

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ТОМСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»
(ТОМСКИЙ НИМЦ)

На правах рукописи

КАМЕНЩИКОВ НИКОЛАЙ ОЛЕГОВИЧ

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НЕФРОПРОТЕКЦИИ
ОКСИДОМ АЗОТА В КАРДИОХИРУРГИИ**

3.1.12 — Анестезиология и реаниматология (медицинские науки)

Диссертация
на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
Подоксёнов Юрий Кириллович

Томск - 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОКСИД АЗОТА И ОСТРОЕ ПОЧЕЧНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	20
1.1 Острое почечное повреждение в кардиохирургии	20
1.1.1 Острое почечное повреждение: определение	20
1.1.2 Эпидемиология КХ-ОПП: распространенность и влияние на исходы.....	22
1.1.3 Социально-экономическое значение КХ-ОПП	24
1.1.4 Патофизиология КХ-ОПП.....	25
1.2 Стратегии предотвращения ОПП в кардиохирургии	29
1.2.1 Превентивные стратегии: фармакологические агенты	29
1.2.2 Превентивные стратегии: немедикаментозные вмешательства.....	34
1.3 Предиктивная диагностика острого почечного повреждения в кардиохирургии	41
1.3.1 Идентификация пациентов высокого риска кардиохирургических вмешательств	41
1.3.2 Стратификация факторов риска КХ-ОПП.....	46
1.3.3 Хроническая болезнь почек как фактор риска в кардиохирургии.....	48
1.4 Оксид азота в кардиохирургии	49
1.4.1 Общебиологическое значение оксида азота.....	49
1.4.2 Фармакологические свойства оксида азота.....	52
1.4.3 Текущая парадигма клинического применения оксида азота в кардиохирургии	53
1.4.4 Механизмы органопротективных эффектов оксида азота.....	56
1.4.5 Оксид азота и прекондиционирование почек.....	62
1.4.6 Доставка оксида азота в оксигенаторы аппаратов искусственного кровообращения: текущая экспериментальная база.....	64
1.4.7 Органопротекция оксидом азота в кардиохирургии: текущие клинические	

данные.....	67
1.4.8 Оксид азота и хроническая болезнь почек	73
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	77
2.1 Клиническое исследование №1 (проверка первичной гипотезы).....	77
2.1.1 Характеристика пациентов.....	79
2.1.2 Методики подготовки к оперативному вмешательству, анестезиологического обеспечения, проведения искусственного кровообращения, кардиоплегической защиты миокарда и послеоперационная терапия в отделении реанимации	81
2.1.3 Методика доставки оксида азота	84
2.1.4 Методы исследования.....	85
2.2 Экспериментальное исследование	89
2.2.1 Последовательность событий и методология исследования.....	89
2.2.2 Дизайн экспериментального исследования и рандомизация	90
2.2.3 Характеристика лабораторных животных.....	91
2.2.4 Методика анестезии и искусственного кровообращения	93
2.2.5 Определение понятия кондиционирования оксидом азота, описание методики и контроль безопасности.....	100
2.2.6 Методы экспериментального исследования.....	103
2.3 Клиническое исследование №2	115
2.3.1 Рандомизация.....	117
2.3.2 Характеристика пациентов.....	120
2.3.3 Методики подготовки к оперативному вмешательству, анестезиологического обеспечения, проведения искусственного кровообращения, кардиоплегической защиты миокарда и послеоперационная терапия в отделении реанимации и интенсивной терапии	123
2.3.4 Кондиционирование оксидом азота. Обоснование режима дозирования	126
2.3.5 Описание технологии плазмохимического синтеза оксида азота.....	129

2.3.6 Описание процедуры доставки оксида азота	130
2.3.7 Краткое описание известных и потенциальных рисков и пользы периоперационной терапии оксидом азота	133
2.3.8 Методы исследования.....	134
2.3.9 Планируемое количество участников исследования.....	136
2.4 Методы статистического анализа.....	138
ГЛАВА 3. ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	141
3.1 Клиническое исследование №1	141
3.1.1 Влияние доставки оксида азота на частоту ОПП и выраженность субклинического ОПП у кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений	141
3.1.2 Влияние доставки оксида азота на периоперационный уровень свободного гемоглобина и плазменную концентрацию метаболитов NO у кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений..	144
3.1.3 Влияние доставки оксида азота на цитокиновый профиль кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений..	149
3.1.4 Влияние доставки оксида азота на гемодинамический профиль кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений..	153
3.1.5 Показатели безопасности доставки NO	155
3.1.6 Влияние доставки оксида азота на осложнения и клинические исходы	157
3.2 Экспериментальное исследование	159
3.2.1 Влияние кондиционирования оксидом азота на основные параметры гомеостаза, маркеры ОПП и метаболиты NO	159
3.2.2 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на показатели адекватности искусственного кровообращения.....	166
3.2.3 Безопасность кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm	170
3.2.4 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на выраженность морфологических изменений в биоптатах почечной паренхимы	171

3.2.5 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на тяжесть митохондриальной дисфункции: митохондриальное повреждение и состояние митохондриального дыхания	174
3.2.6 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на выраженность процессов регулируемой клеточной гибели в паренхиме почек..	181
3.2.7 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на показатели коэффициентов микровязкости и полярности мембран эритроцитов по данным исследования цельной крови экспериментальных животных	187
3.3 Клиническое исследование №2	193
3.3.1 Влияние периоперационного кондиционирования оксидом азота на частоту ОПП у кардиохирургических пациентов с исходно высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек	194
3.3.2 Влияние периоперационного кондиционирования оксидом азота на обмен оксида азота, определяемый по уровню NO в выдыхаемом пациентом воздухе.	195
3.3.3 Влияние периоперационного кондиционирования оксидом азота на послеоперационные осложнения и клинические исходы у пациентов с ХБП после кардиохирургических вмешательств.....	198
3.3.4 Безопасность периоперационного кондиционирования оксидом азота у кардиохирургических пациентов с ХБП.....	201
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	202
ВЫВОДЫ	232
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	235
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	236
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	238

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Ассоциированное с кардиохирургическим вмешательством острое почечное повреждение (КХ-ОПП) является распространенным и серьезным осложнением в кардиохирургии и закономерно ведет к увеличению общей заболеваемости и смертности в этой популяции пациентов [299]. Краткосрочные эффекты, связанные со снижением почечной функции, включают нарушения кислотно-основного и электролитного гомеостаза, уремию и ее последствия, а также перегрузку объемом из-за задержки соли и воды, что резко ухудшает краткосрочные результаты кардиохирургических вмешательств. Развитие острого почечного повреждения (ОПП) у пациентов в послеоперационном периоде приводит к росту частоты инфекционных осложнений, увеличению продолжительности госпитализации и пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии, росту частоты повторных госпитализаций и увеличению 30 и 90-дневной смертности [42, 113]. Отдаленные исходы ОПП демонстрируют увеличение рисков развития острого заболевания почек, частоты развития хронической болезни почек (ХБП), риска отторжения трансплантата, развития диализ-зависимой ХБП и смертности вне зависимости от того, восстановилась ли почечная функция после выписки из стационара [153, 203]. У пациентов, перенесших ОПП после кардиохирургических операций, отмечается повышенная частота сердечно-сосудистых (инфаркты) и цереброваскулярных (инсульты) осложнений [104, 303]. По экспертным оценкам эпизод ОПП в послеоперационном периоде приводит к сверхнормативным расходам около 7500 долларов США за госпитализацию. По некоторым данным в промышленно развитых странах затраты здравоохранения, связанные с ОПП, оцениваются в 1 миллиард долларов США. С ОПП ежегодно связано около 300000 смертей, а

также около 300000 новых тяжелых случаев ХБП [227]. Кумулятивная стоимость госпитализации пациентов с развившимся КХ-ОПП на 159% превышает расходы на стандартное лечение [239]. В настоящее время не существует фармакологических интервенций или немедикаментозных вмешательств с высоким уровнем доказательности, которые могли бы снизить степень органной дисфункции и улучшить результаты кардиохирургических операций [128]. Поиск оптимальной стратегии адьювантной защиты органов продолжается. Чрезвычайно перспективно идентифицировать потенциальные фармакологические агенты, которые являются прямыми триггерами и/или медиаторами реализации органопротекторного фенотипа во время кардиохирургических операций. Патофизиология КХ-ОПП многофакторна и включает в себя пред-, интра- и послеоперационные факторы [240]. В частности, интраоперационный гемолиз, связанный с кардиохирургическими вмешательствами в условиях искусственного кровообращения (ИК), является важным фактором ОПП, в том числе за счет ограничения биодоступности оксида азота (NO) [150]. Благодаря своим плюрипотентным свойствам NO может быть использован в качестве средства для периоперационной защиты органов и тканей, в частности, для снижения частоты и выраженности ОПП [216, 312]. При этом крайне важен подбор оптимальной модальности (концентрации и продолжительности доставки) NO терапии. Особенно большое значение периоперационная органопротекция NO может иметь для пациентов с ХБП. Это связано с системным и локальным интратенальным снижением базального уровня эндогенного NO у пациентов с ХБП, обусловленным дефицитом субстратов, необходимых для его синтеза, а также снижением содержания и экспрессии ферментов семейства NO-синтаз [23, 84, 272]. Для широкой имплементации NO-кондиционирования в клиническую практику крайне важно определить механизмы реализации органопротекции при применении предлагаемой технологии, идентифицировать субклеточные мишени воздействия и конечные клеточные эффекторы, а также применить ее в комплексном контексте ренального

повреждения и текущей парадигмы периоперационного обеспечения кардиохирургических пациентов, что будет выполнено в представленной научной работе. Применение технологии NO-кондиционирования в сердечно-сосудистой хирургии резко ограничено существующими финансовыми и логистическими проблемами использования NO, синтезированного в промышленных условиях и доставляемого в клинические учреждения в баллонах. Широкая реализация стратегий периоперационной органопротекции требует валидации применения новой технологии плазмохимического синтеза и аппаратного комплекса для прикроватного синтеза и мониторинга NO, что также планируется выполнить в данной научной работе.

