

УДК 613.632:615.36
© Коллектив авторов

МЕХАНИЗМЫ СНИЖЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ИШЕМИЗИРОВАННОГО СЕРДЦА С ПОМОЩЬЮ МОДИФИЦИРОВАННОЙ РЕПЕРФУЗИИ

О.И. Писаренко, И.М. Студнева, В.С. Шульженко, А.А. Тимошин*

ФГУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс
Росздрава, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул. 15А, факс: (495)149-0559;
эл. почта: olpi@cardio.ru

На модели ишемического и реперфузионного стресса сердца крысы изучены механизмы снижения повреждений мембран и нарушений в метаболизме постишемических миоцитов с помощью модифицирования ранней стадии реперфузии. Оптимизация состава реперфузионного перфузата улучшали восстановление насосной и сократительной функции сердца. Это сочеталось со снижением выведения в миокардиальный отток лактатдегидрогеназы и систем, генерирующих короткоживущие активные формы кислорода, более эффективным восстановлением окислительного обмена и уменьшением потерь внутриклеточных пулов общего креатина и аминокислот. Результаты свидетельствуют о перспективности коррекции постишемических функциональных и метаболических нарушений сердца с помощью контролируемой реперфузии.

Ключевые слова: реперфузия сердца, макроэргические фосфаты, аминокислоты, активные формы кислорода, мембраны миоцитов.

ВВЕДЕНИЕ. Основными факторами реперфузионного повреждения миокарда являются изменения в энергетическом обеспечении миокардиальных клеток, нарушения внутриклеточного ионного гомеостаза и генерация активных форм кислорода (АФК). Воздействие этих факторов на ишемизированный миокард способно ингибировать окислительное фосфорилирование, повреждать структуру митохондриальных и плазматических мембран, вызывать контрактуру миофибрилл, быть причиной феномена “no-reflow” (отсутствию восстановления кровотока) и гибели кардиомиоцитов [1-3]. В соответствии с этими представлениями ведется поиск кардиопротекторов, обладающих свойствами стабилизаторов мембран, антиоксидантов и метаболических корректоров. Исследования последних лет по оптимизации составов реперфузионных средств привели к заключению о том, что они должны содержать низкие концентрации ионов Ca^{2+} , включать метаболиты, обеспечивающие образование АТФ и обладать высокой буферной емкостью для снижения закисления внутриклеточного pH [4-6].

* - адресат для переписки

Ранее нами было показано, что внутривенное введение крысам “забуференного” трисамином раствора L-Asp с D-глюкозой и D-маннитом после окклюзии коронарной артерии уменьшает размеры инфаркта миокарда у крыс [7]. Целью настоящей работы было изучение механизмов защитного действия комбинации этих соединений в составе реперфузионного раствора на модели изолированного сердца крысы. Мы предположили, что D-глюкоза и L-Asp, включающиеся в анаэробное и аэробное образование АТФ и GTP в цитозоле и митохондриях, способны улучшать энергетическое состояние реперфузированного сердца; D-маннит (перехватчик свободных радикалов кислорода) - уменьшать генерацию АФК; а регулятор тканевого pH трисамин – предотвращать развитие тканевого ацидоза. Дополнительно нами были оптимизированы pH, ионный состав и подобрана скорость введения реперфузионного перфузата (РП). Эффективность защиты постишемического сердца оценивали по восстановлению сократительной и насосной функции при реперфузии после ишемии. Она была сопоставлена с маркерами образования АФК и повреждениями сарколеммы миоцитов, а также с внутриклеточными пулами субстратов энергетического и азотистого обмена на разных этапах реперфузии.

