

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Томский национальный исследовательский медицинский центр  
Российской академии наук»  
Научно-исследовательский институт кардиологии

---

*На правах рукописи*

**Каменщиков Николай Олегович**

ЗАЩИТА МИОКАРДА ОТ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО  
ПОВРЕЖДЕНИЯ ПУТЕМ ДОСТАВКИ ОКСИДА АЗОТА  
В КОНТУР ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ЦИРКУЛЯЦИИ  
ПРИ ОПЕРАЦИЯХ АОРТОКОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

*14.01.20 – анестезиология и реаниматология*

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
д.м.н. Ю.К. Подоксёнов

Томск – 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	3
<b>ГЛАВА 1. ОКСИД АЗОТА И МИОКАРДИАЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ) .....</b>	12
1.1 Ишемически-реперфузионное повреждение миокарда в кардиохирургии ..	12
1.2 Защита миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения в кардиохирургии. ....	16
1.3 Оксид азота и защита миокарда при ишемически-реперфузионных повреждениях .....	24
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	41
2.1 Материалы экспериментального исследования.....	41
2.2 Методы экспериментального исследования.....	48
2.3 Материалы клинического исследования .....	52
2.4 Методы клинического исследования .....	62
2.5 Методы статистического анализа.....	68
<b>ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ .....</b>	70
3.1 Экспериментальное исследование .....	70
3.2 Клиническое исследование .....	81
<b>ГЛАВА 4 . ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	100
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	109
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	111
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....</b>	112
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	113

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность работы

Операция аортокоронарного шунтирования (АКШ) по-прежнему остается методом выбора лечения пациентов с мультифокальным атеросклерозом коронарных артерий и осложнёнными формами ишемической болезни сердца (ИБС) [62; 94]. В подавляющем большинстве случаев для проведения операции требуется пережатие аорты и проведение искусственного кровообращения (ИК). Несмотря на значительные успехи в области анестезиологического обеспечения вмешательств на открытом сердце и технологическом прогрессе методики ИК остается актуальной проблема интраоперационной защиты миокарда. Даже в условиях совершенствования методологии кардиоплегии и «защищенной аноксии», субоптимальная защита миокарда остается основной причиной осложнений и летальных исходов при операциях с ИК [35]. При операциях АКШ частота периоперационного инфаркта миокарда (ИМ), который является ведущей причиной смертности и осложнений в этой когорте пациентов, может достигать 30% от общего числа вмешательств [116]. Операции АКШ сопровождаются развитием постишемической сократительной дисфункции сердца, известной как состояние миокардиального станнинга. В зависимости от используемых определений данный феномен наблюдается у 45% пациентов после кардиохирургических вмешательств [57]. При этом 25% пациентов, перенесших изолированное АКШ, нуждаются в инотропной поддержке [144]. При этом частота развития посткардиотомного синдрома малого сердечного выброса колеблется от 2% до 6% [276].

Важным механизмом патогенеза миокардиальной дисфункции при кардиохирургических вмешательствах является ишемически-реперфузионное повреждение миокарда. В основе патогенеза миокардиального повреждения при ишемии – реперфузии лежат механизмы «ишемически-реперфузионных парадоксов», а именно нарушения гомеостаза кальция с его внутриклеточной

перегрузкой, известные как «кальциевый парадокс» [141], а также избыточная продукция активных форм кислорода (АФК) с повреждением клеточных структур – оксидативный стресс или «кислородный парадокс» [60]. Патогенез реперфузионного повреждения дополняет развивающаяся при реперфузии на микроциркуляторном уровне эндотелиальная дисфункция с манифестацией синдрома невосстановленного кровотока и компартментализации воспаления в миокарде, вызванная активацией нейтрофилов [255].

Поиск стратегий интраоперационной защиты миокарда продолжается. На протяжении последних лет наблюдается активный интерес исследователей к проблеме опосредованной оксидом азота (NO) кардиопротекции. R. Bolli сформулировал «NO-гипотезу» ишемической адаптации сердца [261], согласно которой NO выступает триггером и медиатором в механизмах реализации феномена прекондиционирования (ПК). Основными эффекторами опосредованного NO внутриклеточного пути сигнализации является активация митохондриальных  $K_{\text{атф}}$ -каналов. Конечной целью механизма NO-зависимой кардиопротекции является деактивация митохондриальной неспецифической поры (mPTP). Открытие mPTP приводит к уменьшению выработки АТФ посредством ослабления потенциала митохондриальной мембраны, что в finale вызывает некроапоптоз клетки от энергетического дефицита. Взаимодействие NO с электронной транспортной цепью митохондрий лимитирует пределы окислительного фосфорилирования, что предотвращает генерацию АФК, интрамитохондриальный кальциевый инфлюкс и активацию mPTP. К настоящему времени накоплен обширный экспериментальный материал, подтверждающий кардиопротективные эффекты NO при ишемически-реперфузионном повреждении в эксперименте. Данные работы, однако, касались реализации поздней фазы прекондиционирования посредством активации синтеза эндогенного NO. Существующие на настоящий момент экспериментальные данные о применении экзогенного NO для модуляции ишемически-реперфузионного повреждения единичны, а

экспериментальных исследований о роли доставки NO при моделировании ИМ на фоне проведения ИК в доступной литературе обнаружить не удалось.

Несмотря на обширные экспериментальные подтверждения кардиопротективных эффектов NO, клинических исследований, проведенных в кардиохирургии, крайне мало, при этом большая часть выполнена на педиатрической когорте пациентов. Трансляция фундаментальных исследований в этой области в клиническую практику началась лишь в последнее время.

Таким образом, существующие на настоящий момент литературные данные о возможностях применения NO для защиты миокарда в кардиохирургии крайне немногочисленны, а применительно к пациентам после АКШ отсутствуют вовсе. Наличие данных о кардиопротективных свойствах NO для реализации поздней фазы ишемической адаптации сердца, полученных в экспериментальных условиях, послужило основанием для выполнения данной работы.

### **Цель исследования**

Оценить эффективность и безопасность доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при моделировании острого ишемически-реперфузионного повреждения миокарда в эксперименте, а также для защиты миокарда у больных ИБС при операциях аортокоронарного шунтирования в условиях ИК.

### **Задачи исследования**

1. Изучить инфарктлимитирующий и антиаритмический эффекты, а также безопасность доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции в эксперименте.

2. Изучить динамику маркеров повреждения миокарда (тропонин I, МВ-фракция креатинфосфокиназы) в послеоперационном периоде у больных ишемической болезнью сердца в основной (NO-группе) и контрольной группах.

3. Оценить с использованием клинических критериев степень тяжести контрактильной дисфункции миокарда в послеоперационном периоде у больных ишемической болезнью сердца в основной (NO-группе) и контрольной группах.

4. Изучить безопасность метода доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции у больных ишемической болезнью сердца.

5. Дать сравнительную оценку особенностей клинического течения периоперационного периода у больных ишемической болезнью сердца в основной (NO-группе) и контрольной группах и оценить кардиопротективные свойства экзогенного оксида азота.

### **Научная новизна исследования**

Впервые: – выполнена оценка влияния доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции на объем миокардиального повреждения и частоту развития нарушений ритма сердца при моделировании экспериментального инфаркта на фоне искусственного кровообращения и установлено выраженное инфарктлимитирующее и антиаритмическое действие оксида азота на модели экспериментальной ишемии-реперфузии;

– показано улучшение тканевой перфузии и отсутствие негативных эффектов оксида азота на модели экспериментальной ишемии-реперфузии;

– установлен кардиопротективный эффект доставки оксида азота, заключающийся в снижении маркеров повреждения и улучшении контрактильной функции миокарда в периоперационном периоде у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения;

– дана оценка безопасности доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции у пациентов при операциях аортокоронарного шунтирования и установлено, что доставка оксида азота является безопасной;

### **Теоретическая и практическая и значимость работы**

Теоретическая значимость работы заключается в обосновании применения экзогенного оксида азота для нивелирования ишемически-реперфузационного повреждения миокарда.

Доставка оксида азота обладает практической значимостью для защиты миокарда у пациентов при операциях аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. Доставка оксида азота является эффективным методом кардиопротекции и позволяет снизить выраженность контракtilьной дисфункции левого желудочка в послеоперационном периоде.

Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции не сопровождается гемодинамическими нарушениями, является контролируемой и безопасной методикой.

С помощью доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции могут быть улучшены результаты хирургического лечения больных ишемической болезнью сердца.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции безопасна и обладает инфарктлимитирующим и антиаритмическим эффектами в эксперименте.

2. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции оказывает кардиопротективный эффект при операциях аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения у больных ишемической болезнью сердца.

3. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции снижает клинические проявления послеоперационной контрактильной дисфункции миокарда при операциях аортокоронарного у больных ишемической болезнью сердца.

4. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции является безопасной при операциях аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения у больных ишемической болезнью сердца.

### **Дизайн исследования**

Работа представляет результаты одноцентрового, проспективного, рандомизированного, контролируемого исследования и состоит из 2 частей: экспериментальной и клинической.

### **Достоверность выводов и рекомендаций**

Достаточная статистическая мощность исследования (90% для первичной конечной точки) и высокий методологический уровень выполненной работы свидетельствуют о достоверности выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе.

### **Материально-техническое обеспечение**

При подготовке диссертационной работы использовалось следующее оборудование:

- Аппарат искусственной вентиляции легких Puritan Bennett 760 (США)
- Аппарат искусственной вентиляции легких Drager Primus (Германия)
- Испаритель Vapor 2000 (Drager, Германия)
- Мониторинговая система Siemens 7000 (Германия)
- Мониторинговая система Infinity Delta XL (Drager, Германия)

- прибор для определения газового состава крови Stat Profile Critical Care Xpress (Nova Biomedical, США)
- Неонатальный оксигенатор Kids D100 (Dideco, Италия)
- Анализатор для дозирования NO PrinterNOX (CareFusion, США)
- Слайсер HSRABBIT002-1 (Zivic Instruments, Pittsburgh, США)
- Аппарат ИК Stockert (Stockert Ins., Германия)
- Прибор для сканирования срезов HP Scanjet G4050 (Hewlett-Packard, Palo Alto, США)
- Тест-система PATHFAST сTnI, предназначенная для диагностики на анализаторе PATHFAST (Mitsubishi Chemical Medience Corp., Japan)
- Биохимический анализатор ABX Pentra C200 (Horiba, Ltd.)

## **Внедрение**

Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при операциях аортокоронарного шунтирования внедрена в клиническую практику отдела сердечно-сосудистой хирургии НИИ кардиологии ФГБУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

## **Апробация результатов исследования**

Основные положения диссертации были представлены на следующих российских и зарубежных конференциях:

- Межрегиональная конференция «Полиорганная недостаточность: теория и практика» (Кемерово – 2017)
- Четвертая научно-практическая конференция «Современные стандарты в кардиоанестезиологии. От науки к практике» (Новосибирск – 2017)
- Euroanaesthesia - The European Anaesthesiology Congress, (Копенгаген, Дания – 2018)

- 10<sup>th</sup> International Conference on the Biology, Chemistry and Therapeutic Applications of Nitric Oxide (Оксфорд, Великобритания – 2018)
- XVII съезд Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов» (Санкт-Петербург – 2018)
- АНА 2018, Scientific Sessions of the American Heart Association (Чикаго, США – 2018)
- XXIV Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов (Москва – 2018)

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертации опубликовано 3 работы в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК:

- Патология кровообращения и кардиохирургия
- Анестезиология и реаниматология
- The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery

### **При выполнении данной работы автором получены патенты**

- Патент RU 2611955 «Способ ретроградной интубации трахеи у кролика для проведения искусственной вентиляции легких в эксперименте»
- Патент RU RU 2611938 «Способ проведения искусственного кровообращения при обеспечении кардиохирургических вмешательств»

### **Структура и объем диссертации**

Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов экспериментальной и клинической части исследования, 2-х глав собственного материала и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы.

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста и содержит 6 таблиц и 13 рисунков.

Указатель использованной литературы содержит перечень из 3 отечественных и 280 зарубежных авторов.

### **Личный вклад автора**

При выполнении данной работы автор участвовал в разработке концепции и дизайна исследования, лично принимал участие в эксперименте на лабораторных животных; в отборе, обследовании и проведении анестезиологического обеспечения у 60 пациентов при выполнении операций коронарного шунтирования. Автор лично проводил наблюдение и обследование пациентов в раннем послеоперационном периоде, вел необходимую электронную документацию, провел анализ и интерпретацию полученных результатов, опубликовал основные положения, выводы диссертации и практические рекомендации.

## ГЛАВА 1. ОКСИД АЗОТА И МИОКАРДИАЛЬНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

### 1.1 ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ МИОКАРДА В КАРДИОХИРУРГИИ

Болезни системы кровообращения, в частности ИБС, занимают первое место среди причин смертности в развитых странах [251].

Несмотря на значительный прогресс кардиологии, в т.ч. интервенционной, медикаментозная терапия и эндоваскулярные технологии не позволяют обеспечивать качественное лечение пациентов с мультифокальным атеросклерозом коронарных артерий и осложнёнными формами ИБС [59; 148]. Методом выбора в лечении данной категории пациентов является операция АКШ [62; 94].

В целом, уровень periоперационной летальности при данных вмешательствах колеблется от 2% до 10% в зависимости от тяжести дисфункции левого желудочка (ЛЖ) [4; 48; 136].

Несмотря на значительные успехи в области анестезиологического обеспечения вмешательств на открытом сердце и технологическом прогрессе методики искусственного кровообращения (ИК) остается нерешенным целый ряд частных вопросов кардиоанестезиологии, в частности интраоперационная защита миокарда. При операциях АКШ periоперационный инфаркт миокарда (ИМ) встречается в 3 – 30% от общего числа вмешательств и является ведущей причиной смертности и осложнений в этой когорте пациентов [116]. Клинические проявления данного осложнения значительно варьируют от транзиторной миокардиальной дисфункции до синдрома малого сердечного выброса и циркуляторного шока. Частота посткардиотомного кардиогенного шока при кардиохирургических вмешательствах у взрослых колеблется от 2% до 6% [276]. При этом примерно у 40 % взрослых кардиохирургических

пациентов с кардиогенным шоком имеется еще и дисфункция правого желудочка [235]. Несмотря на проведение кардиоплегической защиты миокарда, пережатие аорты во время проведения ИК ведет к ишемическому и реперфузионному повреждению. Развивается постишемическая сократительная дисфункция, известная как состояние миокардиального станнинга, которое, в зависимости от дефиниций, наблюдается у 45% пациентов после кардиохирургических вмешательств [57]. При этом 25% пациентов, перенесших изолированное АКШ, нуждаются в инотропной поддержке [144]. Даже в условиях адекватной реваскуляризации миокарда для восстановления насосной функции сердца может потребоваться время [250]. Терапию миокардиальной дисфункции усложняет адаптация пациентов с хронической ишемической кардиомиопатией к состоянию устойчивой эндогенной гиперкатехоламинемии, со снижением экспрессии и чувствительности  $\beta 1$ -адренорецепторов [66; 230].

Закономерным является увеличение общей заболеваемости, продолжительности пребывания в стационаре, госпитальной и долгосрочной летальности у пациентов с миокардиальным повреждением [9; 54; 56; 88; 172].

Периоперационный период кардиохирургических вмешательств сопряжен с множеством повреждающих факторов, связанных непосредственно с хирургической агрессией, проведением ИК и арестом сердца в условиях «защищенной аноксии».

Кардиохирургическое вмешательство представляет собой высокую степень хирургической агрессии, сопровождающейся выраженными сдвигами нервно-рефлекторной регуляции, гуморальной активности и метаболического статуса [145]. Эти изменения носят характер системного взаимодействия комплекса исходного состояния пациента, хирургического вмешательства и экстракорпорального кровообращения [133]. Агрессивные факторы периоперационного периода, оказывающие повреждающее воздействие на миокард, мультивариантные и многоуровневые. К хирургически индуцированным относятся также механическая и электрическая травма

кардиомиоцитов при тракции и вертикализации сердца, рассечении тканей, проведении электроимпульсной терапии [151]. Несмотря на совершенствование хирургической техники, необходимость в сухом и неподвижном операционном поле требует проведения полного сердечно-легочного обхода и пережатия аорты в подавляющем большинстве случаев. Важным механизмом патогенеза миокардиальной дисфункции при кардиохирургических вмешательствах является ишемически-реперфузионное повреждение миокарда. Даже в условиях совершенствования методологии кардиоплегии и «защищенной аноксии», неадекватная защита миокарда остается основной причиной осложнений и летальных исходов при операциях с ИК [35].

Клиническая манифестация ишемически-реперфузионного повреждения кардиомиоцитов варьирует от транзиторной миокардиальной дисфункции до одного из самых тяжелых осложнений в кардиохирургической когорте пациентов – инфаркта миокарда. При определенной интенсивности, продолжительности и характере повреждающих воздействий возможно развитие синдрома оглушения миокарда – станнинга, который может приводить к развитию кардиогенного шока [137; 281]. Миокардиальный станнинг определяется как обратимая постишемическая дисфункция миокарда на фоне адекватного восстановленного коронарного кровотока при отсутствии некроза миокарда. Станнинг миокарда после защищенной глобальной ишемии затрагивает все фазы сердечного цикла и характеризуется нарушением систолической и диастолической функции кардиомиоцитов с продолжительным снижением контрактильной и пропульсивной функций сердца [31]. Станнинг миокарда является причиной синдрома малого сердечного выброса в кардиохирургии даже при условии адекватной periоперационной кардиоплегической защиты сердца [8]. Молекулярным субстратом миокардиального повреждения при ишемии-реперфузии являются механизмы нарушения гомеостаза кальция с его внутриклеточной перегрузкой, известные как «кальциевый парадокс» [141], а также избыточная продукция

активных форм кислорода (АФК) с повреждением клеточных структур – оксидативный стресс или «кислородный парадокс» [60]. Важное место в патогенезе реперфузионного повреждения занимает развивающаяся при реперфузии эндотелиальная дисфункция и прямое цитотоксическое действие нейтрофилов с микроциркуляторным дистрессом и компартментализацией воспаления в миокарде. При этом многими авторами подчеркивается значимость именно комбинации факторов в кумулятивном объеме необратимых изменений [168].

Поиск методов и технологий оптимальной кардиопротекции продолжается вместе с развитием кардиохирургии.

## 1.2 ЗАЩИТА МИОКАРДА ОТ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ В КАРДИОХИРУРГИИ

### *1.2.1 Оценка выраженности ишемически-реперфузионного повреждения и маркеры эффективности кардиопротекции*

Оценка эффективности кардиопротекции и адекватности интраоперационной защиты миокарда у кардиохирургических пациентов основывается на клинико-функциональных и биохимических показателях. При этом в качестве клинических показателей качества комплекса мероприятий органопротекции наиболее часто используют характер восстановления сердечной деятельности после кардиоплегии и завершения основного этапа операции, частоту развития постишемических нарушений сердечного ритма, дозы применяемых инотропных и вазопрессорных препаратов, а также длительность их введения, частоту развития послеоперационной острой сердечной недостаточности и синдрома малого выброса, госпитальную летальность в ближайшем послеоперационном периоде [10]. В качестве функциональных критериев рядом авторов предлагается использование показателей центральной гемодинамики, эхокардиографическая оценка глобальной и региональной сократительной функции миокарда, а также проведение магнитно-резонансного исследования сердца [17].

В качестве биохимических маркеров периоперационного повреждения миокарда в настоящее время рекомендовано использование тропонина I как обладающего высокой тканевой специфичностью при повреждении миокарда [17]. Тропонин I вместе с тропонинами T и C являются компонентами тропонинового комплекса, входящего в состав филаментов сердечной мускулатуры. Однако тропонин I является специфичной исключительно для сердечной мышцы формой тропонина со своими структурными особенностями. Как следствие, в отличие от других известных маркеров миокардиального повреждения на плазменную концентрацию тропонина I не влияет

коморбидный фон пациентов: наличие почечной недостаточности, рабдомиолиз и проч. Тропонин I крайне чувствительный и специфичный показатель при ИМ и является общепризнанным маркером миокардиального повреждения. В плазме крови тропонин I присутствует в низком титре, обеспечивая тем самым широкое диагностическое окно. Концентрация этого белка в сыворотке крови превышает нормальные значения только в случае некроза кардиомиоцитов либо повреждения мембранных клеток другого генеза [215]. При этом исходная сердечная патология, сопутствующие заболевания, адекватность хирургической коррекции основной патологии, а также послеоперационные осложнения могут повлиять на послеоперационный уровень тропонина. В частности, повышенный уровень тропонина I может наблюдаться при хирургических манипуляциях, связанных с травмой сердечной мышцы (клапанная хирургия, реконструктивные операции на левом желудочке сердца), многократной дефибрилляции, острой неврологической патологии (инфаркт, субарахноидальное кровоизлияние), миокардите и эндокардите, осложненном течении послеоперационного периода, в частности, при развитии дыхательной недостаточности, острого почечного повреждения или сепсиса [152]. Несмотря на это, прогностическая ценность повышения тропонина остается высокой у всех категорий пациентов. В частности, у смешанной популяции пациентов отделений интенсивной терапии повышение уровня тропонина I является независимым предиктором повторного поступления и летальности в отделении реанимации, госпитальной, 30 дневной и 6 месячной летальности [82; 218], а также увеличивает продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии на 3 дня и на 2,2 дня в госпитале [83].

Определение активности МВ-изоформы креатинфосфокиназы (КФК) по-прежнему не потеряло своего значения при диагностике повреждения миокарда, позволяя оценить объём поражения, динамику восстановительных процессов и диагностировать рецидивы. Динамика МВ-КФК демонстрирует практически линейную зависимость от массы миокардиального повреждения,

которое развивается в той или иной степени при 44% вмешательств коронарного шунтирования [272]. Национальная академия клинической биохимии США, Европейское общество кардиологов и Американский колледж кардиологии рекомендуют использование плазменной концентрации МВ-КФК в качестве ранних маркеров миокардиального повреждения [72; 166; 171].

У пациентов, перенесших АКШ в условиях ИК, послеоперационные уровни МВ-КФК являлись строгими независимыми предикторами 30 дневной, 6 месячной и 1 летней летальности [117; 118].

Систематические обзоры и метаанализы показывают, что в кардиохирургической практике у пациентов после АКШ степень повышения концентрации тропонина I независимо и строго связана с повышенением краткосрочной, среднесрочной и долгосрочной летальности [231]. При этом ни один из маркеров миокардиального повреждения в т.ч. тропонин I и МВ-КФК не может с достаточной степенью точности определить механизм травмы (хирургические манипуляции и тип операции, гемодинамическая нестабильность и/или дисбаланс доставки/потребления кислорода миокарда в периоперационном периоде, ишемически-реперфузионное повреждение, несостоятельность шунтов и прочее). Однако, независимо от механизма, пиковые значения тропонина I и МВ-КФК после кардиохирургической операции коррелируют со степенью тяжести и величиной миокардиального повреждения и ухудшением прогноза [30; 270]. Динамика концентрации и пиковые значения маркеров миокардиального повреждения в послеоперационном периоде служат важным критерием адекватности стратегии интраоперационной кардиопротекции [43]. При этом пик подъема уровня тропонина I в интервале до 12 часов после операции АКШ может быть связан с проблемами интраоперационной защиты миокарда (продленное время пережатия аорты, ишемически-реперфузионное повреждение, доставка кардиоплегического раствора при мультифокальном поражении коронарного

русла), в то время как более поздний подъем, как правило, связан с дисфункцией шунтов [44].

### *1.2.2 Методы защиты миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения*

Проблема интраоперационной защиты миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения, а также разработка вопросов профилактической кардиопротекции, по-прежнему являются актуальными задачами для улучшения результатов кардиохирургических вмешательств. Основным способом защиты миокарда является методика фармакоиндуцированной остановки сердца – кардиоплегии, зачастую в сочетании с локальной гипотермией. Несмотря на четко сформулированные принципы проведения кардиоплегии, многообразие предложенных методик и прописей кардиоплегических растворов, температурных режимов, способов доставки и вариантов использования дополнительных субстратов, в ряде случаев изолированное применение кардиоплегии не позволяет обеспечить оптимальную защиту миокарда [101].

Даже неосложненные кардиохирургические вмешательства с применением эффективных стратегий кардиоплегии неизбежно сопровождаются миокардиальным повреждением, определяемым по выбросу в плазму крови кардиоспецифических маркеров [219]. В этой связи дополнительная защита миокарда во время кардиохирургических вмешательств имеет большую научно-практическую актуальность. В качестве адъювантовых кардиопротекторов рассматривается широкий спектр фармакологических, метаболических и физических агентов: периоперационная кардиопротекция блокаторами бета-адренергических рецепторов, анестетическая кардиопротекция, интраоперационное применение глутамина, глюкозо-инсулиновой смеси, дексмедетомидиновая кардиопротекция, использование левосимендана, метаболическая кардиопротекция экзогенным

фосфокреатином, применение различных форм прекондиционирования – прямого и дистантного ишемического прекондиционирования, а также фармакологического прекондиционирования. При этом ни один из препаратов или методик адьювантной кардиопротекции не может обеспечить максимально эффективную кардиопротекцию во всех клинических ситуациях. Экспертная группа по проблеме «Адьювантная кардиопротекция», созданная по инициативе секции кардиоанестезиологии Федерации анестезиологов и реаниматологов РФ, отметила, что соответствие указанных препаратов и методов гипотетическому «идеальному кардиопротектору» не превышало 67 – 73% [10]. Так, интраоперационное применение бета-адреноблокаторов показано у пациентов с выраженной гипертрофией миокарда, а также при проведении вмешательств у больных с острым коронарным синдромом [10]. Однако при других типах кардиохирургических вмешательств результаты применения препаратов этой группы продолжают изучаться [221]. Более того, бета-блокаторы у больных с фракцией выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) <30% считаются непоказанными, их periоперационное применение может быть связано с гемодинамическими расстройствами [5; 242]. Многочисленные биорегуляторные функции глутамина (антиоксидантные свойства, анаплеротические эффекты, противовоспалительная иммуномодуляция, синтез белков теплового шока и проч.) позволили рассматривать данную аминокислоту в качестве кардиопротекторного агента. Применение глутамина (в парентеральной или энтеральной форме) у кардиохирургических больных было ассоциировано с меньшим уровнем кардиоспецифических маркеров, лучшими значениями сердечного индекса, а также снижением частоты осложнений в послеоперационном периоде [98; 99; 209]. Однако кардиопротекторные эффекты глутамина не подтверждены у больных ИБС, страдающих сахарным диабетом [75]. Необходимо отметить немногочисленность и низкий уровень доказательности клинических исследований, а также отсутствие утвержденных рекомендаций по назначению

глутамина с целью кардиопротекции в кардиохирургии. Экспертное заключение оценивает применение глутамина в качестве кардиопротектора как малоэффективную лечебную меру [10].

Дексмедетомидин, агонист  $\alpha_2$ -адренергических рецепторов, может выступать в качестве кардиопротекторного агента за счет изменений системной гемодинамики, специфических изменений коронарного кровотока и комплекса рецепторзависимых метаболических процессов. Мета-анализы подтверждают снижение риска ишемии миокарда (без влияния на риск ИМ и летальность), снижение частоты аритмий, снижение риска делирия, снижение общей частоты осложнений и укорочение сроков госпитализации при назначении дексмедетомидина [204; 258; 279]. При этом ни в одном исследовании не описано каких-либо специфических проявлений кардиопротекции, дексмедетомидин не обеспечивает значимых отличий в степени послеоперационного повышения МВ-КФК и тропонина I и не влияет на риск развития инфаркта миокарда [74]. Таким образом, дексмедетомидиновая кардиопротекция на настоящий момент не имеет однозначных доказательств, что сказалось на невысокой экспертной оценке свойств препарата при кардиохирургических вмешательствах с кардиоплегией и ИК [10].

Учитывая убедительные доказательства снижения уровня макроэргов как причины структурных изменений в кардиомиоцитах при ишемии-реперфузии, адекватное энергообеспечение клеток является крайне важным аспектом кардиопротекции. Важную роль в реализации этого механизма может играть экзогенный фосфокреатин. Мета-анализ, посвященный оценке кардиопротекторных эффектов фосфокреатина, показал снижение летальности, улучшение контракtilной функции миокарда, меньший уровень МВ-КФК, меньшую частоту аритмий, меньшую потребность в инотропных препаратах, более частое спонтанное восстановление сердечной деятельности у пациентов, получавших фосфокреатин [41]. Однако экспертная оценка эффективности фосфокреатина выявила наихудшие показатели у больных с гипертрофией

миокарда, а также при применении препарата в случае невозможности отлучения от ИК [10].

Наряду с фосфокреатином наиболее универсальными и эффективными кардиопротекторами группой экспертов признаны левосимендан и галогенсодержащие ингаляционные анестетики [10]. Выполнен ряд мета-анализов, показывающих снижение послеоперационного уровня тропонина I, улучшение показателей гемодинамики, снижение частоты аритмий, сокращение продолжительности госпитализации и снижение летальности у кардиохирургических больных при применении левосимендана [79; 80; 104; 143; 227; 257]. Мета-анализы подтверждают кардиопротекторные эффекты галогенсодержащих ингаляционных анестетиков, проявляющиеся в снижении кардиоспецифических маркеров, лучшем гемодинамическом профиле, уменьшении частоты ишемии и инфарктов миокарда, а также снижении летальности [71; 253; 282].

Использование анестезии на основе ингаляционных анестетиков рекомендовано Американским обществом кардиологов и Американской ассоциацией сердца для уменьшения риска периоперационного инфаркта миокарда при операциях АКШ [1]. Механизм кардиопротективного действия обеих групп препаратов связан с реализацией феномена фармакологического прекондиционирования миокарда, как частного варианта ишемического прекондиционирования [45]. При этом анестетическая кардиопротекция и кардиопротекция левосименданом – важный, но побочный эффект от использования ингаляционной анестезии или применения фармакологической поддержки кровообращения с помощью левосимендана. Недопустимо модифицирование анестезии или назначение инодилляторной терапии с целью реализации кардиопротективного эффекта, игнорируя требования безопасности пациента [10]. Для оценки потенциальных кардиопротективных воздействий с 2011 года в США под эгидой Национального института здоровья был создан консорциум из ведущих университетов страны. Примечательно, согласно

первому публичному отчету о его работе, с позиций доказательной медицины был подтвержден лишь кардиопротективный эффект классического ишемического прекондиционирования (ПК) [260]. Однако применение ишемического ПК в клинической практике ограничено, а различные его модификации, в частности дистантное ишемическое прекондиционирование, в крупных многоцентровых рандомизированных исследованиях не выявили его влияния на снижение маркеров повреждения миокарда или улучшения клинических исходов после кардиохирургических вмешательств [76; 233; 236].

Таким образом, поиск оптимальной стратегии адьювантной кардиопротекции продолжается. Крайне перспективным является идентификация потенциальных фармакологических агентов, являющихся прямыми триггерами или медиаторами реализации органопротективного фенотипа при ПК.