Степень разработанности темы исследования

Специфических фармакологических вмешательств с хорошей доказательной базой для профилактики КХ-ОПП не определено. К настоящему времени проведено 1 рандомизированное клиническое исследование, в котором выполнена оценка влияния периоперационной доставки оксида азота на частоту послеоперационного ОПП у относительно молодых пациентов без факторов риска, оперированных по поводу патологии клапанов сердца. При этом механизмы реализации органопротективного фенотипа остаются неизвестными, а влияние периоперационной доставки оксида азота в когорте кардиохирургических пациентов высокого риска не исследовано.

Цель исследования

Патогенетически обосновать, разработать и внедрить в клиническую практику технологию кондиционирования оксидом азота как метода адъювантной

нефропротекции, позволяющего повысить эффективность профилактики периперационного острого почечного повреждения у кардиохирургических пациентов высокого риска, оперированных в условиях искусственного кровообращения.

Задачи исследования

1. Проверить первичную гипотезу о безопасности и наличии нефропротективных свойств оксида азота при его доставке в концентрации 40 ppm в контур экстракорпоральной циркуляции во время кардиохирургических операций у пациентов с умеренным риском почечного повреждения: оценить частоту случаев острого почечного повреждения (в соответствии с критериями KDIGO), выраженность субклинического острого почечного повреждения и функциональный статус почек у пациентов контрольной и NO групп.

2. Обосновать необходимость и доказать безопасность кондиционирования оксидом азота в концентрации 80 ppm, полученным по технологии плазмохимического синтеза, оцененную по уровню диоксида азота в ингалируемой газо-воздушной смеси, концентрации метгемоглобина и концентрации конечных метаболитов NO — нитратов и нитритов (eNO_2 , NO_3 , total NO_2) в эксперименте.

3. На основании концентрации uNGAL, диуреза и морфологических признаков оценить выраженность почечного повреждения у экспериментальных животных контрольной и группы кондиционирования оксидом азота (80 ppm) в условиях искусственного кровообращения. На основании показателей трансмембранного потенциала митохондрий ($\Delta\psi$), кальций-связывающей способности митохондрий (KCC), тканевой концентрации аденозинтрифосфата (АТФ) и лактата в биоптатах ткани почек экспериментальных животных в контрольной и NO-группах (80 ppm) изучить выраженность митохондриальной

дисфункции при моделировании искусственного кровообращения. Изучить выраженность апо-, пиро- и некроптоза, оцененных по тканевой концентрации NLR пиринового домена с белками 3 (NLRP3), фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), взаимодействующей с рецептором серин/треонин-протеинкиназы 3 (RIPK3) и гасдермина D (GSDMD) в биоптатах ткани почек экспериментальных животных в контрольной и NO-группах (80 ppm).

4. Оценить влияние периоперационного кондиционирования NO (концентрация 80 ppm) на коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов у экспериментальных животных при моделировании искусственного кровообращения.

5. Изучить влияние периоперационного кондиционирования пациентов оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, на метаболизм оксида азота, определяемого по уровню NO в выдыхаемом пациентом воздухе, при кардиохирургических операциях у пациентов с исходно высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек.

6. Оценить безопасность периоперационного кондиционирования оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, при кардиохирургических операциях у пациентов с исходно высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек.

7. Оценить эффективность периоперационного кондиционирования оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, для снижения частоты острого почечного повреждения (в соответствии с критериями KDIGO) у пациентов с ХБП. Оценить частоту и тяжесть экстраренальных органных осложнений, а также основные показатели исходов кардиохирургических операций у пациентов контрольной и NO-групп.

Научная новизна исследования

Впервые в мировой научной практике выполнен фундаментальный блок исследований, в которых смоделированы и проанализированы субклеточные эффекты технологии кондиционирования оксидом азота. Идентифицированы внутриклеточные механизмы медиаторного и эффекторного действия кондиционирования оксидом азота для адьювантной защиты субклеточных органелл при проведении искусственного кровообращения. Выполнен клинический блок исследований, в котором проанализированы эффекты оксида азота на частоту органного повреждения у пациентов общей популяции и с исходной почечной дисфункцией в кардиохирургии. Дано научное обоснование применения технологии плазмохимического синтеза оксида азота для периоперационной органопротекции в сердечно-сосудистой хирургии.

Впервые:

- выполнена комплексная оценка безопасности кондиционирования NO у пациентов общей популяции и с исходной почечной дисфункцией при кардиохирургических операциях;
- изучен митохондриальный дистресс в качестве фундаментальной основы периоперационного ренального повреждения, а также таргетной точки воздействия органопротективных технологий в сердечно-сосудистой хирургии;
- дана оценка влияния кондиционирования оксидом азота на тяжесть митохондриального повреждения, клеточное дыхание и клеточный фенотипический репрограмминг почечной паренхимы в экспериментальной модели на животных;
- дана оценка влияния кондиционирования оксидом азота на выраженность почечного повреждения, оценённого по биомаркерной панели, функциональному статусу и морфометрическим признакам;
- изучено влияние кондиционирования оксидом азота на выраженность процессов апо-, пиро- и некроптоза в органах-мишенях;

- изучено влияние периоперационного кондиционирования оксидом азота на обмен оксида азота при кардиохирургических операциях у пациентов с хронической болезнью почек;
- доказана эффективность периоперационного кондиционирования оксидом азота для снижения частоты острого почечного повреждения и снижения выраженности субклинического острого почечного повреждения при кардиохирургических операциях в общей популяции пациентов, а также у пациентов с хронической болезнью почек;
- изучены частота и тяжесть экстраренальных органных осложнений, а также основные показатели исходов кардиохирургических операций у пациентов контрольной и NO групп.

Теоретическая и практическая и значимость работы

Теоретическая значимость заключается в фундаментальном научном обосновании применения технологии кондиционирования оксидом азота для периоперационной органопroteкции в сердечно-сосудистой хирургии, а также аргументированно подтверждена возможность применения отечественного аппаратно-технического комплекса для ее обеспечения. Выполнено научное обоснование применения технологии синтеза оксида азота в газовом разряде из воздуха для периоперационной органопroteкции в сердечно-сосудистой хирургии. Идентифицированы потенциальные клинические механизмы действия оксида азота для адьювантной защиты почек.

Практическая значимость научной работы заключается в том, что впервые в Российской и мировой научной сформирован доказательный блок, необходимый для трансляции эффектов технологии синтеза оксида азота в газовом разряде в рутинную практику сердечно-сосудистой хирургии, а также аргументированно

подтверждена возможность применения отечественного аппаратно-технического комплекса для ее обеспечения.

Идентифицированы целевые популяции пациентов-респондеров для применения технологии синтеза оксида азота в газовом разряде из воздуха и образца аппарата для периоперационной органопротекции в сердечно-сосудистой хирургии. Общая популяция кардиохирургических пациентов, а также пациенты с исходной хронической болезнью почек идентифицированы как целевые респондеры для применения технологии периоперационного кондиционирования оксидом азота с использованием аппарата синтеза оксида азота для нефропротекции в сердечно-сосудистой хирургии.

Полученная в результате выполнения научной работы доказательная база по органопротективным эффектам подтверждает возможность применение кондиционирования оксидом азота в отечественной и мировой кардиохирургической практике. Технология имеет потенциал для экстраполирования на другие области практического здравоохранения (трансплантология, онкология, интервенционная кардиология, трансляционная медицина, медицина критических состояний) с сопоставимыми положительными клиническими и социально-экономическими эффектами.

Обоснование применения аппаратного комплекса синтеза, доставки и мониторинга оксида азота для технологического обеспечения стратегии органопротекции позволит внедрить данную технологию в масштабе системы здравоохранения РФ, что существенно снизит экономические затраты и решит логистические проблемы.

Положения, выносимые на защиту

1. Оксид азота при его доставке в концентрации 40 ppm в контур экстракорпоральной циркуляции во время кардиохирургических операций у

пациентов с умеренным риском почечного повреждения согласно предиктивной модели - шкалы прогнозирования почечной недостаточности Клиники Кливленда (англ. Cleveland Clinic Foundation Acute Renal Failure Score) безопасен и обладает нефропротективными свойствами.

2. По результатам экспериментального исследования оксид азота в концентрации 80 ppm, полученный по технологии плазмохимического синтеза, безопасен и снижает выраженность почечного повреждения у экспериментальных животных при моделировании искусственного кровообращения.

3. По результатам экспериментального исследования оксид азота в концентрации 80 ppm, полученный по технологии плазмохимического синтеза, снижает выраженность митохондриальной дисфункции в ткани почек экспериментальных животных при моделировании искусственного кровообращения.

4. Кондиционирование оксидом азота (80 ppm) стабилизирует показатели микровязкости и полярности мембран эритроцитов у экспериментальных животных при моделировании искусственного кровообращения.

5. Периоперационное кондиционирование оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, нивелирует периоперационный дефицит эндогенного оксида азота у пациентов с высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек.

6. Периоперационное кондиционирование оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, является безопасной технологией, снижает частоту острого почечного повреждения, снижает тяжесть экстраренальных органных осложнений при кардиохирургических операциях и улучшает исходы операций у пациентов с высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек.

Краткая характеристика клинического материала (объекта исследования) и научных методов исследования

Работа представляет результаты серии одноцентровых, проспективных, рандомизированных, контролируемых исследований применения оксида азота для адьювантной нефропротекции в кардиохирургии. Работа выполнена на базе лаборатории медицины критических состояний и 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 3 частей: клинической №1 (проверка первичной гипотезы), экспериментальной и клинической №2.