МЕТОДИКА. *Экспериментальный протокол.* Опыты выполнены на изолированных сердцах крыс Wistar массой 360 ± 6 г. У наркотизированных уретаном животных ($1,25$ мг на г массы тела внутривенно) извлекали сердца и помещали в охлажденный раствор Кребса на 30-40 сек до полной остановки сокращений. Затем их ретроградно перфузировали в течение 10-15 мин раствором Кребса, насыщенным карбогеном ($95\% \text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$) при 37°C и постоянном перфузионном давлении 60 мм рт.ст. Состав перфузионного раствора Кребса был следующим (в мМ): NaCl – 118,0; KCl – 4,7; CaCl_2 – 3,0; MgSO_4 – 1,2; KH_2PO_4 – 1,2; Na_2EDTA – 0,5; NaHCO_3 – 25,0; глюкоза – 11,0; pH $7,4 \pm 0,1$ при 37°C . После этого в левое предсердие вводили канюлю и переходили к антеградной перфузии по Neely при постоянном давлении наполнения левого предсердия 15 мм рт.ст. и среднем перфузионном давлении в аорте 60 мм рт.ст. После стабилизации функции левого желудочка в этом режиме в течение 15-20 мин (исходное состояние) сердца подвергали 30-мин нормотермической (37°C) тотальной ишемии [7].

Далее сердца контрольной группы реперфузировали в течение 5 мин ретроградно с постоянной скоростью $3,1 \pm 0,1$ мл/мин раствором Кребса неаэрируемым карбогеном (pH $7,5 \pm 0,1$) при 22°C , а затем стандартным оксигенированным раствором Кребса в течение 25 мин антеградно по Neely при постоянном давлении наполнения левого предсердия 15 мм рт.ст., перфузионном давлении в аорте 60 мм рт.ст. и при 37°C . Опытную группу сердец реперфузировали первые 5 мин ретроградно со скоростью $3,1 \pm 0,1$ мл/мин реперфузионным перфузатом (РП) при 22°C . В его состав, помимо необходимых для перфузии изолированных сердец неорганических солей, были добавлены L-Asp, D-маннит и D-глюкоза. РП был забуферен трисамином (pH $7,5 \pm 0,1$ при 22°C). Состав РП был следующим (в мМ): Na^+ – 144,0; K^+ – 4,7; Ca^{2+} – 1,2; Mg^{2+} – 1,2; трисамин – 10,0; L-Asp – 20,0; D-глюкоза – 20,0; D-маннит – 36,0. Последующие 25 мин сердца опытной группы реперфузировали антеградно оксигенированным раствором Кребса при 37°C в тех же условиях, что и сердца контрольной группы. Таким образом, основные различия между группами заключались во включении в состав РП L-Asp, D-маннита и D-глюкозы. Ионный состав, pH, осмолярность, температура и насыщение кислородом солевых растворов, которые использовали на стадии ранней реперфузии в обеих группах, были практически одинаковыми.

Давление в аорте, в полости левого желудочка и частоту сокращений сердца (ЧСС) регистрировали при помощи тензометрических датчиков Р 50, монитора SP 1405 и регистратора SP 2010 Gould Statham. Интенсивность сократительной функции левого желудочка характеризовали произведением развиваемого давления (разности между систолическим и диастолическим давлением) и ЧСС. Насосную функцию левого желудочка оценивали по внешней

работе (произведению минутного объема на перфузионное давление) и ударному объему (отношению минутного объема к ЧСС). Минутный объем определяли по сумме коронарного потока и аортального объема. Коронарное сопротивление оценивали как отношение среднего перфузионного давления в аорте к коронарному потоку.

Оценка метаболического состояния сердца. В отдельных сериях опытов по окончании исходного состояния, периода тотальной ишемии и реперфузии сердца замораживали щипцами Волленбергера, охлажденными в жидком азоте. Замороженную ткань гомогенизировали в холодной 6 % HClO_4 (10 мл/г ткани) с помощью гомогенизатора Ultra-Turrax T-25 "IKA-Labortechnik", (Германия). Белки осаждали центрифугированием при 3000 g и 4°C в течение 10 мин. Супернатанты нейтрализовали 5 M K_2CO_3 до pH 7,4. Осадок KClO_4 отделяли центрифугированием в тех же условиях. Безбелковые экстракты хранили при -20°C до определения метаболитов. Сухие веса образцов определяли взвешиванием части ткани после экстракции HClO_4 и высушивания при 110°C в течение ночи [8]. АТФ и фосфокреатин (ФКр) в тканевых экстрактах определяли спектрофотометрически, используя глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, гексокиназу и креатинкиназу [9]. Для определения креатина использовали сопряженные реакции с креатинкиназой, пируваткиназой и лактатдегидрогеназой [10]. Общий креатин рассчитывали как $\Sigma \text{Кр} = \text{ФКр} + \text{Кр}$. Лактат определяли с помощью лактатдегидрогеназы [11]. Glu определяли энзиматически с помощью глутаматдегидрогеназы [12], Asp – с использованием аспартатаминотрансферазы и малатдегидрогеназы [13]. Содержание метаболитов выражали в мкмоль/г сух. веса.