### 1.3 ОКСИД АЗОТА И ЗАЩИТА МИОКАРДА ПРИ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ

#### 1.3.1 Роль оксида азота в реализации эффектов ранней фазы кардиопротекции

Клиническое использование органических нитратов и попытки интерпретации их биологического значения предпринимались с середины 19 века, когда впервые была выявлена эффективность препаратов этой группы у пациентов со стенокардией [33]. Более века потребовалось для идентификации эффектора нитропрепаратов – молекулы NO, эндогенного модулятора сосудистых реакций. И в настоящее время агенты – доноры оксида азота – являются наиболее широко применяемыми лекарственными средствами для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. При этом на протяжении последних лет наблюдается активный интерес исследователей к проблеме NO-опосредованной кардиопротекции. Принципиально различна роль NO в модулирующих эффектах ишемически-реперфузионного повреждения в нативном сердце и в прекондиционированном миокарде. Более того, феномен ПК (ишемическое, фармакологическое, дистантное) вне зависимости от вызвавшего его стимула включает в себя две временные фазы протективных эффектов с различными патофизиологическими механизмами их реализации и совершенно разными клиническими последствиями. В этой связи роль NO в ранней и поздней фазах кардиопротекции необходимо рассматривать отдельно [26; 58].

Самый большой на настоящий момент анализ работ, посвященных влиянию NO на ишемически-реперфузионное повреждение миокарда, проведен R. Bolli [29]. Автором проанализировано более 100 работ, посвященных этому вопросу за последние 15 лет. Подавляющее большинство исследований подтверждают вывод о том, что фармакологическое ингибирирование или генетическая абляция эндогенной активности синтаз оксида азота (NOS)

усугубляет ишемически-реперфузионное повреждение миокарда, при этом доставка экзогенного NO (введение доноров или предшественников) оказывает защитное действие. В качестве первичной конечной точки в исследованиях оценивался инфаркт либо миокардиальный станнинг, а цитопротективный эффект NO на нативный миокард реализовывался в условиях как региональной, так и глобальной ишемии у разных видов, на разных экспериментальных моделях, как *in vitro*, так *in vivo*.

Крайне интригующей представляется роль NO в реализации эффектов ранней фазы феномена ПК. Ранняя фаза ПК развивается в течение нескольких минут после кратковременного повреждающего стимула любой модальности (ишемия, фармакологические агенты, гуморальные стимулы и прочее). Исследования, в которых рассматривалась роль NO как триггера развития ранней фазы ПК, базировались на тех же принципах ингибирования активности эндогенного NO либо его экзогенной доставки. При этом имеются данные, показывающие, что абляция NOS препятствует развитию раннего ПК. A. Lochner et al., 2000 и P. Ferdinand et al., 1997 обнаружили, что применение ингибиторов NOS препятствует реализации антиаритмических и цитопротективных эффектов ишемического ПК на изолированные сердца крыс, однако постишемическая дисфункция может быть предотвращена предварительной дотацией нитропруссида [149; 197]. V. Richard et al., 1995, также выявили блокаду ацетилхолин-индуцированного ПК абляцией эндогенного NO [163].

Фармакологическая кардиопротекция донорами NO является перспективным направлением, что подкрепляется доказательствами моделирования экзогенным NO защитных эффектов на миокард, подобных прекондиционированию. Эксперименты A. Nakano et al., 2000, проведенные на изолированных сердцах кроликов, подвергнутых 30-минутной коронарной окклюзии с последующей реперфузией через 2 ч, продемонстрировали, что предварительная дотация доноров NO вызвала мощный

инфаркт-лимитирующий эффект, сопоставимый с эффектами ишемического ПК [93]. Аналогичные результаты были получены в исследовании на кроликах группой M. Hill et al., 2001. Авторы обнаружили, что внутривенная инфузия нитроглицерина, предшествующая миокардиальной ишемии и завершенная за 1 ч до 30-минутной коронарной окклюзии, вызвала отчетливый инфаркт-лимитирующий эффект. Однако стоит отметить, что выраженность кардиопротективного эффекта ранней фазы была меньше, чем у поздней фазы ПК, наблюдавшейся через 24-72 ч после введения нитроглицерина [199].

Суммируя вышеизложенное, можно заключить, что проведенные на настоящий момент исследования указывают на то, что реализация кардиопротективных эффектов ранней фазы кардиопротекции (по крайней мере, индуцированной ишемией) проходит с вовлечением эндогенного NO. При этом отмечается феномен миокардиальной NO-защиты, аналогичный цитопротекции при ПК. Триггеры ПК, высвобождающиеся во время эпизодов сублетального стресса, помимо NO включают аденоzin, брадикинин, опиоидные агонисты, АФК, катехоламины и т. д.

### *1.3.2 Роль оксида азота в реализации эффектов поздней фазы кардиопротекции*

Поздняя фаза ПК проявляется через 12-24 ч после повреждающего стимула и обеспечивает защиту миокарда в течение 72 ч [28; 42; 68; 142]. Учитывая большую продолжительность цитопротективных эффектов, а также антиаритмический потенциал, а также возможность предотвращать миокардиальный станнинг, реализация феномена отсроченной кардиопротекции может иметь даже большее клиническое значение, чем рассмотренная ранняя фаза. Несмотря на то, что в качестве триггеров раннего и позднего ПК могут выступать одни и те же стимулы, механизмы реализации конечных эффектов принципиально различны. Развитие феномена раннего ПК является результатом быстрой, однако скоротечной посттрансляционной

модификации ранее существовавших белков, в то время как поздняя фаза органопротекции обусловлена синтезом белков *de novo* и вторичным генетическим репрограммированием сердца. Исследования, проведенные в этой области, указывают на ключевую роль NO в механизмах развития поздней фазы кардиопротекции, вне зависимости от вида индуцировавших его стимулов [261]. Кратко обобщить роль NO в контексте поздней фазы ПК можно следующим образом: усиление биосинтеза NO необходимо для реализации индуцированной ишемией [90; 195] и физической нагрузкой [92] кардиопротекции. Данные факты указывают на важность присутствия NO в качестве химического сигнала, с помощью которого происходит модификация генетического материала и переход к протективному фенотипу сердца в ответ на ишемическое повреждение или интенсивный стресс от перенапряжения. Реализацию феномена позднего ПК блокирует введение неселективного ингибитора NO-синтаз [264]. Резкий подъем активности NOS наблюдается сразу после воздействия ишемического стимула, однако этот эффект также нивелируется неселективными ингибиторами NOS в той же дозе, в которой они блокируют позднее ПК [23].

Выявлено, что изолированная донация прекурсоров NO без моделирования ишемии вызывает эффект отсроченной кардиопротекции, аналогичный с эффектами поздней фазы ПК. Инфарктлимитирующий эффект, а также положительное действие против миокардиального станнинга, сопоставимы с эффектами сублетальных ишемических стимулов. Эти факты подтверждают не только необходимость, но и достаточность присутствия NO для индуцирования позднего ПК [182; 183; 200; 199].

Сигнальный путь NO-опосредованной индукции поздней фазы органопротекции (вне зависимости эндогенный или экзогенный NO вовлечен в каскад реакций) включает генерацию активных форм кислорода [183], активацию протеинкиназы C<sup>ε</sup> (*PKC*<sup>ε</sup>) [132; 222] с последующим вовлечением семейств тирозин зависимых протеинкиназ [21; 222; 223], мобилизацией

транскрипционного фактора *NF-κB* (ядерный фактор «каппа-би»; англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) [201] и активацией транскрипции гена индуцибелной NOS (iNOS) в finale [129]. Примечательно, что активация этого же сигнального пути приводит к реализации протективных эффектов ишемического ПК [29].

Помимо роли триггера ишемически индуцированного ПК, NO играет крайне важную роль в качестве медиатора кардиопротекции и через 24 ч после инициирующего события [115; 194; 259]. Как показали проведенные фундаментальные работы, за генерацию NO в этом случае отвечает iNOS. Исследования последних лет убедительно показали, что ишемическое ПК вызывает экспрессию белков iNOS и провоцирует усиление ее активности в течение 24 ч после стимула, а ее специфическая аблация приводит к полному нивелированию кардиопротективных эффектов поздней фазы ПК [130]. Помимо индуцированного ишемией, iNOS является обязательным медиатором нескольких форм фармакологического ПК, включая позднее ПК, вызванное аденоzinом [3; 120; 207], опиоидами [207], донорами NO [255] и производными эндотоксина [87; 100; 240; 262]. Резюмируя, можно заключить, что биосинтез NO является конечным общим путем, по которому реализуется кардиопротективный фенотип в ответ на различные стрессорные воздействия. При этом прекондиционирующие стимулы вызывают активацию NOS на порядок меньше, чем это наблюдается после инфузии липополисахарида [130; 259]. Этим объясняется парадокс кардиопротективного действия iNOS при умеренной экспрессии, обусловленной ПК, и цитотоксические эффекты при ее гиперактивации в условиях воспаления.

В 1998 году R. Bolli была сформулирована NO-гипотеза кардиопротекции [261], согласно которой NO несет две функции в механизме поздней фазы ПК, действуя первоначально в качестве триггера, а затем в качестве медиатора этого адаптивного ответа. Всплеск продукции NO во время прекондиционирующего стимула любой модальности имеет самостоятельную протективную роль и

вызывает повышенную экспрессию и активность iNOS через 24 ч. К настоящему времени NO-гипотеза позднего ПК убедительно подтверждена фармакологическими, биохимическими и молекулярно-генетическими данными, накопленными в различных моделях сердечной адаптации, и рассматриваться как доказанная.

NO в кардиомиоцитах активирует систему растворимая гуанилатцилаза-циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) по аналогии с гладкомышечными клетками сосудов. Проникнув в гладкомышечную клетку сосуда, NO связывается с простетической группой гема растворимой гуанилатцилазы, в результате чего резко и быстро увеличивается количество цГМФ [153]. Активированная, в дальнейшем цГМФ-зависимая протеинкиназа (PKG), стимулирует действие многочисленных физиологических процессов регуляции в кардиомиоцитах. В результате активность  $Ca^{2+}$  канала L-типа подавляется оксидом азота через цГМФ-зависимые каналы [85]. Степень кальциевого захвата в сердечном саркоплазматическом ретикуле может быть повышена с помощью оксида азота также путем усиления фосфорилирования фосфоламбана [210]. При этом редукция цитозольной перегрузки  $Ca^{2+}$ , ассоциированной с острой миокардиальной ишемией и являющейся одной из основных паттернов клеточного повреждения, оказывает самостоятельное защитное действие [27]. Оксид азота при его связывании с супероксид-анионом может образовывать пероксинитрит, который оказывает специфическое воздействие на фосфоламбан. NO и активированный им cGMP-зависимый путь внутриклеточной сигнализации помимо ингибирования кальциевого инфлюкса проявляют антагонизм к эффектам  $\beta$ -адренергической стимуляции [278], опосредуют снижение контракtilности миокарда [61; 165; 173; 178; 198 244; 245], а, следовательно, и потребление им кислорода [39; 77; 147; 239; 241; 246]. NO напрямую активирует сарколеммальные  $K_{at\phi}$ -каналы. NO через активацию PKG опосредует открытие митохондриальных  $K_{at\phi}$ -каналов, что подтверждает гипотезу о интрамитохондриальной сигнализации и единстве конечных

эффектов феномена ишемического и NO-зависимого прекондиционирования [6], однако полностью не объясняет всех механизмов терапевтического действия NO [254]. Активация митохондриальных  $K_{\text{атф}}$ -каналов приводит к нормализации водного баланса митохондрий. Конечной целью механизма кардиопротекции посредством феномена ПК, вне зависимости от индуцирующих стимулов, является деактивация митохондриальной неспецифической поры (mPTP). Открытие mPTP приводит к уменьшению выработки АТФ посредством ослабления потенциала митохондриальной мембраны, что, в конечном счете, вызывает некротическую смерть клетки от энергетического дефицита [124]. NO-зависимый маршрут NO-цГМФ-PKG, а также опосредованное NO увеличение количества АФК и формирование свободных радикалов через открытие митохондриальных  $K_{\text{атф}}$ -каналов, обеспечивают ингибирование mPTP. Инактивация mPTP реализует цитопротективный фенотип благодаря ингибированию апоптотического сигнала из митохондрий. Как было указано выше, NO снижает интрацеллюлярную кальциевую перегрузку в ишемизированных кардиомиоцитах после реоксигенации [157]. Так как интрацеллюлярная кальциевая перегрузка может напрямую активировать открытие mPTP, снижение уровня  $Ca^{2+}$  способно напрямую обеспечивать защиту митохондрий в ишемически-реперфузионном состоянии [68]. Помимо этого, G.Heusch et al., 2000 предполагают, что выделение эндогенного NO резервирует зависимую от  $Ca^{2+}$  сократительную функцию без дополнительных энергетических затрат, что критически важно в условиях ишемии [107]. NO может проявлять антиоксидантные свойства, в частности, способен снижать свободнорадикальное повреждение клеточных мембран [192; 196].

NO способен воздействовать на энергетический баланс митохондрий и вне указанных механизмов за счет связывания с активными центрами цитохром с-оксидазы аэробной дыхательной цепи переноса электронов на внутренней мемbrane митохондрий [160; 188]. Такое взаимодействие NO с электронной

транспортной цепью лимитирует пределы окислительного фосфорилирования, что предотвращает генерацию АФК, интрамитохондриальный кальциевый инфлюкс и активацию mPTP. Конкурентное ингибиование NO тканевого дыхания благоприятно как в условиях ишемии и дефицита  $O_2$ , так и во время реперфузии за счет постепенного восстановления электронного транспорта и протонного градиента, что препятствует взрывной генерации АФК [203; 256]. Так или иначе, увеличение биодоступности NO за счет его эндогенной фракции, либо путем его экзогенной донации ассоциирован с митохондриальной деполяризацией и снижением захвата  $Ca^{2+}$  [156], что подтверждает гипотезу о mPTP как о конечном эфекторе NO-протекции [189]. Таргетная NO-модуляция mPTP представляется крайне интересной областью для дальнейших клинических исследований [184; 234].

Донация NO может предотвращать ухудшение эндотелий-зависимой коронарной вазодилатации [205] и редуцировать феномен невосстановленного кровотока («no-reflow») [266], снижать лейкоцитарную инфильтрацию, высвобождение цитокинов и экспрессию молекул адгезии, что предотвращает компартментализацию воспаления в миокарде [113; 179; 180]. Безусловно, подобные эффекты NO потенцируют его защитные свойства на миокард, однако выявление точных механизмов его плюрипотентного действия требует проведения дальнейших исследований.

Критически важной является роль NO в реализации кардиопротективных эффектов феномена посткондиционирования, ответственного за цитопротекцию уже после свершившегося воздействия повреждающего фактора. Группой Tsang A. et al., 2004, выявлено, что посткондиционирование приводит к фосфорилированию NOS [216], а ингибиование этого фермента редуцирует кардиопротективные эффекты феномена [217].

Помимо медиации классического пре- и посткондиционирования NO играет решающую роль в кардиопротекции, индуцированной фармакологическими агентами. Например, некоторые группы препаратов,

используемых для лечения гиперхолестеринемии, гипертонии и эректильной дисфункции, реализуют свои эффекты через увеличение биодоступности NO.

Так, терапия статинами приводит к изменению профиля экспрессии NOS, что оказывает благотворное влияние, как на течение основного заболевания сердца, так и его толерантность к ишемически-реперфузионному повреждению в острой ситуации [271]. Рядом исследований подтверждено NO-опосредованное миоцитпротективное действие при кардиопротекции после однократной предварительной обработки статинами, также имеются сообщения о потенциальных защитных эффектах статинов при реперфузии [20; 73; 134].

Ингибиторы фосфодиэстеразы 5 типа (силденафил), применяемые для терапии эректильной дисфункции, проявляют мощные кардиопротективные эффекты при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения на животных моделях [229; 248]. Центральным механизмом реализации протективных эффектов ингибиторов фосфодиэстеразы является индукция iNOS [249].

Активация рецепторов ангиотензина 1 типа вызывает специфические эффекты в сердце, связанные с ангиотензин-опосредованной продукцией супероксида, что является причиной персистирующего оксидативного стресса и снижения биодоступности NO в кардиомиоцитах [84]. Повышение биодоступности эндогенного NO может служить ключевым механизмом кардиопротективных эффектов ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента и антагонистов рецепторов альдостерона [164]. Таким образом, широко применяемые в повседневной клинической практике классы препаратов могут ограничивать размер миокардиального повреждения при острых ишемических событиях, реализуя свой потенциал по NO-зависимым механизмам.

Активно обсуждается вовлеченность NO-пути в реализацию анестетического прекондиционирования миокарда как частного варианта фармакологического прекондиционирования [268].

### 1.3.3 Трансляция кардиопротективных свойств оксида азота в клиническую практику

Помимо фундаментального общебиологического значения NO-гипотеза ПК имеет терапевтические точки приложения и может быть транслирована в повседневную клиническую практику. Рассмотренные выше экспериментальные исследования показали, что адьювантная терапия донорами NO даже в отсутствие ишемической тренировки может запускать молекулярные и функциональные механизмы ишемически-индуцированного позднего ПК [132; 182; 183; 199; 200].

Кардиопротективные эффекты ингаляции оксида азота при инфаркте миокарда с элевацией сегмента ST были исследованы в работе S. Janssens et. al., 2018 [185]. Авторы тестировали гипотезу уменьшения реперфузионной травмы миокарда при проведении чрескожного коронарного вмешательства. Для участия в двойном слепом, плацебо-контролируемом исследовании были рандомизированы 250 пациентов с инфарктом миокарда с элевацией сегмента ST из 3 стран. В исследуемой группе пациентам в лаборатории катетеризации сердца проводили ингаляцию NO в дозе 80 ppm, которая была продолжена в течение 4 ч после чрескожной реваскуляризации. В качестве первичной конечной точки методом контрастной магнитно-резонансной томографии через 48 – 72 ч от проведения вмешательства авторами оценивался размер инфаркта в виде процентной доли от размеров ЛЖ. Вторичными конечными точками были выбраны постинфарктное ремоделирование сердца, включающее размер инфаркта к зоне риска, микроваскулярную обструкцию и постреперфузионный отек миокарда, оцениваемый по магнитно-резонансной томографии, уровень тропонина T, функциональное восстановление ЛЖ через 48 – 72 ч и 4 месяца, а также изменения конечно-систолического и конечно-диастолического объемов ЛЖ через 4 месяца. Также оценивались значимые клинические события через 4 и 12 месяцев после инфаркта. Авторами не получено достоверной разницы по первичным и вторичным конечным точкам в обеих группах, однако отмечена

тенденция к снижению размера инфаркта к зоне риска и суррогатов ремоделирования сердца в группе ингаляции NO. При этом при субгрупповом анализе в случае ингаляционного применения NO в сочетании с внутривенным введением нитроглицерина выявлено достоверное снижение размера инфаркта. Безусловно, данное исследование не поставило точку в вопросе о месте NO-опосредованной кардиопротекции при инфаркте миокарда. Возможно, более раннее начало ингаляционной терапии NO, а не только во время проведения реперфузионной терапии, позволило бы получить достоверные различия в первичных и вторичных конечных точках [136; 146].

Проведенные у пациентов, перенесших плановую чрескожную транслюминальную коронарную ангиопластику, исследования показали, что внутривенная инфузия нитроглицерина защищает миокард от ишемии через 24 ч после его введения [69], что является принципиальным доказательством феномена фармакологического прекондиционирования нитратами у людей [108]. До недавнего времени клиническое применение нитратов ограничивалось их антиангинальным действием, а также возможностью снижения преднагрузки на сердце. Фармакологическое прекондиционирование нитроглицерином с реализацией эффектов поздней фазы позволяет расширить терапевтическую нишу не только нитратов, но и всех соединений – доноров NO. Так, применение нитропруссида натрия у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST во время коронарной ангиопластики ассоциировалось с улучшением клинических исходов [126]. Однако многие соединения, вызывающие ПК-подобный эффект в экспериментальных исследованиях, не могут быть применены в клинической практике. В этом отношении наиболее изученными, хорошо переносимыми и постоянно применяемыми практикующими врачами остаются органические нитраты. Потенциально эти препараты могут использоваться в качестве адьювантной терапии для профилактики клеточного повреждения при стабильной и нестабильной стенокардии, при эндоваскулярных вмешательствах, в кардиохирургии. Данная область

клинического применения нитратов может быть даже более перспективной, чем синдромальное лечение ишемической болезни сердца.

Проведенные к настоящему времени клинические исследования прекондиционирующего эффекта нитратов имеют ряд ограничений, поскольку во всех этих исследованиях терапия начиналась либо во время, либо сразу после уже состоявшегося ишемического события [70; 131]. Манифестное и клинически значимое нитрат-индуцированное ПК, по всей видимости, может быть выявлено при упреждающем введении перед фатальной ишемией.

Кроме того, перспективными представляются генетические и/или фармакологические стратегии, направленные на регуляцию iNOS, являющейся общим медиатором защиты, различных видов ПК. Экспериментальные исследования, посвященные трансферу генов NOS [115; 119], продемонстрировали мощное инфаркт-лимитирующее действие. Следовательно, генная терапия NOS может быть эффективной стратегией для локального повышения уровня NO в миокарде для борьбы с ишемически-реперфузионным повреждением. При этом отпадает необходимость в непрерывном введении NO доноров, а значит, отсутствуют системные NO-зависимые изменения гемодинамики.

Кардиохирургическое вмешательство представляет собой реальную клиническую модель ишемически-реперфузионного повреждения сердца, которое вносит важный вклад в патогенез миокардиальной дисфункции в послеоперационном периоде. Несмотря на совершенствование хирургической техники, необходимость в сухом и неподвижном операционном поле требует проведения полного сердечно-легочного обхода и пережатия аорты в подавляющем большинстве случаев. Даже в условиях совершенствования методологии кардиоплегии и «зашщищенной аноксии» неадекватная защита миокарда остается основной причиной осложнений и летальных исходов при операциях с ИК [36]. Тотальная ишемия даже в условиях инициированной кардиоплегической защиты запускает каскад умеренно выраженных клеточных

реакций, прогрессирующих при увеличении продолжительности аноксии. Ишемия сердца резко меняет метаболический профиль и энергетический обмен кардиомиоцитов, активируя анаэробный гликолиз и способствуя уменьшению синтеза энергетических субстратов в митохондриях. Восстановление коронарного кровотока после снятия зажима с аорты принципиально обладает самостоятельными неблагоприятными морфологическими и функциональными воздействиями. Глобальное реперфузионное повреждение может превосходить ишемическое по степени тяжести [213]. Помимо прочего, пациенты кардиохирургического профиля имеют характерный преморбидный фон (метаболический синдром, атеросклероз, сахарный диабет), ассоциированный со снижением биодоступности NO из-за снижения активности NOS или увеличения продукции АФК [214]. Предоперационное голодание снижает не только депо гликогена, но и субстраты эндогенного пути синтеза нитрат – нитрит – NO [111].

Несмотря на обширные экспериментальные подтверждения кардиопротективных эффектов NO, клинических исследований, проведенных в кардиохирургии, крайне мало, при этом большая часть выполнена на педиатрической когорте пациентов. Трансляция фундаментальных исследований в этой области в клиническую практику началась лишь в последнее время.

Во время ИК выработка естественного NO снижена [50; 105], а интраоперационная заместительная терапия его физиологическим предшественником L-аргинином практически невозможна. Ассоциированный с ИК гемолиз и интраоперационное переливание компонентов крови потенцируют секвестрацию эндогенного NO [48]. Интраоперационное снижение биодоступности NO обуславливает системные расстройства микроциркуляции [86; 128]. Персистирующая вазоконстрикция, обусловленная дефицитом NO, в конечном счете, может приводить к органной дисфункции [106].

В этой связи большой интерес представляет изучение вопроса о нитрат- или нитритиндуцированной кардиопротекции в кардиохирургии. В настоящее время проводится исследование для оценки протективной роли нитритов у этой категории пациентов – ClinicalTrials.gov NCT 01098409 [154]. Первичной конечной точкой данной работы выбран уровень экспрессии эндотелиальной NO-синтазы как главного эндогенного механизма цитопротекции, при этом активность фермента исследуется в биоптатах левого желудочка.

Необходимо отметить, что использование прекурсоров NO для кардиопротекции может иметь определенные ограничения. В частности, использование доноров NO может быть малоэффективным в условиях ацидоза и снижения таких кофакторов, как аскорбиновая кислота и полифенолы [127]. В этой связи внимание многих исследователей было обращено к periоперативной кардиопротекции нативной молекулой NO. Применение NO непосредственно во время ИК может также снижать потребление тромбоцитов и ингибиовать активацию и адгезию лейкоцитов во время экстракорпоральной перфузии, что потенциально может нивелировать выраженность синдрома системной воспалительной реакции [186; 187; 228]. Так, группой Checchia P. et al., 2013, было проведено проспективное исследование у детей, перенесших операцию радикальной коррекции тетрады Фалло [181]. В общей сложности 16 детей были рандомизированы в 2 равные группы, при этом пациенты исследуемой группы получали 20 ppm NO в оксигенатор АИК во время сердечно-легочного обхода. Авторы обнаружили тенденцию к менее положительному гидробалансу при меньшем использовании мочегонных средств и большем среднем уровне гемоглобина через 48 ч после операции в исследуемой группе. У пациентов, которым проводилась доставка NO во время ИК, отмечались значимо более низкие уровни тропонина I через 12 ч, а также тропонина I и мозгового натрийуретического пептида через 24 и 48 ч после операции. В группе, в которой пациенты получали NO во время ИК, отмечалась

достоверно меньшая продолжительность искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и меньшая продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии по сравнению с группой плацебо. Авторами был сделан вывод о кардиопротективных эффектах нативной молекулы NO при ее доставке во время ИК у детей.

В 2016 году группой исследователей James C. et al. выполнено рандомизированное исследование [177], включавшее 198 детей, перенесших кардиохирургическое вмешательство в условиях ИК. В исследуемой группе осуществлялась доставка 20 ppm NO в оксигенатор аппарата ИК. Первичной конечной точкой стала частота развития синдрома малого сердечного выброса, определяемого по увеличению концентрации сывороточного лактата более 4 ммоль/л, снижению центральной венозной сатурации менее 60%, оценке по инторопно-вазопрессорной шкале более 10 баллов, а также факту применения экстракорпоральной мембранный оксигенации. В качестве вторичных конечных точек оценивались необходимость в ингаляционном применении NO, острое почечное повреждение тяжелой степени с необходимостью в использовании перitoneального диализа, отсроченный остеосинтез грудины, кровопотеря, переливание продуктов крови, продолжительность ИВЛ, продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии и продолжительность пребывания в клинике. В группе доставки NO синдром малого сердечного выброса развивался достоверно реже, также пациенты исследуемой группы значимо реже нуждались в экстракорпоральной поддержки жизни. Авторами также было обнаружено значимое улучшение исходов, оцениваемых по вторичным конечным точкам у разных возрастных субпопуляций пациентов.

Несмотря на то, что ишемически-реперфузионное повреждение при кардиохирургических вмешательствах у взрослых пациентов является общепризнанной проблемой, к настоящему времени проведено единственное клиническое исследование, подтверждающее кардиопротективные эффекты NO у этой категории пациентов. Группа Gianetti J. et al., 2004, исследовали влияние

доставки 20 ppm NO в оксигенатор аппарата ИК и инсуффляции NO на протяжении 8 ч после операции на миокардиальное повреждение, функцию ЛЖ и системное воспаление у пациентов, перенесших вмешательства на аортальном клапане в сочетании с аортокоронарным шунтированием [252]. Авторами отмечено достоверное снижение тропонина I, мозгового натрийуретического пептида, MB-фракции креатинфосфокиназы и P-селектина в послеоперационном периоде у пациентов, которым осуществлялась доставка NO.

Доставка экзогенного NO в условиях фармако-холодовой защиты сердца может нивелировать повреждение миокарда прежде всего в фазе реперфузии. Механизм органопroteкции экзогенным NO может быть связан с S-нитрозилированием белков крови, в частности гемоглобина с формированием нитрозилгема (NO-гема), а также увеличением концентрации сывороточных метаболитов NO-NOx (нитраты, нитриты, S-нитрозотиол, N-нитрозамин и др.), служащих резервным пулом NO в организме [81; 123]. Указанный спектр соединений выступает в качестве источника эндогенного NO в биологических средах и тканях. С накоплением этих метаболитов в органах, подвергнутых ишемии-реперфузии и связывают органопротективные (в частности кардиопротективные) эффекты экзогенного NO[208].

### **Резюме**

Приведенные данные указывают на то, что интраоперационная органопротекция оксидом азота является перспективным методом защиты миокарда при кардиохирургических операциях в условиях ИК. Учитывая физические свойства молекулы, доставка и достижение целевой концентрации NO легко реализуемы в повседневной клинической практике. NO обладает приемлемой стоимостью, а побочные эффекты его применения известны, прогнозируемые, обратимы и относительно редки. Несмотря на значительное количество экспериментальных и рандомизированных клинических

исследований, изучавших применение NO на различных моделях, сообщения об эффективности методики доставки NO для защиты миокарда при кардиохирургических вмешательствах в условиях ИК единичны и касаются в основном педиатрических пациентов.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа представляет результаты одноцентрового, проспективного, рандомизированного, контролируемого исследования применения оксида азота для защиты миокарда в кардиохирургии. Работа выполнена на базе отделения анестезиологии - реанимации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт кардиологии (НИИ кардиологии) и состоит из 2 частей: экспериментальной и клинической. Далее представлена последовательность событий и краткая методология каждой из частей исследования

### 2.1 МАТЕРИАЛЫ ЭСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

#### *2.1.1 Последовательность событий и методология исследования*

1. Набор животных в исследование.
2. Рандомизация.
3. Анестезия согласно стандартизованному протоколу.
4. Проведение ИК согласно стандартизованному протоколу.
5. Подача НО или плацебо в течение всей основной фазы эксперимента.
6. Моделирование острого ишемически-реперфузионного повреждения.
7. Отслеживание клинических событий и характеристик; серийные periоперационные измерения гемодинамических и биохимических показателей.
8. Вывод животных из эксперимента.
9. Морфологическая оценка клинических событий.

### *2.1.2 Рандомизация*

Рандомизация осуществлялась методом запечатанных непрозрачных конвертов. Конверты были подготовлены до начала набора животных в исследование, их количество соответствовало расчетному размеру выборки. Каждый конверт содержал одно кодовое слово, «NO» либо «контроль». Утром в день проведения эксперимента один конверт вскрывался, содержимое конверта не разглашалось. Таким образом животные включались в группу с подачей NO в контур экстракорпоральной циркуляции либо в контрольную группу в соотношении 1:1.

### *2.1.3 Характеристика лабораторных животных*

Проспективное экспериментальное исследование проводили на 20 кроликах – самцах породы «Советская шиншилла» массой 3 – 3,5 кг. Животных содержали в условиях конвенционального вивария. Все болезненные процедуры и выведение животных из эксперимента осуществляли на наркотизированных животных согласно приказу Минздрава №199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 1 апреля 2016 г., Принципам надлежащей лабораторной практики ГОСТ 33044 – 2014 и руководству Janet C. Garber, «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition National Research Council», 2011. Все животные были разделены на 2 равные группы: 10 кроликам проводилась подача NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 40 ррт на протяжении всего периода ИК (основная группа); 10 кроликов составили контрольную группу.