Достоверность выводов и рекомендаций

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

Внедрение

Кондиционирование оксидом азота при проведении кардиохирургических вмешательств в условиях искусственного кровообращения внедрено в клиническую практику отделения анестезиологии и реанимации НИИ кардиологии - филиала ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Апробация результатов исследовани

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

- Форум анестезиологов и реаниматологов России (ФАРР-2020), XIX съезд Федерации анестезиологов и реаниматологов, г. Москва, 25-27 октября 2020г.;
- American Heart Association Scientific Sessions 2020, США, 13-17 ноября 2020г.;
- XII съезд Российского общества экстракорпоральных технологий (РосЭКТ), г. Казань, 2 октября 2020г.;
- XI Международный конгресс «Кардиология на перекрестке наук» совместно с XV Международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку, XXVII ежегодной научно-практической конференцией «Актуальные вопросы кардиологии», г. Тюмень, 25-27 мая 2021г.;
- X Балтийский форум «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии», г. Светлогорск, 30 июня - 3 июля 2021г.;
- XXVII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, г. Москва, 21-24 ноября 2021г.;
- III Всероссийский научно-образовательный форум с международным участием «Кардиология XXI века: альянсы и потенциал», г. Томск, 28-29 апреля 2022г.;
- Российский национальный конгресс кардиологов 2022, г. Казань, 29 сентября - 1 октября 2022г.;
- Форум анестезиологов и реаниматологов России (ФАРР-2022) XX Съезд Федерации анестезиологов и реаниматологов, г. Санкт-Петербург, 15-17 октября 2022г.;
- XXVIII Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, г. Москва, 20-23 ноября 2022г.;

– IV Всероссийский научно-образовательный форум с международным участием «Кардиология XXI века: альянсы и потенциал», г. Томск, 26-28 апреля 2023г.;

– Научно-практическая конференция «Персистирующая полиорганная недостаточность: теория и практика», г. Кемерово, 8-9 июня 2023г.;

– XX Всероссийская научно-образовательная конференция "Рекомендации и индивидуальные подходы в анестезиологии и реаниматологии", г. Геленджик, 18-21 мая 2023г.;

– II Международный каспийский форум анестезиологов, г. Актау, Казахстан, 22 августа 2023 г.;

– Российский национальный конгресс кардиологов 2023, г. Москва, 21-23 сентября 2023г.;

– XI Балтийский форум «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии», г. Светлогорск, 28-30 июня 2023г.;

– Международный форум по респираторной поддержке, г. Красноярск, 28-29 сентября 2023г.;

– XXIX Всероссийский съезд сердечно-сосудистых хирургов, г. Москва, 26-29 ноября 2023г.;

– Форум анестезиологов и реаниматологов России (ФАРР-2023) XXI Съезд Федерации анестезиологов и реаниматологов, 14-16 октября 2023, г. Санкт-Петербург

– Пятый Всероссийский научно-образовательный форум с международным участием «Кардиология XXI века: альянсы и потенциал», 24-26 апреля 2024, г. Томск;

– XXI Всероссийская научно-образовательная конференция Рекомендации и индивидуальные подходы в анестезиологии и реаниматологии, 16-19 мая 2024, г. Геленджик;

– Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием БиоТех – 2024, 16 - 19 Апреля 2024, г. Санкт-Петербург;

- XII научные чтения, посвященные памяти академика Е.Н. Мешалкина - Лечение коморбидного пациента – взгляд в будущее, 6-7 июня 2024, г. Новосибирск;
- Алмазовский молодежный медицинский форум – 2024, 11–16 Мая 2024.
- VII Петербургский медицинский инновационный форум, 14–16 Мая 2024, г. Санкт-Петербург;
- VI Всероссийский конгресс с международным участием - Актуальные вопросы медицины критических состояний, 11-13 мая 2024, г. Санкт-Петербург;
- Всероссийская научно-практическая конференция «Прогнозирование и профилактика осложнений в кардиохирургии», к 115-летию со дня рождения академика Б.А. Королева, 13-15 сентября 2024, г. Нижний Новгород;
- Всероссийская научно-практическая конференция «Технологии применения оксида азота в медицине. Современное состояние и перспективы развития. РосНокс–2024», 12 октября 2024 г. ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург;
- Форум анестезиологов и реаниматологов России (ФАРР-2024) / Съезд Федерации анестезиологов и реаниматологов, 12-14 октября 2024, Санкт-Петербург;
- Международный форум по респираторной поддержке, 21-22 ноября 2024, г. Красноярск.

Публикации по теме диссертации

Основные положения и результаты диссертационной работы отражены в 35 публикациях, включенных в РИНЦ, из них 19 статей в научных журналах и изданиях, включенных ВАК РФ в перечень Российских рецензируемых научных журналов и изданий для изложения основных научных результатов диссертационных исследований, из них 19 публикаций в журналах, включенных в

международную базу цитирования Scopus и 8 в зарубежной печати. Получено 12 патентов РФ. Опубликовано 2 монографии.

Структура и объем диссертации

Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов экспериментальной и клинической части исследования, главы собственного материала и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы. Диссертация изложена на 274 страницах машинописного текста и содержит 26 таблиц и 28 рисунков. Указатель использованной литературы содержит перечень из 21 отечественных и 304 зарубежных авторов.

Личный вклад автора

При выполнении данной работы автор сформулировал гипотезу, разработал концепцию и дизайн исследования, лично принимал участие в эксперименте на лабораторных животных, в отборе, обследовании и проведении анестезиологического обеспечения у пациентов. 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 ОСТРОЕ ПОЧЕЧНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Острое почечное повреждение в кардиохирургии

1.1.1 Острое почечное повреждение: определение

Введение в клиническую практику термина ОПП, заменившего понятие острая почечная недостаточность (ОПН), произошло относительно недавно. Это позволило дать универсальное определение этому состоянию, а также унифицировать критерии диагностики и стратификации тяжести острой почечной дисфункции.

Первое унифицированное и широко используемое определение почечной дисфункции было сделано в 2004 году, когда в клиническую практику были внедрены критерии RIFLE: Risk (риск), Injury (повреждение), Failure (недостаточность), двум исходам — Loss (утрата функции) и End Stage Kidney Disease (терминальная почечная недостаточность) [43]. Стандартизированные критерии RIFLE позволили разработать единую формулировку понятия и критерии стратификации тяжести почечной дисфункции и упорядочить имеющиеся данные по данной проблеме, что привело к единообразию в отчетности о частоте заболеваемости, диагностике и исходах.

Система критериев RIFLE хорошо зарекомендовала себя для понимания прогноза у пациентов с острой почечной дисфункцией, однако не была лишена недостатков. Поиск модификаций классификационной системы острой патологии почек продолжался. Для поставленных задач была создана группа экспертов различных специальностей — AKIN (Acute Kidney Injury Network), которая в 2005 г. предложила модифицированное определение. Итогом работы группы AKIN стало также более широкое понимание проблемы нарушения почечной функции,

а также внедрение в рутинную клиническую практику новой парадигмы — концепции острого почечного повреждения [187].

Дальнейшее развитие концепции ОПП связано с деятельностью международной группы экспертов Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO), которая предложила консенсусное определение, критерии диагностики и стратификацию тяжести ОПП. Последняя к настоящему времени модификация классификации ОПП была выполнена в 2012 г. в редакции руководства KDIGO. Данная классификация является общепринятой в мире и легла в основу большинства разработанных национальных рекомендаций. Несмотря на имеющиеся недостатки, предложенные критерии KDIGO широко используются врачами различных специальностей: реаниматологами, нефрологами, сердечно-сосудистыми хирургами и т.д. [19, 20].

Ассоциация нефрологов, Научное общество нефрологов, Ассоциация анестезиологов и реаниматологов, Национальное общество специалистов в области гемофереза и экстракорпоральной гемокоррекции Российской Федерации рекомендуют применять следующее консенсусное определение: ОПП — патологическое состояние, развивающееся в результате непосредственного острого воздействия ренальных и/или экстраренальных повреждающих факторов, продолжающееся до 7 сут. и характеризующееся быстрым (часы — дни) развитием признаков повреждения или дисфункции почек различной степени выраженности. В клинической практике рекомендовано использовать только классификацию KDIGO 2012 г. [19].

Широкая имплементация в клиническую практику дополнительных лабораторных методов исследования почечного повреждения позволила идентифицировать 2 субгруппы в популяции пациентов с ОПП: «субклиническое ОПП» в ситуациях органного повреждения, определяемого исключительно по лабораторным маркерам без аббераций скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и «ОПП со снижением почечной функции», удовлетворяющей классическим критериям KDIGO. Согласно современным представлениям о патофизиологии и

эволюции периоперационного органного повреждения, даже субклиническое ОПП ассоциировано с осложнённым течением послеоперационного периода, увеличением продолжительности лечения и финансовых затрат, а также ростом летальности у кардиохирургических пациентов [146, 138].

Рабочей группой KDIGO также отмечена важность восстановительного периода после эпизода ОПП для того, чтобы не упускать из вида пациентов высокого риска, в том числе с субклиническим повреждением, которое может приводить к рецидивам ОПП, что ухудшает течение восстановления вплоть до исхода в ХБП. Это послужило основанием к введению термина «острая болезнь почек» для отражения единства процессов в почках после повреждения с целью максимального восстановления их функциональных возможностей. Острая болезнь почек (ОБП) — патологическое состояние при не разрешившемся в срок до 7 сут. остром почечном повреждении, продолжающееся от 7 до 90 сут. и характеризующееся персистенцией признаков повреждения почек или их дисфункцией различной степени выраженности (признаки ОПП 1-й ст. или выше согласно критериям KDIGO) [146].