Регистрация активных форм кислорода (АФК) в перфузате. Оттекающий от сердца перфузат собирали в течение 1-й, 3-й, 5-й и 10-й минут реперфузии в охлажденные льдом пробирки. После добавления к аликвотам перфузатов спиновой ловушки 5,5-диметил-1-пирролин-N-оксид (ДМПО) до конечной концентрации 100 мМ их замораживали и хранили в жидком азоте до регистрации спектров ЭПР. Спектры ЭПР регистрировали на спектрометре X-диапазона типа E-109E фирмы "Varian" (США) на уровне СВЧ-мощности 10 МВт; частота СВЧ-поля спектрометра составляла 9,15 ГГц [8].

Определение активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в миокардиальном оттоке. Перфузат собирали последовательными фракциями по 5 мин в течение первых 10 мин реперфузии в охлажденные льдом пробирки. Активность ЛДГ во фракциях определяли немедленно после их получения на спектрофотометре Yanako UO-2000, используя в качестве субстрата пируват, по методу [14].

Статистическая обработка. Использовали *t*-критерий Стьюдента; различия между величинами показателей считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. *Сократительная и насосная функция сердца.* Средние значения показателей сократительной и насосной функции сердца в исходном состоянии для обеих групп и влияние РП на их восстановление после 10-ой и 30-ой мин реперфузии представлены в таблице 1. Применение РП в течение первых 5 мин реперфузии значительно улучшало восстановление функции сердца на ранней реперфузии. Этот эффект сохранялся до окончания реперфузии.

Выведение ЛДГ в перфузат во время реперфузии. Активность цитоплазматической ЛДГ в оттекающем от сердца перфузате, собранном за первые 5 мин реперфузии, была в 1,4 раза ниже в группе РП по сравнению с контролем (рис. 1). Тенденция к снижению активности ЛДГ в миокардиальном оттоке группы сердец, защищенных РП, сохранялась в течение последующих 5 мин реперфузии. В результате общий выход ЛДГ, оцененный по активности фермента в перфузате, в течение первых 10 мин реперфузии составил $105,03 \pm 12,15$ и $85,88 \pm 10,14$ МЕ/г сухой ткани в контроле и группе РП, соответственно.

ИШЕМИЯ СЕРДЦА И МОДИФИЦИРОВАННАЯ РЕПЕРFUЗИЯ

Таблица 1. Влияние введения реперфузионного перфузата (РП) на восстановление показателей сократительной и насосной функции ишемизированного сердца крысы при реперфузии.

Исходное состояние	10 мин реперфузии, % к исходному		30 мин реперфузии, % к исходному	
	контроль	РП	контроль	РП
Систолическое давление, 109 ± 1 мм рт.ст.	44±1	86±1 ^а	65±1	77±1 ^а
Диастолическое давление, -5 ± 1 мм рт.ст.	445±16	230±8 ^а	365±19	301±11 ^а
Развиваемое давление, 113 ± 1 мм рт.ст.	28±1	82±1 ^а	53±1	69±1 ^а
Частота сердечных сокращений, 278 ± 2 уд./мин	62±2	103±2 ^а	83±3	85±2
Интенсивность сократительной функции, 30266 ± 396 мм рт.ст./мин	16±1	88±3 ^а	49±2	60±2 ^а
Коронарный поток, 15 ± 1 мл/мин	96±2	100±1 ^а	89±2	90±2
Минутный объем, 43 ± 1 мл/мин	0	78±1 ^а	34±5	63±1 ^а

Примечание: Представлены средняя величина ± ошибка средней для серий из 20 опытов и выражены в абсолютных единицах для исходного состояния и в % к исходному значению для реперфузии. Интенсивность сократительной функции рассчитывали как произведение ЧСС на развиваемое давление. Достоверно отличается от контроля: а – p<0,05.