### *2.1.4 Методика анестезии и искусственного кровообращения*

Эксперимент начинали с масочной индукции анестезии севофлураном. По достижении целевого уровня анестезии выполняли ретроградную интубацию трахеи по разработанной нами методике эндотрахеальной трубкой № 2,5 (патент № 2611955 от 1 марта 2017 г.). Для этого животное укладывали и

фиксирували в положении лежа на спине, голову оставляли свободной. Вводили одну вязку на верхние резцы, чтобы голова лежала ровно, при этом шея животного была разогнута. Пальпаторно через кожу по средней линии шеи от середины щитовидного хряща на 3 – 4 см каудально находили трахею. Фиксируя трахею пальцами, пунктировали ее между вторым и третьим кольцами иглой 18G со шприцом 5 мл, заполненным физиологическим раствором. Определяли нахождение иглы в просвете трахеи по поступлению воздуха при потягивании поршня шприца. Затем шприц снимали и через иглу вводили проволочный проводник до момента его появления из ротового или наружного носового отверстия. На проводник надевали интубационную трубку размером 2,5 с манжетой и проводили ее в трахею, после чего проводник извлекали, манжету умеренно раздували, а интубационную трубку фиксировали (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Методика ретроградной интубации трахеи лабораторного животного

Искусственную вентиляцию легких проводили с помощью аппарата искусственной вентиляции легких Puritan Bennett 760 (США) с использованием модифицированного дыхательного контура с дыхательным объемом 30 – 40 мл, частотой дыхательных движений 50 – 55 в минуту в режиме Controlled Mandatory Ventilation (CMV) с управляемым объемом, фракционной концентраций кислорода во вдыхаемой смеси ( $\text{FiO}_2$ ) 50% и положительным конечно-экспираторном давлением 5 см  $\text{H}_2\text{O}$ . Поддержание анестезии обеспечивали ингаляцией севофлурана 1,2 – 1,5 об % через испаритель Vapor 2000 (Drager, Германия). Во время ИК проводили инфузию пропофола 4 мг/кг/ч. Нервно-мышечная блокада достигалась применением пипекуриона бромида 0,1 мг/кг. Использовали стандартный мониторинг при анестезии, включавший ЭКГ, инвазивный мониторинг артериального давления, пульсоксиметрию, термометрию с помощью мониторинговой системы Siemens 7000 (Германия), учет темпа мочеотделения. Для инвазивного измерения артериального давления и забора образцов для лабораторного анализа газового состава крови канюлировали бедренную артерию катетером 20G. Для инфузионной терапии канюлировали бедренную вену катетером 20G (Рисунок 2). Температурный датчик устанавливали в пищевод.



Рисунок 2 – Методика канюляции бедренных сосудов  
у лабораторных животных

Газовый состав крови определяли на приборе STAT PROFILE Critical Care Xpress (Nova Biomedical, США). Также с помощью данного газоанализатора методом отражающей фотометрии контролировали уровень метгемоглобина.

Для проведения ИК использовали роликовый насос НПМ-1, неонатальный оксигенатор Kids D100 (Dideco, Италия). Площадь поверхности тела кролика считали равной  $0,25 \text{ м}^2$ . ИК осуществляли в непульсирующем режиме. Подключение аппарата искусственного кровообращения осуществляли по принятой методике по схеме «аорта – правое предсердие». Перфузионный индекс составлял  $1,8 \text{ л/мин}/\text{м}^2$ . Вазоактивные препараты в обеих группах не применяли. Среднее артериальное давление во время ИК поддерживалось на уровне 50 мм рт. ст. ИК проводили в условиях нормотермии: назофарингеальную температуру поддерживали на уровне  $35,5 – 36,6^\circ\text{C}$ . Для обеспечения гипокоагуляции во время ИК применялся гепарин в дозе 3 мг/кг с поддержанием уровня активированного времени свертывания  $> 450$  сек.

#### *2.1.4 Методика доставки оксида азота*

Для обеспечения доставки оксида азота в исследуемой группе применялся модифицированный контур доставки газо-воздушной смеси аппарата ИК. Для этого в магистраль подачи газо-воздушной смеси в асептических условиях встраивали дополнительную линию для доставки NO. Коннектор линии доставки NO был максимально приближен к оксигенатору аппарата ИК и имел бактериальный фильтр. После достижения расчетной объемной скорости перфузии осуществляли подачу NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 40 ppm. Дозирование NO осуществляли с помощью анализатора PrinterNOX (CareFusion, США). Предлагаемая модификация контура доставки газо-воздушной смеси аппарата ИК (Рисунок 3) работает следующим образом: на старте искусственного кровообращения из источника воздушной смеси 1 и источника кислорода 3 через ротаметр со смесителем 2 в газо-воздушную

магистраль 4 подавали газо-воздушную смесь с расчетным минутным объемом тока воздуха и с заданной врачом фракционной концентрацией  $O_2$ . Одновременно начинали подачу оксида азота из источника NO-смеси 8. Оксид азота через магистраль доставки NO 6 с помощью коннектора с Люэр-переходником 5 попадает в газо-воздушную магистраль 4. Объем подачи NO регулировали с помощью низко-поточного ротаметра 7 в зависимости от минутного объема тока воздуха и требуемой фракционной концентрации  $O_2$ . Полученная смесь воздуха, кислорода и оксида азота проходила через бактериальный фильтр 9 магистрали 4 и поступал в оксигенатор 12 АИК. В течение всего времени проведения искусственного кровообращения осуществляли непрерывный мониторинг фракционной концентрации NO и  $NO_2$  газоанализатором 11 через магистраль отбора газовых проб 10.

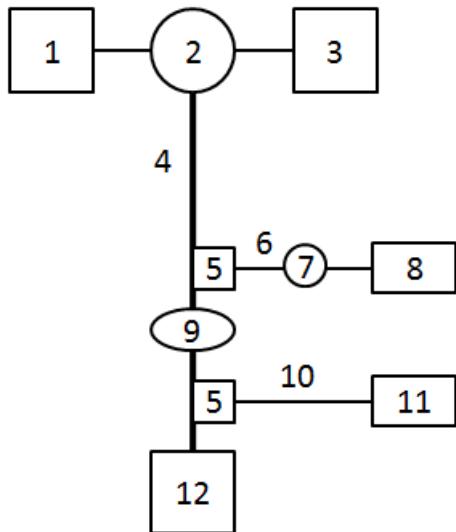


Рисунок 3 – Модифицированный контур доставки газо-воздушной смеси для аппаратов ИК.

1 – источник воздушной смеси, 2 – ротаметр со смесителем, 3 – источник кислорода, 4 – газо-воздушная магистраль диаметром  $\frac{1}{4}$  дюйма, 5 – коннектор  $\frac{1}{4}$  дюйма с Люэр-переходником, 6 – магистраль доставки NO, 7 – низкопоточный ротаметр, 8 – источник NO-смеси, 9 – бактериальный фильтр, 10 – магистраль отбора газовых проб для газоанализатора 11 – газоанализатор, 12 – оксигенатор АИК.

Затем проводили окклюзию левой коронарной артерии путем пережатия лигатурой на 45 мин с последующей реперфузией в течение 120 мин на фоне ИК (Рисунок 4). При этом протокол инсуффляции NO сохраняли без изменений на протяжении всего периода искусственного кровообращения.

В группе контроля подачу NO в контур аппарата ИК не проводили.

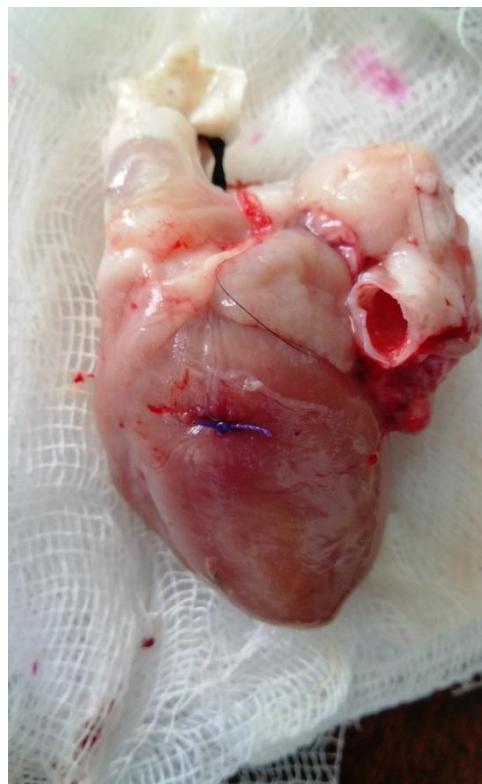


Рисунок 4 – Методика окклюзии передней нисходящей артерии

## 2.2 МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Основная фаза эксперимента включала окклюзию левой коронарной артерии в течение 45 мин с последующей реперфузией в течение 120 мин в условиях искусственного кровообращения.

Первичной конечной точкой данного исследования явился объем миокардиального повреждения, который оценивался по отношению зоны инфаркта (ЗИ) к области риска (ОР).

Вторичными конечными точками являлись: частота развития и вид нарушений ритма сердца за период коронарной окклюзии, а также клинические и биохимические показатели, характеризующие адекватность проведения ИК.

Для решения задач настоящего исследования применялись клинические и биохимические методы исследования. Патофизиологический субстрат и биохимические маркеры, использованные для его изучения, представлены ниже.

### *Клинические исследования*

ИК представляет ключевое событие в инициации и прогрессировании нарушений циркуляции. В физиологических условиях почечный кровоток составляет 25% от сердечного выброса, инициация сердечно-легочного обхода приводит к снижению его доли до 12%. При этом почечное перфузионное давление снижается на 30%. Принимая во внимание вышеуказанные факты, адекватность проведения ИК оценивали по темпу мочеотделения в мл/кг/ч.

Частым осложнением кардиохирургических операций у взрослых является развитие послеоперационных аритмий. Так фибрилляция предсердий (ФП) встречается от 10% до 65% всех пациентов после вмешательств в условиях ИК с пиком частоты в первые 2 суток послеоперационного периода [17; 225]. По данным разных авторов распространенность послеоперационных нарушений ритма зависит от типа вмешательства и колеблется в пределах 30%

после изолированного КШ, 40% после операции на клапанах и 50% после комбинированного КШ и вмешательства на клапаны [155]. Механизмы послеоперационных аритмий сердца являются многофакторными и связаны, в том числе, со стратегиями интраоперационной органопroteкции [174]. Антиаритмический эффект, наряду с непосредственно цитопротективным действием, является важным аспектом клинической эффективности различных форм прекондиционирования. Так развитие послеоперационной ФП предрасполагает пациентов к более высокому риску неврологических осложнений в т.ч. риск инсульта увеличивается в 3 раза [103]. Отмечается связь между документированной послеоперационной ФП и желудочковыми нарушениями ритма сердца, periоперационным инфарктом миокарда, застойной сердечной недостаточностью, почечным повреждением, инфекционными осложнениями в т.ч. пневмонией, длительностью искусственной вентиляции легких (ИВЛ), потребностью в трахеостомии и проч. [169]. В исследовании El-Chami M.F. et al., 2010 [175] на 16,169 пациентах, перенесших изолированное КШ, показано, что впервые возникшая ФП, является независимым предиктором смертности в течение 6 лет. Связанный с periоперационными нарушениями ритма сердца повышенный риск смертности и заболеваемости требует дополнительного лечения, что в итоге повышает расходы на послеоперационную терапию [18; 237].

Основную часть эксперимента, связанную с окклюзией левой коронарной артерии, мы разделили на 3 фазы. Разделение было продиктовано различием в механизмах развития аритмий при остром ишемически-реперфузионном повреждении и являлось относительно условным. Нарушения ритма за период коронароокклюзии регистрировали в первые 10 мин (фаза 1) и последующие 35 мин (фаза 2), фаза 3 – первые 45 мин реперфузии. Выявлено, что в фазу 1 нарушения ритма возникают по механизму reentry, в фазу ишемии 2 и при реперфузии – как по механизму reentry, так и при участии эктопического автоматизма [17].

### *Биохимические исследования*

Получение образцов крови для биохимических исследований осуществлялось на следующих этапах: 1 – сразу после стернотомии, до начала ИК; 2 – начало ИК, непосредственно перед окклюзией левой коронарной артерии; 3 – 45 мин ишемии миокарда на фоне ИК, 4 – 45 мин реперфузии миокарда на фоне ИК; 5 – 90 мин реперфузии миокарда на фоне ИК; 6 – 120 мин реперфузии миокарда на фоне ИК. Кардиоспецифические маркеры на этапах 2 и 3 не исследовались.

Мониторировали показатели сатурации артериальной крови ( $SaO_2$ ), сатурации венозной крови из контура искусственного кровообращения ( $SvO_2$ ), веноартериальный градиент  $pCO_2$ , уровень лактата, а также контролировали кислотно-щелочное состояние крови.

### *Морфологические исследования*

Любая стратегия органопротекции направлена на активацию защитного действия в отношении определенного вида ткани. Для подтверждения реализации цитопротективного фенотипа в отношении кардиомиоцитов при коронарной окклюзии на фоне доставки NO мы соотносили зону развивающегося некроза с зоной сердечной мышцы, подвергшейся гипоперфузии и ишемически-реперфузионному повреждению в заинтересованном коронарном бассейне (Рисунок 5).

Измерение отношения зоны инфаркта (ЗИ) к области риска (ОР) проводили с помощью модифицированного метода, предложенного Neckar J. et al., 2002 [46]. Для определения области риска (гипоперфузии) лигатуру повторно затягивали, сердце окрашивали 5% раствором перманганата калия, который вводили через аортальную канюлю. Сердце извлекали из грудной полости, удаляли правый желудочек и готовили срезы толщиной 1 мм, которые делали строго перпендикулярно продольной оси сердца, используя слайсер HSRABBIT002-1 (Zivic Instruments, Pittsburgh, США).

Срезы сканировали с обеих сторон с помощью HP Scanjet G4050 (Hewlett-Packard, Palo Alto, США) с высоким разрешением (2400 dpi). В области гипоперфузии разграничивали зоны, в которых ткани миокарда подверглись некрозу. Величину ЗИ и ОР определяли компьютеризированным планиметрическим методом, используя оригинальное программное обеспечение. Метод компьютерной планиметрии применяли для измерения общей площади срезов, суммарной площади зоны инфаркта и области риска для каждого сердца в отдельности. Измерение осуществляли с помощью программного обеспечения для анализа изображений ImageJ2. Величину очага инфаркта выражали в виде процентного соотношения зоны инфаркта к размеру области риска (ЗИ/ОР).

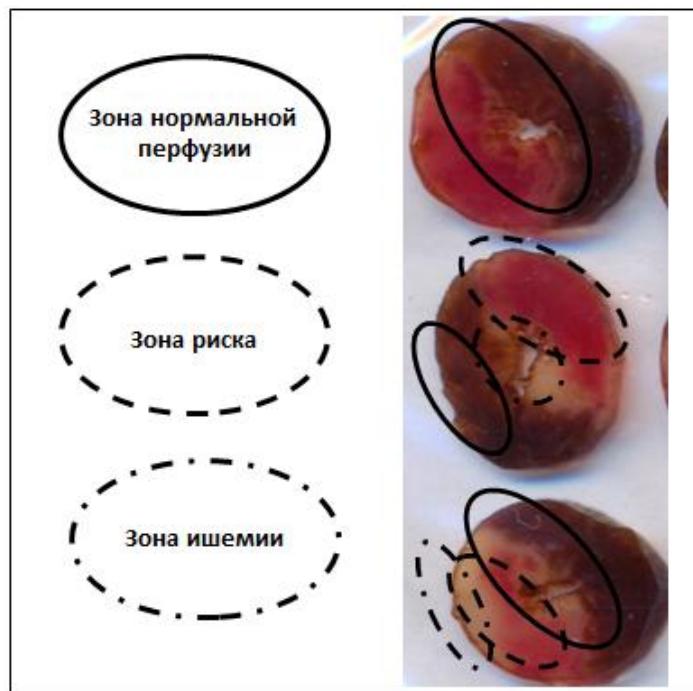


Рисунок 5 – Морфологическая оценка зоны инфаркта к области риска

## 2.3 МАТЕРИАЛЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

### *2.3.1 Последовательность событий и методология исследования*

1. Идентификация пациента из популяции больных.
2. Оценка пациента на предмет соответствия критериям включения и исключения из исследования.
3. Предложение пациенту участие в исследовании, подписание информированного согласия на участие пациента в исследовании.
4. Рандомизация.
5. Анестезия согласно стандартизованному протоколу.
6. Исходные биохимические и гемодинамические измерения.
7. Доставка оксида азота на протяжении всего периода ИК, или проведение ИК согласно стандартной методике.
8. Коронарное шунтирование.
9. Серийные periоперационные измерения гемодинамических и биохимических показателей в послеоперационном периоде.
- 10.Отслеживание послеоперационных клинических событий.

### *2.3.2 Дизайн исследования и рандомизация*

Методология исследования была разработана в соответствии с международными рекомендациями для рандомизированных контролируемых исследований.

Из 82 потенциальных кандидатов на участие 12 пациентов имели критерии исключения, 2 отказались участвовать в исследовании. 68 пациентов были включены в исследование в соответствии с критериями включения/исключения и рандомизированы в соотношении 1:1. Мы использовали сгенерированный компьютером перестановочный блок (распределением 1:1) рандомизационной последовательности (<http://sealedenvelope.com>). Распределение обработки было подготовлено

независимым оператором (научным сотрудником), не участвовавшим в исследовании, и скрыто непрозрачными запечатанными конвертами, которые были последовательно пронумерованы. Конверты были подготовлены до начала набора пациентов в исследование, их количество соответствовало расчетному размеру выборки. Каждый конверт содержал одно кодовое слово, «NO» либо «контроль». Утром в день операции один слепо выбранный конверт вскрывался анестезиологом, содержимое конверта не разглашалось. Таким образом пациенты слепо включались в группу с доставкой оксида азота либо в контрольную группу в соотношении 1:1. В связи с отказом от проведения коронарного шунтирования в условиях ИК 8 пациентов выбыли из исследования (по 4 в каждой группе). Решение о проведении коронарного шунтирования на работающем сердце с применением устройств механической стабилизации миокарда принималось оперирующим хирургом во время основного этапа операции при проблемной аорте (*aorta is problematic*) вследствие выраженного атероматоза или кальциноза. При этом отказывались от проведения ИК и наложения зажима на аорту, и использовали технологию «off pump». Также применяли технологию «off pump», если после стернотомии хирург определял анатомию коронарных сосудов технически пригодной к шунтированию без применения ИК.

Таким образом, в работе представлены и проанализированы данные 60 пациентов, разделенных на равные группы по 30 человек: в группу доставки NO и контрольную (Рисунок 6).

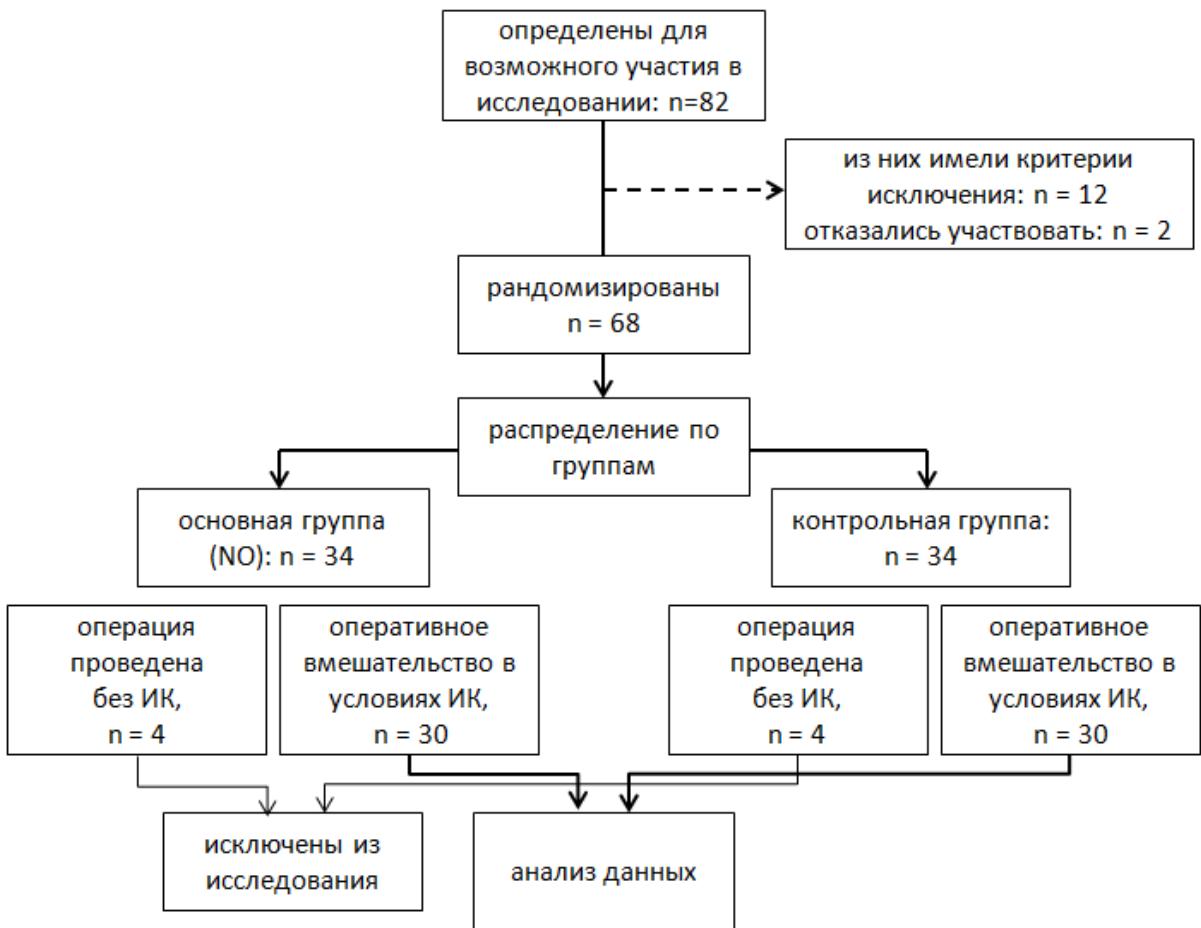


Рисунок 6 – Блок – схема процесса исследования

### 2.3.3 Характеристика пациентов

#### *Критерии включения и исключения*

Протокол проведения клинического исследования был одобрен локальным этическим комитетом учреждения (протокол №. 133 от 15.05. 2015). Исследование зарегистрировано по адресу ClinicalTrials.gov ID: NCT03500783. Исследование получило федеральное финансирование, финансирующее агентство не участвовало в интерпретации данных. В качестве кандидатов для включения в исследование рассматривались все пациенты старше 18 лет, которым планировалось коронарное шунтирование в условиях ИК. Критерием включения было плановое первичное изолированное коронарное шунтирование в условиях ИК. Критериями исключения больных из исследования являлись:

возраст старше 70 лет, проведение сочетанных с шунтированием коронарных сосудов вмешательств на клапанном аппарате, реконструктивных операций на левом желудочке сердца или аорте и магистральных сосудах, фракция выброса левого желудочка менее 35%, давность инфаркта миокарда менее 3 месяцев, постоянная форма фибрилляции предсердий, сахарный диабет, экстренность проводимой операции, подъем кардиоспецифических ферментов выше нормальных значений в течение 12 часов перед вмешательством.

Пациентам, считавшимся кандидатами для включения в соответствии с вышеуказанными критериями, было предложено участие в исследовании. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании и публикацию результатов лечения.

Пациенты в двух группах были сопоставимы по демографическим показателям и исходной тяжести состояния. Предоперационные характеристики пациентов по группам представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Демографические и клинические характеристики пациентов по группам

Характеристики	NO-группа, n=30	Контрольная группа, n=30	p
Возраст, лет, Me[25; 75]	61.5 [56.8; 65]	58 [55; 6.3]	0.061
Мужчины, n (%)	25 (83.3 %)	21 (70%)	0.226
ИМТ, kg/m <sup>2</sup> , Me[25; 75]	27.7 [25.2; 32.2]	28.0 [24.4; 31.0]	0.848
ФВ ЛЖ, %, Me[25; 75]	57.5 [50; 63.3]	57 [51.8; 62]	0.988
Стенокардия , n (%):			
I	0	1 (3.3%)	0.174
II	4 (13.3%)	8 (26.7%)	
III	26 (86.7 %)	21 (70%)	
XCH NYHA I, n (%)	4 (13.3%)	2 (6.7%)	
XCH NYHA II, n (%)	23 (76.7%)	25 (83.3%)	0.923
XCH NYHA III, n (%)	3 (10%)	3 (10%)	
ПИКС, n (%)	25 (83.3 %)	22 (72.3%)	0.347
АГ, n (%)	11 (36.7%)	9 (30%)	0.329
Курение, n (%)	13 (43.3%)	14 (46.7%)	0.795
EuroSCORE, балл	4 [2; 4]	3 [2; 4]	0.347

Количественные признаки представлены в виде медианы [25; 75-й процентиль]. Качественные признаки представлены как число (%). ИМТ – индекс массы тела, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, ПИКС – постинфарктный кардиосклероз, АГ – артериальная гипертензия, XCH – хронической сердечной недостаточности (функциональный класс по классификации New-York Heart Association), EuroSCORE: европейская система оценки риска неблагоприятного исхода при кардиохирургических вмешательствах.

Для демонстрации сопоставимости групп, оценки и стратификации степени хирургического риска, связанного с коронарным шунтированием, использовался калькулятор прогнозируемой частоты неблагоприятных клинических событий общества торакальных хирургов STS Score (The Society of Thoracic Surgeons). Данные представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Степень хирургического риска и прогнозируемая частота неблагоприятных клинических событий у пациентов по группам (STS Score)

Вероятность события	NO group, n=30	Control group, n=30	p
Летальный исход, %, $M \pm SD$	$0.3 \pm 0.052$	$0.29 \pm 0.49$	0.62
Осложнения и летальный исход, %, $M \pm SD$	$5.1 \pm 0.14$	$5.3 \pm 0.15$	0.58
Длительная госпитализация, %, $M \pm SD$	$1.4 \pm 0.033$	$1.4 \pm 0.32$	0.71
Короткий период госпитализации, %, $M \pm SD$	$75.6 \pm 0.43$	$77 \pm 0.53$	0.69
Персистирующий неврологический дефицит, %, $M \pm SD$	$0.4 \pm 0.061$	$0.42 \pm 0.06$	0.72
Продленная ИВЛ, %, $M \pm SD$	$3.35 \pm 0.11$	$3.28 \pm 0.098$	0.68
Инфекционные осложнения, %, $M \pm SD$	$0.2 \pm 0.031$	$1.9 \pm 0.04$	0.67
Острое почечное повреждение, %, $M \pm SD$	$0.3 \pm 0.042$	$0.32 \pm 0.044$	0.75
Реоперация, %, $M \pm SD$	$2.6 \pm 0.038$	$2.5 \pm 0.036$	0.68

Качественные признаки представлены как число (%). ИВЛ – искусственная вентиляция легких.

Всем пациентам выполнялось шунтирование коронарных артерий в условиях ИК. Характеристики интраоперационного периода представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Характеристика интраоперационного периода

Характеристики	NO-группа n=30	Контрольная группа n=30	p
Длительность ИК, мин, Ме [25; 75]	110 [85.8; 137]	116 [88.8;129.5]	0.717
Длительность окклюзии аорты, мин, Ме [25; 75]	73.5 [56.3; 89]	80 [63.8; 96.5]	0.340
<b>Количество шунтов , n (%)</b>			
3	8 (26.7%)	6 (20%)	0,728
4	15 (50%)	18 (60%)	0,640
5	7 (23.3%)	6 (20%)	0,580

#### *2.3.4 Методика подготовки к оперативному вмешательству, анестезии искусственного кровообращения и кардиоплегической защиты миокарда*

Подготовка пациентов к операции осуществлялась согласно принятым в клинике общим принципам предоперационной подготовки. Всем пациентам, выступавшим кандидатами для проведения коронарного шунтирования, выполнялся необходимый объем предоперационного обследования, включающий общеклинические и инструментальные методы (электрокардиография, эхокардиография, по показаниям дополнительные исследования). С целью визуализации морфологии поражения коронарного русла всем больным до операции выполнялась коронарография.

Методика проведения общей анестезии была унифицирована для пациентов обеих групп. На операционном столе всем пациентам назначали премедикацию, включающую наркотический анальгетик, бензодиазепин и антигистаминный препарат. Для индукции анестезии использовали фентанил (3,0 – 5,0 мкг/кг) и пропофол (1,5 мкг/кг). Нейро-мышечная блокада

достигалась использованием пипекуриона бромида 0,1 мг/кг. Для поддержания анестезии до и после ИК применяли ингаляцию севофлурана 2 – 3 об%, во время перфузии осуществлялась инсуффляция севофлурана в контур АИК, а также инфузией фентанила (3 – 5 мкг/кг/ч). В интраоперационном периоде проводили искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) аппаратом Drager Primus по полуоткрытому контуру в режиме Controlled Mandatory Ventilation (CMV) с управляемым объемом с фракционной концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси (FiO<sub>2</sub>) 30% и выше, в зависимости от клинической необходимости, дыхательный объем 6 – 7 мл/кг, частота дыхательных циклов 12 – 14 в 1 мин для поддержания нормовентиляции, конечно-экспираторное давление составляло 5 см вод.ст.

Использовали стандартный мониторинг анестезии, включающий непрерывный анализ ЭКГ, инвазивный мониторинг артериального давления, пульсоксиметрию, назофарингеальную термометрию с помощью монитора Infinity Delta XL (Drager, Германия). Для мониторинга ЦВД, проведения инфузионно-трансфузионной и инопрессорной терапии проводили катетеризацию верхней полой вены посредством установки центрального венозного катетера (7F Certofix; B Braun, Германия) в правую внутреннюю яремную вену. Для мониторирования артериального давления и получения образцов артериальной крови для газового анализа осуществляли катетеризацию лучевой артерии с использованием артериальной канюли 20G (B Braun, Германия). Для контроля почасового диуреза осуществляли катетеризацию мочевого пузыря. Контролировали метаболические показатели, кислотно-основной состав крови и ионнограмму плазмы (рН, уровни буферных оснований, концентрация лактата, глюкозы, ионов натрия, калия и кальция). Степень утраты сознания контролировали с использованием BIS- мониторинга и поддерживали в интервале от 40 до 60.

ИК выполнялось в непульсирующем режиме, использовали аппараты фирмы Stockert (Stockert Ins., Германия) с одноразовыми мембранными

оксигенаторами. Перфузионный индекс составлял 2,8 л/мин/м<sup>2</sup>. Для первичного объема ИК использовали: 500 мл 4% раствора модифицированного желатина, 500 мл сбалансированного кристаллоидного раствора и 200 мл 10% раствора маннитола. У всех пациентов в качестве антифибринолитического препарата применяли транексамовую кислоту в дозе 2 мг/кг/ч. Подключение ИК осуществляли по принятой методике по схеме «аорта – правое предсердие». Для обеспечения гипокоагуляции всем пациентам до ИК применяли гепарин в дозе 3 мг/кг с поддержанием уровня активированного времени свертывания > 500 с. Среднее артериальное давление во время ИК поддерживали на уровне 60 – 80 мм рт. ст., назофарингеальную температуру на уровне 35,5 – 36,6°C, содержание гемоглобина в крови не менее 80 г/л.

