

ФИЗИОЛОГИЯ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ СИСТЕМ

**ВЛИЯНИЕ МОНООКСИДА УГЛЕРОДА НА ПАРАМЕТРЫ
ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА
ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС**

© М. Н. Ходосовский, В. В. Зинчук, И. Э. Гуляй

Гродненский государственный медицинский университет
Гродно, Беларусь
E-mail: hod_73@yahoo.com

Изучали параметры прооксидантно-антиоксидантного баланса: продукты перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, основания Шиффа), факторы антиоксидантной системы (α -токоферол, восстановленный глутатион, ретинол, активность каталазы) у крыс при ишемии-реперфузии печени в условиях инфузии донора монооксида углерода. Ишемию печени вызывали маневром Прингла (30 мин), реперфузионный период длился 120 мин. Установлено, что ишемия-реперфузия печени у крыс приводила к росту содержания продуктов перекисного окисления липидов и снижению содержания факторов антиоксидантной системы. Введение донора СО перед началом реперфузии значительно улучшало прооксидантно-антиоксидантное равновесие у экспериментальных животных. Таким образом, СО повышает антиокислительную способность печени, снижает активность процессов перекисного окисления липидов, что способствует коррекции окислительных повреждений печени при ишемии-реперфузии.

Ключевые слова: монооксид углерода, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, печень, реперфузия

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 101. № 10. С. 000—000. 2015

M. N. Khodosovsky, V. V. Zinchuk, I. E. Gulyai. THE INFLUENCE OF CARBON MONOXIDE ON THE PARAMETERS OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE DURING HEPATIC ISCHEMIA-REPERFUSION SYNDROME IN RATS. Grodno State Medical University, Grodno, Belarus, e-mail: hod_73@yahoo.com.

The influence of carbon monoxide on the blood and liver prooxidant-antioxidant parameters: lipid peroxidation products (conjugated dienes, malondialdehyde, Schiff bases) and antioxidant system parameters (catalase, retinol, α -tocopherol, glutathione) were investigated in rats during hepatic ischemia-reperfusion. Hepatic ischemia was induced by Pringle maneuver for 30 min, reperfusion period was 120 min. It is detected, that hepatic ischemia-reperfusion leads to intensification of lipid peroxidation with declining of antioxidant defense. Infusion of the donor CO before reperfusion period improves the prooxidant-antioxidant balance in the blood and liver. In conclusion, CO increases the antioxidant activity of the blood and liver, decreases lipid peroxidation processes, that's correct oxidative damages during hepatic ischemia-reperfusion.

Key words: carbon monoxide, lipid peroxidation, antioxidant system, liver, reperfusion.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 101. N 10. P. 000—000. 2015

Нарушение баланса между активностью свободнорадикальных процессов и механизмами антиоксидантной защиты (окислительный стресс) приводит к тяжелым постишемическим повреждениям органов при ишемии-реперфузии [6, 13, 15]. В патогенезе окислительного стресса при ишемии-реперфузии печени (ИРП) важную роль играют активация лейкоцитов, нарушение процессов микроциркуляции, повышение активности ксантиноксидазы и дисфункция митохондрий, что не позволяет механизмам антиоксидантной защиты предотвратить свободнорадикальное повреждение клеточных мембранных структур процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) [3, 17]. Активация процессов ПОЛ может приводить как к дисфункции, так и к гибели гепатоцитов путем некроза или апоптоза, что является основой ранних осложнений при трансплантации печени или при проведении обширных резекций органа [15]. Применение антиоксидантов способствует снижению степени окислительного стресса в печени при реперфузии [13]. Недостатком большинства таких способов является сложность определения типа антиоксиданта и его оптимальной дозировки в каждом конкретном случае, так как при ИРП могут активироваться различные механизмы окислительного стресса. Более эффективными считают способы коррекции окислительных повреждений, основанные на модуляции общих клеточных сигнальных путей адаптации, таких как митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК), ядерный фактор-2 (Nrf-2), гипоксией индуцируемый фактор-1 (ГИФ-1) и др. [8, 14, 23].