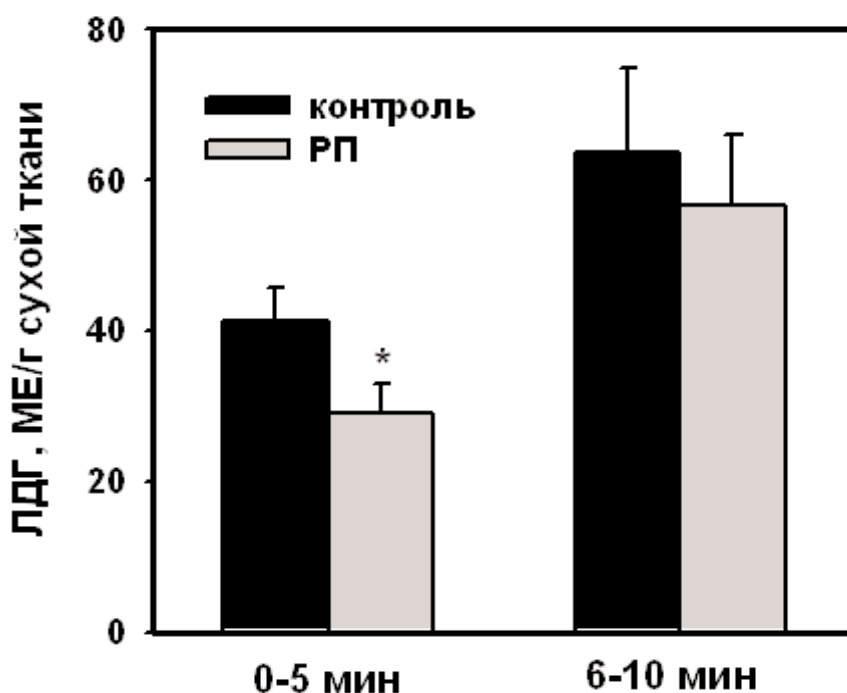


Рисунок 1.

Влияние РП на активность ЛДГ в перфузате изолированного сердца крысы на стадии ранней реперфузии.

Представлены средняя величина ± ошибка средней для серии из 10 опытов.

* - Достоверно отличается от контроля (p<0,05).

Существенно, что коронарный поток при реперфузии в течение первых 5 мин в ретроградном режиме составлял в среднем $3,1 \pm 0,1$ мл/мин в обеих группах, но при переходе к реперфузии по Neely восстанавливался более эффективно при использовании РП. Так, с 6-ой по 10-ю мин реперфузии средняя скорость коронарного потока в группе сердец, реперфузированных РП, составила $19,5 \pm 1,2$ мл/мин по сравнению с $7,7 \pm 0,3$ мл/мин за тот же период в контроле ($p < 0,01$). Однако, под влиянием увеличенного в 2,5 раза потока возрастания выведения ЛДГ из постишемических миоцитов не происходило, что свидетельствует о меньших повреждениях мембран миоцитов при использовании РП.

Образование АФК на ранней реперфузии. В спектрах ЭПР перфузатов регистрировали появление четырёх узких эквидистантных компонентов с соотношением интенсивностей, равным 1:2:2:1, соответствующих спиноному аддукту ДМПО-ОН, образующемуся при взаимодействии молекул ДМПО и короткоживущих токсичных гидроксильных радикалов. Кроме того, ДМПО-ОН мог быть образован в перфузате при спонтанном распаде нестабильного аддукта ДМПО-ООН, образующегося в результате взаимодействия ДМПО и супероксидных радикалов [15]. Интенсивность выхода в перфузат систем, генерирующих АФК, из сердец была ниже при введении РП, чем в контроле, причем достоверно меньше на 5-ой мин реперфузии (рис. 2). На 10-ой мин реперфузии в антеградном режиме по Neely этот показатель в опытной группе был также ниже, чем в контроле, несмотря на лучшее восстановление коронарного потока. Эти данные свидетельствуют о снижении выведения систем, генерирующих АФК, из постишемических сердец в перфузат под действием РП.