Для защиты миокарда применялось дробное введение кристаллоидной фармакохолодовой (хранящейся при температуре 4°C) кардиоплегии (Custodiol HTK-Bretschneider; Dr Franz Köhler Chemie GmbH, Bensheim, Германия) через катетер, установленный в корне аорты. Охлажденный кардиоплегический раствор применялся в дозе 30 мл/кг, для адекватной консервации миокарда время экспозиции составляло 6 – 8 мин согласно рекомендациям производителя в инструкции по применению препарата. Кардиоплегическая защита миокарда дополнялась локальной гипотермией, для чего применяли ледяную крошку.

После окончания перфузии действие гепарина нейтрализовалось введением протамина сульфата в соотношении 1:1. По окончании оперативного вмешательства пациенты были транспортированы в отделение анестезиологии и реанимации.

Экстубацию выполняли при условии стабильной гемодинамики, удовлетворительной газообменной функции легких (соотношение напряжения кислорода в артериальной крови к ингалируемой фракции кислорода более 280), адекватного мышечного тонуса (соотношение частоты дыхания к дыхательному объему в мл в пределах 30 – 40), нормализации температуры тела, и отсутствии признаков продолжающегося кровотечения по дренажам.

Инотропную терапию адреналином или допамином использовали при значениях сердечного индекса (СИ) менее 2,1 л/мин/м<sup>2</sup> по данным эхокардиографии. Норадреналин использовали для поддержания целевых цифр среднего АД более 65 мм рт.ст. на фоне адекватной коррекции волемического статуса. Перевод пациентов из ОАР в профильное отделение производили при условии удовлетворительного неврологического статуса, стабильных витальных функциях (гемодинамики и газообмена) без потребности в инотропной и вазопрессорной и/или кислородотерапии, уровне диуреза более 0,5 мл/кг/ч и отсутствии признаков кровотечения по дренажам.

### *2.3.5 Методика доставки оксида азота*

Для обеспечения доставки оксида азота в исследуемой группе применялся модифицированный контур доставки газо-воздушной смеси аппарата ИК, описанный в разделе 2.1.5. Дозирование NO осуществляли с помощью анализатора PrinterNOX (CareFusion, USA) до целевой концентрации 40 ppm. Уровень метгемоглобина в периферической крови контролировали методом отражающей фотометрии с помощью газоанализатора Stat Profile CCX (Nova Biomedical, USA). Данный протокол подачи NO сохраняли на протяжении всего периода проведения ИК. У пациентов в контрольной группе использовалась стандартная методика проведения ИК, доставка оксида азота в контур АИК не проводилась.

## 2.4 МЕТОДЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Первичной точкой исследования являлась периоперационные изменения плазменной концентрации кардиоспецифического фермента тропонина I. Вторичными точками являлись: периоперационные изменения плазменной концентрации МВ-фракции креатинфосфокиназы (МВ-КФК), степень тяжести дисфункции левого желудочка, требующая инотропной и вазопрессорной поддержки, частота периоперационных осложнений, характеристики послеоперационного периода. Учитывая критерии включения в исследование и клинический опыт центра, прогнозируемая частота неблагоприятных клинических событий ожидалась низкой. По этой причине следующие осложнения были объединены в одну композитную конечную точку: потребность в механической циркуляторной поддержке (внутриаортальная баллонная контрапульсация – ВАБК и/или вено-артериальная экстракорпоральная оксигенация – ва-ЭКМО); «большие сосудистые катастрофы»: инфаркт миокарда (ИМ), острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК); фибрилляция предсердий (ФП); смерть от сердечно-сосудистой причины. Фибрилляция предсердий диагностировалась при нерегулярном предсердном ритме без четких р-зубцов, подтвержденном 12-канальным отведением ЭКГ. Серийные записи ЭКГ выполнялись утром перед операцией, при подозрении на развитие ФП по данным прикроватного монитора и утром в первые сутки после операции. Острый инфаркт миокарда определялся в соответствии с четвертым универсальным определением инфаркта миокарда, а именно при повышении уровня тропонина I более чем в 10 раз от предоперационных значений у пациентов с нормальными исходными уровнями в сочетании с хотя бы одним признаком: появление новых патологических Q зубцов на ЭКГ; документированная ангиографическая картина, вновь появившейся окклюзия шунта или нативной коронарной

артерии; потеря массы жизнеспособного миокарда или региональная аномалия движения стенок по данным визуализирующих методов (ЭхоКГ, МРТ) [95].

Острое нарушение мозгового кровообращения определялось как внезапное появление очаговой неврологической симптоматики или глобальное нарушение функции мозга, сохраняющихся более 24 часов или приводящих к смерти пациента более короткий промежуток времени, обусловленное цереброваскулярной причиной при исключении другой патологии.

Для решения задач настоящего исследования применялись клинические и биохимические методы исследования.

### *Клинические исследования*

Для оценки течения послеоперационного периода нами анализировались следующие клинические характеристики: длительность ИВЛ, степень дисфункции левого желудочка, продолжительность пребывания в палате реанимации и интенсивной терапии, продолжительность нахождения в стационаре, летальность, композитная конечная точка. Время с момента поступления пациента в палату реанимации и интенсивной терапии до экстубации определяли как длительность ИВЛ.

С целью клинической оценки степени тяжести контракtilьной дисфункции миокарда определяли уровень инотропной и вазопрессорной поддержки для чего подсчитывали вазоактивно-инотропный балл (vasoactive-inotropic score) – VIS: (добутамин  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min} \times 1 +$  допамин  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min} \times 1 +$  милринон  $\times 10 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}) + 100 \times$  (адреналин  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min} +$  норадреналин  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min} +$  вазопрессин  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min})$ . VIS подсчитывали сразу после отлучения от ИК, через 6 часов после прекращения ИК и через 24 часа после прекращения ИК.

## *Методы исследования гемодинамических параметров*

У всех пациентов были исследованы и непрерывно мониторировались в раннем послеоперационном периоде следующие показатели гемодинамики: частота сердечных сокращений (ЧСС), среднее артериальное давление (САД) и центральное венозное давление (ЦВД).

Показатели системной гемодинамики контролировали непрерывно до, во время и после ИК. Фиксировали контрольные точки на следующих этапах: 1 – после индукции анестезии перед стернотомией; 2 – после стернотомии; 3 – при инициации ИК, перед наложением зажима на аорту; 4 – после отлучения от ИК; 5 – при поступлении в отделение реанимации и интенсивной терапии.

## *Биохимические исследования*

### *Оценка миокардиального повреждения*

Получение образцов крови для биохимических исследований осуществлялось на следующих этапах: 1 – при поступлении пациента в операционную (исходно); 2 – через 6 ч после операции; 3 – через 24 ч после операции; 4 – через 48 ч после операции. Интересующий патофизиологический субстрат использованных биохимических параметров был представлен кардиоспецифическими маркерами.

Для оценки степени интраоперационного повреждения миокарда в группах мы использовали периоперационную динамику плазменной концентрации тропонина I и активности МВ-фракции креатинфосфокиназы (КФК-МВ).

Согласно рекомендациям европейского общества кардиологов, диагноз инфаркта миокарда, ассоциированного с операцией коронарного шунтирования, может быть выставлен на основании следующих признаков: повышение плазменного уровня тропонина выше 10×99-го процентиля концентрации в популяции в течение 48 часов после операции в сочетании с

одним из дополнительных признаков – новым патологическим зубцом Q и/или ангиографически документированной окклюзии коронарного шунта или нативной коронарной артерии и/или свидетельствами потери массы жизнеспособного миокарда по данным визуализирующих методик [95]. Динамика плазменной концентрации тропонина I признана важным показателем и маркером не только периоперационного некроза сердечной мышцы, но и критерием выраженности повреждения миокарда, ассоциированного с операцией коронарного шунтирования [220].

Исследование высокочувствительного Тропонина I в плазме проводилась с помощью тест-системы PATHFAST cTnI, предназначеннной для диагностики на анализаторе PATHFAST (Mitsubishi Chemical Medience Corp., Japan). Процедура проведения анализа основана на методе хемилюминесцентного иммуноферментного анализа с использованием технологии MAGTRATION®. Моноклональные антитела к cTnI, связанные со щелочной фосфатазой и моноклональные антитела к cTnI на магнитных частицах смешивались с образцами гепаринизированной крови или плазмы. cTnI образца связывается с антителами к cTnI, образуя иммунокомплекс с меченными ферментом антителами и антителами на магнитных частицах. После удаления несвязавшегося материала к иммунному комплексу добавляли хемилюминесцентный субстрат. После короткой инкубации под воздействием ферментной реакции в смеси начиналась люминесценция, интенсивность которой зависела от концентрации cTnI в образце. Расчет результата проводится по стандартной калибровочной кривой.

Активность КФК-МВ измерялась фотометрическим методом с помощью набора ABX Pentra CK-MB RTU после иммунного ингибиования при 37°C N-ацетилцистеином на биохимическом анализаторе ABX Pentra C200 (Horiba, Ltd.). Образцы крови инкубировали с антителами к М-субъединице КФК, после чего выполняли определение активности КФК. Антитела блокируют активность КФК-М субъединицы, в результате определяется только активность

субъединицы B, что составляет половину активности КФК-МВ. Таким образом выполняли расчет.

*Оценка безопасности периоперационной доставки оксида азота*

Дозирование NO осуществляли с помощью анализатора PrinterNO<sub>x</sub> (CareFusion, USA) до целевой концентрации 40 ppm. При указанной методике доставки NO большое внимание уделяли вопросам безопасности пациента. Терапевтические концентрации NO находятся в диапазоне менее 100 ppm, воздействие уровней в 200 ppm может привести к фатальному исходу в течение очень короткой экспозиции. NO отличается высокой реактогенностью, в присутствии кислорода (O<sub>2</sub>) подвергается химической реакции с образованием диоксида азота-NO<sub>2</sub>: 2NO + O<sub>2</sub> = 2 NO<sub>2</sub>. NO<sub>2</sub> является крайне токсичным газом с предельно допустимым уровнем 5 ppm. Уровень NO<sub>2</sub> в доставляемой в оксигенатор газо-воздушной смеси мониторировался непрерывно на протяжении всего периода ИК. Скорость образования NO<sub>2</sub> зависит от концентрации NO и O<sub>2</sub>. Этот факт имеет важные последствия для доставки NO: следует избегать источников с высокой концентрацией NO, необходимо использовать NO и инспираторную фракцию O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub>) в минимально клинически приемлемых дозах. Максимально допустимая FiO<sub>2</sub> при использовании NO рассчитывалась по формуле: FiO<sub>2</sub> = (1 – требуемая концентрация NO/концентрация NO в источнике) x 100%. В качестве источника NO использовали смесь N<sub>2</sub> с NO с концентрацией NO 200 ppm. Таким образом, в исследовании максимально допустимая FiO<sub>2</sub> для использования в смесителе O<sub>2</sub>/воздух аппарата ИК была 80%.

NO относится к метгемоглобинобразователям, поэтому для исключения отравления во время исследования проводился мониторинг уровня метгемоглобина (MetHb) в плазме крови. Уровень метгемоглобина в периферической крови контролировали методом отражающей фотометрии с помощью газоанализатора Stat Profile CCX (Nova Biomedical, USA). Получение

образцов крови для биохимических исследований осуществлялось на протяжении всего периода ИК дискретно каждые 30 мин, а также непосредственно после отлучения от аппарата ИК при переводе пациента на спонтанное кровообращение.

## 2.5 МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Для статистической обработки данных были использованы методы описательной статистики, параметрических и непараметрических статистических методов. Статистический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 10 StatSoft. Инк. 1984 – 2011 (США). Для проверки нормальности распределения переменных использовался тест Колмогорова-Смирнова. Количественные значения выражались в виде среднего  $\pm$  стандартное отклонение в случае нормального распределения ( $M \pm SD$ ) или медианы и 25-го и 75-го квартилей, если распределение не было нормальным ( $Me [25; 75]$ ). Количественные характеристики сравнивали с помощью t-критерия для двух независимых выборок (для нормального распределения) и U-критерия Манна-Уитни для двух независимых выборок (если распределение не было нормальным). Статистически значимыми считали значения при  $P < 0,05$ .

Расчет размера выборки для клинического исследования выполнен и скорректирован на ненормальность с использованием STATISTICA 10 StatSoft. Анализ мощности был основан на первичной конечной точке и выполнялся до проведения исследования. Расчет необходимого размера выборки для исследования был основан на показателях периоперационной динамики тропонина I, полученных в результате пилотного исследования у больных, идентичных по характеристикам пациентам контрольной группы. На основании определенного уровня сTnI (увеличение сTnI через 6 ч после операции  $> 2,1$  нг/мл) на 67% и ошибки типа I на 10%, был рассчитан размер выборки 60, чтобы обеспечить 80% мощности для обнаружения снижения частоты событий до 30 %.

Применялся следующий алгоритм расчета размеров выборки:

- Основная переменная исхода = наличие или отсутствие подъема тропонина в указанном титре в раннем послеоперационном периоде.
- Величина значимых различий = 37% или 0.37 (т.е. 67% – 30%)

- Уровень значимости = 5%
- Мощность = 80%
- Тест = двухсторонний

Формула для расчета размера выборки при сравнении двух частот была следующая [24]:

$$n = [A + B]^2 * [(p_1 * (1 - p_1) + (p_2 * (1 - p_2))) / [p_1 - p_2]^2]$$

где  $n$  = размер выборки для каждой группы

$p_1$  = первая частота – в данном случае 0.67

$p_2$  = вторая частота – в данном случае 0.30

$p_1 - p_2$  = клинически значимые различия, в данном случае 0.37

$A$  – зависит от уровня значимости (по таблице) – в данном случае 1.96

$B$  – зависит от мощности (по таблице) – в данном случае 0.84

При трансляции значения в формулу получили:

$$n = [1.96 + 0.84]^2 * [(0.67 * 0.33 + (0.30 * 0.7)) / [0.37]^2] = 24,7$$

Таким образом, для обеспечения заданной мощности в каждой группе должно быть по 25 человек, с учетом возможного 20% выбывания – необходимо включение 30 человек в каждую группу.

## ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

*3.1.1 Влияние доставки оксида азота на клинические и биохимические показатели, характеризующие адекватность проведения искусственного кровообращения*

#### *Клинические показатели*

Кумулятивная продолжительность ИК на протяжении эксперимента составила 165 мин. В реальных клинических условиях данная продолжительность сердечно-легочного обхода является ситуацией продленного периода ИК, что само по себе является предиктором неблагоприятных клинических исходов и ассоциировано с мультиорганными компликациями в послеоперационном периоде, продленным временем искусственной вентиляции легких, увеличением продолжительности пребывания пациентов в отделениях реанимации и интенсивной терапии, а также ростом летальности [47]. Несмотря на значительные успехи в области обеспечения вмешательств на открытом сердце и прогресс экстракорпоральных технологий, проведение продленного ИК по-прежнему сопряжено с развитием синдрома системного воспалительного ответа и аберрациями микроциркуляции, ведущими к органной дисфункции. Важным маркером адекватности механической перфузии и спланхнического кровотока является темп мочеотделения во время ИК. Снижение диуреза во время ИК является предиктором осложнений в послеоперационном периоде и коррелирует с вероятностью развития острого почечного повреждения и органных дисфункций [67]. Темп диуреза на протяжении периода ИК у животных обеих групп представлен на Рисунке 7.

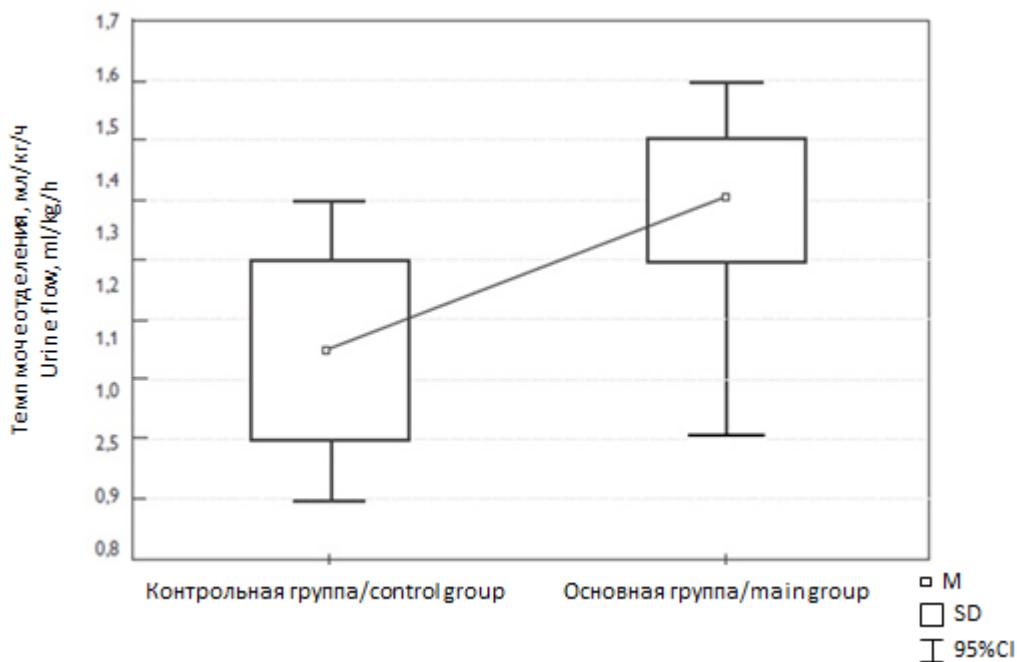


Рисунок 7 – Темп мочеотделения на протяжении искусственного кровообращения в двух группах, мл/кг/ч,  $p = 0,013$

Отмечено статистически значимое повышение темпа мочеотделения во время ИК у животных, которым выполнялась доставка оксида азота. Темп диуреза составил 1,4 [1,3; 1,5] мл/кг/ч в основной группе и 1,15 [1; 1,3] мл/кг/ч в контрольной, ( $p = 0,013$ ).

#### *Биохимические показатели*

У животных обеих групп в течение эксперимента были стабильные показатели метаболизма, кислотно-основной состав крови и ионнограмма: pH, уровни буферных оснований, показатели сатурации артериальной крови ( $SaO_2$ ), сатурации венозной крови из контура искусственного кровообращения ( $SvO_2$ ), концентрация лактата, глюкозы, ионов натрия, калия и кальция – находились в пределах референтных значений и не различались между группами на этапах исследования. При анализе межгрупповых различий отмечено статистически значимое снижение веноартериального градиента  $pCO_2$  на этапе 45 мин ишемии на фоне ИК и на этапе 45 мин реперфузии на фоне ИК. Данные изменения представлены на Рисунках 8 и 9.

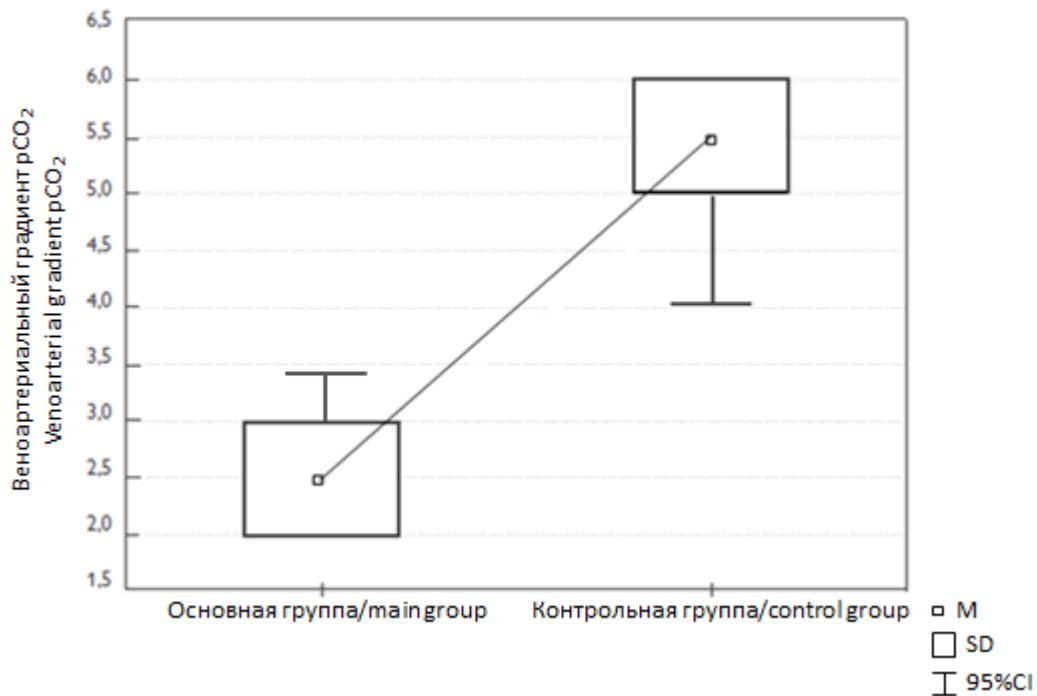


Рисунок 8 – Веноартериальный градиент  $pCO_2$ , 45 мин ишемии,  
 $p = 0,0001$

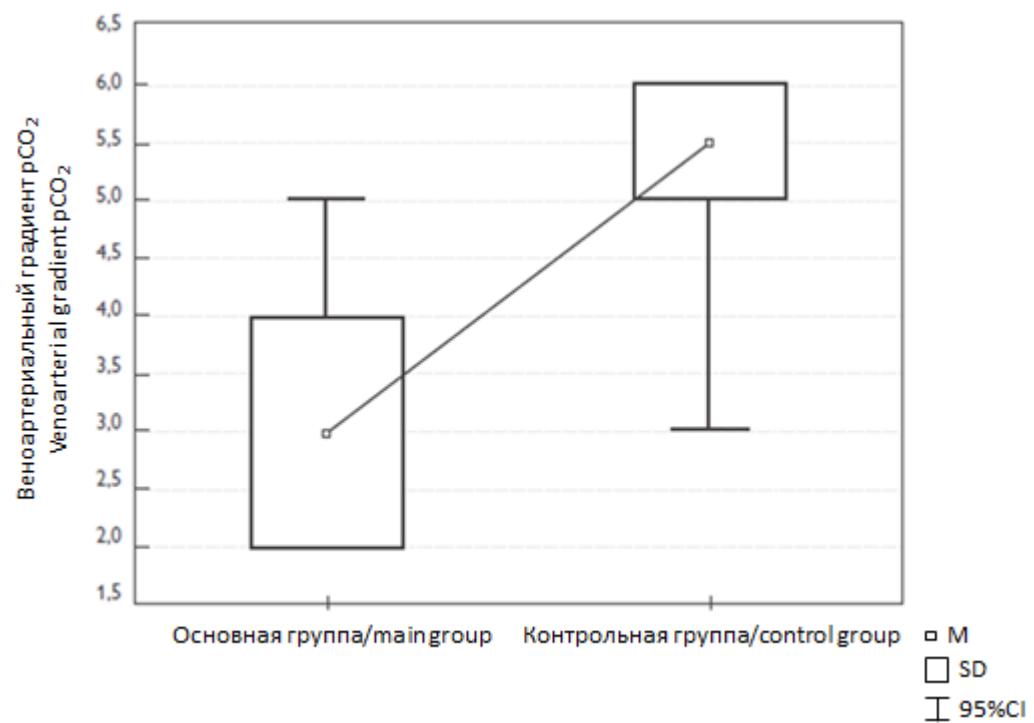


Рисунок 9 – Веноартериальный градиент  $pCO_2$ , 45 мин реперфузии,  
 $p = 0,0016$

Несмотря на ряд вопросов, касающихся прикроватного мониторинга веноартериального градиента  $pCO_2$  в клинической практике, к настоящему

времени накоплены убедительные доказательства того, что этот показатель является маркером микроциркуляторной гипоперфузии. В зонах мальперфузии веноартериальный градиент  $pCO_2$  увеличивается как за счет увеличения времени транзита крови в микроциркуляторном русле и, следовательно, увеличения контакта крови с метаболически активными тканями, так и за счет локального увеличения продукции  $CO_2$  в условиях гипоксии. Коэффициент диффузии  $CO_2$  в 20 раз больше, чем у  $O_2$ , что делает этот маркер даже чувствительнее к тканевой гипоперфузии, чем сатурация смешанной венозной крови. Высокий веноартериальный градиент  $pCO_2$  ассоциирован с низким сердечным выбросом, худшим клиренсом лактата и большей тяжестью состояния, оцениваемой в баллах SOFA [159]. Увеличение  $Pv-aCO_2$  коррелирует с персистирующим микроциркуляторным дистрессом по данным сублингвальной микроскопии даже в условиях нормального сердечного выброса [38]. Доказана роль  $Pv-aCO_2$  как инструмента для диагностики глобальной и микроциркуляторной гипоперфузии, а также предиктора органной дисфункции у кардиохирургических пациентов [52]. Кардиохирургические пациенты имеют повышенный риск дисфункции органов спланхнического бассейна, в частности, острого повреждения почек и желудочно-кишечного тракта, особенно при необходимости сочетанной операции [145]. Развитие гемолиза вследствие длительного ИК и применения компонентов донорской крови, а также ограничение NO-биодоступности приводят к расстройствам микроциркуляции и системным аберрациям органного кровотока [133]. Интригующие исследования последних лет подтверждают взаимосвязь между  $Pv-aCO_2$  и микрососудистой перфузии у больных с циркуляторными нарушениями различного генеза [277]. Сопоставление данных сублингвальной микроскопии с показателями макрогемодинамики позволяют сделать вывод о тесной связи  $Pv-aCO_2$  с параметрами микроциркуляторного кровотока на ранней стадии формирования гипоперфузии, при этом  $Pv-aCO_2$  слабо коррелирует с системными

гемодинамическими переменными. Отмечено преимущество во влиянии на клинические исходы цель-ориентированной терапии, основанной на таргетных показателях Pv-aCO<sub>2</sub> по сравнению с протоколами, где основным критерием являлась насыщение кислородом смешанной венозной крови (ScVO<sub>2</sub>) у пациентов с шоком и перенесших сердечно-легочную реанимацию [2]. Снижение ScVO<sub>2</sub> в определенных клинических ситуациях с высокой степенью вероятности может отражать снижение сердечного выброса, однако нормальное или высокое ScVO<sub>2</sub> может маскировать гипоперфузию в условиях централизации кровообращения, цитотоксической гипоксии и митохондриально-микроциркуляторного дистресса и не отражает адекватности снабжения тканей кислородом [51]. Vallee F. et al., 2008, продемонстрировали, что у пациентов с шоком и нормальными показателями ScVO<sub>2</sub>, высокий веноартериальный градиент pCO<sub>2</sub> был связан с худшим клиренсом лактата, меньшим сердечным индексом, и более выраженной органной дисфункцией, оцененной в баллах SOFA [53]. Для оценки статуса тканевой перфузии в данных клинических моделях было предложено определение веноартериального градиента pCO<sub>2</sub>. В нормальных условиях Pv-aCO<sub>2</sub> не превышает 6 мм рт. ст.

В настоящее время Pv-aCO<sub>2</sub> является общепризнанным показателем, отражающим глобальный кислородный бюджет организма во время операций с искусственным кровообращением, и позволяет прогнозировать развитие органной дисфункции у кардиохирургических пациентов [52].

## Резюме

Согласно полученным данным, в основной группе отмечается снижение веноартериального градиента pCO<sub>2</sub> на этапе 45 мин ишемии на фоне ИК и на этапе 45 мин реперфузии на фоне ИК. Данные метаболические изменения были ассоциированы со значимым повышением темпа мочеотделения во время проведения ИК. Данные факты указывают на более выгодный режим

кровообращения в органах спланхнического бассейна, в том числе почек, во время проведения ИК на фоне доставки оксида азота.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции приводит к улучшению тканевой перфузии во время искусственного кровообращения.

*3.1.2 Влияние доставки оксида азота на клинические и морфологические показатели, характеризующие адекватность защиты миокарда при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения*

*Влияние доставки оксида азота на развитие нарушений ритма сердца в период коронароокклюзии и в реперфузионный период*

Нарушения ритма сердца на протяжении эксперимента регистрировали непрерывно, используя данные прикроватного ЭКГ-мониторинга.

В первые 10 мин ишемии миокарда в основной группе политопные и полиморфные желудочковые экстрасистолы (ЖЭС) наблюдали значимо реже ( $p = 0,003$ ). В группе контроля чаще отмечены политопные и полиморфные ЖЭС; фибрилляция желудочков развилась у одного животного. В последующие 35 мин ишемии в основной группе животных наблюдали большую электрическую стабильность миокарда по сравнению с контрольной ( $p = 0,001$ ). В период реперфузии наблюдали различные виды желудочковых аритмий, статистически значимо меньшее количество политопных и полиморфных ЖЭС наблюдалось в группе NO-протекции ( $p = 0,012$ ). Фибрилляция желудочков на этапе реперфузии развилась у 4 животных контрольной группы, в основной группе фибрилляция желудочков не зарегистрирована ( $p = 0,04$ ). Частота встречаемости и характеристика аритмий представлена в Таблице 4.

Таблица 4 – Влияние доставки NO в контур искусственного кровообращения на частоту возникновения аритмий на этапах ишемии и реперфузии, n(%)

Фаза	Вид нарушения сердечного ритма	NO-группа	Контрольная группа	p
10 мин ишемии	Нет аритмий либо редкие монотопные ЖЭС	5 (50)	6 (60)	0.5
10 мин ишемии	Политопные и полиморфные ЖЭС	2 (20)	9 (90)	0.003
10 мин ишемии	фибрилляция желудочков	0	1 (10)	0.5
35 мин ишемии	Нет аритмий либо редкие монотопные ЖЭС	5 (50)	6 (60)	0.5
35 мин ишемии	Политопные и полиморфные ЖЭС	1 (10)	7 (70)	0.001
35 мин ишемии	Фибрилляция желудочков	1 (10)	1 (10)	1
45 мин реперфузии	Нет аритмий либо редкие монотопные ЖЭС	5 (50)	4 (40)	0.5
45 мин реперфузии	Политопные и полиморфные ЖЭС	2 (20)	8 (80)	0.012
45 мин реперфузии	Фибрилляция желудочков	0	4 (40)	0.04

ЖЭС – желудочковые экстрасистолы, применен точный критерий Фишера.

Наши результаты согласуются с данными Andelová E. et al., 2005 [267] и Szabó G. et al., 2012 [49], выявившими, что NO, NO-синтаза и пероксинитрит участвуют в антиаритмических эффектах прекондиционирования. Данный факт может иметь важные последствия для рутинной клинической практики в кардиохирургии. Послеоперационные аритмии являются частым осложнением кардиохирургических операций у взрослых пациентов. Так, фибрилляция предсердий (ФП) встречается от 10% до 65% всех пациентов после вмешательств в условиях ИК с пиком частоты в первые 2 суток послеоперационного периода [17; 225]. По данным разных авторов распространенность послеоперационной ФП зависит от типа вмешательства и

колеблется в пределах 30% после изолированного КШ, 40% после операции на клапанах и 50% после комбинированного КШ и вмешательства на клапанах [155]. Механизмы послеоперационной ФП являются многофакторными и связаны, в том числе, со стратегиями органопротекции [174]. Развитие послеоперационной ФП предрасполагает пациентов к более высокому риску неврологических осложнений, в т.ч. риск инсульта увеличивается в 3 раза [103]. Отмечается связь между документированной послеоперационной ФП и желудочковыми нарушениями ритма сердца, периоперационным инфарктом миокарда, застойной сердечной недостаточностью, почечным повреждением, инфекционными осложнениями, в т.ч. пневмонией, длительностью искусственной вентиляции легких (ИВЛ), потребностью в трахеостомии и проч. [169]. В исследовании El-Chami M. et al., 2010, на 16169 пациентах, перенесших изолированное КШ, показано, что впервые возникшая ФП, является независимым предиктором смертности в течение 6 лет [175]. Связанный с ФП повышенный риск смертности и заболеваемости требует дополнительного лечения, что в итоге повышает расходы на послеоперационную терапию [18; 237]. Таким образом, терапевтические стратегии, направленные на реализацию антиаритмического потенциала в кардиохирургии могут быть крайне востребованы в клинической практике и улучшать клинический исход у пациентов.