1.1.2 Эпидемиология КХ-ОПП: распространенность и влияние на исходы

Несмотря на совершенствование хирургической техники вмешательств на открытом сердце, значительные успехи в области периоперационного обеспечения и технологический прогресс методик ИК и экстракорпорального жизнеобеспечения, остается нерешенным целый ряд вопросов кардиоанестезиологии, в частности, разработка методик интраоперационной защиты пациентов и периоперационной нефропротекции. Ассоциированное с кардиохирургическим вмешательством острое почечное повреждение является распространенным и серьезным осложнением, резко ухудшающим прогноз и результаты кардиохирургических операций. КХ-ОПП является одним из острых

заболеваний и возникает при наличии или отсутствии других острых или хронических заболеваний почек [300].

В послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств ОПП диагностируется у 52% пациентов, при этом до 5% из них требуют проведения заместительной почечной терапии (ЗПТ) [214]. Данная закономерность справедлива даже для рутинных вмешательств с относительно невысоким риском органной дисфункции [138], а при определенных типах операций (сочетанные вмешательства, реконструктивные вмешательства на восходящей аорте и дуге, мультиклапанная хирургия) частота КХ-ОПП может возрастать до 70% с потребностью в ЗПТ в 16% случаев [165]. Уровень периоперационной летальности в общей популяции кардиохирургических пациентов колеблется от 2 до 10 % в зависимости от типа операции, тяжести дисфункции левого желудочка и наличия сопутствующих заболеваний [210]. Развитие ОПП в послеоперационном периоде приводит к увеличению летальности до 50%, а в некоторых случаях ОПП-ассоциированная летальность может достигать 80% [299]. Наблюдается четкая корреляционная связь между степенью тяжести КХ-ОПП и показателями краткосрочной и долгосрочной летальности [118, 307], но при этом даже незначительные изменения послеоперационного уровня креатинина сыворотки крови при т.н. «субклиническом» ОПП в раннем послеоперационном периоде связаны с повышением госпитальной и краткосрочной летальности в сердечно-сосудистой хирургии [138].

Краткосрочные и непосредственные эффекты «в моменте», связанные со снижением почечной функции, включают нарушения кислотно-основного и электролитного гомеостаза, уремию с эндотоксикозом и его последствиями, а также перегрузку объемом из-за задержки натрия и воды, что существенно утяжеляет течение раннего послеоперационного периода [80].

Помимо значимого влияния на летальность в различные сроки, ОПП после кардиохирургических вмешательств приводит к значительному росту дистантных органных осложнений и общего числа осложнений. В послеоперационном

периоде у 79% пациентов с КХ-ОПП развиваются различные утяжеляющие течение осложнения, не связанные напрямую с почечной дисфункцией [112]. Долгосрочные наблюдения за пациентами с ОПП в послеоперационном периоде демонстрируют увеличение частоты развития острой болезни почек (ОБП), частоты ХБП, долгосрочного риска отторжения трансплантата, риска диализ-зависимой ХПН и смертности. Было показано, что вероятность формирования ХБП повышается при КХ-ОПП тяжелых градаций [73]. Помимо того, что ХБП является независимым фактором сердечно-сосудистых катастроф, развитие сердечной недостаточности в отдаленном периоде после вмешательств также может приводить к прогрессированию почечной дисфункции [163].

1.1.3 Социально-экономическое значение КХ-ОПП

КХ-ОПП представляется не только как серьезная медицинская проблема, но и является значимым фактором увеличения экономических расходов, связанных с лечением и последующей реабилитацией пациентов после кардиохирургических вмешательств. КХ-ОПП резко ухудшает краткосрочные результаты вмешательств и отдаленные исходы в сердечно-сосудистой хирургии и таким образом увеличивает экономические затраты на лечение пациентов. По некоторым данным в промышленно развитых странах затраты здравоохранения, связанные с ОПП, оцениваются в 1 миллиард долларов США. С ОПП ежегодно связано около 300000 смертей, а также около 300000 новых тяжелых случаев ХБП. Кумулятивная стоимость госпитализации пациентов с развившимся КХ-ОПП на 159% превышает расходы на стандартное лечение [112].

При условии наличия исходной ХБП и реализации ОПП госпитальные расходы увеличиваются на 49% и выше, при этом скорректированная добавочная стоимость составляет 19100 долларов США [120].

Фундаментальное обоснование, разработка и внедрение в клиническую практику технологий периоперационной органопroteкции позволит сохранить жизни до 20 тысяч человек в год и сэкономить для системы здравоохранения РФ до 1 млрд. долларов США.

1.1.4 Патофизиология КХ-ОПП

Патофизиология КХ-ОПП многофакторна и включает в себя пред-, интра- и послеоперационные факторы [240]. Механизмы включают ишемически-реперфузионное повреждение, гипоперфузию почек, воспаление, окислительный стресс, нейрогормональную активацию, нефротоксические воздействия, повышение внутрибрюшного давления и застойные явления в почках [227]. Развитие синдрома малого сердечного выброса и осложнения, связанные с кровотечением в послеоперационном периоде, также могут внести свой вклад в манифест КХ-ОПП.

Изменения гемодинамики влияют на почечную микроциркуляцию и могут вызывать нейрогормональные изменения, включая стимуляцию симпатической нервной системы и активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. Другими потенциальными факторами риска ОПП являются воздействие нефротоксических агентов, септические эмболии в случае инфекционного эндокардита, а также материалная эмболизация атеросклеротическими массами или крупными кальцинатами при пережатии аорты [226].

Деформируемость эритроцитов является важным свойством, которое позволяет им успешно проходить через зону микроциркуляции и обеспечивать эффективное кровоснабжение органов [8]. ИК и контакт форменных элементов крови с поверхностью экстракорпорального контура приводит к нарушению деформируемости эритроцитов, формирование выраженного гемолиза во время ИК ассоциировано с низкой деформируемостью эритроцитов в

периоперационном периоде и интраоперационным снижением их механической резистентности [21].

Постперфузионные реакции при кардиохирургических вмешательствах в условиях ИК включают развитие внутрисосудистого гемолиза. Гемолиз может развиваться в результате травмы клеток при аспирации из операционной раны, окклюзии магистралей роликовым насосом при длительной перфузии, развития турбулентного потока крови в оксигенаторе и местах сужений экстракорпорального контура, а также при сепарации клеток аппаратами типа Cell Savers. Восстановленное железо, высвобожденное из молекулы гемоглобина, способно участвовать в реакциях с органическими и неорганическими радикалами кислорода и стимулировать перекисное окисление липидов и активизацию образования гидроксильных радикалов с последующим повреждением тканей, оказывая прямое нефротоксическое действие и способствуя оксидативному повреждению эпителия почечных канальцев [35]. В 25% случаев повышенные уровни свободного гемоглобина (fHb) даже в условиях пониженного содержания железа сыворотки после ишемически-реперфузионного события превышают железосвязывающую способность сыворотки и усугубляют реперфузионное повреждение. fHb связывает вырабатываемый эндотелием NO, что приводит к снижению биодоступности этой регуляторной молекулы и расстройствам микроциркуляции [251]. Данное явление может быть связано со снижением органной перфузии и доставки кислорода к мозговому веществу почек; региональная ишемия приводит к канальцевому повреждению с аберрациями почечной функции в послеоперационном периоде [296]. Также в условиях кислой среды мочи внеклеточный гемоглобин может преципитировать в просвете канальцев, вызывая их обструкцию [44].

Связывание эндогенного NO приводит к снижению концентрации цГМФ, что усиливает агрегационные свойства тромбоцитов; fHb может приводить к активации тромбоцитов крови при констрикции микроциркуляторного русла [135]. Секвестрация эндогенного NO за счет снижения концентрации цГМФ в

клетках усиливает адгезивные и агрегационные свойства тромбоцитов, более того, свободный гемоглобин может непосредственно воздействовать на серотониновые рецепторы тромбоцитов и гладкомышечных клеток, что приводит к дополнительной активации кровяных пластинок на фоне спазма микроциркуляторного русла [135]. Таким образом, нарушения микроциркуляции, возникающие в результате гемоглобинемии, формируют фенотипическую картину микроциркуляторного дистресса, который усугубляется тромбозами с окклюзией и блокадой микроциркуляторного кровообращения и последующей органной дисфункцией [260].

Описано самостоятельное прокоагулянтное и проагрегантное действие внеклеточного гемоглобина за счет ингибирования протеаз, разрушающих фактор Виллебранда [323]. Огромную роль в это вкладывает дисбаланс обмена NO и его взаимодействия как с тромбоцитами, так и с ферментами коагуляционного каскада [186]. Тяжелая сопутствующая патология, большой объем и продолжительность операции, выраженная кровопотеря, требующая проведения массивной трансфузионной терапии и сепарации излившейся в рану крови, потенцируют внесосудистый гемолиз и ассоциированные с ним осложнения [93, 313].

Свободный гемоглобин также обладает прооксидантными эффектами, оказывает непосредственное цитотоксическое и воспалительное действие, что негативно влияет на эндотелиальную функцию [256, 286]. Персистирование внеклеточного гемоглобина и гема индуцирует активацию нейтрофилов, их миграцию и инфильтрацию в органах с последующей компартментализацией воспаления. Гем и гемоглобин стимулируют экспрессию молекул адгезии (ICAM-1, VCAM-1) и E-селектина на эндотелиальных клетках, способствуют увеличению сосудистой проницаемости [96]. Провоспалительные эффекты связаны в том числе с потреблением NO, оказывающим противовоспалительный эффект за счет ингибирования цитокин-индуцированной экспрессии молекул адгезии [134].

Таким образом, интраоперационный гемолиз, связанный с кардиохирургическими вмешательствами в условиях ИК, является важным фактором ОПП, в том числе за счет ограничения биодоступности NO [295]. Этот факт является мощным стимулом для разработки новых диагностических и терапевтических стратегий для улучшения результатов оперативных вмешательств в кардиохирургии. Среди методов защиты почек при операциях, сопровождающихся искусственным кровообращением, перспективными представляются терапевтические стратегии, направленные на нивелирование вазоконстрикции, обусловленной дефицитом NO из-за гемолиза и секвестрации свободным гемоглобином [297]. Заместительная терапия оксидом азота может нивелировать канальцевое повреждение почек при ИК за счет снижения альтераций микроциркуляторного кровотока, нивелирования ишемически-реперфузионного повреждения и комплексных противовоспалительных эффектов.