Развитие современного представления о межклеточной сигнализации, основанного на газотрансмиттерной функции отдельных эндогенно синтезируемых газов (NO, CO, H₂S), позволяет по-новому рассматривать патогенез окислительного стресса при ишемии-реперфузии. Показано, что доноры NO (нитроглицерин, нитропруссид натрия), а также L-аргинин, оказывают выраженный протективный эффект на прооксидантно-антиоксидантный баланс при ИРП [6, 21, 22]. Установлено, что сероводород способен снижать степень окислительных повреждений при ишемии-реперфузии [20]. Выявлен определенный антиапоптотический и противовоспалительный эффект доноров CO при развитии реперфузионных повреждений сердца, почек, мозга и др. [9, 19, 23]. Так как воспаление и апоптоз являются важными компонентами реперфузионного повреждения печени, представляется важным изучить эффекты CO на степень окислительных повреждений печени при синдроме ишемии-реперфузии.

Цель исследования — изучить влияние монооксида углерода на параметры прооксидантно-антиоксидантного состояния крови и печени при ишемии-реперфузии у крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 30 взрослых крысах-самцах массой 300—340 г, предварительно выдержанных в стандартных условиях вивария. Под комбинированным внутривенным наркозом (гексенал 30 мг/кг, калипсол 100 мг/кг) вводили катетер в правое предсердие для получения смешанной венозной крови. Ишемию печени вызывали маневром Прингла (Pringle maneuver) — наложением сосудистого зажима на а. hepatica и v. portae в течение 30 мин. После снятия зажима реперфузионный период длился 120 мин. Забор образцов крови и тканей печени для оценки параметров прооксидантно-антиоксидантного баланса осуществляли в конце реперфузионного периода. Функциональное состояние печени оценивали по активности аланин- и аспартатаминотрансфераз (АлАТ и АсАТ) в крови кинетическим методом с помощью стандартного набора реактивов фирмы «Cormay» (Польша). Все оперативные вмешательства осуществляли в условиях адекватной анальгезии в соответствии с нормами, принятыми этической комиссией по гуманному обращению с животными Гродненского государственного медицинского университета.

Животных разделили на 3 экспериментальные группы: 1-я ($n = 10$) — контрольная, во 2-й ($n = 10$) моделировали ИРП, в 3-й ($n = 10$) на фоне ИРП вводили донор монооксида углерода — CORM-3 в дозе 50 мкмоль/кг, инфузию которого начинали за 5 мин до начала реперфузионного периода. Изучали следующие показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния: диеновые конъюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА), основания Шиффа (ОШ), восстановленный глутатион (GSH), α -токоферол, ретинол и активность каталазы. Содержание ДК в биологическом материале определяли методом ультрафиолетовой спектрофотометрии при длине волны 233 нм, типичной для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [1]. Уровень ОШ определяли по интенсивности флюоресценции хлороформного экстракта при длинах волн возбуждения и эмиссии 344 нм и 440 нм соответственно [11]. Содержание МДА (ТБК-активных продуктов) оценивали по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой (ТБК), которая при нагревании в кислой среде приводит к образованию триметинового комплекса розового цвета [4]. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически на «Solar» PV1251С при длине волны 540 нм для эритроцитов и плазмы, а также при 535 нм для гомогенатов по отношению к контролю. Содержание (-токоферола и ретинола оценивали по интенсивности флюоресценции гексанового экстракта [7]. В качестве стандарта использовались α -токоферол и ретинол фирмы «Sigma». Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах изучали по модифицированному методу J. Sedlak и R. Lindsay [18]. В основе метода лежит реакция взаимодействия SH-групп глутатиона с 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислотой) (ДТНБ), способной поглощать свет при длине волны 412 нм. Каталазная активность в биологическом материале оценивалась спектрофотометрическим методом, основанном на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс [5].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t -критерия Стьюдента или U-теста в зависимости от нормальности распределения выборок (тест Колмогорова—Смирнова). Достоверными считали различия при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Показано, что использование донора СО при ИРП способствует уменьшению реперфузионных повреждений печени, судя по активности АлАТ и АсАТ в конце реперфузионного периода (рис. 1). Так, на 120-й мин реперфузии у крыс 2-й группы в плазме крови по отношению к контролю активность АлАТ и АсАТ увеличивалась в 9.4 ($p < 0.05$) и 9.1 ($p < 0.05$) раза соответственно. У животных, получавших CORM-3 (3-я группа), в конце реперфузионного периода в смешанной венозной крови по отношению к крысам 2-й группы активность АлАТ и АсАТ снижалась на 45.3 % ($p < 0.05$) и 45.2 % ($p < 0.05$), соответственно (см рис. 1).

