granger // J. Pathol. – 2000 Feb. – Vol. 190, N 3. – P. 255–266.
 44. Thromboinflammatory Functions of Platelets in Ischemia-
 - Reperfusion Injury and Its Dysregulation in Diabetes / S. Maiocchi [et al.] // Semin. Thromb. Hemost. – 2018 Mar. – Vol. 44, N 2. – P. 102–113.
 45. Mohan Rao, L. V. Endothelial cell protein C receptor: a multiliganded and multifunctional receptor / L. V. Mohan Rao, C. T. Esmon, U. R. Pendurthi // Blood. – 2014 Sep. – Vol. 124, N 10. – P. 1553–1562.
 46. Sieve, I. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases / I. Sieve, A. K. Münster-Kühnel, D. Hilfiker-Kleiner // Vascul. Pharmacol. – 2018 Jan. – Vol. 100. – P. 26–33.
 47. Altered Endothelin-1 Levels in Acute Lower Limb Ischemia and Reperfusion / J. C. Tsui [et al.] // Angiology. – 2004 Sep-Oct. – Vol. 55, N 5. – P. 533–539.
 48. Direct relationship between levels of TNF α expression and endothelial dysfunction in reperfusion injury / C. Zhang [et al.] // Basic Res. Cardiol. – 2010 Jul. – Vol. 105, N 4. – P. 453–464.
 49. Lindsberg, P. J. Mast Cell as an Early Responder in Ischemic Brain Injury / P. J. Lindsberg, O. S. Mattila, D. Strbian // Non-Neuronal Mechanisms of Brain Damage and Repair After Stroke / ed.: J. Chen, J. Zhang, X. Hu. – Switzerland : Springer; 2016. – P. 255–272.
 50. ADAMTS13 deficiency exacerbates VWF-dependent acute myocardial ischemia/reperfusion injury in mice / C. Gandhi [et al.] // Blood. – 2012 Dec. – Vol. 120, N 26. – P. 5224–5230.

Поступила 08.02.2018 г.

Принята в печать 29.11.2018 г.

References

1. Gilliland C, Shah J, Martin JG, Miller MJ Jr. Acute limb ischemia. Tech Vasc Interv Radiol. 2017 Dec;20(4):274-80. doi: 10.1053/j.tvir.2017.10.008
2. Zasimovich VN, Ioskevich NN. Reperfusion-reoxygenation syndrome as a problem of reconstructive surgery of arteries in chronic lower limb ischemia of atherosclerotic origin. Novosti Khirurgii. 2017;25(6):632-42. doi: 10.18484/2305-0047.2017.6.632. (In Russ.)
3. Marshalov DV, Petrenko AP, Glushach IA. Reperfusion syndrome: concept, definition, classification. Patologiya Krovoobrashcheniya Kardiokhirurgii. 2008;(3):67-72. (In Russ.)
4. Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. Cardiovascular Surgery. 2002 Dec;10(6):620-30. doi: 10.1016/S0967-2109(02)00070-4
5. Hausenloy DJ, Kaski JC, Gersh BJ, Yellon DM. Myocardial reperfusion injury as a New Frontier for Clinical Therapy. In: Hausenloy DJ, Kaski JC, Gersh BJ, Yellon DM, editors. Management of Myocardial Reperfusion Injury. London: Springer; 2012. P. 3-10. doi: 10.1007/978-1-84996-019-9_1
6. Patlola RR, Walker C. Acute Ischemic Syndromes of the Peripheral Arteries. In: Lanzer P. PanVascular Medicine. 2nd ed. Berlin Heidelberg: Springer; 2015. P. 3073-98.
7. Lindsay TF, Liauw S, Romaschin AD, Walker PM. The effect of ischemia/reperfusion on adenine nucleotide metabolism and xanthine oxidase production in skeletal muscle. J Vasc Surg. 1990 Jul;12:8-15. doi: 10.1016/0741-5214(90)90360-M
8. Swartz WM, Cha CJ, Clowes GH Jr, Randall HT. The effect of prolonged ischemia on high energy phosphate metabolism in skeletal muscle. Surg Gynecol Obstet. 1978 Dec;147(6):872-6.
9. Haljamäe H, Enger E. Human skeletal muscle energy metabolism during and after complete tourniquet ischemia. Ann Surg. 1975 Jul;182(1):9-14.
10. Labbe R, Lindsay T, Walker PM. The extent and distribution of skeletal muscle necrosis after graded periods of complete ischemia. J Vasc Surg. 1987 Aug;6(2):152-7. doi: 10.1067/mva.1987.avso0060152
11. Petrasek PF, Homer-Vanniasinkam S, Walker PM. Determinants of ischemic injury to skeletal muscle. J Vasc Surg. 1994 Apr;19(4):623-31. doi: 10.1016/S0741-5214(94)70035-4
12. Szydlowska K, Tymianski M. Calcium ischemia and excitotoxicity. Cell Calcium. 2010 Feb;47(2):122-9. doi: 10.1016/j.ceca.2010.01.003
13. Contreras L, Drago I, Zampese E, Pozzan T. Mitochondria: the calcium connection. Biochim Biophys Acta. 2010 Jun-Jul;1797(6-7):607-18. doi: 10.1016/j.bbabi.2010.05.005
14. Lesnfsky EJ, Chen Q, Tandler B, Hoppel CL. Mitochondrial Dysfunction and Myocardial Ischemia-Reperfusion: Implications for Novel Therapies. Annual Review of Pharmacology and Toxicology. 2017 Jan;57:535-65. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010715-103335
15. Andrews NW, Almeida PE, Corrotte M. Damage Control: Cellular Mechanisms of Plasma Membrane Repair. Trends in Cell Biology. 2014 Dec;24(12):734-42. doi: 10.1016/j.tcb.2014.07.008
16. Granger DN, Homer-Vanniasinkam S. Physiology of reperfusion injury. In: White RA, Hollier LH. Vascular Surgery: Basic Science and Clinical Correlations, 2nd Edition. Oxford: Blackwell Publishing; 2005. P. 245-50.