## Резюме

Согласно полученным данным, частота возникновения аритмий на этапах ишемии и реперфузии в группе доставки оксида азота статистически значимо отличалась от таковой в контрольной группе. Зарегистрировано достоверное снижение частоты нарушений ритма сердца на этапах 10 мин ишемии, 35 мин ишемии и 45 мин реперфузии в группе доставки оксида азота.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при моделировании

ишемически-реперфузионного повреждения оказывает антиаритмическое действие.

*Влияние доставки оксида азота на величину очага инфаркта миокарда при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения*

Величину очага инфаркта выражали в виде процентного соотношения зоны инфаркта к размеру области риска (ЗИ/ОР).

Соотношение ЗИ/ОР в основной группе составило 55,6 [50; 61] %, что меньше на 15%, чем у животных контрольной группы – 69,9 [68; 73] % ( $p = 0,0002$ ). Данные результаты представлены на Рисунке 10.

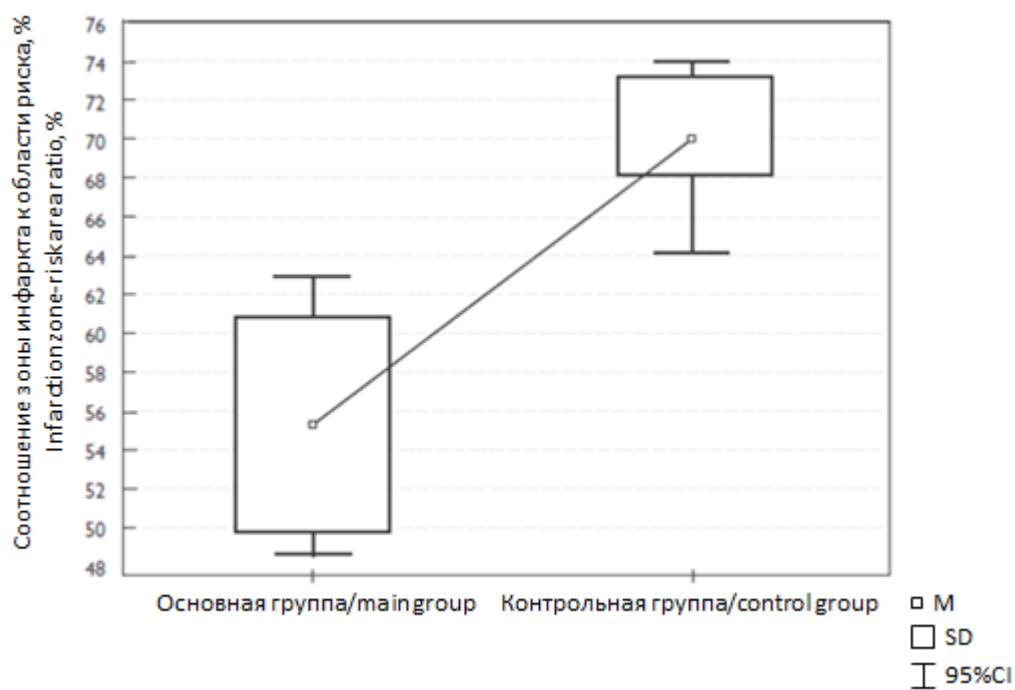


Рисунок 10 – Соотношение зоны инфаркта к области риска,  
 $p = 0,0002$

Опыт клинического применения нитратов, реализующих свой эффект через увеличение концентрации оксида азота, согласуется с нашими данными. При этом донаторы оксида азота имитируют раннюю фазу феномена прекондиционирования. Большое количество экспериментальных статей подтверждает важную роль оксида азота как триггера и медиатора поздней

фазы прекондиционирования. Инициация и опосредование оксидом азота феномена отсроченной фазы прекондиционирования проявляется тем, что максимальный эффект «второго защитного окна» ишемической адаптации развивается через 12 – 48 ч. после воздействия эндогенного или экзогенного оксида азота. Полученные данные о предупреждении оксидом азота некроза кардиомиоцитов в зоне ишемии-реперфузии сердечной мышцы указывают на его роль в реализации ранней фазы ишемической адаптации сердца. Полученные данные согласуются с результатами работ, в которых рассматривалась роль оксида азота как триггера развития ранней фазы ПК, однако во всех проведенных к настоящему времени экспериментальных исследованиях изучалось раннее фармакологическое прекондиционирование донорами оксида азота [93; 199]. Принципиальным отличием нашей работы от приведенных выше являлось то, что для моделирования кардиопротекции мы использовали нативную молекулу оксида азота, а не его предшественники. Похожие результаты были получены группой Nagasaka Y. et al., 2008 [32], которые в исследовании на грызунах установили, что ингаляция оксида азота приводит к быстрому накоплению метаболитов NO в крови и тканях и способствует кардиопротекции при ишемически-реперфузионном повреждении и уменьшению ЗИ/ОР на 31%.

### **Резюме**

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что доставка оксида азота при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения обладает выраженным инфарктлимитирующим эффектом. Кардиопротективные свойства оксида азота при его подаче в контур экстракорпоральной циркуляции проявляется в снижении ЗИ/ОР на 15% по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, в результате исследования были получены свидетельства цитопротективного эффекта оксида азота при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения.

Полученные в ходе эксперимента данные свидетельствуют о кардиопротективных свойствах оксида азота при его подаче в контур экстракорпоральной циркуляции при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения миокарда в виде снижения ЗИ/ОР на 15% и меньшего количества аритмий. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции также приводит к улучшению тканевой перфузии во время искусственного кровообращения. Принимая во внимание вышеизложенное, интраоперационная органопротекция миокарда оксидом азота у больных, оперированных в условиях ИК, стала объектом дальнейшего клинического исследования.

### 3.2 КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

#### 3.2.1 Влияние доставки оксида азота на periоперационное повреждение миокарда

Периоперационная динамика тропонина I в двух группах представлена на Рисунке 11.

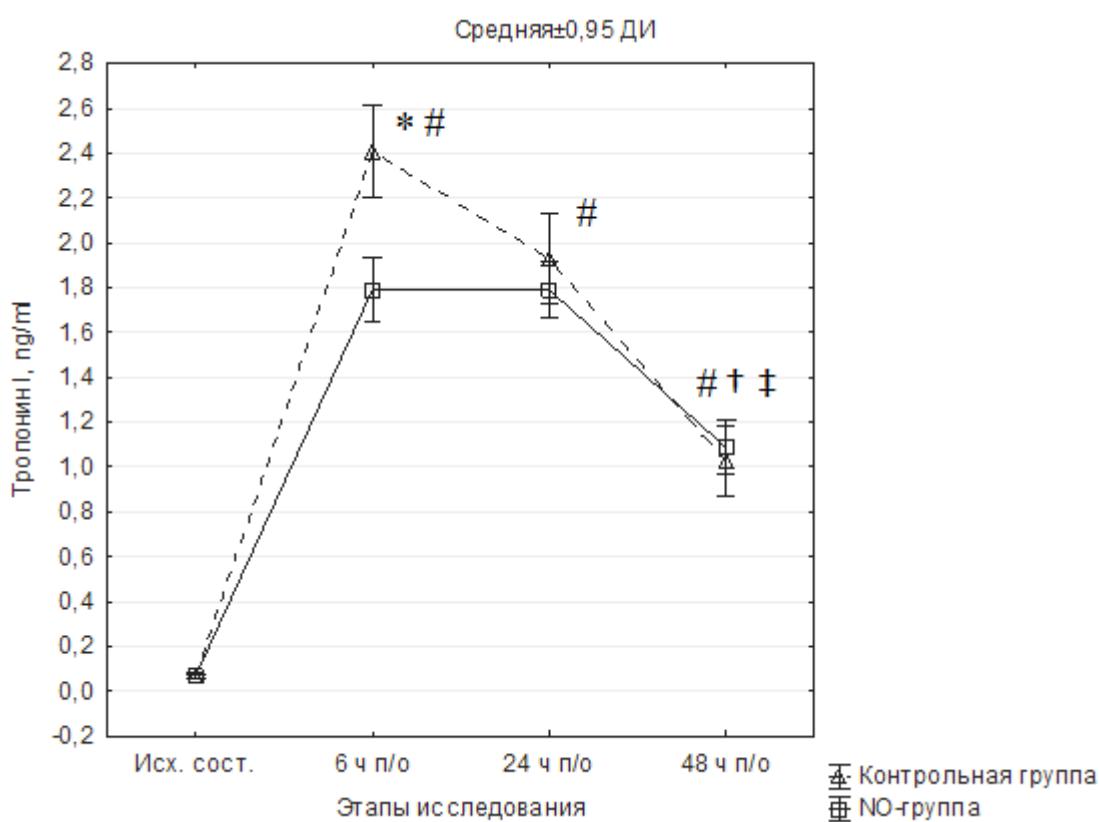


Рисунок 11 – Периоперационная динамика тропонина I в двух группах

Данные представлены как среднее  $\pm$  ДИ. \*  $p = 0,001$  при межгрупповом сравнении через 6 ч после вмешательства; #  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями; †  $p < 0,05$  по сравнению со значениями 6 ч после вмешательства; ‡  $p < 0,05$  по сравнению со значениями в 1 сутки после вмешательства.

Значения концентрации тропонина I исходно перед операцией были сопоставимы в обеих группах исследования и не превышали нормальных значений (0 – 0,1 нг/мл): NO-группа –  $0,07 \pm 0,2$  нг/мл, контрольная группа –  $0,07 \pm 0,2$  нг/мл ( $p = 0,47$ ). Уровень фермента достигал максимальных значений

через 6 ч после вмешательства в обеих группах. Отмечено статистически значимое межгрупповое отличие в концентрации тропонина I на этом этапе исследования, исследуемый параметр был статистически значимо ниже в NO-группе, составив  $1,79 \pm 0,39$  нг/мл по сравнению с  $2,41 \pm 0,55$  нг/мл в контрольной группе ( $p = 0,001$ ; статистическая мощность  $> 0,95$ ). Значения показателя остаются статистически значимо выше исходного уровня через 24 ч после вмешательства: в NO-группе уровень тропонина I составил  $1,8 \pm 0,3$  нг/мл, в контрольной группе  $1,9 \pm 0,5$  нг/мл, без межгрупповых различий ( $p = 0,70$ ). Через 48 ч после операции отмечено статистически значимое снижение уровня тропонина I в обеих группах по сравнению с показателями через 6 ч после ИК и через 24 ч после операции: в NO-группе  $1,1 \pm 0,2$  нг/мл и группе контроля  $1,06 \pm 0,35$  нг/мл, без межгрупповых различий ( $p = 0,35$ ). Сниженные по сравнению с предыдущими значениями, уровни показателя через 48 ч оставались статистически значимо выше исходных значений в обеих группах.

У всех пациентов через 6 ч после вмешательства и у части пациентов в первые и вторые сутки после операции были зафиксированы значения концентрации тропонина I, превышающие в 10 и более раз нормальные значения. При этом по данным ЭКГ не выявлено появление новых патологических зубцов Q в первые 48 ч после операции. Также по данным ЭхоКГ не отмечалось вновь появившейся региональной аномалии движения стенок. Пациентам исследуемых групп не требовалось проведения ангиографии в первые 48 ч после операции.

Важной находкой явился тот факт, что динамика плазменной концентрации тропонина I в обеих исследуемых группах не соответствовала классической парадигме. Для periоперационного повреждения или инфаркта миокарда, ассоциированного с кардиохирургическими вмешательствами, характерны максимальные значения тропонина I через 12 – 24 ч после вмешательства. Обнаруженная динамика кардиоспецифичного тропонина I может указывать на основной вклад ишемически-реперфузионного механизма в

развитие периоперационного повреждения миокарда у пациентов, включенных в исследование. Пик концентрации тропонина I через 12 – 24 ч характерен для необратимого повреждения кардиомиоцитов и является следствием некроза сердечной мышцы ввиду неадекватной реваскуляризации, дисбаланса доставки/потребления кислорода в периоперационном периоде, неадекватной кардиоплегической защиты сердца, либо комбинации факторов. 6 часовой пик концентрации тропонина I вероятно связан с транзиторной дисфункцией потенциалзависимых каналов и, как следствие, повышением проницаемости клеточной мембраны кардиомиоцитов с дислокацией внутриклеточного фермента [125]. Последующее снижение концентрации тропонина I в нашем исследовании подтверждает отсутствие некроза кардиомиоцитов.

Причины повышения концентрации тропонина I у пациентов, перенесших коронарное шунтирование в условиях ИК, многофакторные и включают хирургические манипуляции, ишемически-реперфузионное повреждение, субоптимальную защиту миокарда, а также компартментализацию активированных лейкоцитов и медиаторов системного воспалительного ответа в ткани миокарда [40].

Динамика уровня тропонина I в раннем послеоперационном периоде у включенных в исследование пациентов является крайне важной и поэтому выбрана в качестве первичной конечной точки. Рядом авторов было показано, что концентрация тропонина I в послеоперационном периоде у кардиохирургических пациентов является показателем адекватности интраоперационной защиты миокарда [43]. Выявлена прямая причинно-следственная связь между эффективностью кардиопротекции, оцениваемой по концентрации тропонина I в послеоперационном периоде, и клиническими исходами у кардиохирургических пациентов. Послеоперационный уровень тропонина I у пациентов, перенесших коронарное шунтирование в условиях ИК, тесно коррелирует с краткосрочной, среднесрочной и отдаленной летальностью у данной категории больных [238; 263]. Даже изолированное

повышение уровня тропонина I или МВ-КФК, вне связи с прочими клиническими, инструментальными и лабораторными критериями является предиктором неблагоприятного исхода в кардиохирургии, а также худших отдаленных результатов с увеличением частоты инфаркта миокарда и летальности [116]. Данным пациентам показан углубленный мониторинг, дополнительные диагностические и терапевтические вмешательства [274].

Периоперационная динамика МВ-изоформы КФК в двух группах представлена на Рисунке 12.

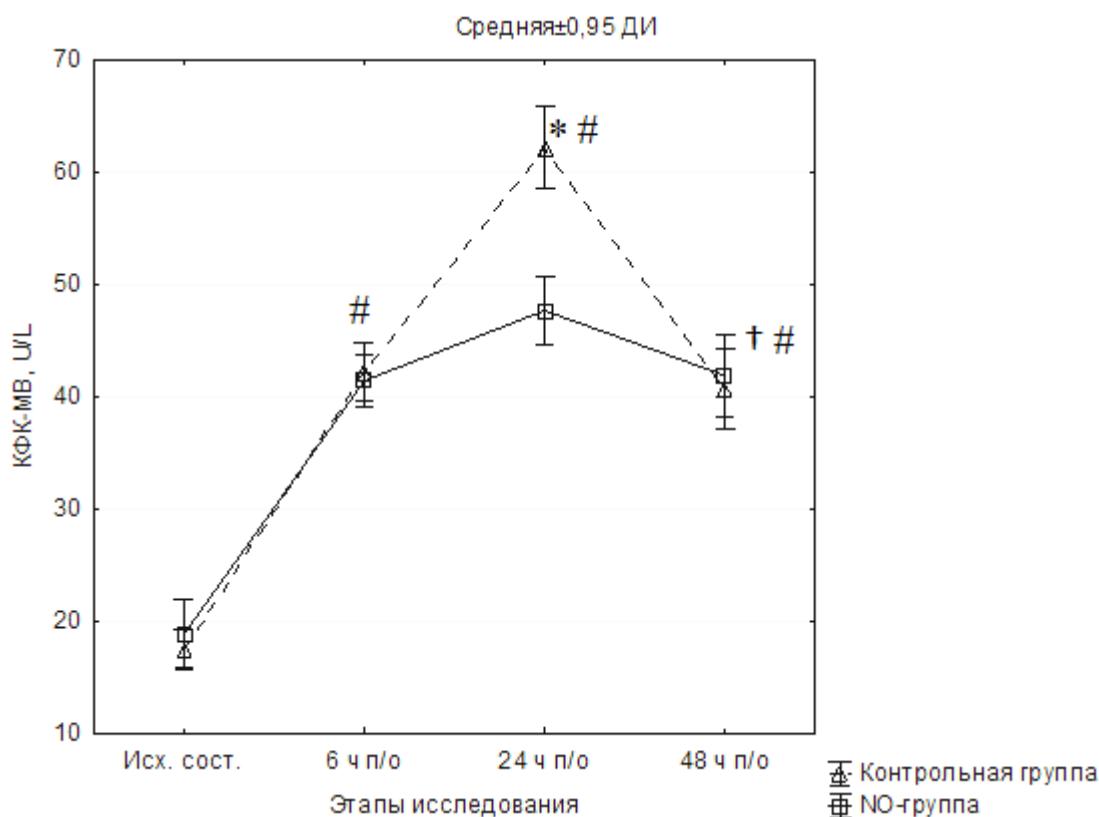


Рисунок 12 – Периоперационная динамика МВ-изоформы КФК в двух группах

Данные представлены как среднее  $\pm$  ДИ. \*  $p = 0,001$  при межгрупповом сравнении через 24 ч после вмешательства; #  $p < 0,05$  по сравнению с исходными значениями; †  $p < 0,05$  по сравнению со значениями в 1 сутки после вмешательства.

Значения КФК-МВ исходно не превышали нормальные (< 25 Ед./л) и составили  $17 \pm 4$  Ед./л и  $16 \pm 3$  Ед./л в NO-группе и группе контроля соответственно ( $p = 0,80$ ). Через 6 ч после прекращения ИК отмечался

статистически значимый прирост концентрации КФК-МВ в обеих группах:  $41 \pm 4,84$  Ед./л в исследуемой группе и  $43 \pm 5,45$  Ед./л в группе контроля, статистически значимой разницы между группами выявлено не было ( $p = 0,93$ ). Максимальные значения МВ-КФК зафиксированы в 1 сутки после операции в обеих группах. Через 24 ч после операции обнаружено статистически значимое снижение уровня КФК-МВ в NO-группе  $47,69 \pm 8,08$  Ед./л по сравнению с  $62,25 \pm 9,78$  Ед./л в контрольной ( $p = 0,001$ , статистическая мощность  $> 0,9$ ). На вторые сутки после операции отмечается снижение КФК-МВ без статистически значимой разницы между группами, но с достоверным превышением исходных значений в обеих группах. Значения КФК-МВ составили  $43 \pm 7,5$  Ед./л в NO группе и  $42 \pm 4,85$  Ед./л в контрольной группе ( $p = 0,46$ ).

МВ-КФК – изофермент КФК, наиболее характерный для кардиомиоцитов и составляющий до 45% всей креатинкиназной активности миокарда. Необходимо отметить значимый вклад в повышении МВ-изоформы КФК таких коморбидных состояний, как хроническая почечная недостаточность, некоторые эндокринопатии (в частности, гипотиреоз), ОНМК, миопатии, онкологические заболевания. Данные состояния могут накладывать соответствующие ограничения в интерпретации динамики МВ-КФК, что необходимо учитывать в кардиохирургической практике. В наше исследовании не вошли пациенты с указанными патологиями, поэтому можно считать корректной оценку степени периоперационного повреждения миокарда по динамике активности МВ-КФК.

Результаты клинической части исследования согласуются с данными работ группы Gianetti J. et al., 2004 [252] во взрослой кардиохирургической практике, а также Checchia P. et al., 2013 [181] на педиатрической когорте пациентов, перенесших вмешательство в условиях ИК, в которых также отмечено кардиопртективное действие оксида азота, оцениваемое по динамике кардиоспецифичных маркеров.

## Резюме

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции по предложенной методике приводит к статистически значимому изменению динамики кардиоспецифических ферментов у пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования в условиях ИК.

Концентрация тропонина I достигала максимальных значений через 6 ч после вмешательства в обеих группах. При этом концентрация тропонина I была статистически значимо ниже в NO-группе, составив  $1,79 \pm 0,39$  нг/мл по сравнению с  $2,41 \pm 0,55$  нг/мл в контрольной группе ( $p = 0,001$ ; статистическая мощность  $> 0,95$ ). У всех пациентов через 6 ч после вмешательства и у части пациентов в первые и вторые сутки после операции были зафиксированы значения концентрации тропонина I в 10 и более раз превышающие нормальные значения. При этом диагноз periоперационного инфаркта миокарда, согласно 4 универсальному определению инфаркта миокарда, ассоциированного с коронарным шунтированием, не был подтверждён ни в одном случае.

При анализе активности МВ-фракции КФК в обеих группах зафиксирована сходная динамика этого показателя с статистически значимым возрастанием в послеоперационном периоде и на протяжении 2 суток после вмешательства. Максимальные значения МВ-КФК зафиксированы в 1 сутки после операции в обеих группах. При этом обнаружено статистически значимое снижение уровня КФК-МВ в NO-группе  $47,69 \pm 8,08$  Ед./л по сравнению с  $62,25 \pm 9,78$  Ед./л в контрольной ( $p = 0,001$ , статистическая мощность  $> 0,9$ ).

Таким образом, доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при операциях коронарного шунтирования оказывает кардиопротективный эффект, заключающийся в снижении маркеров повреждения миокарда в послеоперационном периоде.

### 3.2.2 Влияние доставки оксида азота на степень тяжести контракtilьной дисфункции миокарда

Динамика зависимости пациентов от инотропной и вазопрессорной терапии и степени выраженности кардиотонической поддержки представлена на Рисунке 13.

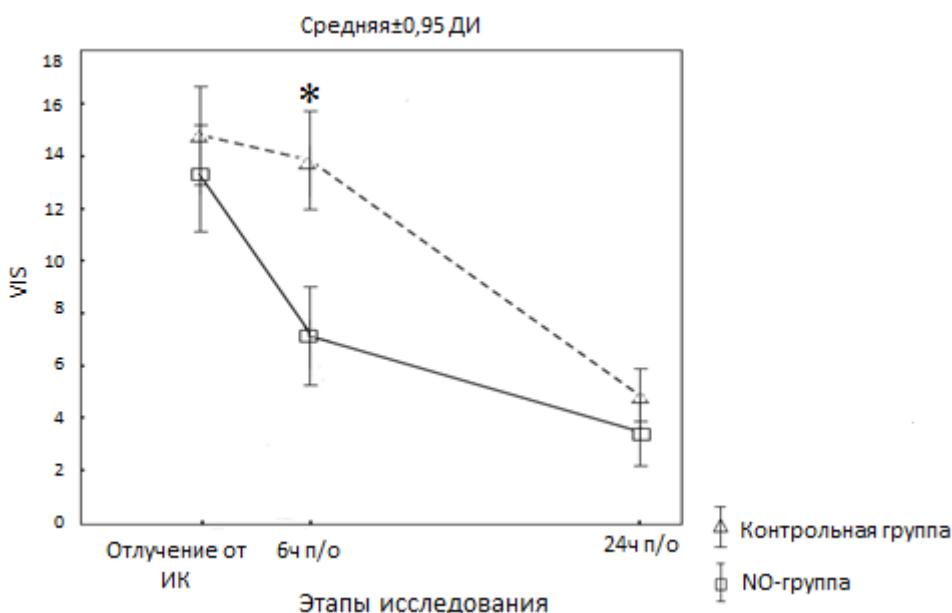


Рисунок 13 – Степень инотропной и вазопрессорной поддержки в послеоперационном периоде, оцениваемой в баллах вазоактивно-инотропной шкалы (vasoactive-inotropic score – VIS). \*  $p=0,001$  при межгрупповом сравнении через 6 ч после прекращения ИК

Максимальные значения VIS регистрировались при отлучении пациентов от ИК и составили  $13,2 \pm 5,08$  и  $14,5 \pm 4,6$  в NO-группе и группе контроля соответственно ( $p = 0,08$ ). Через 6 ч после прекращения ИК VIS в NO-группе составил  $7,1 \pm 4,36$ , что было статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, где этот показатель составил  $13,9 \pm 4,75$  ( $p = 0,001$ , статистическая мощность  $> 0,77$ ). В первые сутки после операции VIS был также ниже в NO-группе и составил  $3,8 \pm 2$  против  $5,4 \pm 1,2$  в контрольной, однако статистически значимой разницы выявлено не было ( $p = 0,095$ ).

Феномен миокардиального станнинга определяется как постишемическое снижение контракtilьности миокарда, персистирующее после реперфузии

несмотря на отсутствие необратимого повреждения кардиомиоцитов и восстановление адекватного коронарного кровотока. За последнее десятилетие отмечается неуклонный рост интереса к проблемам постишемической контрактильной дисфункции сердца, огромное количество работ посвящено вкладу «оглушенного» миокарда в развитие осложнений при ИБС. Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что миокардиальный станнинг – типичное явление, которое является основной причиной синдрома малого сердечного выброса и кардиогенного шока в раннем послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств и служит основной причиной летальных исходов. При этом на аутопсии зачастую не наблюдается характерных для инфаркта миокарда морфологических изменений.

Миокардиальный станнинг представляет собой гетерогенный синдром, представленный различными состояниями и классифицируемый в клинической практике кардиохирургии как станнинг после глобальной ишемии *in vivo*. При этом контрактильная дисфункция не обусловлена продолжающейся коронарной мальперфузией, а обратимость данного состояния подтверждает диагноз. Тяжесть «оглушения» миокарда в кардиохирургии определяется выраженностью ишемически-реперфузионного повреждения. Из этого следуют принципиально важные для клинической практики выводы. Во-первых, независимо от ведущего механизма повреждения миокарда (субоптимальная защита на фоне аноксии в период пережатия аорты или выраженное реперфузионное повреждение) он начинает реализовываться и должен быть модулирован уже на «входе в ишемию», т.е. перед проведением кардиоплегического ареста сердца. Во-вторых, терапевтические стратегии, нивелирующие тяжесть ишемически-реперфузионного повреждения, являются самыми эффективными методиками для снижения степень выраженности миокардиального станнинга.

Важной особенностью миокардиального станинга является способность «оглушенного» миокарда увеличивать свою сократительную функцию под влиянием инотропной стимуляции, в частности, отмечен линейный дозозависимый эффект роста глобальной контракtilности сердца, находящегося в состоянии постишемической дисфункции, в ответ на применение кардиотонической поддержки. Данная стратегия является основой клинического ведения пациентов, а рутинно применяемая инотропная терапия препаратами различных классов используется для преодоления преходящей миокардиальной депрессии, связанной с ишемически-реперфузионным повреждением. Таким образом, оценка степени тяжести сердечной дисфункции по уровню требуемой инотропной и вазопрессорной поддержки является вполне корректной.

Меньшее значение VIS в послеоперационном периоде у пациентов, которым выполнялась доставка оксида азота, свидетельствует о большем функциональном резерве миокарда и меньшей вероятности кардиальных и некардиальных осложнений. Количественная оценка степени кардиотонической поддержки, оцениваемая по VIS, первоначально была предложена для прогнозирования возможной заболеваемости и смертности после кардиохирургических вмешательств у младенцев [63]. Применение VIS для прогнозирования клинических исходов во взрослой популяции кардиохирургических пациентов выявило, что более высокие уровни вазоактивной и инотропной поддержки в раннем периоде после кардиохирургических операций с ИК ассоциированы с высокой вероятностью продленной вентиляции легких, длительного нахождения в ОАР и ранней послеоперационной летальностью [275]. Shahin J. et al., 2011, показали взаимосвязь между уровнем послеоперационной инотропной поддержки, частотой развития острого почечного повреждения и госпитальной летальностью у взрослых пациентов в кардиохирургии [265].

Полученные в нашем исследовании данные согласуются с результатами, полученными группой James C. et al., 2016 [177], которые продемонстрировали снижение частоты развития синдрома малого сердечного выброса после кардиохирургических вмешательств у детей, которым осуществлялась доставка 20 ppm оксида азота в оксигенатор аппарата ИК, по сравнению с пациентами, которые у которых использовался стандартный протокол ИК. Синдром малого сердечного выброса в данном исследовании диагностировали по увеличению концентрации сывороточного лактата более 4 ммоль/л, снижению центральной венозной сатурации менее 60%, оценке по инторопно-вазопрессорной шкале более 10 балов, а также факту применения экстракорпоральной мембранный оксигенации. Авторами сделан вывод о том, доставка оксида азота в газовый поток оксигенатора во время искусственного кровообращения у детей снижает частоту возникновения синдрома низкого сердечного выброса и ассоциированных с ним органных компликаций различной степени в зависимости от возрастной группы и сложности операции.

### **Резюме**

Максимального уровня VIS достигал при отлучении пациентов от ИК, что, по всей видимости, связано с посткардиоплегической депрессией миокарда, а также резкими колебаниями между водными секторами при возврате остаточного объема жидкости из аппарата ИК. Через 6 ч после прекращения ИК отмечается снижение VIS в обеих группах, однако в NO-группе регистрируется статистически значимо более низкие значения VIS. Тенденция к снижению этого показателя сохраняется и после 24 ч после прекращения ИК в NO-группе, однако, без достоверной разницы с контрольной группой.

Таким образом, доставка оксида азота при операциях коронарного шунтирования способствует снижению степени тяжести контракtilной дисфункции левого желудочка. Меньшая потребность в инотропной и

вазопрессорной поддержке у пациентов, которым проводилась доставка оксида азота, свидетельствует о лучшем функциональном статусе миокарда и его большем метаболическом резерве. Во-первых, это характеризует лучшую степень periоперационной защиты миокарда у группы, которой выполнялась доставка оксида азота. Во-вторых, указывает на меньшую вероятность кардиальных и некардиальных осложнений, общей заболеваемости и смертности у пациентов NO-группы [275].

*3.2.3 Влияние доставки оксида азота на динамику показателей гемодинамики в периоперационном периоде*

С целью изучения влияния доставки оксида азота на показатели гемодинамики нами были изучены ЧСС, САД, ЦВД в периоперационном периоде (Таблица 5).

Таблица 5 – Периоперационные показатели гемодинамики

Показатель	NO-группа n=30	Контрольная группа n=30	p
	68 [64;73]	70 [65; 74]	
ЧСС(уд/мин), Ме [25; 75]	82 [78;86]	80 [76; 84]	0.82
	70 [66;74]	72 [64; 73]	0.75
	80 [76;83]	78 [74; 80]	0.83
	78 [75;82]	76 [74; 80]	0.61
	66 [64;69]	64 [60; 65]	0.96
САД(mmHg), Ме [25; 75]	76 [70;80]	78 [72; 82]	0.88
	64 [60;70]	65 [62; 72]	0.74
	72 [68;76]	70 [66; 74]	0.79
	67 [63;74]	68 [64; 73]	0.92
	6 [4; 7]	6 [3; 7]	0.58
ЦВД(mmHg), Ме [25; 75]	4 [3; 5]	5[4; 6]	0.65
	3 [2; 5]	2 [2; 4]	0.89
	8 [6; 9]	7 [5; 9]	0.71
	4 [3; 7]	5[4; 8]	0.64

Данные представлены как медиана (25; 75 процентиль). ИК – искусственное кровообращение; ЧСС – частота сердечных сокращений; САД – среднее артериальное давление; ЦВД – центральное венозное давление.