Изменение параметров ПОЛ (ДК, МДА, ОШ) в крови у экспериментальных животных представлены на рис. 2. Установлено, что в конце реперфузионного периода у экспериментальных животных 2-й группы наблюдалось повышение содержания продуктов ПОЛ в плазме и эритроцитах крови. Так, у опытных крыс в плазме крови уровень ДК в конце реперфузии увеличился в 4.7 раза ($p < 0.001$), а ОШ — в 9.2 раза ($p < 0.001$) по отношению к контрольным (табл. 1). В эритроцитах содержание ДК и ОШ возросло в 2.9 ($p < 0.001$) и 1.7 ($p < 0.001$) раза соответственно. Одновременно в ткани печени экспериментальных животных количество ДК и ОШ повысилось в 5.5 ($p < 0.001$) и 4.1 ($p < 0.001$) раза соответственно (табл. 1). Вместе с тем выявлено, что у крыс в конце реперфузионного периода наблюдалось снижение факторов антиоксидантной защиты (см. табл. 1 и 2). Так, уровень α -токоферола в плазме и эритроцитах крови к концу реперфузионного периода понизился по отношению к контролю на 17.0 % ($p < 0.001$) и

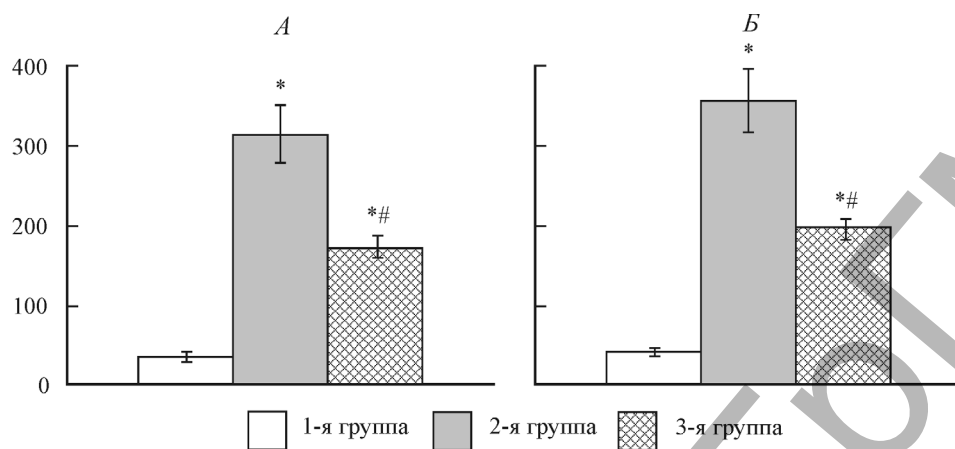


Рис. 1. Активность аланинаминотрансферазы (А) и аспаратаминотрансферазы (Б) в плазме крови (Ед/л) у крыс при ишемии-реперфузии печени в условиях инфузии CORM-3.

Достоверные отличия: * по отношению к 1-й группе (контроль) ($p < 0.05$), # по отношению ко 2-й группе (ИРП).