17. Wright VP, Klawitter PF, Iscru DF, Merola AJ, Clanton TL. Superoxide scavengers augment contractile but not energetic responses to hypoxia in rat diaphragm. *J Appl Physiol.* 2005 May;98(5):1753-60. doi: 10.1152/japplphysiol.01022.2004
18. Bernardi P, Di Lisa F. The mitochondrial permeability transition pore: Molecular nature and role as a target in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol.* 2015 Jan;78:100-6. doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.09.023
19. Lee H-L, Chen C-L, Yeh ST, Zweier JL, Chen Y-R. Biphasic modulation of the mitochondrial electron transport chain in myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2012 Apr;302(7):H1410-22. doi: 10.1152/ajpheart.00731.2011
20. Bilenko MV. Ischemic and reperfusion injuries of organs: (molecular mechanisms, ways of prevention and treatment). Moscow, RF: Meditsina; 1989. 368 p. (In Russ.)
21. Gielis JF, Beckers PAJ, Briedé JJ, Cos P, Van Schil PE. Oxidative and nitrosative stress during pulmonary ischemia-reperfusion injury: from the lab to the OR. *Ann Transl Med.* 2017 5(6):131. doi: 10.21037/atm.2017.03.32
22. Ha T, Liu L, Kelley J, Kao R, Williams D, Li C. Toll-like receptors: new players in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Antioxid Redox Signal.* 2011 Oct;15(7):1875-93. doi: 10.1089/ars.2010.3723
23. Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: the evolution of a concept. *Redox Biology.* 2015 Dec;6:524-51. doi: 10.1016/j.redox.2015.08.020
24. Halestrap AP. A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection. *Biochem Soc Trans.* 2010 Aug;38(4):841-60. doi: 10.1042/BST0380841
25. Loor G, Kondapalli J, Iwase H, Chandel NS, Waypa GB, Guzy RD, et al. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion. *Biochim Biophys Acta.* 2011 Jul;1813(7):1382-94. doi: 10.1016/j.bbamcr.2010.12.008
26. Wu MY, Yang GT, Liao WT, Tsai AP, Cheng YL, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem.* 2018;46(4):1650-67. doi: 10.1159/000489241
27. Cho YS, Challal S, Moquin D, Genga R, Ray TD, Guildford M, et al. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation. *Cell.* 2009 Jun;137(6):1112-23. doi: 10.1016/j.cell.2009.05.037
28. Hüttemann M, Helling S, Sanderson TH, Sinkler C, Samavati L, Mahapatra G, et al. Regulation of mitochondrial respiration and apoptosis through cell signaling: cytochrome c oxidase and cytochrome c in ischemia/reperfusion injury and inflammation. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Apr;1817(4):598-609. doi: 10.1016/j.bbabi.2011.07.00
29. Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, Lee ES, Wu MH, Yuan SY. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation. *Expert Rev Mol Med.* 2009 Jun;11:e19. doi: 10.1017/S1462399409001112
30. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell Biology of Ischemia/Reperfusion Injury. *Int Rev Cell Mol Biol.* 2012;298:229-317. doi: 10.1016/B978-0-12-394309-5.00006-7
31. Fujii E, Yoshioka T, Ishida H, Irie K, Muraki T. Evaluation of iNOS-dependent and independent mechanisms of the microvascular permeability change induced by lipopolysaccharide. *Br J Pharmacol.* 2000 May;130(1):90-4. doi: 10.1038/sj.bjp.0703277
32. Moody BF, Calvert JW. Emergent role of gasotransmitters in ischemia-reperfusion injury. *Med Gas Res.* 2011 Apr;1(1):3. doi: 10.1186/2045-9912-1-3
33. Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest.* 1997 Nov;100(9):2153-7. doi: 10.1172/JCI119751
34. Luo S, Lei H, Qin H, Xia Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Curr Pharm Des.* 2014;20(22):3548-53. doi: 10.2174/13816128113196660746
35. Parish JM, Somers VK. Obstructive sleep apnea and cardiovascular disease. *Mayo Clin Proc.* 2004 Aug;79(8):1036-46. doi: 10.4065/79.8.1036
36. Manukhina EB, Jasti D, Vanin AF, Downey HF. Intermittent hypoxia conditioning prevents endothelial dysfunction and improves nitric oxide storage in spontaneously hypertensive rats. *Exp Biol Med (Maywood).* 2011 Jul;236(7):867-73. doi: 10.1258/ebm.2011.011023
37. Zhu T, Yao Q, Wang W, Yao H, Chao J. iNOS Induces Vascular Endothelial Cell Migration and Apoptosis Via Autophagy in Ischemia/Reperfusion Injury. *Cell Physiol Biochem.* 2016;38(4):1575-88. doi: 10.1159/000443098
38. Huribal M, McMillen MA. Role of Endothelin in Ischemia-Reperfusion Injury. *Ann N Y Acad Sci.* 1994 Jun;723:484-5. doi: 10.1111/j.1749-6632.1994.tb36784.x
39. Phillipson M, Kubis P. The neutrophil in vascular inflammation. *Nat Med.* 2011 Nov;17(11):1381-90. doi: 10.1038/nm.2514
40. Granger DN. Ischemia-reperfusion: mechanisms of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation.* 1999 Sep;6(3):167-78.
41. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell.* 1994 Jan;76(2):301-14. doi: 10.1016/0092-8674(94)90337-9
42. Sun B, Fan H, Honda T, Fujimaki R, Lafond-Walker A, Masui Y, et al. Activation of NF- κ B and Expression of ICAM-1 in Ischemic-reperfused Canine Myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 2001 Jan;33(1):109-19. doi: 10.1006/jmcc.2000.1280
43. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol.* 2000 Feb;190(3):255-66. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6
44. Maiocchi S, Alwis I, Wu MCL, Yuan Y, Jackson SP. Thromboinflammatory Functions of Platelets in Ischemia-Reperfusion Injury and Its Dysregulation in Diabetes. *Semin Thromb Hemost.* 2018 Mar;44(2):102-13. doi: 10.1055/s-0037-1613694
45. Mohan Rao LV, Esmon CT, Pendurthi UR. Endothelial cell protein C receptor: a multiliganded and multifunctional receptor. *Blood.* 2014;124(10):1553-1562. doi: 10.1182/blood-2014-05-578328
46. Sieve I, Münster-Kühnel AK, Hilfiker-Kleiner D. Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. *Vascul Pharmacol.* 2018 Jan;100:26-33. doi: 10.1016/j.vph.2017.09.002
47. Tsui JC, Baker DM, Biecker E, Shaw S, Dashwood MR. Altered Endothelin-1 Levels in Acute Lower Limb Ischemia and Reperfusion. *Angiology.* 2004 Sep-Oct;55(5):533-9. doi: 10.1177/000331970405500509
48. Zhang C, Wa J, Xu X, Potter BJ, Gao X. Direct relationship