К настоящему времени является доказанной роль как эндогенного, так и экзогенного NO в реализации феномена прекондиционирования (ПК) для защиты пациента от повреждающих факторов операционного периода при кардиохирургических вмешательствах, требующих проведения ИК. Реализация органопротективного фенотипа может быть опосредована многими механизмами, в том числе и вне пути классического ПК. NO выступает в качестве одного из ключевых компонентов сложного механизма взаимодействия, являющегося основой для клинического синдрома ОПП [163]. NO, обладая плюрипотентными эффектами, может явиться ключевым фактором понимания и клинической реализации патогенетических механизмов мультимодальной периоперационной органопротекции. Применение стратегии NO-опосредованной протекции может снизить мультиорганные осложнения вне кардиоренальной оси. Дальнейшие клинические исследования должны быть сосредоточены на оптимизации протокола NO-терапии для определения достаточного времени экспозиции и оптимальной концентрации NO, необходимых для предотвращения органного повреждения в кардиохирургии [202].

1.2 Стратегии предотвращения ОПП в кардиохирургии

1.2.1 Превентивные стратегии: фармакологические агенты

Для профилактики КХ-ОПП исследовались как фармакологические, так и нефармакологические вмешательства [128]. Следует отметить, что в большинстве исследований имеются существенные ограничения по числу включенных пациентов, зачастую были использованы разные критерии включения, на различных этапах имела значительная вариабельность применяемых доз препаратов, при этом в качестве конечных точек использовались разные клинические исходы и разные критерии для определения ОПП [225].

– Варианты анестезиологического обеспечения

Имеется большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что галогенсодержащие летучие анестетики (десфлуран, изофлуран и севофлюран) обладают ренопротекторным действием [161]. В рандомизированном контролируемом исследовании (РКИ), выполненном у пациентов, перенесших операцию на клапанном аппарате сердца в условиях ИК, были продемонстрированы нефропротективные эффекты внутривенного анестетика пропофола [314]. Самое крупное к настоящему моменту РКИ, включавшее 5400 пациентов, в котором проводилось сравнение ингаляционной и внутривенной анестезии, продемонстрировало идентичные показатели послеоперационной смертности при использовании обеих методик общей анестезии [155]. В последующем мета-анализе, сравнивающем ингаляционную и внутривенную анестезию, не было выявлено разницы в послеоперационном ОПП [54].

Таким образом, потенциальный защитный эффект для почек как ингаляционных, так и внутривенных анестетиков, продемонстрированный в

экспериментальных исследованиях, не был последовательно продемонстрирован в крупных клинических испытаниях.

– Кортикостероиды

Кортикостероиды могут снижать уровень про- и повышать уровень противовоспалительных цитокинов, а также стимулировать посттранскрипционные эффекты за счет стимуляции фосфатидилинозитол-3-киназы [69]. Однако два крупных РКИ — "Дексаметазон в кардиохирургии" (Dexamethasone in Cardiac Surgery-DECS), в котором изучался дексаметазон в разовой дозе 1 мг/кг, и "Стероиды в кардиохирургии" (Steroids in Cardiac Surgery-SIRS), в котором использовали дробное введение 500 мг метилпреднизолона, а также последующий мета-анализ РКИ о применении кортикостероидов в кардиохирургии, позволили сделать вывод о том, что кортикостероиды не оказывают нефропротективного эффекта при операциях в условиях ИК [81].

– Диуретики

Применение маннитола в кардиохирургии было исследовано в двух РКИ: у 50 пациентов с верифицированной почечной дисфункцией и у 40 пациентов с нормальной предоперационной функцией почек [266, 310]. В обоих исследованиях ренопротективный эффект не был продемонстрирован.

Профилактическое введение фуросемида в различных дозах у кардиохирургических пациентов было исследовано в двух РКИ. Не было показано, что болюсное введение или непрерывная инфузия способны снижать частоту КХ-ОПП, поэтому профилактическое назначение диуретиков в кардиохирургии в настоящее время не рекомендуется [39, 85].

– Альбумин

Одноцентровое РКИ у пациентов, перенесших операцию на работающем сердце без проведения ИК, показало, что коррекция гипоальбуминемии (концентрация сывороточного альбумина <40 г/л) непосредственно перед операцией путем введения 100, 200 или 300 мл 20% раствора альбумина была связана с увеличением диуреза во время операции и снижением риска

послеоперационного ОПП [160]. Однако данные выводы не были подтверждены на популяции пациентов, оперированных в условиях ИК.

– Эритропоэтин

На экспериментальной модели было показано, что экзогенный эритропоэтин за счет иммуномодулирующих эффектов обладает ренопротекторным действием при ишемически-реперфузионном повреждении почек. Однако в серии последующих РКИ данные эффекты не были подтверждены. Недавний мета-анализ также показал, что экзогенный эритропоэтин не снижает частоту КХ-ОПП [68].

– Статины

Терапия статинами продемонстрировала свою эффективность в снижении воспаления и окислительного стресса, однако в настоящее время нет убедительных доказательств того, что их применение может снижать частоту развития КХ-ОПП [246].

Рабочая группа по профилактике и лечению ОПП Европейского общества медицины интенсивной терапии (ESICM) рекомендует воздерживаться от периоперационного применения высоких доз статинов у пациентов, не принимающих статины, для профилактики КХ-ОПП после операции на сердце [128].

– N-ацетилцистеин

Мета-анализ 10 исследований, включающий 1391 пациента, которым применялся N-ацетилцистеин в различных дозах, продемонстрировал неэффективность данного подхода для предотвращения КХ-ОПП [104]. Руководство ESICM по ОПП также рекомендует не использовать N-ацетилцистеин для профилактики КХ-ОПП [128].

– Гидрокарбонат натрия

Плазменное каталитическое железо — это химическая форма железа, которая катализирует окислительно-восстановительный цикл и генерирует гидроксильные радикалы и окислительные повреждения. Продленное время ИК,

проведение трансфузионной терапии связаны с генерацией высоких уровней плазменного железа [159]. Свободное трехвалентное железо выпадает в осадок и выводится в виде инертного комплекса с мочой при нейтральном или щелочном рН. Гидрокарбонат натрия повышает рН первичной мочи в почечных канальцах, что ограничивает образование гидроксильных радикалов и перекисное окисление липидов. Однако проведенные РКИ не показали возможность снижать риск развития КХ-ОПП при применении гидрокарбоната натрия. В некоторых исследованиях он снижал потребность в проведении ЗПТ, а в других РКИ введение гидрокарбоната натрия было связано с продленной ИВЛ и более длительным пребыванием в ОРИТ [141].

– Дексмететомидин

Существующие данные о влиянии дексмететомидина на реализацию КХ-ОПП противоречивы. В двух РКИ инфузия дексмететомидина со скоростью 0,4 мкг/кг/ч в течение 24 ч, начатая сразу после индукции анестезии, снижала частоту ОПП у пациентов, перенесших хирургические вмешательства на клапанах сердца [72, 267]. Другое РКИ продемонстрировало, что дексмететомидин (0,6 мкг/кг в течение 10 мин, затем 0,4 мкг/кг/ч до окончания операции и 0,1 мкг/кг/ч до окончания ИВЛ) не влиял на частоту ОПП у пациентов, перенесших АКШ и/или вмешательства на клапанах. В исследовании DECADE (Dexmedetomidine for Reduction of Atrial Fibrillation and Delirium After Cardiac Surgery — Дексмететомидин для уменьшения фибрилляции предсердий и делирия после кардиохирургических вмешательств) было показано, что применение дексмететомидина с этапным увеличением скорости инфузии от 0,1 до 0,4 мкг/кг/ч с момента индукции анестезии до 24 ч после операции приводит к увеличению частоты делирия и ОПП после операций на сердце в условиях ИК [281]. В группе дексмететомидина чаще наблюдались клинически значимые эпизоды артериальной гипотензии, в результате чего был сделан вывод о том, что дексмететомидин в кардиохирургической популяции пациентов следует применять с осторожностью.

Два недавних мета-анализа показали, что периоперационное применение дексмететомидина ассоциировалось со снижением частоты КХ-ОПП у пожилых пациентов, особенно когда дексмететомидин назначался сразу после индукции анестезии и вводился интраоперационно [173, 233]. Однако в данные мета-анализы не были включены самые последние данные исследования DECADE.

Общество сердечно-сосудистых анестезиологов США не рекомендует использование дексмететомидина с целью частоты снижения КХ-ОПП (низкий уровень доказательности GRADE) [234].

– Периоперационная вазопрессорная терапия

В настоящее время существует только одно исследование, оценивающее влияние интраоперационного применения дофамина на почечные исходы в кардиохирургии. Установлено, что дофамин в концентрации 2 мкг/кг/мин может даже увеличить частоту ОПП у пациентов, перенесших АКШ и/или хирургические вмешательства на клапанах сердца [157]. У пациентов с вазоплегическим шоком после операции на сердце было показано, что вазопрессин снижает вероятность ОПП на 74% (10,3% против 35,8%; $P < ,0001$) по сравнению с норадреналином [102]. Однако были выявлены некоторые потенциально важные различия между исследуемыми группами и методологические нарушения при проведении данного исследования, связанные с изменением первичной конечной точки [123]. В 2018 году Группа по качеству лечения острых заболеваний почек (Acute Kidney Quality Group) для терапии вазopleгии после кардиохирургических вмешательств рекомендовала использовать норадреналин в качестве препарата первого выбора вместо вазопрессина [201]. Ангиотензин II может быть многообещающим средством для лечения вазодилаторного шока. Тем не менее, ангиотензин II широко не используется у кардиохирургических пациентов и его роль в лечении артериальной гипотензии у кардиохирургических пациентов еще предстоит определить [234].