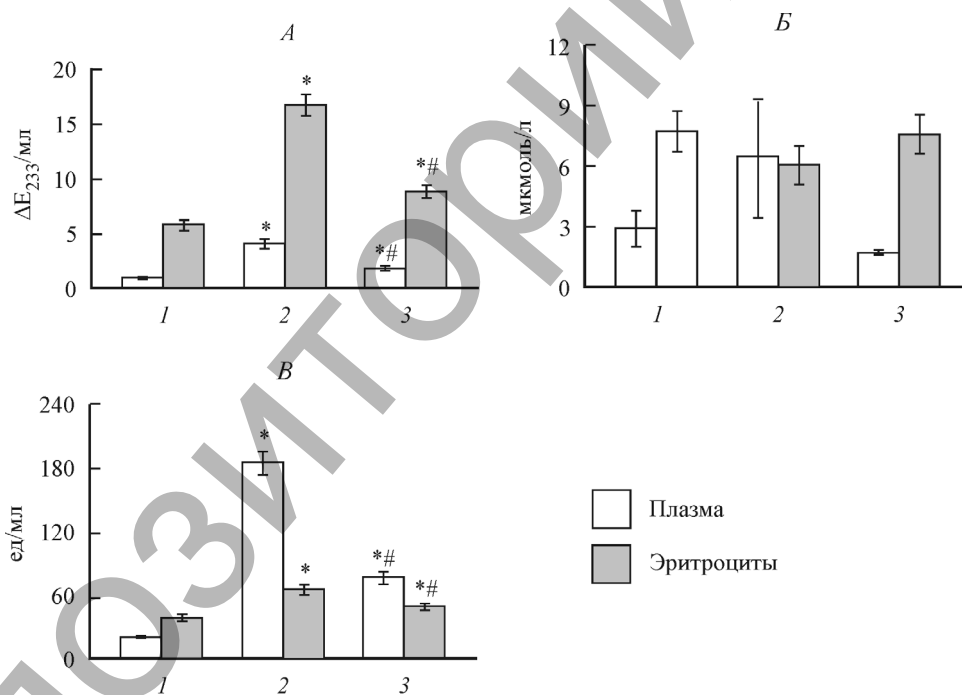


Рис. 2. Изменение уровня диеновых конъюгатов (А), малонового диальдегида (Б) и оснований Шиффа (Б) в крови у крыс при ишемии-реперфузии печени в условиях инфузии CORM-3.

1 — контроль, 2 — 2-я группа (ИРП). 3 — 3-я группа (CORM-3). Достоверные отличия: * по отношению к 1-й группе ($p < 0.05$), # по отношению ко 2-й группе.

Т а б л и ц а 1

Изменение параметров прооксидантно-антиоксидантного состояния печени у крыс при ишемии-реперфузии в условиях инфузии CORM-3 ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	ИРП	ИРП+CORM-3
ДК _{печ} , $\Delta E_{233}/г$	8.52 ± 0.74	$46.62 \pm 2.65^*$	$16.22 \pm 0.75^{* \#}$
МДА _{печ} , мкмоль/г	24.94 ± 1.59	$39.42 \pm 2.1^*$	$28.56 \pm 1.27^{\#}$
ОШ _{печ} , ЕД/г	115.06 ± 5.29	$469.89 \pm 33.55^*$	$187.67 \pm 8.27^{* \#}$
α -токоферол _{печ} , мкмоль/г	177.33 ± 4.23	$141.22 \pm 3.79^*$	$173.03 \pm 3.19^{\#}$
Ретинол _{печ} , мкмоль/г	20.37 ± 0.52	$16.7 \pm 0.4^*$	$19.64 \pm 0.33^{\#}$
GSH _{печ} , ммоль/г	4.0 ± 0.4	$1.27 \pm 0.26^*$	2.71 ± 0.89
Каталаза _{печ} , мМ/г белка/с	3.6 ± 0.18	$1.47 \pm 0.16^*$	$3.21 \pm 0.31^{\#}$

Примечание. печ — гомогенат печени. Различия достоверны: * по отношению к контрольной группе ($p < 0.05$), # по отношению к группе ИРП ($p < 0.05$), $n = 10$.

33.0 % ($p < 0.001$), а ретинола — на 25.9 % ($p < 0.001$) и 20.8 % ($p < 0.001$) соответственно (табл. 2). Схожая динамика изменения данных параметров наблюдалась в ткани печени (табл. 1). Также установлено, что активность каталазы эритроцитов крови животных 2-й группы падала в конце реперфузии по отношению к контрольным на 62.0 % ($p < 0.001$), а в ткани печени — на 59.1 % ($p < 0.001$) (табл. 1 и 2). Данные изменения указывают на сдвиг прооксидантно-антиоксидантного состояния в сторону свободнорадикальных процессов у экспериментальных животных 2-й группы в крови и ткани печени при ишемии-реперфузии. Снижение активности каталазы указывает на срыв защитных механизмов антиоксидантной системы в условиях активации процессов ПОЛ и развитие окислительного стресса при синдроме ИРП у крыс.