- between levels of TNF α expression and endothelial dysfunction in reperfusion injury. Basic Res Cardiol. 2010 Jul;105(4):453-64. doi: 10.1007/s00395-010-0083-6
49. Lindsberg PJ, Mattila OS, Strbian D. Mast Cell as an Early Responder in Ischemic Brain Injury. In: Chen J, Zhang J, Hu X, editors. Non-Neuronal Mechanisms of Brain Damage and Repair After Stroke. Switzerland: Springer; 2016. P. 255-72.
doi: 10.1007/978-3-319-32337-4_13
50. Gandhi C, Motto DG, Jensen M, Lentz SR, Chauhan AK. ADAMTS13 deficiency exacerbates VWF-dependent acute myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. Blood. 2012 Dec;120(26):5224-30. doi: 10.1182/blood-2012-06-440255

Submitted 08.02.2018
Accepted 29.11.2018

Сведения об авторах:

Небылицин Ю.С. – к.м.н., доцент, заведующий отделением пластической хирургии и косметологии, Клиника Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета;
Лазуко С.С. – к.б.н., доцент, заведующая кафедрой нормальной физиологии, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет;
Кутько Е.А. – студент 6-го курса лечебного факультета, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

Nebylitsin Y.S. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, head of the department of plastic surgery & cosmetology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University Clinic;
Lazuko S.S. – Candidate of Biological Sciences, associate professor, head of the Chair of Normal Physiology, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University;
Kut'ko E.A. – the sixth-year medical student, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210039, г. Витебск, пр. Победы, 20, Клиника Витебского государственного медицинского университета, отделение пластической хирургии и косметологии. E-mail: nebylicin.uravgm@mail.ru – Небылицин Юрий Станиславович.

Correspondence address: Republic of Belarus, 210039, Vitebsk, 20 Pobedy ave., Vitebsk State Medical University Clinic, the department of plastic surgery & cosmetology. E-mail: nebylicin.uravgm@mail.ru – Yuriy S. Nebylitsin.