После индукции анестезии перед стернотомией и перед наложением

зажима на аорту частота сердечных сокращений в обеих группах была ниже таковой на последующих этапах, однако, без статистически значимой разницы. Во всех контрольных точках ЧСС остается стабильной в обеих группах. Статистически значимых межгрупповых различий ЧСС на этапах исследования обнаружено не было.

Максимальные значения САД в обеих группах были зафиксированы после стернотомии. По всей видимости, данный факт обусловлен наивысшим уровнем ноцицептивной импульсации на этом этапе вмешательства. На всех этапах исследования САД находилось в целевом терапевтическом диапазоне. На этапах исследования не было обнаружено статистически значимых межгрупповых различий САД. Применение НО в нашем исследовании не сопровождалось системными гемодинамическими эффектами, между пациентами обеих групп не отмечена разница в необходимости применения вазопрессорных препаратов на ИК для поддержания целевых значений артериального давления.

Диапазон показателей ЦВД, регистрировавшихся на этапах исследования, находился в пределах 6 – 8 мм рт. ст. в обеих группах в течение всего периода наблюдения. Максимальные значения ЦВД зарегистрированы после отлучения от ИК в обеих группах пациентов. Статистически значимых изменений параметра как внутри групп, так и межгрупповых различий на этапах исследования зафиксировано не было.

Предупреждение периоперационной ишемии миокарда у пациентов с обструктивным поражением коронарных артерий является ключевой задачей обеспечения операций КШ. Оптимизация и поддержание в целевом диапазоне основных гемодинамических параметров преднагрузки (ЦВД) постнагрузки (САД) и ЧСС является ключевым фактором для поддержания адекватного кислородного бюджета ишемизированного миокарда. Указанные гемодинамические переменные являются важными детерминантами потребления миокардом кислорода и важными факторами ишемической

травмы в интраоперационном периоде. В настоящем исследовании показано, что основные параметры гемодинамики в группе с доставкой оксида азота статистически значимо не отличались от таковых в контрольной группе. Межгрупповая разница изученных параметров отсутствовала на протяжении всего периода наблюдения во всех контрольных точках. В периоперационном периоде показатели гемодинамики находились в пределах целевого коридора физиологических норм с минимальными колебаниями, безопасными для пациентов.

### **Резюме**

ЧСС, САД и ЦВД являются основными детерминантами потребления миокардом кислорода и важными факторами ишемической травмы в интраоперационном периоде. Согласно полученным данным, параметры гемодинамики в группе с доставкой оксида азота статистически значимо не отличались от таковых в контрольной группе. В периоперационном периоде показатели гемодинамики находились в пределах безопасного коридора физиологических норм с небольшими колебаниями.

Таким образом, отсутствие межгрупповых различий изученных параметров на этапах исследования указывает на тот факт, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции не влияет на гемодинамические характеристики и позволяет анестезиологу оптимизировать ЧСС, параметры пред- и постнагрузки у пациентов, перенесших коронарное шунтирование в условиях ИК.

#### *3.2.3 Безопасность периоперационной доставки азота*

Несмотря на относительно небольшую дозу доставляемого оксида азота, а также непродолжительное время экспозиции, в нашем исследовании большое внимание также было уделено оценке безопасности пациента при указанной методике доставки NO. Применяемая концентрация оксида азота в

газо-воздушной смеси АИК была в 2 раза ниже максимально разрешенной к клиническому применению и прецизионно отслеживалась на протяжении всего периода доставки. Оксид азота является крайне реактогенным соединением, в частности в присутствии кислорода ( $O_2$ ) подвергается химической реакции с образованием диоксида азота –  $NO_2$ .  $NO_2$  является чрезвычайно токсичным газом с максимально допустимым уровнем в промышленности и медицине 5 ppm. Скорость образования и конечная концентрация  $NO_2$  зависит от концентраций NO и  $O_2$  в газо-воздушной смеси. В этой связи при доставке NO необходимо избегать его источников с высокой концентрацией, необходимо использовать NO и  $FiO_2$  в минимальных клинически приемлемых дозах. Согласно инструкции производителя PrinterNOX analyzer (CareFusion, США), максимально допустимый  $FiO_2$  при использовании NO рассчитывается по формуле:  $FiO_2 = (1 - \text{требуемая концентрация NO/концентрация NO в источнике}) \times 100\%$ . Учитывая имеющиеся в нашем распоряжении источники газа (смесь  $N_2$  с NO в концентрации 200 ppm), а также требуемую его конечную концентрацию в газо-воздушной смеси, максимально допустимая  $FiO_2$  для использования в смесителе  $O_2$ /воздух аппарата ИК в нашем исследовании была 80%. Необходимо отметить, что такая  $FiO_2$  не требовалась ни в одном случае ни в NO-группе, ни в контрольной группе и в среднем инспираторная фракция  $O_2$  в смесителе  $O_2$ /воздух аппарата ИК составляла 50%.

Применяя доставку оксида азота в дозе 40 ppm по описанной методике, ни в одном случае в NO-группе нами не отмечено повышение концентрации  $NO_2$  более 1,8 ppm в доставляемой в оксигенатор аппарата ИК газо-воздушной смеси.

NO относится к метгемоглобинобразователям, поэтому для исключения отравления необходим тщательный мониторинг уровня метгемоглобина (MetHb) в крови. Доставка оксида азота по указанной методике не сопровождалась повышением содержания MetHb более 0,5% от общего гемоглобина. Содержание MetHb выше указанных значений не было

зарегистрировано ни в одном случае в NO-группе ни во время проведения ИК, ни в постперфузионном или раннем послеоперационном периодах.

Таким образом, доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при операциях аортокоронарного шунтирования в условиях ИК является легко воспроизводимой и хорошо контролируемой методикой. Данный протокол доставки оксида азота не сопровождается повышением концентрации токсических метаболитов оксида азота в магистрали подачи газо-воздушной смеси аппарата ИК, а также повышением содержания MetHb в периферической крови оперируемых больных, что подтверждает безопасность данной методики.

### *3.2.3 Клинические исходы*

В работе представлены данные пациентов группы доставки оксида азота и группы контроля по 30 пациентов в каждой группе. Все включенные и проанализированные в исследовании пациенты были выписаны из клинических отделений Института в удовлетворительном состоянии с клиническим улучшением по основной патологии. Характеристики послеоперационного периода представлены в Таблице 6.

Таблица 6 – Клинические характеристики пациентов

Характеристики	NO-группа n=30	Контрольная группа n=30	p
Продолжительность ИВЛ, ч, Ме [25; 75]	8 [7; 20]	13 [7; 18,3]	0.297
Композитная конечная точка, n%	3 (10)	7 (23)	0.09
Периоперационный ИМ	-	-	-
ОНМК	-	-	-
Реторакотомия, n%	2(6.66)	1(3.33)	0.315
Фибрилляция предсердий, n%	3 (10)	7 (23)	0.09
ДН, реинтубация, n%	1 (3.33)	0	0.321
ДН, НИВ, пневмония, n%	0	1 (3.33)	0.321
ОПП, n%	1(3.33)	3 (3.33)	0.309
Пневмоторакс, n%	1 (3.33)	0	0.321
Продолжительность пребывания в реанимации, ч, Ме [25; 75]	44 [42; 48]	46 [42; 51]	0.063
Смертность, n (%)	-	-	-
Длительность пребывания в стационаре, дней, Ме [25; 75]	8 [5; 11]	9 [6; 12]	0.071

Количественные признаки представлены как медиана (25; 75 процентиль). Качественные признаки представлены как число (%). ИВЛ – искусственная вентиляция легких, ИМ – инфаркт миокарда, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения, ДН – дыхательная недостаточность, ОПП – острое почечное повреждение, ОАР – отделение анестезиологии и реанимации, НИВ – неинвазивная вентиляция легких, NO-группа – группа доставки оксида азота.

Длительность ИВЛ у пациентов, которым выполнялась доставка оксида азота, составила 8 ч, что было меньше продолжительности ИВЛ у пациентов

контрольной группы, однако без значимой статистической разницы. Также у пациентов NO-группы отмечена тенденция к снижению частоты пароксизмов фибрилляции предсердий, без статистически значимой разницы между группами. В исследуемых группах не было зарегистрировано крупных сосудистых катастроф, таких, как инфаркт миокарда или ОНМК. Также ни в одном случае на протяжении исследования не потребовалось проведения механической циркуляторной поддержки. Частота развития композитной конечной точки не различалась между группами. Послеоперационный период осложнился дыхательной недостаточностью, потребовавшей интубации, в 1 случае в NO-группе. В 1 случае в контрольной группе в послеоперационном периоде потребовалось проведение неинвазивной вентиляции легких по поводу пневмонии. Острая дыхательная недостаточность была диагностирована при снижении  $\text{PO}_2 / \text{F}_1\text{O}_2$  (парциального давления кислорода в артериальной крови к ингалируемой фракции кислорода) менее 250; пневмония была диагностирована у пациентов с оценкой по шкале CPIS  $> 6$ ; пневмоторакс был диагностирован у 1 пациента NO-группы на основании рентгенологической картины. Реторакотомия по поводу хирургического кровотечения выполнялась в 2 случаях в NO-группе и в 1 случае в в контрольной группе. В группе доставки оксида азота отмечалась тенденция к снижению частоты острого почечного повреждения, определяемого по KDIGO критериям [273], однако статистически значимой разницы между группами выявлено не было. Также не выявлено достоверной разницы между пациентами исследуемых групп по времени нахождения в отделении анестезиологии и реанимации и времени пребывания в стационаре. Летальных случаев не зарегистрировано ни в одной группе.

## Резюме

В настоящем исследовании не было отмечено статистически значимых межгрупповых различий в основных характеристиках послеоперационного

периода. При межгрупповом анализе не зарегистрировано статистически значимых различий в количестве осложнений, включая композитную конечную точку.

В настоящем исследовании отмечена тенденция к меньшей частоте пароксизмов фибрилляции предсердий в послеоперационном периоде у пациентов, которым проводилась доставка оксида азота. Частота фибрилляции предсердий в NO-группе составила 3 случая (10%) по сравнению с 7 случаями (23%) в контрольной группе ( $p = 0,09$ ). Отсутствие статистически значимых различий по данному клиническому показателю мы связываем с малым размером выборки пациентов. Учитывая отчетливое кардиопротективное действие, отсутствие значимого положительного эффекта доставки оксида азота в отношении клинического течения больных, возможно, связано с исходно высокой сохранностью и низкой коморбидностью пациентов, включенных в исследование.

## ГЛАВА 4 . ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на прогресс сердечно-сосудистой хирургии и развитие анестезиологических и перфузиологических технологий в, частности, совершенствование методов кардиоплегической защиты сердца, периопераационное повреждения миокарда остается важной медицинской проблемой. В зависимости от дефиниций частота этого клинического феномена колеблется в пределах 30%, а по данным некоторых авторов может достигать 45% [57; 116]. Важный вклад в патогенез развития миокардиального повреждения при операциях в условиях ИК вносит ишемия – реперфузия, ассоциированные с пережатием аорты. В настоящее время оксид азота рассматривается как важный тригерр и медиатор адаптации кардиомиоцитов к ишемически-реперфузионному повреждению. Накоплен обширный экспериментальный материал, подтверждающий важную роль как эндогенного, так и экзогенного путей оксида азота в реализации кардиопротективных эффектов различных видов прекондиционирования [90; 261]. При этом клинические исследования, оценивающие кардиопротективные эффекты оксида азота в кардиохирургии, единичны и выполнены на педиатрической когорте пациентов. Таким образом, применение оксида азота в клинической практике у взрослых кардиохирургических пациентов является крайне перспективной областью и требует изучения.

Целью настоящей работы явилось изучение кардиопротективных эффектов оксида азота при его доставке в контур экстракорпоральной циркуляцию. Исследование состояло из 2 частей: экспериментальной и клинической. Экспериментальная часть исследования выполнена на самцах кроликов, которым моделировалось ишемически-реперфузионное повреждения миокарда путем окклюзии левой коронарной артерии на фоне проведения ИК. Было изучено влияние данной технологии на объем миокардиального повреждения, который оценивался по отношению зоны инфаркта к области

риска; частоту развития и вид нарушений ритма сердца за периоды коронарной окклюзии и реперфузии; на клинические и биохимические показатели, характеризующие адекватность проведения ИК.

Клиническая часть исследования выполнена у пациентов, перенесших операцию коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. Было изучено влияние данной технологии на степень периоперационного повреждения миокарда, оцениваемого по динамике кардиоспецифичных ферментов; на выраженность контракtilьной постишемической дисфункции левого желудочка, оцениваемой по степени инотропной и вазопрессорной поддержки в послеоперационном периоде в баллах вазоактивно-инотропной шкалы; на гемодинамический профиль пациентов в периоперационном периоде; выполнена оценка безопасности данного метода и его влияние на клинический исход.

В экспериментальной части исследования величина очага инфаркта, развившегося при окклюзии левой коронарной артерии, была выражена в виде процентного соотношения зоны инфаркта к размеру области риска (ЗИ/ОР). Соотношение ЗИ/ОР в NO-группе составило 55,6 [50; 61] %, что было на 15% меньше, чем у животных контрольной группы – 69,9 [68; 73] % ( $p = 0,0002$ ). Таким образом, при прямой оценке результата доставки оксида азота на миокард, подвергнутый ишемии-реперфузии, выявлено сокращение объема инфаркта в зоне ишемии, что является доказательством цитопротективного эффекта NO по отношению к кардиомиоцитам. Проведённое в дальнейшем клиническое исследование подтвердило результаты, полученные в экспериментальной части.

В соответствии с четвертым универсальным определением инфаркта миокарда, принятом Европейским обществом кардиологов, определение уровней кардиоспецифических ферментов в сыворотке крови является стандартом для диагностики периоперационного повреждения миокарда, а также инфаркта миокарда, ассоциированного с операцией коронарного

шунтирования. В результате выполненного исследования нам удалось подтвердить гипотезу о цитопротективных свойствах экзогенного оксида азота в отношении кардиомиоцитов. Уровень тропонина I в обеих исследуемых группах достигал максимальных значений через 6 ч после вмешательства. При этом зарегистрировано статистически значимое межгрупповое отличие в концентрации тропонина I на этом этапе исследования, уровень фермента был статистически значимо ниже в NO-группе, составив  $1,79 \pm 0,39$  нг/мл по сравнению с  $2,41 \pm 0,55$  нг/мл в контрольной группе ( $p = 0,001$ ; статистическая мощность  $> 0.95$ ).

Активность МВ-КФК в обеих группах демонстрировала сходную динамику за время наблюдения с статистически значимым возрастанием этого показателя в послеоперационном периоде. Максимальные пиковые значения МВ-КФК зафиксированы в 1 сутки после операции в обеих группах, при этом в NO-группе значения составили  $47,69 \pm 8,08$  Ед./л по сравнению с  $62,25 \pm 9,78$  Ед./л в контрольной группе. Обнаружено статистически значимое снижение уровня КФК-МВ в NO-группе на этом этапе исследования ( $p = 0,001$ , статистическая мощность  $> 0,9$ ). Данная динамика изменения активности МВ-КФК также укладывается в картину ишемически-реперфузионного повреждения миокарда. При этом активность фермента превышает диагностический порог к 6 ч после вмешательства, а повышенный ее уровень сохраняется на протяжении 48 ч. Таким образом, в ходе проведения исследования нами получены данные, указывающие на отчетливые кардиопротективные эффекты оксида азота. При этом кумулятивная пороговая доза оксида азота 40 ppm на протяжении периода ИК (по интенсивности и продолжительности) достаточна для индукции адаптации миокарда к эпизоду ишемии-реперфузии. Статистически значимое снижение величины очага инфаркта в группе доставки оксида азота при моделировании острой ишемии в эксперименте, а также полученные в клинической части исследования статистически значимые межгрупповые различия в динамике маркеров

повреждения миокарда со снижением этих показателей в группе доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции, указывают на цитопротективное влияние доставки оксида азота на степень повреждения кардиомиоцитов в результате ишемии-реперфузии миокарда, даже в условиях снижения энергетических потребностей кондиционированной ткани на фоне проведения кардиоплегии.

Потенциальные кардиопротективные эффекты оксида азота могут не ограничиваться классическим цитопротективным феноменом, проявляющимся повышением устойчивости кардиомиоцитов к ишемически-реперфузионному повреждению. Важным возможным эффектом доставки оксида азота на сердечную мышцу может являться положительное влияние относительно порога возникновения аритмий. Согласно полученным в исследовании экспериментальным данным, частота возникновения аритмий на этапах ишемии и реперфузии в группе доставки оксида азота статистически значимо отличалась от таковой в контрольной группе. Было зарегистрировано статистически значимое снижение частоты нарушений ритма сердца на этапах 10 мин ишемии, 35 мин ишемии и 45 мин реперфузии в группе доставки оксида азота. Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения оказывает антиаритмическое действие.

Несмотря на совершенствование методов кардиоплегической защиты сердца, сократительная дисфункция наблюдается у подавляющего большинства пациентов после кардиохирургических вмешательств даже при проведении адекватной реваскуляризации и восстановлении коронарного кровотока на фоне относительно короткого периода миокардиальной ишемии. В научной и профессиональной литературе этот феномен известен как «оглушение» миокарда или миокардиальный станнинг.

В настоящей работе для клинической оценки степени инопрессорной поддержки определяли вазоактивно-инотропный балл (vasoactive-inotropic score) – VIS и оценивали его динамику на протяжении раннего послеоперационного периода. Нами было выявлено статистически значимое снижение VIS через 6 ч после прекращения ИК в NO-группе. Таким образом, можно сделать вывод о том, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции способствует снижению степени выраженности постишемической контракtilьной дисфункции миокарда в послеоперационном периоде.

Для мониторинга степени системной мальперфузии и микроциркуляторного дистресса в настоящем исследовании применялась оценка веноартериального градиента  $p\text{CO}_2$  ( $\text{Pv-aCO}_2$ ).

В экспериментальной части настоящего исследования нами получены данные, согласно которым в группе доставки оксида азота отмечено статистически значимое снижение веноартериального градиента  $p\text{CO}_2$  на этапе 45 мин окклюзии коронарной артерии на фоне ИК ( $p = 0,0001$ ) и на этапе 45 мин реперфузии на фоне ИК ( $p = 0,0016$ ). При анализе клинических переменных у животных, которым выполнялась доставка оксида азота, отмечено статистически значимое повышение темпа мочеотделения во время ИК. Темп диуреза составил 1,4 [1,3; 1,5] мл/кг/ч в NO-группе и 1,15 [1; 1,3] мл/кг/ч в контрольной ( $p = 0,013$ ).

Однако полученные в эксперименте данные не были подтверждены в клинической части исследования. Нами не получено статистически значимых межгрупповых различий в величине  $\text{Pv-aCO}_2$  в перфузионном периоде. Метаболические показатели в обеих группах были стабильны и находились в пределах референтных значений. Отсутствие различий в величине  $\text{Pv-aCO}_2$ , возможно, связано с увеличением перфузиологом объёмной скорости перфузии при увеличении веноартериального градиента  $p\text{CO}_2$ . Отступление клиницистом

в данной ситуации от следования протоколу исследования является этически оправданным.

Таким образом, нами получены экспериментальные данные, свидетельствующие, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции приводит к оптимизации глобального кислородного баланса за счет улучшения тканевой перфузии в органах спланхнического бассейна во время искусственного кровообращения. На данный факт указывает ассоциация метаболические изменений, связанных с величиной  $Pv-aCO_2$ , со значимым повышением темпа мочеотделения во время проведения экспериментального ИК. Нам не удалось подтвердить полученные в эксперименте данные в клинической части исследования, что, по всей видимости, связано с невозможностью смоделировать идентичные условия перфузии в разных клинических ситуациях.

На основных этапах настоящего исследования отсутствовали межгрупповые различия изученных гемодинамических параметров, что указывает на тот факт, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции не влияет на гемодинамические характеристики и позволяет оптимизировать и поддерживать в целевом диапазоне ЧСС, параметры преднагрузки и постнагрузки у пациентов во время операций аортокоронарного шунтирования в условиях ИК.

Нами не отмечено повышение содержания  $NO_2$  или  $MetHb$  ни в одном случае, ни во время ИК ни в постперфузионном или в раннем послеоперационном периоде.

Таким образом, описанная методика доставки NO во время ИК является контролируемой для врача и безопасной для пациента и не сопровождается увеличением концентрации токсических метаболитов или метгемоглобина.

Нами не было отмечено статистически значимых межгрупповых различий в основных характеристиках послеоперационного периода. При межгрупповом анализе не зарегистрировано статистически значимых различий

в количестве осложнений в послеоперационном периоде, включая композитную конечную точку. Крупных сосудистых катастроф, таких, как инфаркт миокарда или ОНМК, не зарегистрировано ни в одной группе. Проведения механической циркуляторной поддержки не потребовалось ни в одном случае на протяжении исследования. Повторные операции в обеих группах выполнялись по поводу хирургического кровотечения в 2 случаях в НО-группе и в 1 случае в контрольной группе. Не выявлено статистически значимой разницы между пациентами исследуемых групп по времени нахождения в отделении анестезиологии и реанимации и времени пребывания в стационаре. Летальных случаев не зарегистрировано ни в одной группе.

Интерпретация результатов представленного исследования имеет ряд ограничений. Во-первых, в настоящее исследование были включены пациенты низкого и умеренного риска вмешательства, с относительно невысокой прогнозируемой частотой компликаций и вероятностью летального исхода. В частности, в исследование были включены только пациенты с удовлетворительной сократительной способностью левого желудочка в отсутствие тяжелой сопутствующей патологии и декомпенсации ассоциированных состояний. Реализация кардиопротективного эффекта доставки оксида азота в данных условиях могла не достигнуть положительного влияния на клинические исходы. Включение пациентов высокого риска со сниженной сократительной функцией левого желудочка, недавно перенесенным инфарктом миокарда, неполной хирургической реваскуляризацией миокарда, сочетанными вмешательствами и/или выраженной коморбидностью могло бы повлиять на полученные результаты. В целом, в последнее время рутинные операции коронарного шунтирования стали рассматриваться как кардиохирургические операции низкого риска, особенно у пациентов с нормальной функцией левого желудочка при плановых процедурах.

Во-вторых, представленный в настоящей работе протокол доставки оксида азота во время ИК оставляет нерешенным вопрос об оптимальной продолжительности терапии в периоперационном периоде, адекватной и максимально эффективной кумулятивной дозе доставляемого оксида азота.

В настоящем проспективном рандомизированном контролируемом исследовании была доказана практическая значимость доставки оксида азота как стратегии органопroteкции, в частности миокарда, во время операций аортокоронарного шунтирования в условиях ИК. В доступной литературе имеется большое количество экспериментальных исследований, поддерживающих «NO-гипотезу» ишемической адаптации сердца. В целом, проведенные на настоящий момент исследования на животных согласуются с настоящим исследованием (его экспериментальной частью) и указывают на то, что реализация кардиопротективных эффектов ранней фазы кардиопroteкции может быть индуцирована экзогенным оксидом азота и обязательно проходит с вовлечением эндогенного NO. При этом отмечается феномен миокардиальной NO-защиты, аналогичный цитопroteкции при феномене прекондиционирования. Трансляция фундаментальных исследований в области миокардиальной NO-протекции в клиническую практику началась лишь в последнее время. Клинических исследований, проведенных в кардиохирургии и посвященных интраоперационной защите миокарда оксидом азота крайне мало, при этом большая часть выполнена на педиатрической когорте пациентов. Результаты всех проведенных к настоящему времени исследований согласуются с данными, полученными в представленной работе.

Таким образом, на основании выполненного исследования мы заключаем, что доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции имеет практическую значимость для периоперационной органопroteкции у пациентов при операциях коронарного шунтирования в условиях ИК. Имеющиеся ограничения представленной работы делают целесообразным проведение многоцентрового рандомизированного исследования, включающего пациентов

высокого риска, в том числе со сниженной сократительной способностью миокарда ( $\Phi\text{B ЛЖ} < 30\%$ ), выраженной гипертрофией миокарда, сочетанными вмешательствами, длительным пережатием аорты (более 2 ч), недавним инфарктом миокарда или при экстренной операции у больных с острым коронарным синдромом, неполной хирургической реваскуляризацией миокарда и высокой коморбидностью.

## ВЫВОДЫ

1. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции является безопасной и обладает инфарктлимитирующим и антиаритмическим эффектами при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения миокарда в эксперименте. В группе доставки NO отмечалось уменьшение отношения зоны инфаркта к области риска на 15% по сравнению с контрольной группой. Выявлено снижение частоты возникновения аритмий на этапах ишемии и реперфузии: зарегистрировано статистически значимое снижение частоты нарушений ритма сердца на этапах 10 мин ишемии, 35 мин ишемии и 45 мин реперфузии в группе доставки оксида азота

2. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при операциях коронарного шунтирования нивелирует ишемически-реперфузионное повреждение миокарда, что проявляется в снижении маркеров повреждения миокарда в послеоперационном периоде. Концентрация тропонина I через 6 ч после операции была статистически значимо ниже в NO-группе, составив  $1,79 \pm 0,39$  нг/мл по сравнению с  $2,41 \pm 0,55$  нг/мл в контрольной группе;  $p = 0,001$ , статистическая мощность  $> 0,95$ . В 1 сутки после операции обнаружено статистически значимое снижение уровня КФК-МВ в NO-группе  $47,69 \pm 8,08$  Ед./л по сравнению с  $62,25 \pm 9,78$  Ед./л в контрольной;  $p = 0,001$ , статистическая мощность  $> 0,9$ .

3. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при операциях коронарного шунтирования способствует снижению тяжести контрактильной дисфункции левого желудочка, что проявляется меньшей потребностью в инотропной и вазопрессорной поддержке (оцениваемой в баллах VIS) в послеоперационном периоде. Через 6 ч после прекращения ИК VIS в NO-группе составил  $7,1 \pm 4,36$ , что было статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, где этот показатель составил  $13,9 \pm 4,75$ ;  $p = 0,001$ , статистическая мощность  $> 0,77$ .

4. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции у больных ишемической болезнью сердца является безопасной методикой и не сопровождается значимым повышением  $\text{NO}_2$  в газо-воздушной смеси, уровня метгемоглобина периферической крови или расстройствами гемодинамики, а также другими клинически значимыми побочными эффектами.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Рекомендуется доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции у больных ишемической болезнью сердца при операциях аорто-коронарного шунтирования для защиты миокарда и снижения тяжести контракtilьной дисфункции сердца.
2. Рекомендуется мониторинг  $\text{NO}_2$  и метгемоглобина во время доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при операциях аорто-коронарного шунтирования.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия

АКШ – аортокоронарное шунтирование

АФК – активные формы кислорода

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

ИК – искусственное кровообращение

ИМ – инфаркт миокарда

ЛЖ – левый желудочек

ПК – прекондиционирование

РКС<sup>ε</sup> – протеинкиназа С<sup>ε</sup>

ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка

цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

FiO<sub>2</sub> – инспираторная фракция кислорода

NOS – синтазы оксида азота

i NOS – индуцибельная синтаза оксида азота

m PTP – митохондриальная неспецифическая пора

NO – оксид азота

*NF-κB* – транскрипционный фактор (ядерный фактор «каппа-би»)

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 2011 ACCF/AHA guideline for coronary artery bypass graft surgery: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines / L.D. Hillis, P.K. Smith, J.L. Anderson et al. // Circulation. – 2011. – Vol.124, №23. – P.2610-2642. Epub 2011, Erratum in: Circulation. – 2011. – Vol.124, №25. – P.956. Circulation. – 2012. – Vol.126, №7. – P.105.
2. A systematic review and meta-analysis of early goal-directed therapy for septic shock: the ARISE, ProCESS and ProMISe Investigators / D.C. Angus, A.E. Barnato, D. Bell et al. // Intensive care medicine. – 2015. – Vol.41, №9. – P.1549 – 1560.
3. A1 or A3 adenosine receptors induce late preconditioning against infarction in conscious rabbits by different mechanisms / H. Takano, R. Bolli, R.J. Black Jr et al. // Circulation Research . – 2001. – Vol.88, №5. – P.520 – 528.
4. ACC/AHA 2004 guideline update for coronary artery bypass graft surgery: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1999 Guidelines for Coronary Artery Bypass Graft Surgery) / K.A. Eagle, R.A. Guyton, R. Davidoff R et al. // Circulation. – 2004. – Vol.110, №14. – P.e340 – 437.
5. ACCF/AHA guideline for coronary artery bypass graft surgery: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines developed in collaboration with the American Association for Thoracic Surgery, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, and Society of Thoracic Surgeons / L.D. Hillis, P.K. Smith, J.L. Anderson et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2011. – Vol.58, №24. – P.e123 – e210.
6. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide / N. Sasaki, T. Sato, A. Ohler et al. // Circulation. – 2000. – Vol.101, №4. – P.439 – 445.

7. Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein: stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid / L.J. Ignarro, R.G. Harbison, K.S. Wood, P.J. Kadowitz // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1986. – Vol.237, №3. – P.893 – 900.
8. Acute cardiac inflammatory responses to postischemic reperfusion during cardiopulmonary bypass / S. Zahler, P. Massoudy, H. Hartl et al. // Cardiovascular research. – 1999. – Vol.41, №3. – P.722 – 730.
9. Acute heart failure: clinical presentation, one-year mortality and prognostic factors / A. Rudiger, V.P. Harjola, A. Müller et al. // European journal of heart failure. – 2005. – Vol.7, №4. – P.662 – 670.
10. Ad'yuvantnaya kardioprotektsiya u kardiokhirurgicheskikh bol'nykh [Adjuvant Cardioprotection in Cardiac Patients] / A.E. Bautin, O.A. Grebenchikov, A.A. Eremenko et al. – Moscow, OOO «RIA "FarmEtika"» Publ., 2017. 226 p.
11. Adenovirus-mediated elevation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) as a strategy to protect against ischemic injury / Q. Li, R. Bolli, Y. Guo Y et al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2000. – Vol.32. – P.A23 (abstr.).
12. Alperton, W.K. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition / W.K. Alperton, C.E. Cooper, R.G. Knowles // Biochemical Journal. – 2001. – Vol.357, №3. – P.593 – 615.
13. An essential role of the JAK-STAT pathway in ischemic preconditioning / Y.T. Xuan, Y. Guo, H. Han et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2001. – Vol.98, №16. – P.9050 – 9055.
14. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone / S. Rajagopalan, S. Kurz, T. Münzel et al. // The Journal of clinical investigation. – 1996. – Vol.97, №8. – P.1916 – 1923.