Введение опытным животным донора монооксида углерода перед ишемией-реперфузией способствовало улучшению большинства исследуемых параметров прооксидантно-антиоксидантного равновесия (см. рис. 2, табл. 1 и 2). Так, уровень ДК и ОШ в эритроцитах по отношению к животным 2-й группы снижался на 47.3 % ($p < 0.001$) и 24.5 % ($p < 0.01$) соответственно (рис. 2). Содержание ДК, МДА и ОШ в печени в конце реперфузии по отношению к крысам 2-й группы падало на 65.2 % ($p < 0.001$), 27.6 % ($p < 0.001$) и 60.1 % ($p < 0.001$) соответственно (табл. 1). Одновременно улучшались изучаемые параметры антиоксидантной системы в ткани печени (табл. 1) и крови (табл. 2) у крыс, получавших CORM-3, по отношению к животным 2-й группы. Так, в печени в конце реперфузии уровни α -токоферола, ретинола и активность каталазы у животных

Т а б л и ц а 2

Изменение параметров антиоксидантной системы крови у крыс при ишемии-реперфузии печени в условиях инфузии CORM-3 ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	ИРП	ИРП+CORM-3
α -токоферол _{пл} , мкмоль/л	20.96 ± 0.38	$17.4 \pm 0.34^*$	$18.98 \pm 0.32^{* \#}$
α -токоферол _{эр} , мкмоль/л	96.29 ± 3.74	$64.48 \pm 2.97^*$	$83.16 \pm 2.48^{* \#}$
Ретинол _{пл} , мкмоль/л	2.32 ± 0.07	$1.72 \pm 0.03^*$	$2.06 \pm 0.03^{* \#}$
Ретинол _{эр} , мкмоль/л	7.16 ± 0.3	$5.67 \pm 0.19^*$	$6.32 \pm 0.17^{* \#}$
GSH _{эр} , мкмоль/гHb	50.67 ± 1.84	50.98 ± 1.97	51.72 ± 3.28
Каталаза _{эр} , мМ/г белка/с	1.0 ± 0.13	$0.38 \pm 0.06^*$	$0.88 \pm 0.09^{\#}$

Примечание. пл — плазма, эр — эритроциты. Различия достоверны: * по отношению к контрольной группе ($p < 0.05$), # по отношению к группе ИРП ($p < 0.05$), $n = 10$.

3-ей группы не отличались от контрольных (табл. 1). Результаты исследования указывают, что введение крысам донора монооксида углерода способствует улучшению прооксидантно-антиоксидантного баланса при ишемии-реперфузии печени.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Синдром ИРП сопровождается существенным повреждением мембран гепатоцитов (судя по активности АлАТ и АсАТ) у крыс 2-й группы (рис. 1), которые развивались на фоне роста активности процессов ПОЛ в крови и в печени экспериментальных животных. Активация свободнорадикальных процессов может быть следствием увеличения «утечки» электронов в митохондриях при реперфузии вследствие блокировки дыхательной цепи восстановленными переносчиками протонов водорода после ишемии [12, 15]. Повреждение и отек митохондрий при реперфузии являются следствием неспособности полноценно утилизировать кислород постишемической ткани, что приводит к повышению генерации активных форм кислорода (АФК), дисфункции и даже гибели отдельных гепатоцитов при восстановлении кровотока. Повышению активности ПОЛ могло способствовать истощение ряда антиоксидантов (токоферол, ретинол). Снижение GSH в печени в конце реперфузионного периода у животных 2-й группы может быть следствием накопления его окисленной формы (GSSG), что показано в работе S. Pratschke и соавт. [16]. Снижение активности каталазы указывает на декомпенсацию адаптивных возможностей антиоксидантной системы в условиях активации свободнорадикальных процессов и на развитие окислительного стресса при ИРП у крыс 2-й группы. Повышенная генерация АФК с одновременной недостаточностью механизмов защиты от их токсического действия (окислительный стресс) в печени запускает ряд сложных патогенетических звеньев, которые при реперфузии приводят клетки к гибели путем некроза или апоптоза [17]. Прямое цитотоксическое действие АФК связано с повреждением белков, липидов, углеводов и ДНК [13]. Высокая реакционная способность АФК позволяет им реагировать практически с любыми биологическими молекулами, но легче окисляются липиды биологических мембран, содержащие в своем составе жирные полиненасыщенные кислоты. Перекисное окисление последних, индуцируемое АФК, может привести к самым повреждающим эффектам при реперфузии [17].