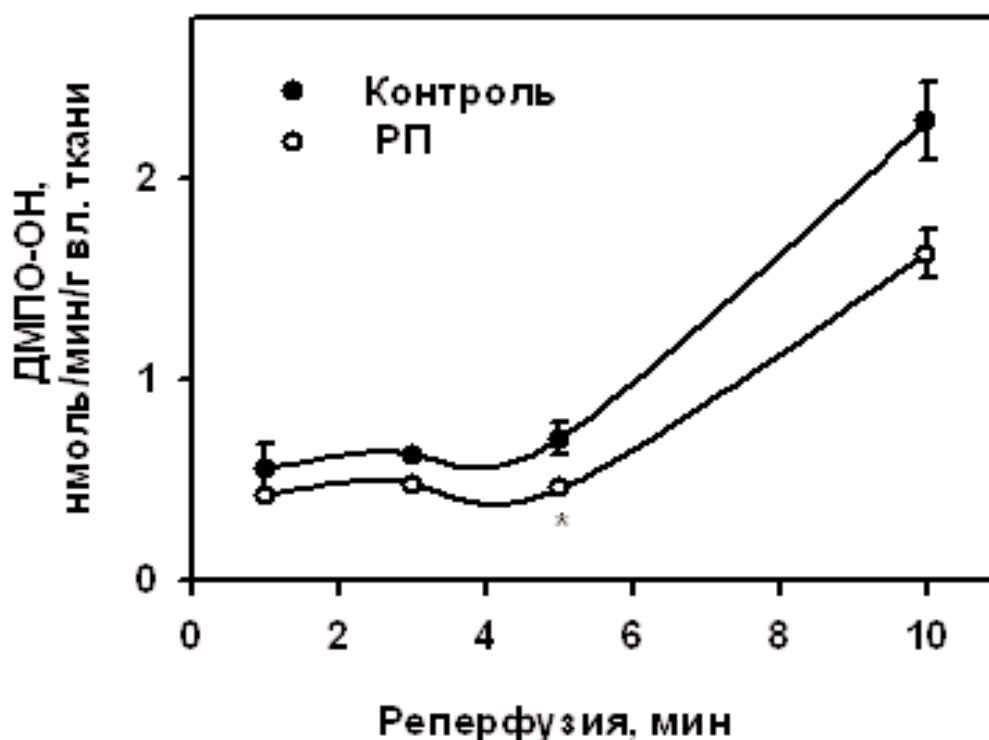


Рисунок 2.

Влияние РП на выход систем, генерирующих АФК, в перфузат из изолированного сердца крысы на ранней реперфузии. Выход систем оценивали произведением концентрации ДМПО-ОН в перфузате на величину коронарного потока и нормировали на г влажной массы сердца.

Представлены средняя величина \pm ошибка средней для серии из 5 опытов.

* - Достоверно отличается от исходного состояния ($p < 0,05$).

ИШЕМИЯ СЕРДЦА И МОДИФИЦИРОВАННАЯ РЕПЕРФУЗИЯ

Метаболическое состояние сердца. Содержание макроэргических фосфатов, лактата и ключевых аминокислот – Glu и Asp - в исходном состоянии соответствовало обычно приводимым в литературе значениям для изолированного перфузируемого сердца крысы (табл. 2) [5, 8]. Тотальная ишемия приводила к распаду 80 и 42% ФКр и АТР, значительному накоплению лактата и снижению содержания аспарагиновой кислоты до 74% от исходного уровня.

Таблица 2. Содержание макроэргических фосфатов, лактата и аминокислот в изолированном перфузируемом сердце крысы на различных стадиях опыта.