15. Aranda, M. Inhaled nitric oxide and pulmonary vasoreactivity / M. Aranda, R.G. Pearl / Journal of clinical monitoring and computing. – 2000. – Vol.16, №5. – P.393-401.
16. Association of phospholamban with a cGMP kinase signaling complex / A. Koller, J. Schlossmann, K. Ashman et al. // Biochemical and biophysical research communications. – 2003. – Vol.300, №1. – P.155 – 160.
17. Atrial fibrillation after isolated coronary surgery. Incidence, long term effects and relation with operative technique / C. Rostagno, C. Blanzola, F. Pinelli et al. // Heart, lung and vessels. – 2014. – Vol. 6, №3. – P.171.
18. Atrial fibrillation following coronary artery bypass graft surgery: predictors, outcomes, and resource utilization / J.P. Mathew, R. Parks, J.S. Savino et al. // Jama. – 1996. – Vol.276, №4. – P.300 – 306.
19. Azuma, H. Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation / H. Azuma, M. Ishikawa, S. Sekizaki // British journal of pharmacology. – 1986. – Vol.88, №2. – P.411 – 415.
20. Bell, R.M. Atorvastatin, administered at the onset of reperfusion, and independent of lipid lowering, protects the myocardium by up-regulating a pro-survival pathway / R.M. Bell, D.M. Yellon // Journal of the American College of Cardiology. – 2003. – Vol.41, №3. – P.508 – 515.
21. Bifunctional role of protein tyrosine kinases in late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits / B. Dawn, Y.T. Xuan, Y. Qiu et al. // Circulation research. – 1999. – Vol.85, №12. – P.1154 – 1163.
22. Biological significance of nitric oxide-mediated protein modifications / A.J. Gow, C.R. Farkouh, D. Munson et al. // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. – 2004. – Vol.287, №2. – P.L262 – L268.
23. Biphasic response of cardiac NO synthase isoforms to ischemic preconditioning in conscious rabbits / Y.T. Xuan, X.L. Tang, Y. Qiu Y, et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2000. – Vol.279, №5. – P.H2360 – H2371.

24. Bland, M. An introduction to medical statistics / M. Bland. – Oxford University Press (UK), 2015.
25. Bokeriya, L.A. Priroda i klinicheskoye znacheniye "novykh ishemicheskikh sindromov" [The nature and clinical significance of "new ischemic syndromes"] / L.A. Bokeriya, I.N. Chicherin. – Moscow, Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery Publ., 2007. – P.302.
26. Bolli, R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research / R. Bolli // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2001. – Vol.33, №11. – P.1897 – 1918.
27. Bolli, R. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning / R. Bolli, E. Marbán // Physiological reviews. – 1999. – Vol.79, №2. – P.609 – 634.
28. Bolli, R. The early and late phases of preconditioning against myocardial stunning and the essential role of oxyradicals in the late phase: an overview / R. Bolli // Basic research in cardiology. – 1996. – Vol.91, №1. – P.57 – 63.
29. Bolli, R. The late phase of preconditioning / R. Bolli // Circulation research. – 2000. – Vol. 87, №11. – P.972 – 983.
30. Bonnefoy, E. Troponin I, troponin T, or creatine kinase-MB to detect perioperative myocardial damage after coronary artery bypass surgery / E. Bonnefoy // Chest. – 1998. – Vol.114, №2. – P.482 – 486.
31. Braunwald, E. The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction / E. Braunwald, R.A. Kloner // Circulation. – 1982. – Vol.66, №6. – P.1146 – 1149.
32. Brief periods of nitric oxide inhalation protect against myocardial ischemia–reperfusion injury / Y. Nagasaka, B.O. Fernandez, M. F. Garcia-Saura et al. // Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists. – 2008. – Vol.109, №4. – P.675 – 682.
33. Brunton, T.L. On the use of nitrite of amyl in angina pectoris / T.L. Brunton // The Lancet. – 1867. – Vol. 90, №2291. – P.97 – 98.

34. Bryan, N.S. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development / N.S. Bryan, K. Bian, F. Murad // *Frontiers in Bioscience*. – 2009. – Vol.14, №1. – P.1 – 18.
35. Buckberg, G. D. Myocardial protection management during adult cardiac operations / G.D. Buckberg, B.S. Allen // *Glenn's thoracic and cardiovascular surgery*. – 1995. – P.1653 – 1687.
36. Buckberg, G. D. Update on current techniques of myocardial protection / G.D. Buckberg // *The Annals of thoracic surgery*. – 1995. – Vol.60, №3. – P.805 – 814.
37. Bugge, E. Bradykinin protects against infarction but does not mediate ischemic preconditioning in the isolated rat heart / E. Bugge, K. Ytrehus // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 1996. – Vol.28, №12. – P.2333 – 2341.
38. Can venous-to-arterial carbon dioxide differences reflect microcirculatory alterations in patients with septic shock? / G.A. Ospina-Tascón, M. Umaña, W.F. Bermúdez et al. // *Intensive care medicine*. – 2016. – Vol.42, №2. – P.211 – 221.
39. Canine hindlimb blood flow and O<sub>2</sub> uptake after inhibition of EDRF/NO synthesis / C.E. King, M.J. Melinyshyn, J.D. Mewburn et al. // *Journal of Applied Physiology*. – 1994. – Vol.76, №3. – P.1166 – 1171.
40. Cardiac marker responses to coronary artery bypass graft surgery with cardiopulmonary bypass and aortic cross-clamping / S. Takeda, K. Nakanishi, H. Ikezaki et al. // *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*. – 2002. – Vol.16, №4. – P.421 – 425.
41. Cardiac protection with phosphocreatine: a meta-analysis / G. Landoni, A. Zangrillo, V.V. Lomivorotov et al. // *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. – 2016. – Vol.23, №4. – P.637 – 646.
42. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction / M.S. Marber, D.S.

Latchman, J.M. Walker, D.M. Yellon // Circulation. – 1993. – Vol.88, №3. – P.1264 – 1272.

43. Cardiac troponin I plasma levels for diagnosis and quantitation of perioperative myocardial damage in patients undergoing coronary artery bypass surgery / V. Sadony, M. Körber, G. Albes et al. // European journal of cardio-thoracic surgery. – 1998. – Vol.13, №1. – P.57 – 65.

44. Cardiac troponin I release after open heart surgery: a marker of myocardial protection? / E. Vermes, M. Mesguich, R. Houel et al. // The Annals of thoracic surgery. – 2000. – Vol.70, №6. – P.2087 – 2090.

45. Cardioprotection with volatile anesthetics: mechanisms and clinical implications / S.G. De Hert, F. Turani, S. Mathur, D.F. Stowe // Anesthesia & Analgesia. – 2005. – Vol.100, №6. – P.1584 – 1593.

46. Cardioprotective effects of chronic hypoxia and ischaemic preconditioning are not additive / J. Neckář, F. Papoušek, O. Nováková et al. // Basic research in cardiology. – 2002. – Vol.97, №2. – P.161 – 167.

47. Cardiopulmonary bypass time: every minute counts / S. Madhavan, S.P. Chan, W.C. Tan et al. // The Journal of cardiovascular surgery. – 2018. – Vol.59, №2. – P.274 – 281.

48. Cardiopulmonary bypass, hemolysis, and nitroprusside-induced cyanide production / A.T. Cheung, G.E. Cruz-Shiavone, Q.C. Meng et al. // Anesthesia & Analgesia. – 2007. – Vol.105, №1. – P.29 – 33.

49. Catalytic peroxynitrite decomposition improves reperfusion injury after heart transplantation / G. Szabó, S. Loganathan, B. Merkely et al. // The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2012. – Vol.143, №6. – P.1443 – 1449.

50. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease / C.D. Reiter, X. Wang, J.E. Tanus-Santos et al. // Nature medicine. – 2002. – Vol.8, №12. – P.1383 – 1389.

51. Central venous-arterial pCO<sub>2</sub> difference as a tool in resuscitation of septic patients / P.A. van Beest, M.C. Lont, N.D. Holman et al. // Intensive care medicine. – 2013. – Vol.39, №6. – P.1034 – 1039.
52. Central venous-arterial pCO<sub>2</sub> difference identifies microcirculatory hypoperfusion in cardiac surgical patients with normal central venous oxygen saturation: a retrospective analysis / M. Habicher, C. von Heymann, C.D. Spies // Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2015. – Vol.29, №3. – P.646 – 655.
53. Central venous-to-arterial carbon dioxide difference: an additional target for goal-directed therapy in septic shock? / F. Vallée, B. Vallet, O. Mathe O. et al. // Intensive care medicine. – 2008. – Vol.34, №12. – P.2218.
54. Characteristics, outcomes, and predictors of 1-year mortality in patients hospitalized for acute heart failure / K. Siirilä-Waris, J. Lassus, J. Melin et al. // European heart journal. – 2006. – Vol.27, №24. – P.3011 – 3017.
55. Chronic inhibition of cyclic GMP phosphodiesterase 5A prevents and reverses cardiac hypertrophy / E. Takimoto, H.C. Champion, M. Li et al. // Nature medicine. – 2005. – Vol.11, №2. – P.214 – 222.
56. Clinical profile, contemporary management and one year mortality in patients with severe acute heart failure syndromes: the EFICA study / F. Zannad, A. Mebazaa, Y. Juillièr et al. // European journal of heart failure. – 2006. – Vol.8, №7. – P.697 – 705.
57. Clinical review: practical recommendations on the management of perioperative heart failure in cardiac surgery / A. Mebazaa, A.A. Pitsis, A. Rudiger et al. // Critical care. – 2010. – Vol.14, №2. – P.201.
58. Cohen, M.V. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP channel / M.V. Cohen, C.P. Baines, J.M. Downey // Annual review of physiology. – 2000. – Vol.62, №1. – P.79 – 109.
59. Comparison of coronary bypass surgery with drug-eluting stenting for the treatment of left main and/or three-vessel disease: 3-year follow-up of the

SYNTAX trial / A.P. Kappetein, T.E. Feldman, M.J. Mack et al. // European heart journal. – 2011. – Vol.32, №17. – P.2125 – 2134.

60. Comparison of different types of cardioplegia and reperfusion on myocardial metabolism and free radical activity / O. Bical, M.F. Gerhardt, D. Paumier et al. // Circulation. – 1991. – Vol.84, №5.Suppl. – P. III375 – 379.

61. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signaling system / J.L. Balligand, R. A. Kelly, P.A. Marsden et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1993. – Vol.90, №3. – P.347 – 351.

62. Coronary artery bypass grafting versus drug-eluting stents in multivessel coronary disease. A meta-analysis on 24,268 patients / U. Benedetto, G. Melina, E. Angeloni et al. // European journal of cardio-thoracic surgery. – 2009. – Vol.36, №4. – P.611 – 615.

63. Cote, C.J. Practice of Anesthesia for Infants and Children, 4th edn / C.J. Cote, J. Lerman, I.D. Todres . – Philadelphia, WB Saunders, Elsevier, 2009.

64. Culotta, E. NO news is good news / E. Culotta, Jr D. E. Koshland // Science. – 1992. – Vol. 258, №5090. – P.1862 – 1866.

65. Cyclooxygenase-2 mediates the cardioprotective effects of the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits / K. Shinmura, X.L. Tang, Y. Wang et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2000. – Vol.97, №18. – P.10197 – 10202.

66. Decreased catecholamine sensitivity and  $\beta$ -adrenergic-receptor density in failing human hearts / M.R. Bristow, R. Ginsburg, W. Minobe et al. // New England Journal of Medicine. – 1982. – Vol. 307, №4. – P.205 – 211.

67. Defining oliguria during cardiopulmonary bypass and its relationship with cardiac surgery-associated acute kidney injury / D. Hori, N.M. Katz, D.M. Fine et al. // British Journal of Anaesthesia. – 2016. – Vol.117, №6. – P.733 – 740.

68. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia / T. Kuzuya, S. Hoshida, N. Yamashita et al. // Circulation research. – 1993. – Vol.72, №6. – P.1293 – 1299.

69. Delayed preconditioning-mimetic action of nitroglycerin in patients undergoing coronary angioplasty / M.A. Leesar, M.F. Stoddard, B. Dawn et al. // Circulation. – 2001. – Vol.103, №24. – P.2935 – 2941.
70. Della, G.I.P.L.S. Effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction / G.I.P.L.S. Della, S.N.I. Miocardico // Lancet. – 1994. – Vol.343. – P.1115 – 1122.
71. Desflurane and sevoflurane in cardiac surgery: a meta-analysis of randomized clinical trials / G. Landoni, G. Biondi-Zocca, A. Zangrillo et al. // Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2007. – Vol.21, №4. – P.502 – 511.
72. Diagnostic marker cooperative study for the diagnosis of myocardial infarction / J. Zimmerman, R. Fromm, D. Meyer et al. // Circulation. – 1999. – Vol.99, №13. – P.1671 – 1677.
73. Direct vascular and cardioprotective effects of rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor / S.P. Jones, M.F. Gibson, D.M. Rimmer et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2002. – Vol.40, №6. – P.1172 – 1178.
74. Does dexmedetomidine provide cardioprotection in coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass? A pilot study / N.Z. Tosun, M. Baktir, H.C. Kahraman H. et al. // Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2013. – Vol.27, №4. – P.710 – 715.
75. Does glutamine promote benefits for patients with diabetes mellitus scheduled for cardiac surgery? / V.V. Lomivorotov, S.M. Efremov, V.A. Shmirev et al. // Heart, Lung and Circulation. – 2013. – Vol.22, №5. – P.360 – 365.
76. Does remote ischaemic preconditioning with postconditioning improve clinical outcomes of patients undergoing cardiac surgery? Remote Ischaemic Preconditioning with Postconditioning Outcome Trial / D.M. Hong, E.H. Lee, H.J. Kim et al. // European heart journal. – 2013. – Vol.35, №3. – P.176 – 183.

77. Effect of increased myocardial cyclic GMP induced by cyclic GMP-phosphodiesterase inhibition on oxygen consumption and supply of rabbit hearts. / H.R. Weiss, E. Rodriguez, J. Tse, P.M. Scholz // Clinical and experimental pharmacology and physiology. – 1994. – Vol.21, №8. – P.607 – 614.
78. Effect of L-arginine on metabolic recovery of the ischemic myocardium / M. Carrier, A. Khalil, A. Tourigny et al. // The Annals of thoracic surgery. – 1996. – Vol.61, №6. – P.1651 – 1657.
79. Effect of levosimendan on survival and adverse events after cardiac surgery: a meta-analysis / R.W. Harrison, V. Hasselblad, R.H. Mehta et al. // Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2013. – Vol.27, №6. – P.1224 – 1232.
80. Effects of levosimendan on mortality and hospitalization. A meta-analysis of randomized controlled studies / G. Landoni, G. Biondi-Zocca, M. Greco et al. // Critical care medicine. – 2012. – Vol.40, №2. – P.634 – 646.
81. Electron paramagnetic resonance analysis of nitrosylhemoglobin in humans during NO inhalation / B. Piknova, M.T. Gladwin, A.N. Schechter, N. Hogg // The Journal of biological chemistry. – 2005. – Vol.280, №49. – P.40583-40588.
82. Elevated cardiac troponin is an independent risk factor for short-and long-term mortality in medical intensive care unit patients / L. Babuin L, V.C. Vasile, J.A.R. Perez et al. // Critical care medicine. – 2008. – Vol.36, №3. – P.759 – 765.
83. Elevated cardiac troponin measurements in critically ill patients / W. Lim, I. Qushmaq, P.J. Devereaux et al. // Archives of internal medicine. – 2006. – Vol.166, №22. – P.2446 – 2454.
84. Endothelial nitric oxide gene knockout mice: cardiac phenotypes and the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on myocardial ischemia/reperfusion injury / X.P Yang, Y.H. Liu, E.G. Shesely et al. // Hypertension. – 1999. – Vol.34, №1. – P.24 – 30.
85. Endothelial nitric oxide synthase decreases  $\beta$ -adrenergic responsiveness via inhibition of the L-type  $\text{Ca}^{2+}$  current / H. Wang, M.J. Kohr, D.J. Wheeler, M.T.

Ziolo // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiolog. – 2008. – Vol.294, №3. – P.H1473 – H1480.

86. Erythrocytes possess an intrinsic barrier to nitric oxide consumption / M.W. Vaughn, K.T. Huang, L. Kuo, J.C. Liao // Journal of Biological Chemistry. – 2000. – Vol.275, №4. – P.2342 – 2348.

87. Essential role of inducible nitric oxide synthase in monophosphoryl lipid A-induced late cardioprotection: evidence from pharmacological inhibition and gene knockout mice / L. Xi, N.C. Jarrett, M.L. Hess, L., R.C. Kukreja // Circulation. – 1999. – Vol.99, №16. – P.2157 – 2163.

88. EuroHeart Failure Survey II (EHFS II): a survey on hospitalized acute heart failure patients: description of population / M.S. Nieminen, D. Brutsaert, K. Dickstein et al. // European heart journal. – 2006. – Vol.27, №22. – P.2725 – 2736.

89. Evidence for nitric oxide generation in the cardiomyocytes: its augmentation by hypoxia / M. Kitakaze, K. Node, K. Komamura, T. Minamino // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1995. – Vol.27, №10. – P.2149 – 2154.

90. Evidence that late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is triggered by the generation of nitric oxide / R. Bolli, Z.A. Bhatti, X.L. Tang et al. // Circulation research. – 1997. – Vol.81, №1. – P.42 – 52.

91. Evidence that the hydroxyl radical triggers late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits / X. Tang, A.N. Rizvi, Y. Qui et al. // Circulation. – 1997. – Vol.96, №8S.

92. Exercise-induced late preconditioning is triggered by generation of nitric oxide / Y. Guo, W.J. Wu, X.P. Zhu et al. // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2001. – Vol.33, №6. – P.A41.

93. Exogenous nitric oxide can trigger a preconditioned state through a free radical mechanism, but endogenous nitric oxide is not a trigger of classical ischemic preconditioning / A. Nakano, G.S. Liu, G. Heusch et al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2000. – Vol.32, №37. – P.1159 – 1167.

94. Failure to improve left ventricular function after coronary revascularization for ischemic cardiomyopathy is not associated with worse outcome / H. Samady, J.A. Elefteriades, B.G. Abbott et al. // Circulation. – 1999. – Vol.100, №12. – P.1298 – 1304.

95. Fourth universal definition of myocardial infarction / K. Thygesen, J.S. Alpert, A.S. Jaffe et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2018. – Vol.72, №18. – P.2231-2264.

96. Functional properties of a naturally occurring isoform of soluble guanylyl cyclase / M. Russwurm, S. Behrends, C. Harteneck, D. Koesling // Biochemical Journal. – 1998. – Vol.335, №1. – P.125 – 130.

97. Furchtgott, R. F. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine / R.F. Furchtgott, J.V. Zawadzki // Nature. – 1980. – Vol.288, №5789. – P.373 – 376.

98. Glutamine cardioprotective effects in patients with ischemic heart disease, operated under cardiopulmonary bypass / V.V. Lomivorotov, S.M. Efremov, V.A. Shmirev et al. // Anesteziologiya i reanimatologiya [Russian Journal of Anesthesiology and Reanimatology]. – 2012. – №2. – P.14 – 18. (in Russian)

99. Glutamine is cardioprotective in patients with ischemic heart disease following cardiopulmonary bypass / V.V. Lomivorotov, S.M. Efremov, V.A. Shmirev et al. // Heart Surgery Forum. – 2011. – Vol.14, №6. – P.384 – 388.

100. Glycolipid RC-552 induces delayed preconditioning-like effect via iNOS-dependent pathway in mice / L. Xi, F. Salloum, D. Tekin et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 1999. – Vol.277, №6. – P.H2418 – H2424.

101. Grocott, H.P. Cardiopulmonary bypass management and organ protection / H.P. Grocott, M. Stafford-Smith, C.T. Mora-Mangano // In: Kaplan J.A., Reich D.L., Savino J.S. (eds.) Kaplan's Cardiac Anesthesia: The echo era. 6<sup>th</sup> ed. St Louis: Saunders. – 2011. – P.838 – 887.

102. Hanafy, K.A. NO, nitrotyrosine, and cyclic GMP in signal transduction / K.A. Hanafy, J.S. Krumenacker, F. Murad // *Medical Science Monitor.* – 2001. – Vol.7, №4. – P.801 – 819.
103. Hazards of postoperative atrial arrhythmias / L.L. Creswell, R.B. Schuessler, M. Rosenbloom, J.L. Cox // *The Annals of thoracic surgery.* – 1993. – Vol.56, №3. – P.539 – 549.
104. Heart calcium sensitization on morbidity and mortality of high-risk surgical patients with MODS: systematic review and meta-analysis / L. Qiao, C. Xu, X. Li et al. // *International journal of clinical and experimental medicine.*, 2015, Vol.10, №8. – P.17712 – 17720.
105. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage / I.C. Vermeulen Windsant, N.C. de Wit, J.T. Sertorio et al. // *Frontiers in physiology.* – 2014. – Vol.5. – P.340.
106. Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by decompartmentalized oxyhemoglobin / P.C. Minneci, K. J. Deans, H. Zhi et al. // *The Journal of clinical investigation.* – 2005. – Vol.115, №12. – P.3409 – 3417.
107. Heusch G., Post H., Michel M. C., Kelm M., Schulz R. Endogenous nitric oxide and myocardial adaptation to ischemia. *Circulation Research.* – 2000. – Vol.87, №2. – P.146 – 152.
108. Heusch, G. Nitroglycerin and delayed preconditioning in humans: yet another new mechanism for an old drug / G. Heusch // *Circulation.* – 2001. – Vol.103. – P.2876 – 2878.
109. Holzmann, S. Endothelium-induced relaxation by acetylcholine associated with larger rises in cyclic GMP in coronary arterial strips / S. Holzmann // *Journal of cyclic nucleotide research.* – 1982. – Vol.8, №6. – P.409 – 419.
110. How should patients with coronary disease and a very poor left ventricular systolic function be treated? / J.T. Christenson, A. Bloch, F. Simonet, M.

Schmuziger // Revue medicale de la Suisse romande. – 1995. – Vol.115, №11. – P.881.

111. Huang, P.L. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease / P.L. Huang // Trends in Endocrinology & Metabolism. – 2009. – Vol.20, №6. – P. 295 – 302.
112. Hypoxic regulation of inducible nitric oxide synthase via hypoxia inducible factor-1 in cardiac myocytes / F. Jung, L.A. Palmer, N. Zhou, R.A. Johns // Circulation research. – 2000. – Vol.86, №3. – P.319 – 325.
113. Hypoxic stress induces cardiac myocyte-derived interleukin-6 / K. Yamauchi-Takahara, Y. Ihara, A. Ogata et al. // Circulation. – 1995. – Vol. 91, №5. – P.1520 – 1524.
114. Ignarro, L.J. Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties / L.J. Ignarro // The FASEB Journal. – 1989. – Vol. 3, №1. – P.31 – 36.
115. Imagawa, J. Pharmacological evidence that inducible nitric oxide synthase is a mediator of delayed preconditioning / J. Imagawa, D.M. Yellon, G.F. Baxter // British journal of pharmacology. – 1999. – Vol.126, №3. – P.701 – 708.
116. Impact of perioperative myocardial infarction on angiographic and clinical outcomes following coronary artery bypass grafting (from PRoject of Ex-vivo Vein graft ENgineering via Transfection [PREVENT] IV) / J.M. Yau, J.H. Alexander, G. et al. // The American journal of cardiology. – 2008. – Vol.102, №5. – P.546 – 551.
117. Incidence, predictors, and significance of abnormal cardiac enzyme rise in patients treated with bypass surgery in the arterial revascularization therapies study (ARTS) / M. A. Costa, R.G. Carere, S. Lichtenstein // Circulation. – 2001. – Vol.104, №22. – P.2689 – 2693.
118. Increased mortality after coronary artery bypass graft surgery is associated with increased levels of postoperative creatine kinase-myocardial band isoenzyme release: results from the GUARDIAN trial / K. Klatte, B.R. Chaitman, P.

Theroux, et al. for the GUARDIAN Investigators // Journal of the American College of Cardiology. – 2001. – Vol.38, №4. – P.1070 – 1077.

119. Inducible nitric oxide synthase gene therapy with a new generation adenovirus protects against myocardial infarction in vivo / Q. Li, Y.R. Guo, C. Lowenstein et al. // Circulation. – 2001. – Vol.104, №17. – P.228 – 228.

120. Inducible nitric oxide synthase mediates delayed myocardial protection induced by activation of adenosine A1 receptors: evidence from gene-knockout mice / T. Zhao, L. Xi, J. Chelliah et al. // Circulation. – 2000. – Vol.102, №8. – P.902 – 907.

121. Inducible nitric oxide synthase modulates cyclooxygenase-2 activity in the heart of conscious rabbits during the late phase of ischemic preconditioning / K. Shinmura, Y.T. Xuan, X.L. Tang et al. // Circulation Research. – 2002. – Vol.90, №5. – P.602 – 608.

122. Influence of hypoxia on nitric oxide synthase activity and gene expression in children with congenital heart disease: a novel pathophysiological adaptive mechanism / C.R. Ferreiro, A.C.P. Chagas, M.H.C. Carvalho et al. // Circulation. – 2001. – Vol.103, №18. – P.2272 – 2276.

123. Inhaled nitric oxide augments nitric oxide transport on sickle cell hemoglobin without affecting oxygen affinity / M.T. Gladwin, A.N. Schechter, J.H. Shelhamer et al. // The Journal of clinical investigation. – 1999. – Vol.104, №7. – P.937– 945.

124. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening: a new paradigm for myocardial preconditioning? / D.J. Hausenloy, H.L. Maddock, G.F. Baxter, D.M. Yellon // Cardiovascular research. – 2002. – Vol.55, №3. – P.534 – 543.

125. Intracellular compartmentation of troponin T: release kinetics after global ischemia and calcium paradox in the isolated perfused rat heart / A. Remppis, T. Scheffold, J. Greten et al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1995. – Vol.27, №2. – P.793 – 803.

126. Intracoronary nitroprusside for the prevention of the no-reflow phenomenon after primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial / G. Amit, C. Cafri, S. Yaroslavtsev et al. // American heart journal. – 2006. – Vol.152, №5. – P.887. e9-887.

127. Intragastric nitric oxide is abolished in intubated patients and restored by nitrite / H. Björne, M. Govoni, D.C. Törnberg et al. Critical care medicine. – 2005. – Vol.33, №8. – P.1722 – 1727.

128. Intravascular flow decreases erythrocyte consumption of nitric oxide / J.C. Liao, T.W. Hein, M.W. Vaughn et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – Vol.96, №15. – P.8757 – 8761.

129. Ischemic preconditioning increases iNOS transcript levels in conscious rabbits via a nitric oxide-dependent mechanism / W.K. Jones, M.P. Flaherty, X.L. Tang et al. //Journal of molecular and cellular cardiology. – 1999. – Vol.31, №8. – P.1469 – 1481.

130. Ischemic preconditioning upregulates inducible nitric oxide synthase in cardiac myocyte / Y. Wang, Y. Guo, S.X. Zhang et al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2002. – Vol.34, №1. – P.5 – 15.

131. ISIS-4-A randomised factorial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58.050 patients with suspected acute myocardial-infarction / R. Collins, R. Peto, M. Flather et al. / Lancet. – 1995. – Vol. 345, №8951. – P.669 – 685.

132. Isoform-selective activation of protein kinase C by nitric oxide in the heart of conscious rabbits: a signaling mechanism for both nitric oxide-induced and ischemia-induced preconditioning / P. Ping, H. Takano, J. Zhang et al. // Circulation Research. – 1999. – Vol.84, №5. – P.587 – 604.

133. Jakob, S.M. Metabolic changes after cardiac surgery / S.M. Jakob, H. Ensinger, J. Takala // Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care. – 2001. – Vol.4, №2. – P.149 – 155.

134. Jones, S.P. Pretreatment with simvastatin attenuates myocardial dysfunction after ischemia and chronic reperfusion / S.P. Jones, S.D. Trocha, D.J. Lefer // Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2001. – Vol.21, №12. – P.2059 – 2064.
135. Kelly, R.A. Nitric oxide and cardiac function / R.A. Kelly, J.L. Balligand, T.W. Smith // Circulation research. – 1996. – Vol.79, №3. – P.363 – 380.
136. Keogh, B. Fifth national adult cardiac surgical database report 2003: improving outcomes for patients / B. Keogh, R. Kinsman // Dendrite Clinical Systems. – 2004.
137. Kloner, R.A. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications. Part 1. / R.A. Kloner, R.B. Jennings // Circulation: Journal of the American Heart Association. – 2001. – Vol.104, №24. – P.2981 – 2989.
138. Kodani, E. Role of cyclic guanosine monophosphate in nitric oxide-dependent late preconditioning in conscious rabbits / E. Kodani // Circulation. – 2000. – Vol.102. – P. II-270.
139. Koshland, D.E. Molecule of the year / D.E. Koshland // Science. – 1991. – Vol.254, №5039. – P., 1705 p.
140. Kositprapa, C. Bradykinin B2receptor is involved in the late phase of preconditioning in rabbit heart / C. Kositprapa, R.A. Ockaili, R.C. Kukreja // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2001. – Vol.33, №7. – P.1355 – 1362.
141. Kusuoka, H. Cellular mechanisms of myocardial stunning / H. Kusuoka, E. Marban // Annual review of physiology. – 1992. – Vol.54, №1. – P.243 – 256.
142. Late preconditioning against myocardial stunning. An endogenous protective mechanism that confers resistance to postischemic dysfunction 24 h after brief ischemia in conscious pigs / J.Z. Sun, X.L. Tang, A.A. Knowlton et al. // The Journal of clinical investigation. – 1995. – Vol.95, №1. – P.388 – 403.

143. Levosimendan preconditioning in patients undergoing elective cardiac surgery with poor ejection fraction. Preliminary results / R. Avalos, R. MartinezSanz, J. Jimenez et al. // Journal of cardiothoracic surgery. – 2015. – Vol.10, №1. – P.A310.
144. Levosimendan pre-treatment improves outcomes in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery / L. Tritapepe, V. De Santis, D. Vitale et al. // British journal of anaesthesia. – 2009. – Vol.102, №2. – P.198 – 204.
145. Litasova, E.E. The state of hormonal regulation during cardiac surgery in conditions of "dry" heart / E.E. Litasova, A.N. Malygina, I.I. Evnina // Anesteziologiya i reanimatologiya [Russian Journal of Anesthesiology and Reanimatology] . – 1994. – №2. – P..50 – 53. (in Russian)
146. Lobo, M. Take a deep (nitric oxide) breath and follow the reverse translational research pathway / M. Lobo, B. Ibanez // European heart journal. – 2018. – Vol.39, №29. – P.2726 – 2729.
147. Lohmann, S.M. Signal transduction by cGMP in heart / S.M. Lohmann, R. Fischmeister, U. Walter // Basic Research in Cardiology. – 1991. – Vol.86, №6. – P.503 – 514.
148. Long-term survival of patients with coronary artery disease and left ventricular dysfunction: implications for the role of myocardial viability assessment in management decisions / M.F. Di Carli, J. Maddahi, S. Rokhsar et al. // The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 1998. – Vol.116, №6. – P.997 –1004.
149. Loss of pacing-induced preconditioning in rat hearts: role of nitric oxide and cholesterol-enriched diet / P. Ferdinand, Z. Szilvassy, L.I. Horvath et al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1997. – Vol.29, №813 – P.3321 – 3333.
150. Lu, H.R. Does the antiarrhythmic effect of ischemic preconditioning in rats involve the L-arginine nitric oxide pathway? / H.R. Lu, P. Remeysen, F.C. De // Journal of cardiovascular pharmacology. – 1995. – Vol.25, №4. – P.524 – 530.