Применение донора СО (CORM-3) у крыс 3-й группы приводило к коррекции реперфузионных повреждений при ИРП, что подтверждается снижением активности АлАТ и АсАТ по отношению ко 2-й группе экспериментальных животных. Возможно, использование донора СО при ишемии-реперфузии приводило к стабилизации митохондриальных мембран и снижению гибели клеток механизмами некроза и апоптоза [19]. В работе Н. Наугаа и соавт. [12] показано, что использование небольших доз СО существенно повышает эффективность тканевого дыхания митохондрий. Кроме того, установлено, что фармакологическое preconditionирование во время ишемии перед реперфузией с помощью СО уменьшает неконтролируемую продукцию АФК митохондриями путем ингибирования комплекса III дыхательной цепи [23]. Эти результаты согласуются с полученными данными в настоящей работе о нормализации активности каталазы, уровня α -токоферола, ретинола и GSH в печени в конце реперфузионного периода, что свидетельствует об улучшении редокс-состояния гепатоцитов под влиянием небольших доз СО. С другой стороны, СО может снижать экспрессию мРНК провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, α -TNF), что уменьшает при реперфузии интенсивность окислительного стресса, связанного с лейкоцитарной инфильтрацией паренхимы печени [14]. Известно, что СО является мощным цитопротектором при сердечно-сосудистых заболеваниях, сепсисе и шоке, трансплантации органов, острых поражениях легких, почек и печени [9]. СО в малых дозах может проявлять антиокислительную активность, повышая активность ан-

тиоксидантных ферментов [10]. Показано, что использование донора СО приводит к активации MAPK-сигнальных путей, ответственных за реакцию на стрессорное воздействие на клетку (p38 и JNK), усиливает Nrf-2 транслокацию из цитозоля в ядро и стимулирует активность антиоксидантных генов [23]. Возможна реализация протективного эффекта СО при ИРП у крыс через модуляцию кислородсвязывающих свойств крови и повышение сродства гемоглобина к кислороду NO-зависимыми механизмами [2]. Нельзя также исключить прямых антиоксидантных эффектов монооксида углерода при использовании CORM-3 у экспериментальных животных [9].

Таким образом, СО повышает антиокислительную способность печени, снижает активность процессов ПОЛ, что способствует улучшению функционального состояния органа при ишемии-реперфузии. Протективный эффект СО в значительной степени обусловлен его газотрансмиссивными эффектами на антиоксидантную систему организма.