Метаболит	Исходное состояние	25 мин ишемии	30 мин реперфузии	
			Контроль	РП
АТР	23,93±1,84	14,06±2,39 ^а	12,65±1,59 ^а	14,93±0,98 ^а
Фосфокреатин	24,30±3,00	5,02±0,79 ^а	18,37±1,65	22,61±1,37 ^б
Креатин	35,49±2,13	52,74±2,30 ^а	29,08±1,79 ^а	32,92±2,22
Лактат	1,53±0,93	76,61±6,91 ^а	9,02±3,68 ^а	3,42±0,90
Asp	12,70±1,00	9,34±0,74 ^а	6,81±0,81 ^а	10,80±1,31 ^б
Glu	19,07±2,08	18,95±0,71	16,52±0,43	17,86±1,01

Примечание: Результаты выражены в мкмоль/г сухой массы. Представлены средняя величина ± ошибка средней для серий из 10 опытов. Достоверно отличается (p<0,05) от: а – исходного состояния; б – реперфузии в контроле.

В контрольной группе восстановление аэробного обмена при последующей реперфузии было низким. Несмотря на увеличение содержания креатина до 75% от исходного уровня, восстановления АТР не происходило, а уровень лактата оставался в 6 раз выше исходного. Реперфузия вызывала дальнейшее снижение фонда Asp и Glu – до 53,6 и 83,7% от исходных значений, соответственно. К концу реперфузии содержание креатина и ΣКр в этой группе было достоверно ниже исходного. Как известно, саркоlemma интактных миоцитов не проницаема для ФКр и креатина, поэтому снижение внутриклеточного содержания ΣКр является показателем повреждения мембран [16]. В период тотальной ишемии потерь ΣКр не происходило (рис. 3). В то же время к концу реперфузии они составили 20,2±1,3% от исходного содержания, что указывает на увеличение проницаемости мембран, вызванное реперфузионным повреждением.

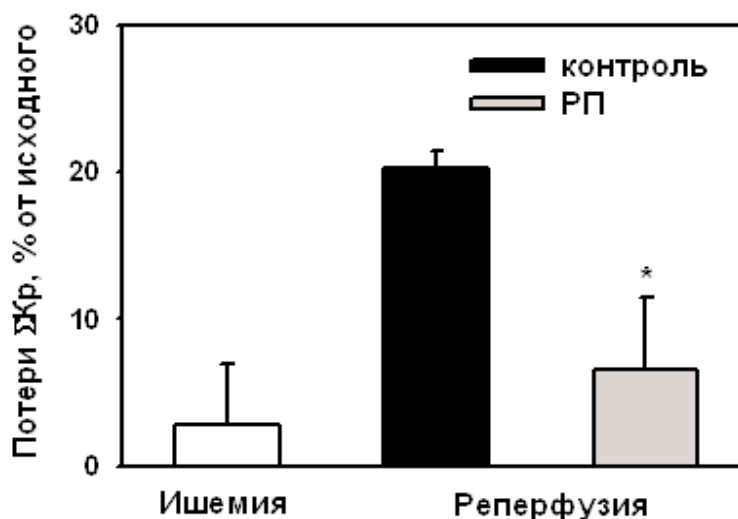


Рисунок 3.

Потери общего креатина (ΣКр) в % к исходному содержанию в сердце после тотальной ишемии и в конце реперфузии.

Представлены средняя величина ± ошибка средней для серии из 10-12 опытов.

* - Достоверно отличается от контроля (p<0,05).