151. Mangano, D.T. Perioperative cardiac morbidity / D.T. Mangano // Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie. – 1994. – Vol.41. – P.R13 – R19.
152. Markou, N. Increased blood troponin levels in ICU patients / N. Markou, L. Gregorakos, P. Myrianthefs // Current opinion in critical care. – 2011. – Vol.17, №5. – P.454 – 463.
153. Massion, P.B. Modulation of cardiac contraction, relaxation and rate by the endothelial nitric oxide synthase (eNOS): lessons from genetically modified mice / P.B. Massion, J.L Balligand // The Journal of physiology. – 2003. – Vol.546, №1. – P.63 – 75.
154. Mechanisms of Nitrite Mediated Cardioprotection in Coronary Artery Bypass Surgery. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01098409 / R. Bonser et al. // University Hospital Birmingham NHS Foundation Trust. – 2010 [Электронный ресурс]. URL: <https://trialbulletin.com/lib/entry/ct-01098409> (дата обращения: 15.12.2018).
155. Mechanisms, prevention, and treatment of atrial fibrillation after cardiac surgery / N. Echahidi, P. Pibarot, G. O'Hara, P. Mathieu // Journal of the American College of Cardiology. – 2008. – Vol.51, №8. – P.793 – 801.
156. Mitochondria as targets for nitric oxide-induced protection during simulated ischemia and reoxygenation in isolated neonatal cardiomyocytes / R.D. Rakhit, M.H. Mojet, M.S. Marber, M.R. Duchen // Circulation. – 2001. – Vol.103, №21. – P.2617 – 2623.
157. Mitochondrial calcium and the permeability transition in cell death / J.J. Lemasters, T.P. Theruvath, Z. Zhong, A.L. Nieminen // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. – 2009. – Vol.1787, №11. – P.1395 – 1401.
158. Modifications of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase induced by increasing concentrations of peroxynitrite: early recognition by 20S proteasome / D.P. Buchczyk, T. Grune, H. Sies, L.O. Klotz // Biological chemistry. – 2003. – Vol.384, №2. – P.237 – 241.

159. Møller, M.H. Venous-to-arterial carbon dioxide difference: an experimental model or a bedside clinical tool? / M.H. Møller, M. Cecconi // Intensive care medicine. – 2016. – Vol.42, №2. – P.287 – 289.
160. Moncada, S. Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? / S. Moncada, J.D. Erusalimsky // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2002. – Vol.3, №4. – P.214.
161. Moncada, S. Endothelium-derived relaxing factor is identified as nitric oxide / S. Moncada, A.G. Herman, P. Vanhoutte // Trends in Pharmacological Sciences. – 1987. – Vol.8, №10. – P.365 – 368.
162. Murad, F. Guanylate cyclase: activation by azide, nitro compounds, nitric oxide, and hydroxyl radical and inhibition by hemoglobin and myoglobin / F. Murad // Advances in cyclic nucleotide research. – 1978. – Vol.9. – P.145 – 158.
163. Myocardial and coronary endothelial protective effects of acetylcholine after myocardial ischaemia and reperfusion in rats: role of nitric oxide / V. Richard, T. Blanc, N. Kaeffer et al. // British journal of pharmacology. – 1995. – Vol. 115, №8. – P.1532 – 1538.
164. Myocardial angiotensin II receptor expression and ischemia-reperfusion injury / B. Yang, D. Li, M.I. Phillips, Mehta P et al. // Vascular Medicine. – 1998. – Vol.3, №2. – P.121 – 130.
165. Myocardial contractile dysfunction in the systematic inflammatory response syndrome: role of a cytokine-inducible nitric oxide synthase in cardiac myocytes / D. Ungureanu-Longrois, J.L. Balligand, R.A. Kelly, T.W. Smith // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1995. – Vol.27, №1. – P.155 – 167.
166. Myocardial infarction redefined – a consensus document of the Joint European Society of Cardiology , American College of Cardiology committee for the redefinition of myocardial infarction: the Joint European Society of Cardiology, American College of Cardiology Committee / E. Antman, J.P. Bassand, W. Klein et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2000. – Vol.36, №3. – P.959-969.

167. Myocardial ischemia-reperfusion injury is exacerbated in absence of endothelial cell nitric oxide synthase / S.P. Jones, W.G. Girod, A.J. Palazzo et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 1999. – Vol.276, №5. – P.H1567 – H1573.
168. Myocardial reperfusion injury: etiology, mechanisms, and therapies / J.W. Hoffman, T.B. Gilbert, R.S. Poston, E.P. Silldorff // The Journal of The American Society of Extra-Corporeal Technology. – 2004. – Vol.36, №4. – P.391 – 411.
169. Nair, S.G. Atrial fibrillation after cardiac surgery / S.G. Nair // Annals of cardiac anesthesia. – 2010. – Vol.13, №3. – P.196.
170. Nathan, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells / C. Nathan // The FASEB journal. – 1992. – Vol.6, №12. – P.3051 – 3064.
171. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases / A.H. Wu, F.S. Apple, W.B. Gibler et al. // Clinical chemistry. – 1999. – Vol.45, №7. – P.1104 – 1121.
172. Nationwide survey on acute heart failure in cardiology ward services in Italy / L. Tavazzi , A.P. Maggioni, D. Lucci et al. // European heart journal. – 2006. – Vol.27, №10. – P.1207 – 1215.
173. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide / M.S. Finkel, C.V. Oddis, T.D. Jacob et al. // Science. – 1992. – Vol.257, №5068. – P.387 – 389.
174. New-onset atrial fibrillation after cardiac surgery: pathophysiology, prophylaxis, and treatment / V.V. Lomivorotov, S.M. Efremov, E.A. Pokushalov, A.M. Karaskov // Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2016. – Vol.30, №1. – P.200 – 216.
175. New-onset atrial fibrillation predicts long-term mortality after coronary artery bypass graft / M.F. El-Chami, P. Kilgo, V. Thourani et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2010. – Vol.55, №13. – P.1370 – 1376.

176. Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3': 5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations / W.P. Arnold, C.K. Mittal, S. Katsuki, F. Murad // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1977. – Vol.74, №8. – P.3203 – 3207.

177. Nitric oxide administration during paediatric cardiopulmonary bypass: a randomised controlled trial / C. James, J. Millar, S. Horton // Intensive care medicine. – 2016. – Vol.42, №11. – P.1744 – 1752.

178. Nitric oxide attenuates cardiac myocyte contraction / A.J. Brady, J.B. Warren, P.A. Poole-Wilson et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 1993. – Vol.265, №1. – P.H176 – H182.

179. Nitric oxide attenuates neutrophil-mediated myocardial contractile dysfunction after ischemia and reperfusion / R. Pabla, A.J. Buda, D.M. Flynn et al. // Circulation research. – 1996. – Vol.78, №1. – P.65 – 72.

180. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines / R. De Caterina, P. Libby, H.B. Peng // The Journal of clinical investigation. – 1995. – Vol.96, №1. – P.60 – 68.

181. Nitric oxide delivery during cardiopulmonary bypass reduces postoperative morbidity in children – a randomized trial / P.A. Checchia, R.A. Bronicki, J.T. Muenzer et al. //The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2013. – Vol.146, №3. – P.530 – 536.

182. Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial infarction in mice / Y. Guo, W. Bao, X.L. Tang X. et al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1999. – Vol.31. – P.A11.

183. Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial stunning and infarction in conscious rabbits via an antioxidant-sensitive mechanism / H. Takano, X.L. Tang, Y. Qiu et al. // Circulation research. – 1998. – Vol.83, №1. – P.73 – 84.

184. Nitric oxide donors protect murine myocardium against infarction via modulation of mitochondrial permeability transition / G. Wang, D.A. Liem, T.M. Vondriska et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2005. – Vol. 288, №3. – P.H1290 – H1295.

185. Nitric oxide for inhalation in ST-elevation myocardial infarction (NOMI): a multicentre, double-blind, randomized controlled trial / S.P. Janssens, J. Bogaert, J. Zalewski et al. // European heart journal. – 2018. – Vol.39, №29. – P.2717 – 2725.

186. Nitric oxide in the oxygenator sweep gas reduces platelet activation during experimental perfusion / K. Mellgren, L.G. Friberg, G. Mellgren et al. // The Annals of thoracic surgery. – 1996. – Vol.61, №4. – P.1194 – 1198.

187. Nitric oxide inhibits neutrophil adhesion during experimental extracorporeal circulation / M. Chello, P. Mastroroberto, A.R. Marchese et al. // Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists. – 1998. – Vol.89, №2. – P.443-448.

188. Nitric oxide partitioning into mitochondrial membranes and the control of respiration at cytochrome c oxidase / S. Shiva, P.S. Brookes, R.P. Patel // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2001. – Vol.98, №13. – P.7212 – 7217.

189. Nitric oxide prevents mitochondrial permeability transition during ischemia-reperfusion: implications for the cardioprotective effects of late preconditioning / M.B. West, G. Rokosh, D. Clark et al. // Circulation. – 2004. – Vol.110, №17. – P.236.

190. Nitric oxide production and intensity of free radical processes in young men with high normal and hypertensive blood pressure / N.P. Lyamina, P.V. Dolotovskaya, N.V. Lyamina et al. Medical Science Monitor. – 2003. – Vol.9, №7. – P.CR304 – CR310.

191. Nitric oxide regulates the heart by spatial confinement of nitric oxide synthase isoforms / L.A. Barouch, R.W. Harrison, M.W. Skaf et al. // *Nature*. – 2002. – Vol.16, №6878. – P.337 – 339.
192. Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives / H. Rubbo, R. Radi, M. Trujillo et al. // *Journal of Biological Chemistry*. – 1994. – Vol.269, №42. – P.26066 – 26075.
193. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor / R.M.J. Palmer, A.G. Ferrige, S. Moncada et al. // *Nature*. – 1987. – Vol.327. – P.524 – 526.
194. Nitric oxide synthase is the mediator of late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits / H. Takano, S. Manchikalapudi, X.L. Tang et al. // *Circulation*. – 1998. – Vol.98, №5. – P.441 – 449.
195. Nitric oxide triggers late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits / Y. Qiu, A. Rizvi, X.L. Tang et al. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 1997. – Vol.273, №6. – P.H2931 – H2936.
196. Nitric oxide/carbon monoxide. A molecular switch for myocardial preservation during ischemia / N. Maulik, D.T. Engelman, M. Watanabe et al. // *Circulation*. – 1996. – Vol.94, №9. Suppl. – P.II398 – I406.
197. Nitric oxide: a trigger for classic preconditioning? / A. Lochner, E. Marais, S. Genade, J.A. Moolman // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2000. – Vol.279, №6. – P.H2752 – H2765.
198. Nitric oxide-dependent parasympathetic signaling is due to activation of constitutive endothelial (type III) nitric oxide synthase in cardiac myocytes / J.L. Balligand, L. Kobzik, X. Han et al. // *Journal of Biological Chemistry*. – 1995. – Vol.270, №3. – P.14582 – 14586.

199. Nitroglycerin induces late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits despite development of nitrate tolerance / M. Hill, H. Takano, X.L. Tang et al. // Circulation. – 2001. – Vol.104, №6. – P.694 – 699.
200. Nitroglycerin induces late preconditioning against myocardial stunning via a PKC-dependent pathway / S. Banerjee, X-L. Tang, Y. Qiu et al. // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 1999. – Vol.277, №6. – P.H2488 – H2494.
201. Nuclear factor- $\kappa$ B plays an essential role in the late phase of ischemic preconditioning in conscious rabbits / Y.T. Xuan, X.L. Tang, S. Banerjee et al. // Circulation research. – 1999. – Vol.84, №9. – P.1095 – 1109.
202. O’Neal, J.B. Acute kidney injury following cardiac surgery: current understanding and future directions / J.B. O’Neal, A.D. Shaw, F.T. Billings // Critical Care. – 2016. – Vol.20, №1. – P.187.
203. On the mechanism of inhibition of cytochrome c oxidase by nitric oxide / A. Giuffrè, P. Sarti, E. D’Itri et al. // Journal of Biological Chemistry. – 1996. – Vol.271, №52. – P.33404 – 33408.
204. Perioperative dexmedetomidine improves outcomes of cardiac surgery / F. Ji, Z. Li, H. Nguyen et al. // Circulation. – 2013. – Vol.127, №15. – P.1576 – 1584.
205. Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart / L.M. Villa, E. Salas, V.M. Darley-Usmar et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1994. – Vol.91, №26. – P.12383 – 12387.
206. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide / R. Radi, J.S. Beckman, K.M. Bush, B.A. Freeman // Archives of biochemistry and biophysics. – 1991. – Vol.288, №2. – P.481 – 487.
207. Pharmacological preconditioning (PC) with adenosine A (1) and opioid delta (1) receptor agonists is iNOS-dependent / Y.R. Guo, W.K. Bao, X.L. Tang et al. // Circulation. – 2000. – Vol.102, №18. – P.121.

208. Pharmacological preconditioning with inhaled nitric oxide (NO): Organ-specific differences in the lifetime of blood and tissue NO metabolites / Y. Nagasaka, B.O. Fernandez, A.U. Steinbicker et al. // Nitric Oxide. – 2018. – Vol.80. – P.52-60.

209. Pharmacologically dosed oral glutamine reduces myocardial injury in patients undergoing cardiac surgery: a randomized pilot feasibility trial / A. Sufit, L.B. Weitzel, C. Hamiel et al. // Journal of Parenteral and Enteral Nutrition. – 2012. – Vol.36, №5. – P.556 – 561.

210. Phosphodiesterase 5 restricts NOS3/soluble guanylate cyclase signaling to L-type Ca 2+ current in cardiac myocytes / H. Wang, M.J. Kohr, C.J. Traynham, M.T. Ziolo // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2009. – Vol.47, №2. – P.304 – 314.

211. Phosphodiesterase-5 inhibition with sildenafil attenuates cardiomyocyte apoptosis and left ventricular dysfunction in a chronic model of doxorubicin cardiotoxicity / P.W. Fisher, F. Salloum, A. Das et al. // Circulation. – 2005. – Vol.111, №13. – P.1601 – 1610.

212. Phosphorylation and regulation of G-protein-activated phospholipase C- $\beta$ 3 by cGMP-dependent protein kinases / C. Xia, Z. Bao, C. Yue C et al. // Journal of Biological Chemistry. – 2001. – Vol.276, №23. – P.19770 – 19777.

213. Piper, H.M. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury / H.M. Piper, K. Meuter, C. Schäfer // The Annals of thoracic surgery. – 2003. – Vol.75, №2. – P.S644 – S648.

214. Plasma nitroso compounds are decreased in patients with endothelial dysfunction / C. Heiss, T. Lauer, A. Dejam et al. // Journal of the American College of Cardiology. – 2006. – Vol.47, №3. – P.573 – 579.

215. Point-of-care testing of cardiac markers: results from an experience in an emergency department / S. Altinier, M. Zaninotto, M. Mion et al. // Clinica chimica acta. – 2001. – Vol.311, №1. – P.67 – 72.

216. Postconditioning: a form of “modified reperfusion” protects the myocardium by activating the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt pathway / A. Tsang,

D.J. Hausenloy, M.M. Mocanu, D.M. Yellon // *Circulation research.* – 2004. – Vol.95, №3. – P.230 – 232.

217. Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation / X.M. Yang, S. Philipp, J.M. Downey, M.V. Cohen // *Basic research in cardiology.* – 2005. – Vol.100, №1. – P.57 – 63.

218. Prognostic implications of normal (< 0.10 ng/ml) and borderline (0.10 to 1.49 ng/ml) troponin elevation levels in critically ill patients without acute coronary syndrome / R. Stein, B. Gupta, S. Agarwal et al. // *The American journal of cardiology.* – 2008. – Vol.102, №5. – P.509 – 512.

219. Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress in patients with aortic stenosis undergoing valve replacement / B. R. Lindman, J.G. Breyley, J.D. Schilling et al. // *Heart.* – 2015. – Vol.101, №17. – P.1382 – 1388.

220. Prognostic value of coronary revascularisation related myocardial injury: a cardiac magnetic resonance imaging study / K. Rahimi, A.P. Banning, A.S. Cheng // *Heart.* – 2009. – Vol.95. – P.1937 – 1943.

221. Protective effect of esmolol on myocardial ischemic injury during open heart surgery in children / P. Gui, Q. Wu, J. Wu, S. Yao et al. // *Pediatric Anesthesia.* – 2003. – Vol.23, №3. – P.217 – 221.

222. Protein Kinase C  $\epsilon$ -Src Modules Direct Signal Transduction in Nitric Oxide-Induced Cardioprotection: Complex Formation as a Means for Cardioprotective Signaling / T.M. Vondriska, J. Zhang, C. Song et al. // *Circulation research.* – 2001. – Vol.88, №12. – P.1306 – 1313.

223. Protein tyrosine kinase signaling is necessary for NO donor-induced late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits / X.L. Tang, E. Kodani, H. Takano et al. // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* – 2001. – Vol.33, №6. – P.A120.

224. Radi, R. Peroxynitrite, a stealthy biological oxidant / R. Radi // *The Journal of biological chemistry.* – 2013. – Vol.288, №37. – P.26464 – 26472.

225. Randomized trial of atorvastatin for reduction of postoperative atrial fibrillation in patients undergoing cardiac surgery: results of the ARMYDA-3 (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Dysrhythmia After cardiac surgery) study / G. Patti, M. Chello, D. Candura et al. // Circulation. – 2006. – Vol.114, №14. – P.1455 – 1461.
226. Ratnam, S. The regulation of superoxide generation and nitric oxide synthesis by C-reactive protein / S. Ratnam, S. Mookerjea // Immunology. – 1998. – Vol.94, №4. – P.560 – 568.
227. Reducing mortality in cardiac surgery with levosimendan: a meta-analysis of randomized controlled trials / G. Landoni, A. Mizzi, G. Biondi-Zocca et al. // Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2010. – Vol.24, №1. – P.51 – 57.
228. Reduction of platelet trapping in membrane oxygenators by transmembraneous application of gaseous nitric oxide / D. Keh, M. Gerlach, I. Kürer et al. // The International journal of artificial organs. – 1996. – Vol.19, №5. – P.291 – 293.
229. Reffelmann, T. Effects of sildenafil on myocardial infarct size, microvascular function, and acute ischemic left ventricular dilation / T. Reffelmann, R.A. Kloner // Cardiovascular research. – 2003. – Vol.59, №2. – P.441 – 449.
230. Regional Distribution of [beta]-Adrenoceptors in the Human Heart: Coexistence of Functional [beta] 1 and [beta] 2-Adrenoceptors in Both Atria and Ventricles in Severe Congestive Cardiomyopathy / O.E. Brodde, S. Schüler, R. Kretsch et al. // Journal of cardiovascular pharmacology. – 1986. – Vol.8, №6. – P.1235 – 1242.
231. Relationship between postoperative cardiac troponin I levels and outcome of cardiac surgery / B.L. Croal, G.S. Hillis, P.H. Gibson et al. // Circulation. – 2006. – Vol.114, №14. – P.1468 – 1475.
232. Relaxation of bovine coronary artery and activation of coronary arterial guanylate cyclase by nitric oxide, nitroprusside and a carcinogenic nitrosoamine /

C.A. Gruetter, B.K. Barry, D.B. McNamara et al. // Journal of cyclic nucleotide research. – 1979. – Vol.5, №3. – P.211 – 224.

233. Remote ischemic preconditioning and outcomes of cardiac surgery / D.J. Hausenloy, L. Candilio, R. Evans et al. // New England Journal of Medicine. – 2015. – Vol.373, №15. – P.1408 – 1417.

234. Repeated cardiac pacing extends the time during which canine hearts are protected against ischaemia-induced arrhythmias: role of nitric oxide / A. Kis, A. Végh, J.P. Papp, J.R. Parratt // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1999. – Vol.31, №6. – P.1229 – 1241.

235. Right ventricular dysfunction in low output syndrome after cardiac operations: assessment by transesophageal echocardiography / V.G. Dávila-Román, A.D. Waggoner, W.E. Hopkins, B. Barzilai // The Annals of thoracic surgery. – 1995. – Vol. 60, №4. – P.1081 – 1086.

236. RIP Heart Study Collaborators. A multicenter trial of remote ischemic preconditioning for heart surgery / P. Meybohm, B. Bein, O. Brosteanu et al. // The New England Journal of Medicine. – 2015. – Vol.373. – P.1397 – 1407.

237. Risk factors of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery / J. Auer, T. Weber, R. Berent et al. // Journal of cardiac surgery. – 2005. – Vol.20, №5. – P.425-431.

238. Role of cardiac biomarkers (troponin I and CK-MB) as predictors of quality of life and long-term outcome after cardiac surgery / E. Bignami, G. Landoni, G. Crescenzi et al. // Annals of cardiac anaesthesia. – 2009. – Vol.12, №1. – P.22.

239. Role of endothelium-derived nitric oxide in the modulation of canine myocardial mitochondrial respiration in vitro: implications for the development of heart failure / Y.W. Xie, W. Shen, G. Zhao et al. // Circulation Research. – 1996. –, Vol.79, №3. – P.381 – 387.

240. Role of inducible nitric oxide synthase in pharmacological “preconditioning” with monophosphoryl lipid A / L. Zhao, P.A. Weber, J.R. Smith et

al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 1997. – Vol.29, №6. – P.1567 – 1576.

241. Role of nitric oxide in the regulation of oxygen consumption in conscious dogs / W. Shen, X. Xu, M. Ochoa et al. // Circulation research. – 1994. – Vol.75, №6. – P.1086 – 1095.

242. Royster, R.L. Cardiovascular pharmacology / R.L. Royster, L. Groban, D.W. Grosshans // Kaplan's Cardiac Anesthesia: The echo era. 6<sup>th</sup> ed. St Louis: Saunders. – 2011. – P.235 – 295.

243. Schopfer, F.J. NO-dependent protein nitration: a cell signaling event or an oxidative inflammatory response? / F.J. Schopfer, P.R.S. Baker, B.A. Freeman // Trends in biochemical sciences. – 2003. – Vol.28, №12. – P.646 – 654.

244. Schulz, R. Induction and potential biological relevance of a Ca<sup>2+</sup> independent nitric oxide synthase in the myocardium / R. Schulz, E. Nava, S. Moncada // British journal of pharmacology. – 1992. – Vol.105, №3. – P.575 – 580.

245. Shah, A.M. Modulation of myocardial contraction by endocardial and coronary vascular endothelium / A.M. Shah, M.J. Lewis // Trends in cardiovascular medicine. – 1993. – Vol.3, №3. – P.98 – 103.

246. Shen, W. Nitric oxide: an important signaling mechanism between vascular endothelium and parenchymal cells in the regulation of oxygen consumption / W. Shen, T.H. Hintze, M.S. Wolin // Circulation. – 1995. – Vol.92, №12. – P.3505 – 3512.

247. Signaling processes for initiating smooth muscle contraction upon neural stimulation / L. H.Ding, J.W. Ryder, J.T. Stull, K.E. Kamm K // Journal of Biological Chemistry. – 2009. – Vol.284, №23. – P.15541 – 15548.

248. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial KATP channels in rabbits / R. Ockaili, F Salloum, J. Hawkins, R.C. Kukreja // American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2002. – Vol.283, №3. – P.H1263 – H1269.

249. Sildenafil induces delayed preconditioning through inducible nitric oxide synthase-dependent pathway in mouse heart / F. Salloum, C. Yin, L. Xi, R.C. Kukreja // *Circulation Research.* – 2003. – Vol.92, №6. – P.595 – 597.
250. Sladen, R.N. Pharmacotherapy of the failing heart / R.N. Sladen // *ANESTHESIA AND ANALGESIA.* – 2006. – P.117 – 122.
251. Stable coronary artery disease: revascularisation and invasive strategies / R. Piccolo, G. Giustino, R. Mehran, S. Windecker // *The Lancet.* – 2015. – Vol.386, №9994. – P.702 – 713.
252. Supplemental nitric oxide and its effect on myocardial injury and function in patients undergoing cardiac surgery with extracorporeal circulation / J. Gianetti, P. Del Sarto, S. Bevilacqua et al. // *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery.* – 2004. – Vol.127, №1. – P.44 – 50.
253. Symons, J.A. Myocardial protection with volatile anaesthetic agents during coronary artery bypass surgery: a meta-analysis / J.A. Symons, P.S. Myles // *British Journal of Anaesthesia.* – 2006. – Vol.97, №2. – P.127 – 136.
254. Takano, H. Differential role of KATP channels in late preconditioning against myocardial stunning and infarction in rabbits / H. Takano, X.L. Tang, R. Bolli // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* – 2000. – Vol.279, №5. – P.H2350 – H2359.
255. Targeted disruption of the iNOS gene abrogates NO donor-induced late preconditioning / Y. Guo, W.K. Jones, W.K. Bao et al. // *Circulation.* – 1999. – Vol.100, №18. – P.562 – 562.
256. Taylor, C.T. Nitric oxide, cytochrome C oxidase, and the cellular response to hypoxia / C.T. Taylor, S. Moncada // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.* – 2010. – Vol.30, №4. – P.643 – 647.
257. The effect of inotropes and vasopressors on mortality: a meta-analysis of randomized clinical trials / A. Belletti, M.L. Castro, S. Silvetti et al. // *British Journal of Anaesthesia.* – 2015. – Vol.115, №5. – P.656 – 675.

258. The influence of perioperative dexmedetomidine on patients undergoing cardiac surgery: a meta-analysis / J. Geng J, J. Qian, H. Cheng et al. // PLoS One. – 2016. – Vol.11, №4. – P.e0152829

259. The late phase of ischemic preconditioning is abrogated by targeted disruption of the inducible NO synthase gene / Y. Guo, W.K. Jones, Y.T. Xuan et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 1999. – Vol.96, №20. – P.11507 – 11512.

260. The NHLBI-Sponsored Consortium for preclinical assessment of cardioprotective Therapies (CAESAR) A New Paradigm for Rigorous, Accurate, and Reproducible Evaluation of Putative Infarct-Sparing Interventions in Mice, Rabbits, and Pigs / S.P. Jones, X.L. Tang, Y. Guo et al. // Circulation research. – 2015. – Vol.116, №4. – P.572 – 586.

261. The nitric oxide hypothesis of late preconditioning / R. Bolli, B. Dawn, X.L. Tang et al. // Basic research in cardiology. – 1998. – Vol.93, №5. – P.325 – 338.

262. The novel glycolipid RC-552 attenuates myocardial stunning and reduces infarct size in dogs / G.T. Elliott, C.G. Sowell, E.B. Walker et al. // Journal of molecular and cellular cardiology. – 2000. – Vol.32, №7. – P.1327 – 1339.

263. The prognostic value of troponin release after adult cardiac surgery—a meta-analysis / G.A. Lurati Buse, M.T. Koller, M. Grapow et al. // European journal of cardio-thoracic surgery. – 2010. – Vol.37, №2. – P.399 – 406.

264. The protective effect of late preconditioning against myocardial stunning in conscious rabbits is mediated by nitric oxide synthase: evidence that nitric oxide acts both as a trigger and as a mediator of the late phase of ischemic preconditioning / R. Bolli, S. Manchikalapudi, X.L. Tang et al. // Circulation research. – 1997. – Vol.81, №6. – P.1094 – 1107.

265. The relationship between inotrope exposure, six-hour postoperative physiological variables, hospital mortality and renal dysfunction in patients

undergoing cardiac surgery / J. Shahin, B. Devarennes, C.W. Tse et al. // Critical Care. – 2011. – Vol.15, №4. – P.R162.

266. The role of L-arginine in ameliorating reperfusion injury after myocardial ischemia in the cat / A.S. Weyrich, X.L. Ma, A.M. Lefer // Circulation. – 1992. – Vol. 86, №1. – P.279 – 288.

267. The role of NO in ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart / E. Andelova, M. Bartekova, D. Pancza et al. // General physiology and biophysics. – 2005. – Vol. 24, №4. – P.411 – 426.

268. Toda, N. Nitric OxideInvolvement in the Effects of Anesthetic Agents / N. Toda, H. Toda, Y. Hatano // Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists. – 2007. – Vol.107, №5. – P.822 – 842.

269. Toledo Jr, J.C. Connecting the chemical and biological properties of nitric oxide / J.C. Toledo Jr, O. Augusto // Chemical research in toxicology. – 2012. – Vol.25, №5. – P.975 – 989.

270. Troponin levels in patients with myocardial infarction after coronary artery bypass grafting / M. Carrier, M. Pellerin, L.P. Perrault et al. // The Annals of thoracic surgery. – 2000. – Vol.69, №2. – P.435 – 440.

271. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors / U. Laufs, V. La Fata, J. Plutzky, J.K. Liao // Circulation. – 1998. – Vol. 97, №12. – P.1129 – 1135.

272. Utility of cardiac biomarkers for the diagnosis of type V myocardial infarction after coronary artery bypass grafting: insights from serial cardiac MRI / T.J. Pegg, Z. Maunsell, T.D. Karamitsos et al. // Heart. – 2011. – Vol.97, №23. – P.810 – 816.

273. Validation of the Kidney Disease Improving Global Outcomes criteria for AKI and comparison of three criteria in hospitalized patients / T. Fujii, S. Uchino, M. Takinami, R. Bellomo // Clinical Journal of the American Society of Nephrology. – 2014. – Vol.9, №5. – P.848 – 854.

274. van Geene, Y. Cardiac troponin I levels after cardiac surgery as predictor for in-hospital mortality / Y. van Geene, H.A. van Swieten, L. Noyez // Interactive cardiovascular and thoracic surgery. – 2010. – Vol.10, №3. – P.413 – 416.
275. Vasoactive-inotropic score as a predictor of morbidity and mortality in adults after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass / Y. Yamazaki, K. Oba, Y. Matsui, Y. Morimoto // Journal of anesthesia. – 2018. – Vol.32, №2. – P.167 – 173.
276. Ventricular assist devices for postcardiotomy cardiogenic shock. A combined registry experience / J.W.E. Pae, C.A. Miller, Y. Matthews Y, W.S. Pierce // The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 1992. – Vol.104, №3. – P.541 – 553.
277. Vincent, J.L. Circulatory shock / J.L. Vincent, D. De. Backer // New England Journal of Medicine. – 2013. – Vol.369. – P.1726 – 1734.
278. Watanabe, A.M. Interaction between cyclic adenosine monophosphate and cyclic guanosine monophosphate in guinea pig ventricular myocardium / A.M. Watanabe, Jr H.R. Besch // Circulation Research. – 1975. – Vol.37, №3. – P.309 – 317.
279. Wijeysundera, D.N. Alpha-2 adrenergic agonists to prevent perioperative cardiovascular complications:: A meta-analysis / D.N. Wijeysundera, J.S. Naik, W.S. Beattie // The American journal of medicine. – 2003. – Vol.114, №9. – P.742 – 752.
280. Yao, Z. Role of nitric oxide, muscarinic receptors, and the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel in mediating the effects of acetylcholine to mimic preconditioning in dogs / Z. Yao, G.J. Gross // Circulation research. – 1993. – Vol.73, №6. – P.1193 – 1201.
281. Yellon, D.M. Protecting the ischaemic and reperfused myocardium in acute myocardial infarction: distant dream or near reality? / D.M. Yellon, G.F. Baxter // Heart. – 2000. – Vol.83, №4. – P.381 – 387.
282. Yu, C.H. The effects of volatile anesthetics on cardiac ischemic complications and mortality in CABG: a meta-analysis / C.H. Yu, W.C. Beattie // Canadian Journal of Anesthesia. – 2006. – Vol.53, №9. – P.906.

283. Ziolo, M.T. The real estate of NOS signaling: location, location, location / M.T. Ziolo, D.M. Bers // Circulation Research. – 2003. – Vol.92, №12. – P.1279 – 1281.