Работа выполнена при поддержке Фонда фундаментальных исследований Республики Беларусь (№ договора М13-130)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Гаврилов В. Б., Гаврилова А. Р., Хмара А. Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов. Лаб. дело. 2 : 60—64. 1988.
- [2] Зинчук В. В., Глуткина Н. В. Кислородсвязывающие свойства гемоглобина и монооксид азота. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 99 (5) : 537—554. 2013.
- [3] Зинчук В. В., Ходосовский М. Н. Участие кислородзависимых процессов патогенеза реперфузионных повреждений печени. Усп. физиол. наук. 37 (4) : 45—56. 2006.
- [4] Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. В 2 т. Мн. Беларусь. 2002.
- [5] Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Измерение активности каталазы в биологических средах. Лаб. дело. 1 : 16—19. 1988.
- [6] Ходосовский М. Н., Зинчук В. В. Влияние нитроглицерина на прооксидантно-антиоксидантный баланс и функциональное состояние печени при ишемии-реперфузии. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 142 (12) : 631—634. 2006.
- [7] Чернякене Р. Ч., Варшкявичене З. З., Грибаускас П. С. Одновременное флуориметрическое определение концентрации витаминов А и Е в сыворотке крови. Лаб. дело. 6 : 362—365. 1984.
- [8] Akhtar M. Z., Sutherland A. I., Huang H., Ploeg R. J., Pugh C. W. The role of hypoxia-inducible factors in organ donation and transplantation: the current perspective and future opportunities. Am. J. Transplant. 14 (7) : 1481—1487. 2014.
- [9] Bauer I., Pannen B. H. Bench-to-bedside review: Carbon monoxide from mitochondrial poisoning to therapeutic use. Crit. Care. 13 (4) : 220. 2009.
- [10] Farrugia G., Szurszewski J. H. Carbon monoxide, hydrogen sulfide, and nitric oxide as signaling molecules in the gastrointestinal tract. Gastroenterology. 147 (2) : 303—313. 2014.
- [11] Fletcher B. L., Dillard C. J., Tappel A. L. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. Anal. Biochem. 52 (1) : 1—9. 1973.
- [12] Haugaa H., Gymez H., Maberry D. R., Holder A., Ogundele O., Quintero A. M., Escobar D., Tinnessen T. I., Airgood H., Dezfulian C., Kenny E., Shiva S., Zuckerbraun B., Pinsky M. R. Effects of inhalation of low-dose nitrite or carbon monoxide on post-reperfusion mitochondrial function and tissue injury in hemorrhagic shock swine. Crit. Care. 19 (1) : 184. 2015.
- [13] Jaeschke H., Woolbright B. L. Current strategies to minimize hepatic ischemia-reperfusion injury by targeting reactive oxygen species. Transplant. Rev. (Orlando). 26 (2) : 103—114. 2012.
- [14] Kaizu T., Ikeda A., Nakao A., Tsung A., Toyokawa H., Ueki S., Geller D. A., Murase N. Protection of transplant-induced hepatic ischemia/reperfusion injury with carbon monoxide via

MEK/ERK1/2 pathway downregulation. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 294 (1) : G236—244. 2008.

[15] *Muriel P.* Role of free radicals in liver diseases. *Hepatol. Int.* 3 (4) : 526—536. 2009.

[16] *Pratschke S., Bilzer M., Gretzner U., Angele M., Tufman A., Jauch K. W., Schauer R. J.* Tacrolimus preconditioning of rat liver allografts impacts glutathione homeostasis and early reperfusion injury. *J. Surg. Res.* 176 (1) : 309—316. 2012.

[17] *Quesnelle K. M., Bystrom P. V., Toledo-Pereyra L. H.* Molecular responses to ischemia and reperfusion in the liver. *Arch. Toxicol.* 89 (5) : 651—617. 2015

[18] *Sedlak J., Lindsay R. H.* Estimation of total, protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 25(1) : 192—205. 1968.

[19] *Sener A., Tran K. C., Deng J. P., Garcia B., Lan Z., Liu W., Sun T., Arp J., Salna M., Acott P., Cepinskas G., Jevnikar A. M., Luke P. P.* Carbon monoxide releasing molecules inhibit cell death resulting from renal transplantation related stress. *J. Urol.* 190 (2) : 772—778. 2013.

[20] *Sun Y. G., Wang X. Y., Chen X., Shen C. X., Li Y. G.* Hydrogen sulfide improves cardiomyocytes electrical remodeling post ischemia/reperfusion injury in rats. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 8 (1) : 474—481. 2015.

[21] *Taha M. O., Caricati-Neto A., Ferreira R. M., Simxes M. J., Monteiro H. P., Fagundes D. J.* L-arginine in the ischemic phase protects against liver ischemia-reperfusion injury. *Acta Cir. Bras.* 27 (9) : 616—623. 2012.

[22] *Yang S. L., Lou Y. J.* Sodium nitroprusside decreased leukotriene C4 generation by inhibiting leukotriene C4 synthase expression and activity in hepatic ischemia-reperfusion injured rats. *Biochem. Pharmacol.* 73 (5) : 724—735. 2007.

[23] *Zuckerbraun B. S., Chin B. Y., Bilban M., d'Avila J. C., Rao J., Billiar T. R., Otterbein L. E.* Carbon monoxide signals via inhibition of cytochrome c oxidase and generation of mitochondrial reactive oxygen species. *FASEB J.* 21 (4) : 1099—1106. 2007.

Поступила 8 VII 2015