Введение РП в течение первых 5 мин реперфузии достоверно улучшало восстановление энергетического обмена в реперфузированных сердцах (табл. 2). К концу реперфузии в сердцах, защищенных РП, содержание ФКр и лактата соответствовало практически исходным значениям. Под влиянием РП снижения содержания Asp во время реперфузии не происходило. Уровень этой аминокислоты в конце реперфузии был в 1,6 раза выше, чем в контроле. Общее содержание Asp и Glu в сердце не отличалось от исходного после использования РП, в то время как в контроле было достоверно снижено на 26,6% ($p < 0,05$). Достоверных потерь Σ Кр в опытной группе к концу реперфузии обнаружено не было (рис. 3). Это предполагает лучшее сохранение сарколеммы под действием введения РП на ранней реперфузии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Результаты работы убедительно демонстрируют кардиопротекторное действие РП на модели ишемизированного сердца крысы. Эффект РП проявляется в уменьшении контрактуры миокарда и снижении коронарного сопротивления, а также в более полном восстановлении практически всех показателей сократительной и насосной функции сердца при реперфузии (см. табл. 1). Ранее нами было показано, что использование РП, содержащего L-Asp и D-маннит, после кардиopleгии, предшествовавшей ишемии, значительно улучшает восстановление функции изолированного сердца крысы [6]. Данные настоящей работы позволили выявить кардиозащитный эффект РП без предварительной кардиopleгической остановки сердца. Хотя степень восстановления внешней работы и интенсивности сократительной функции в этом случае была на 15-20% ниже, чем при совместном введении кардиopleгического раствора и РП, восстановление функции сердец, защищенных только РП, происходило более эффективно и поддерживалось на более высоком уровне в течение всей реперфузии по сравнению с контролем.

Ощутимый кардиопротекторный эффект кратковременного использования РП обусловлен его составом и физико-химическими свойствами. Присутствие в РП L-Asp и D-глюкозы стимулирует анаэробное образование энергии при низких концентрациях кислорода в миокардиальных клетках на ранней реперфузии. При этом сопряжение метаболизма L-Asp и D-глюкозы обеспечивает максимальную продукцию АТФ и GTP в цитозоле и митохондриях [5, 17]. Подтверждением улучшения энергетического состояния реперфузированных сердец является более высокое содержание АТФ и ФКр в миокарде под действием РП (см. табл. 2). Одновременно содержание основных аминокислот сердца – Glu и Asp под влиянием РП не снижалось и было близко к исходному в конце реперфузии (табл. 2). Это свидетельствует о снижении катаболизма этих ключевых аминокислот сердца, обычно происходящем в условиях энергетического дефицита [18].

Следует отметить, что образование АТФ из содержащейся в РП D-глюкозы способствует структурной целостности ишемизированных кардиомиоцитов. Значение гликолитического АТФ для сохранения интегрированности плазматической мембраны клеток отмечалось многими исследователями [19]. Полученные нами данные указывают на четкую тенденцию к лучшему сохранению фонда Σ Кр в ткани сердца к концу реперфузии (см. табл. 2). Поскольку потери Σ Кр в основном обусловлены дефектами структуры сарколеммы [16], можно предполагать, что этот факт отражает снижение выхода внутриклеточного Кр и ФКр в миокардиальный отток и, следовательно, уменьшение повреждения клеточных мембран. Это предположение прямо подтверждается меньшим выведением в оттекающий от сердца перфузат активности цитоплазматической ЛДГ (рис. 1).

Хорошо известно, что активацию перекисного окисления фосфолипидов клеточных мембран инициирует образование АФК на стадии ранней реперфузии [1, 2]. Поэтому в состав РП был включен D-маннит, обеспечивающий не только необходимую осмолярность раствора, но и обладающий свойствами скавенджера свободных радикалов кислорода [20]. Наряду с позитивным действием на

метаболический статус реперфузированного сердца и структуру клеточных мембран, РП снижал выведение из кардиомиоцитов источников, продуцирующих АФК, что было подтверждено методом ЭПР с использованием спиновой ловушки ДМПО (рис. 2). Эти данные косвенно отражают антиоксидантную активность РП и принципиально согласуются с изложенными выше результатами.

Полученные результаты обосновывают необходимость оптимизации составов реперфузионных сред на ранней реперфузии для снижения постишемической дисфункции сердца. Механизмы защитного действия РП прямо связаны с коррекцией метаболизма ишемизированного миокарда и уменьшением повреждения клеточных мембран.

Данная работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 05-04-48524).