– Предсердный натрийуретический пептид

Большинство исследований по применению предсердного натрийуретического пептида были недостаточно мощными и имели низкое или среднее качество. В этой связи применение предсердного натрийуретического пептида в настоящее время не рекомендуется для лечения ОПП [201].

– Фенолдопам

Фенолдопам был изучен в нескольких РКИ [271]. По сравнению с плацебо инфузия фенолдопама не только не снижала потребность в ЗПТ, но и способствовала развития артериальной гипотензии.

– Другие фармакологические препараты

В настоящее время рекомендуется воздерживаться от приема ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) и блокаторов рецепторов ангиотензина (БРА) в периоперационном периоде кардиохирургических вмешательств [201, 170].

Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) могут увеличивать риск ОПП из-за снижения синтеза простагландинов и развития aberrаций почечной микроциркуляции [227].

В качестве перспективных стратегий фармакологической нефропротекции в сердечно-сосудистой хирургии рассматривается применение инодиляторов, однако терапевтическая ниша данных медикаментозных интервенций в кардиохирургии еще не определена [232].

1.2.2 Превентивные стратегии: немедикаментозные вмешательства

– Цель-ориентированные протоколы поддержания гемодинамики

Гемодинамический профиль во время ИК имеет решающее значение для поддержания адекватного перфузионного давления в почках. В недавнем ретроспективном исследовании показано, что среднее артериальное давление (САД) <65 мм рт.ст. в течение 10 мин или более после отлучения от ИК

ассоциировалось с повышенным риском потребности в проведении ЗПТ в послеоперационном периоде [211]. Однако существует ли причинно-следственная связь между интраоперационным уровнем САД и КХ-ОПП, остается неизвестным. В 2 РКИ авторы выдвинули гипотезу, что более высокое целевое значение САД во время проведения ИК может снизить частоту КХ-ОПП [133].

В РКИ, посвященном исследованию тяжести церебральной дисфункции в группах с целевым САД 40–50 мм рт. ст. во время ИК по сравнению с САД 70–80 мм рт. ст., было показано, что число пациентов с послеоперационным удвоением уровня креатинина в сыворотке крови было выше в группе с высоким целевым значением САД по сравнению с группой с низким целевым значением САД. Другое РКИ с участием 410 пациентов, перенесших кардиохирургическую операцию в условиях ИК, продемонстрировало, что колебания САД ниже границы порога церебральной ауторегуляции были ассоциированы с развитием ОПП в послеоперационном периоде [221]. Возможно, это означает, что индивидуализированные целевые значения САД могут быть наиболее эффективными для предотвращения развития органных дисфункций. Нижний предел САД, при котором поддерживается церебральная ауторегуляция, составляет 66 мм рт.ст., но индивидуальные значения варьируются в диапазоне от 40 до 90 мм рт. ст. В настоящее время пределы церебральной ауторегуляции обычно не оцениваются во время кардиохирургических вмешательств.

Клинические рекомендации Европейского общества кардио-торакальных хирургов и Европейского общества кардио-торакальных анестезиологов рекомендуют поддерживать целевые показатели САД во время ИК в диапазоне 50–80 мм рт.ст.. Объединенный анализ Общества сердечно-сосудистых анестезиологов США не выявил снижения риска КХ-ОПП за счет поддержания более высокого САД во время ИК (низкий уровень GRADE доказательства) [234].

– Цель-ориентированные протоколы доставки кислорода во время ИК

В ряде обсервационных исследований субоптимальная доставка кислорода во время проведения ИК была идентифицирована как потенциально

модифицируемый фактор риска развития КХ-ОПП [76]. В РКИ, посвященном этому вопросу, была проверена гипотеза о том, что целенаправленный подход к доставке кислорода во время ИК способен снизить частоту КХ-ОПП. Пациенты из интервенционной группы получали специфические интервенции, которые были основаны на увеличении производительности артериального насоса аппарата ИК и оптимизации гематокрита, что поддерживало доставку кислорода во время ИК ≥ 280 мл/мин/м² [248]. Было продемонстрировано, что цель-ориентированная доставка кислорода во время ИК снижала частоту возникновения ОПП в послеоперационном периоде, особенно ОПП 1-й стадии. В последующем РКИ, выполненном Mukaida и соавт., было подтверждено, что поддержание во время перфузии значения индекса доставки кислорода >300 мл/мин/м² позволяет снизить частоту КХ-ОПП [200]. В обоих исследованиях сообщается о примерно 50%-ном снижении частоты ОПП при целенаправленной доставке кислорода во время ИК. Однако необходимы дальнейшие исследования, чтобы лучше охарактеризовать эффект этого вмешательства и любые потенциально связанные с ним побочные эффекты. Необходимо также отметить, что поддержание высокой или низкой инспираторной фракции кислорода, подаваемого в оксигенатор ИК, не влияет на частоту КХ-ОПП.

Общепринятой практикой является использование непульсирующего потока во время ИК, при этом высказано предположение, что более физиологичные методы пульсирующей перфузии могут быть протективными для почек и приводить к улучшению почечной функции и послеоперационного клиренса креатинина. Таким образом, использование цель-ориентированной доставки кислорода во время ИК для профилактики КХ-ОПП представляется разумной стратегией (средний уровень доказательности GRADE) [234].

– Пороговые значения гемоглобина и трансфузионная терапия

Периоперационная анемия, как и аллогенные трансфузии эритроцитсодержащих компонентов крови, независимо связаны с реализацией КХ-ОПП, поэтому выбор оптимального порога для интраоперационного

переливания крови имеет большое значение [193]. В рамках большого РКИ с участием 4531 кардиохирургического пациентов было продемонстрировано, что рестриктивная тактика трансфузионной терапии (триггерное значение гемоглобина = 75 г/л интраоперационно и в послеоперационном периоде) по сравнению с либеральным подходом (триггерное значение гемоглобина = 95 г/л интраоперационно или в отделении интенсивной терапии, или 85 г/л в общем отделении) уменьшала количество аллогенных трансфузий без увеличения риска развития ОПП [91]. Мета-анализ проведенных РКИ также поддерживает использование рестриктивного подхода к переливанию эритроцитсодержащих компонентов крови у взрослых пациентов, перенесших кардиохирургическое вмешательство в условиях ИК, что подтверждается отсутствием различий в сравнении с либеральной стратегией в частоте развития острого инфаркта миокарда, нарушений мозгового кровообращения, респираторных осложнений, ОПП, послеоперационных инфекций и 30-дневной летальности [67]. Тем не менее решение об использовании рестриктивной или либеральной стратегии периоперационного переливания эритроцитсодержащих компонентов крови не должно основываться на предположении о защите почек и снижении риска КХ-ОПП [234].

– Дистантное ишемическое прекондиционирование

Роль дистантного ишемического прекондиционирования (ДИП) в предотвращении КХ-ОПП противоречива. Экспериментальные данные и результаты небольших РКИ поддерживают применение ДИП для предотвращения КХ-ОПП, крупные многоцентровые РКИ не выявили различий в частоте послеоперационного ОПП в кардиохирургии. Возможно, что ДИП может быть полезен для профилактики ОПП в определенных субпопуляциях пациентов, для подтверждения этой гипотезы требуются дальнейшие исследования [77].

– Лейкоцитарная деплеция

Лейкоцитарная деплеция (ЛД) предполагает использование специализированных гемофильтров, снижающих содержание лейкоцитов и таким

образом нивелирующих развитие синдрома системной воспалительной реакции. В экспериментальных исследованиях продемонстрировано, что нейтрофилы и лейкоциты секвестрируются в паренхиме почек после опосредованного ишемией–реперфузией повреждения, что делает использования ЛД-фильтров для предотвращения ОПП потенциально оправданным. Мета-анализ, включающий шесть РКИ и 374 пациента, показал, что ЛД-фильтры могут снижать частоту aberrаций функции почек [262]. Однако размер выборки отдельных РКИ был недостаточен, также в исследованиях, включенных в мета-анализ, использовались различные определения ОПП. Недавний Кокрановский обзор не выявил положительного влияния применения ЛД-фильтров при оценке значимых клинически исходов — продолжительности нахождения в отделении интенсивной терапии и времени госпитализации [268].

– Отказ от использования ИК, off-pump хирургия

Оценка функции почек при операциях АКШ на работающем сердце и на фоне проведения ИК была подробно рассмотрена в крупном многоцентровом РКИ, включившем 4752 пациентов. Не было продемонстрировано различий в частоте послеоперационного ОПП. Аналогичные результаты были получены в двух других крупных многоцентровых РКИ, в которых сравнивались вмешательства на работающем сердце и операции, выполненные в условиях ИК [78].

– Стратегии периоперационной искусственной вентиляции легких

Проведение искусственной вентиляции легких является серьезным фактором риска развития ОПП во время критических состояний, особенно у пациентов с острой дыхательной недостаточностью. Стратегии ИВЛ во время проведения ИК были исследованы в ходе мета-анализа и обзора 16 РКИ, включавших 814 кардиохирургических пациентов. Постоянное положительное давление в дыхательных путях (CPAP) и маневр рекрутмента легких во время ИК улучшают показатели оксигенации непосредственно после отлучения от ИК, однако данный эффект является нестойким, а частота и тяжесть КХ-ОПП не были

исследованы в качестве конечных точек. Остается неясным, оказывают ли протективное действие на функцию почек определенные стратегии ИВЛ во время кардиохирургических вмешательств (до и после ИК). В настоящее время до получения результатов дальнейших исследований рекомендуется использовать уменьшенные дыхательные объемы, контролировать вентиляционное давление и применять стратегию протективной вентиляции легких, что в совокупности защищает легкие и может уменьшить неблагоприятные воздействия на функцию внешнего дыхания и почек [127].

– Имплементация рекомендаций KDIGO в комплексе периоперационного обеспечения

Сложная патофизиология КХ-ОПП делает маловероятным, что эффективная ренопротекция будет достигнута при использовании только одного фармакологического или немедикаментозного вмешательства. Предполагается, что целенаправленная терапия, включающая проведение комплекса вмешательств, основанных на руководящих принципах и клинических рекомендациях по периоперационному обеспечению пациентов с риском развития ОПП, может иметь значимое положительное воздействие на почечные исходы.

“Комплекс терапии KDIGO” включает в себя оптимизацию гемодинамического профиля и объемного статуса путем тщательного мониторинга (в том числе с использованием непрерывного мониторинга сердечного выброса), исключение или снижение использования нефротоксичных препаратов (таких, как рентгеноконтрастные препараты, аминогликозиды, апротинин и т.д.), контроль гликемии и предотвращение гипергликемии в течение первых 72 ч после операции, прекращение приема иАПФ и блокаторов рецепторов ангиотензина II в течение 48 ч после операции, тщательный мониторинг уровня креатинина в сыворотке крови и темпа диуреза.

Meersch и соавт. исследовали эффективность внедрения “комплексного лечения” в строгом соответствии с руководящими принципами KDIGO для предотвращения КХ-ОПП у пациентов высокого риска [185]. Данные пациенты

были идентифицированы в популяцию высокого риска с помощью панели биомаркеров ОПП. У пациентов с высоким риском развития КХ-ОПП данная стратегия значительно снизила частоту почечной дисфункции (55,1% против 71,7%; абсолютное снижение риска ОР 16,6%; 95% ДИ, 5,5–27,9; $P = 0,004$) и тяжесть ОПП (ОПП средней и тяжелой степени, 29,7% против 44,9%; ОР 15,2%; 95% ДИ 4,0–26,5; $P=0,009$) после кардиохирургических вмешательств в условиях ИК.

Недавно опубликованное многоцентровое РКИ исследовало возможность внедрения комплекса мер периоперационной терапии, основанных на рекомендациях KDIGO, у пациентов высокого риска, перенесших операцию на сердце в условиях ИК. В исследовании приняли участие 278 пациентов. Было продемонстрировано, что 65,4% пациентов в группе применения комплекса мер KDIGO получили полный пакет “комплекса терапии KDIGO” по сравнению с 4,2% в контрольной группе (ОР 61,2%; 95% ДИ 52,6–69,9; $P < 0,001$). Частота ОПП средней и тяжелой степени (т.е. стадия 2 и 3 ОПП) был значительно ниже в группе вмешательства, чем в контрольной группе (14,0% против 23,9%; ОР, 10,0%; 95% ДИ, 0,9–19,1; $P=0,034$) [317].

Группой Engelman и соавт. в рамках инициативы по улучшению качества медицинской помощи также продемонстрировано, что внедрение “комплекса терапии KDIGO” у пациентов с высоким риском значительно снижает частоту ОПП 2-й или 3-й стадии в кардиохирургии [82].

Обсервационное исследование, включавшее 12 госпиталей в Европе, показало, что в обычной клинической практике все компоненты рекомендаций KDIGO соблюдались только у 5,3% пациентов после операции на сердце [150].

Объединенный анализ Общества сердечно-сосудистых анестезиологов США показал, что использование “комплекса терапии KDIGO” не снижает общую частоту КХ-ОПП у пациентов высокого риска (очень низкий уровень доказательности GRADE), но значительно снижает частоту КХ-ОПП 2-й и 3-й стадии (умеренный уровень доказательности GRADE). Для окончательных

выводов необходимо более масштабное РКИ, однако предлагается рассмотреть возможность использования “комплекса терапии KDIGO” у пациентов с высоким риском развития ОПП после кардиохирургических вмешательств в условиях ИК [234].

1.3 Предиктивная диагностика острого почечного повреждения в кардиохирургии

1.3.1 Идентификация пациентов высокого риска кардиохирургических вмешательств

Несмотря на широкое внедрение концепции ОПП, стандартизацию определения и стратификации тяжести, настороженность клиницистов и своевременная диагностика этого состояния, особенно неолитурического варианта конечной презентации ОПП, часто остаются неудовлетворительными, что приводит к увеличению числа пациентов с прогрессирующей ХБП [18, 184].

Методические рекомендации, клинические руководства и научные исследования, сфокусированные на проблеме КХ-ОПП, указывают на важность изучения патогенетических механизмов реализации ОПП, своевременной предиктивной идентификации пациентов высокого риска КХ-ОПП, а также поиск и совершенствование периоперационных стратегий по предупреждению КХ-ОПП. Согласно последним рекомендациям междисциплинарного консорциума специалистов современную парадигму клинической диагностики ОПП необходимо рассматривать как непрерывный континуум диагностического поиска, далеко не ограничивающегося констатацией факта ОПП и описанием субъективных и объективных симптомов, а также включающим анализ факторов риска и установлением исходов ОПП [19]. Помимо классической презентационной верификации (установление факта состоявшегося ОПП и его

осложнений, определение патогенетических вариантов и проведение дифференциальной диагностики) крайне важным аспектом диагностики ОПП является ее предиктивный этап. Предиктивная диагностика подразумевает оценку клинического статуса пациента, которому потенциально угрожает почечная дисфункция, эпидемиологических данных, факторов риска, ассоциированных с ОПП состояний, а также исследование лабораторных биомаркеров субклинического почечного повреждения. Прогнозируемая вероятность развития ОПП оценивается с учетом указанных данных, таким образом, предиктивная диагностика ОПП является доклинической и проводится в «режиме ожидания». Высокую вероятность развития ОПП рекомендуется учитывать при первичном поражении почек, экстраренальной патологии, критических состояниях и при подготовке к оперативным вмешательствам [19]. Определение популяции кардиохирургических пациентов высокого риска также необходимо для широкого внедрения и активного применения в клинической практике периоперационного обеспечения и интенсивной терапии протоколов KDIGO для предотвращения органного повреждения. Продемонстрировано, что раннее начало целенаправленной терапии ОПП способствует более быстрому восстановлению функции почек и ассоциировано с лучшими клиническими исходами [137].

Предоперационный скрининг для идентификации кардиохирургических пациентов группы высокого риска КХ-ОПП является крайне важным для адекватной стратификации риска, оптимизации профилактических мероприятий, определения потенциально модифицируемых факторов риска, проведения предиктивной диагностики, реализации стратегий целенаправленной терапии и ранней идентификации пациентов с развившимся ОПП [178]. В кардиореаниматологической практике идентификация пациентов высокого риска КХ-ОПП способствует настороженности клиницистов, что позволяет оптимизировать фармакологические методы интенсивной терапии, в частности, заблаговременно исключать применение потенциально нефротоксических лекарственных препаратов, выбирать альтернативные методики визуализации с

ограничительным и более рациональным применением рентгеноконтрастных веществ, оптимизировать послеоперационное ведение с акцентом на поддержание адекватного гидробаланса и перфузионного давления. В качестве мер по предотвращению ОПП у пациентов высокого риска необходима также коррекция доз препаратов с преимущественно почечными механизмами экскреции, исключение назначения препаратов с активными метаболитами, а также оценка целесообразности назначения препаратов с нефропротективными свойствами. Высокий риск почечных осложнений в послеоперационном периоде может служить триггером для дифференцированного подхода к выбору обезболивающих средств в послеоперационном периоде, в частности, необходимо учитывать потенциальные негативные эффекты нестероидных противовоспалительных средств на почечную функцию [128].

Предоперационная стратификация степени риска КХ-ОПП важна для определения критериев инициации ЗПТ, ее модальности, а также условий ее отмены. В 2013 году Национальным институтом повышения качества здравоохранения Великобритании были опубликованы рекомендации, где был отмечен недостаток данных с высокой доказательной силой для формирования точных и однозначных критериев инициации ЗПТ. Консенсус экспертов указал на необходимость создания шкал для ранней идентификации пациентов с высоким риском развития и тяжелого течения ОПП [208].

Превентивные стратегии, по мнению экспертной группы по предотвращению ОПП Европейского общества интенсивной терапии, могут улучшить исходы вмешательств. При этом эффективность профилактических технологий напрямую зависит от предоперационной идентификации пациентов высокого риска почечных осложнений [128].

Предоперационные факторы риска КХ-ОПП известны, однако по-прежнему четко не стратифицированы. Концепция превентивной (профилактической) медицины подразумевает «точную медицину», а, следовательно, данный подход должен быть превентивным, персонализированным и предсказательным [19]. При

этом понятие о факторах риска в контексте превентивной медицины претерпело существенные изменения. Современный диагностический континуум ОПП рассматривает факторы риска не в качестве непосредственных причин органной дисфункции, а как предсуществующих условий, на фоне которых реализуются неблагоприятные факторы периоперационного периода. Факторы риска ОПП в кардиохирургии условно разделяются на 2 категории: 1) пациент-зависимые, или немодифицируемые, конституциональные факторы, имеющиеся у пациента; 2) операция-связанные, или модифицируемые факторы риска развития ОПП, в той или иной степени обусловленные ятрогенными воздействиями (неблагоприятными факторами периоперационного периода). Некоторые авторы указывают на большую предиктивную способность пациент-зависимых факторов риска по сравнению с факторами риска, связанными с кардиохирургической операцией, однако для кардиохирургической популяции пациентов это неочевидно [136]. Предиктивная диагностика, базирующаяся на анализе факторов риска и ассоциированных состояний, предполагает отнесение пациента к определенной группе риска. Уровень риска развития ОПП у пациента важен для определения исходного функционального состояния почек (концентрация креатинина крови, скорость клубочковой фильтрации (СКФ)), организации динамического контроля за показателями почечной функции (согласно рекомендациям KDIGO), а также для обоснования применения лабораторных маркеров ОПП (в том числе при субклиническом варианте презентации ОПП). Анализ факторов риска и формирование картины преморбидного фона пациентов при презентационной диагностике ОПП (на фоне состоявшегося ОПП) важен для разработки оптимального плана лечебных интервенций, в том числе для принятия существенных тактических решений (например, о ранней инициации ЗПТ), и для определения прогноза в раннем и отдаленном послеоперационном периодах.