ЛИТЕРАТУРА

1. Verma S., Fedak P.W.M., Eisel R.D. (2002) *Circulation*, **105**, 2332-2336.
2. Piper H.M., Garcia-Dorado D. (2001) in: *Ischemia-reperfusion injury in cardiac surgery* (F. Beersdorf ed.), Landes Bioscience, Georgetown, pp. 28-40.
3. Kao R.L., Magovern G.L. (1986) *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **91**(1), 106-114.
4. Host N., Peuhkurinen K., Haunso S., Hassinen I. (1992) *Cardiovasc. Res.*, **26**(3), 501-507.
5. Pisarenko O.I. (2001) in: *Ischemia-reperfusion injury in cardiac surgery* (F. Beersdorf ed.), Landes Bioscience, Georgetown, pp. 90-96.
6. Писаренко О.И., Шульженко В.С., Студнева И.М. (2005) *Кардиология*, **45**(7), 38-44.
7. Писаренко О.И., Серебрякова Л.И., Студнева И.М., Цкитишвили О.В. (2006) *Кардиология*, **46**(7), 38-44.
8. Писаренко О.И., Шульженко В.С., Студнева И.М., Тимошин А.А. (2004) *Кардиология* **43**(4), 65-70.
9. Lamprecht W., Trautschold I. (1974) in: *Methods of enzymatic analysis* (H.U. Bergmeyer ed.) Academic Press, NY., pp. 2101-2110.
10. Bernt E., Bergmeyer H.U., Mollering H. (1974) in: *Methods of enzymatic analysis* (H.U. Bergmeyer ed.) Academic Press, NY., pp. 1721-1776.
11. Gutman I., Wahlenfeld A.W.L. (1974) in: *Methods of enzymatic analysis* (H.U. Bergmeyer ed.) Academic Press, NY., pp. 1464-1467.
12. Bernt E., Bergmeyer H.U. (1974) in: *Methods of enzymatic analysis* (H.U. Bergmeyer ed.) Academic Press, NY., pp. 1704-1708.
13. Bergmeyer H.U., Bernt E., Mollering H., Pfeleiderer G. (1974) in: *Methods of enzymatic analysis* (H.U. Bergmeyer ed.) Academic Press, NY., pp. 1696-1700.
14. Bergmeyer H.U., Bernt E. (1974) in: *Methods of enzymatic analysis* (H.U. Bergmeyer ed.) Academic Press, NY., pp. 574-578.
15. Pisarenko O.I., Tskitishvili O.V., Studneva I.M., Serebryakova L.I., Timoshin A.A., Ruuge E.K. (1997) *Biochim. Biophys. Acta*, **1361**, 295-303.
16. Jennings R.B., Murry C.E., Reimer K.A. (1991) *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **23**, 1449-1458.
17. Snaith Ch.D., Wright G., Lofkin M. (1992) *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **24**, 305-315.
18. Pisarenko O.I., Solomatina E.S., Studneva I.M. (1986) *Biochim. Biophys. Acta*, **885**, 154-161.
19. Pierce G.N., Philipson K.D. (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 6862-6870.
20. Ouriel K., Ginsburg M.E., Patti C.S. (1985) *Circulation*, **72** (suppl. II), 254-258.

Поступила: 12. 05. 2006.

**MECHANISMS OF ISCHEMIC HEART INJURY ATTENUATION BY MEANS
OF A MODIFIED REPERFUSION**

O.I. Pisarenko, I.M. Studneva, V.S. Shulzhenko, A.A. Timoshin

Russian Cardiology Scientific Production Complex, Russian Ministry of Health,
3-ya Cherepkovskaya ul., 15a, 121552, Moscow, 121552 Russia; tel.: (495)4146737;
fax: (495) 4146699; e-mail: olpi@cardio.ru

Mechanisms of attenuation of membrane injury and metabolic disturbances in postischemic cardiomyocytes have been studied on a model of ischemic and reperfusion stress of rat heart using a modified early reperfusion. Optimization of reperfusion infusate composition augmented cardiac pump and contractile function recovery. This was accompanied by a reduced release of lactate dehydrogenase activity and systems generating short-lived reactive oxygen species into myocardial effluent and was associated with more efficient oxidative metabolism recovery and decreased losses of intracellular total creatine and amino acids pools. The results indicate availability of postischemic functional and metabolic myocardial injury correction by means of a controlled reperfusion.

Key words: reperfusion of the heart, high energy phosphates, amino acids, active oxygen forms, myocyte membranes.