Ассоциация нефрологов и Ассоциация анестезиологов-реаниматологов РФ предлагает определять риск развития ОПП как комбинацию факторов риска и ассоциированных состояний с последующей оценкой и отнесением пациента к

соответствующей группе низкого, среднего или высокого риска [18] При этом выделяется отдельная группа состояний, которые чаще всего ассоциируются с развитием КХ-ОПП. Отмечается, что они имеют значение как в предиктивной, так и в презентационной диагностике. Эти взаимосвязи остаются актуальными для всех типов кардиохирургических вмешательств [59]. Исходная ХБП у пациентов, которым планируется вмешательство на сердце, является сильным и независимым фактором риска развития КХ-ОПП и негативного прогноза.

В настоящее время предоперационная почечная дисфункция и базальный уровень креатинина рассматриваются как значимые факторы риска неблагоприятных исходов во всех валидизированных в клинической практике шкалах стратификации риска осложнений в кардиохирургии: EuroSCORE-II (European System for Cardiac Operative Risk Evaluation), STS Score (The Society of Thoracic Surgeons), Mehta Score, шкала Wijeyesundera и соавт., CCFARF score (Cleveland Clinic Foundation acute renal failure score), шкала Ng и соавт., шкала и онлайн-калькулятор Birnie и соавт. [244, 245].

Наиболее распространенные конституциональные факторы риска ОПП в кардиохирургии: возраст, предрасполагающая хроническая болезнь почек. Кроме того, мужской пол, негроидная раса, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, высокий индекс массы тела, предоперационная анемия (снижение гемоглобина менее 130 г/л у мужчин и менее 120 г/л у женщин), сопутствующие заболевания (тяжелая сердечная недостаточность, хроническая обструктивная болезнь легких, злокачественное новообразование, заболевание печени) связаны независимо друг от друга с более высоким риском КХ-ОПП.

Большинство исследователей относят вмешательство по экстренным показаниям к немодифицируемым факторам риска послеоперационного ОПП. S. Kheterpal и соавт. в исследовании с участием 57 075 пациентов показали, что срочная хирургическая операция увеличивала риск ОПП со скорректированным коэффициентом опасности 1,9 (1,5–2,3) по сравнению с плановой хирургией [105, 140]. Частота ОПП, ассоциированного с кардиохирургической операцией, при

плановых вмешательствах коррелирует с исходным состоянием почечной функции, при экстренных операциях такая взаимосвязь не прослеживается. Сложность и продолжительность операции, применение аппарата ИК, интраоперационное кровотечение, нестабильность гемодинамики во время операции являются наиболее очевидными факторами, способствующими ОПП, ассоциированному с кардиохирургической операцией [59, 113]. Отдельно выделяются факторы, характерные для кардиохирургии: длительность пережатия аорты, продолжительность и температурный режим ИК, характер кровотока при ИК, выраженность ассоциированного с ИК гемолиза, гемодилюция и другие факторы, независимо увеличивающие риск послеоперационного ОПП. Отдельно среди факторов риска ОПП выделяют продленное (более 180 мин) ИК, продленную (более 48 ч) искусственную вентиляцию легких, потребность в высокой инотропной поддержке и ее длительность, необходимость в экстракорпоральной поддержке жизни и другие [113].

Основные факторы риска развития ОПП в послеоперационном периоде: манифест сепсиса, синдром низкого сердечного выброса, вазоплегия и послеоперационная гипотензия, гиповолемия, кровотечение и гемотрансфузия [151].

1.3.2 Стратификация факторов риска КХ-ОПП

Необходимо отметить, что многие стратификационные модели разработаны до консенсусного определения ОПП, соответственно их клиническая имплементация в современной парадигме клинической практики имеет ограничения.

– Модель Ассоциации нефрологов и Ассоциации анестезиологов-реаниматологов России

Ассоциация нефрологов и Ассоциация анестезиологов-реаниматологов России предлагает определять риск развития ОПП как комбинацию факторов

риска и ассоциированных состояний с последующей оценкой и отнесением пациента к соответствующей группе низкого, среднего или высокого риска [17]. Данная схема разработана для широкого круга пациентов общесоматического профиля и не валидизирована в кардиохирургии.

– Шкала EuroSCORE-II

Недостатком EuroSCORE-II, помимо ориентированности на узкую когорту пациентов с АКШ, является ее фокусирование на прогнозировании летального исхода, что коррелирует, но не идентично частоте послеоперационного ОПП. Таким образом, применение рутинной шкалы EuroSCORE-II не позволяет идентифицировать популяцию высокого риска.

– Шкала STS

Общество торакальных хирургов (англ. Society of Thoracic Surgeons, STS) для оценки и стратификации степени хирургического риска, связанного с кардиохирургическим вмешательством, предложило калькулятор прогнозируемой частоты неблагоприятных клинических событий.

Степень хирургического риска и прогнозируемая частота неблагоприятных клинических событий у кардиохирургических пациентов формируется количественно в виде процентной вероятности в итоговой сводной таблице. Шкала STS используется для предиктивной диагностики органных осложнений в кардиохирургии [270]. Главным недостатком является несоответствие определения ОПП, заложенного в математическую модель для расчета, текущей парадигме ОПП и универсальному определению группы KDIGO. Таким образом, выделение популяции высокого риска КХ-ОПП на основании предиктивной модели STS не корректно.

– Шкала Клиники Кливленда

Среди текущих моделей для прогнозирования диализ-зависимого ОПП шкала Клиники Кливленда (англ. Cleveland Clinic Foundation Acute Renal Failure Score) является наиболее проверенной и широко применяемой в сердечно-сосудистой хирургии. Общеизвестно, что шкала Клиники Кливленда имеет

лучшую предсказывающую способность и дискриминацию для 3-й стадии КХ-ОПП, требующей проведения ЗПТ. Выделено четыре категории риска диализ-зависимого ОПП в кардиохирургии. Отмечена линейная зависимость между увеличением категории риска пациентов в баллах и частотой послеоперационного диализа во всех четырех группах от 0,5 до 22,1 %. Еще в 2005 г. авторы предлагали индивидуализированный подход к периоперационному менеджменту, основанному на оценке риска по шкале Клиники Кливленда [276].

1.3.3 Хроническая болезнь почек как фактор риска в кардиохирургии

ХБП является независимым предиктором внутрибольничной смертности и осложнений послеоперационного периода, при этом более тяжелые стадии ХБП напрямую связаны с ухудшением клинических исходов [116]. Даже минимальный, не выходящий за границы диапазонов референтных значений прирост концентрации сывороточного креатинина или снижение СКФ в предоперационном периоде связан с повышением летальности, частоты инфекционных осложнений, потребности в ЗПТ и большими цереброваскулярными катастрофами [263]. Пациенты с предоперационным нарушением функции почек представляют группу повышенного риска развития послеоперационного КХ-ОПП [115]. Увеличение исходного сывороточного креатинина на каждые 88 мкмоль/л увеличивает риск развития послеоперационного ОПП в 4,8 раза. Указанная взаимосвязь прослеживается у пациентов кардиохирургического профиля даже в случаях изолированной бессимптомной протеинурии без предоперационного снижения расчетной СКФ [119, 168]. Увеличение частоты осложнений и повышение летальности, связанные с ОПП на фоне ХБП, связаны независимо друг от друга, при этом наблюдается потенцирование отрицательных эффектов при развитии ОПП на фоне ХБП [171].

1.4 Оксид азота в кардиохирургии

1.4.1 Общебиологическое значение оксида азота

Непосредственное изучение сигнальной роли NO началось с установления в 70-х годах 20 века цГМФ-зависимого пути реализации сосудорасширяющего эффекта нитро-соединений [31]. В 1992 году журнал «Science» назвал оксид азота молекулой года [147]. В 1998 году за открытие роли оксида азота как сигнальной молекулы в сердечно-сосудистой системе Роберту Ферчготту (Университет штата Нью-Йорк), Фериду Мьюрэду (Техасский университет в Хьюстоне) и Луису Игнарро (Калифорнийский университет в Лос-Анджелесе) была присуждена Нобелевская премия в области физиологии и медицины. Стало понятно, что функция циклизации гуанозинмонофосфата является на самом деле первичным эффекторным звеном каскада, управляемого оксидом азота.

В организме человека NO образуется только в присутствии специфической оксигеназы — синтазы оксида азота (NOS). Биологическим субстратом для синтеза служит аминокислота L-аргинин, окисление которой до L-цитруллина и NO катализируют NO-синтазы [59]. У человека идентифицированы три изоформы NOS: эндотелиальная NOS (e-NOS, или NOS3 — преимущественно встречается в эндотелии сосудов) и нейрональная NOS (n-NOS, или NOS1 — встречается в нейронах), являющиеся конститутивными, и индуцибельная NOS (i-NOS, или NOS2 — встречается в клетках иммунной системы). Все разновидности NO-синтаз могут встречаться в эндотелиальных и гладкомышечных клетках, а также в кардиомиоцитах [58].

Интерес к механизмам ауторегуляции местного кровотока возник, когда было обнаружено, что клетки эндотелия кровеносных сосудов выделяют химический фактор, способный вызывать релаксацию кровеносных сосудов. Данный фактор получил название «endothelium-derived relaxing factor» (EDRF) —

эндотелий-высвобождаемый фактор релаксации. Было показано, что EDRF реализует свои эффекты через активацию растворимой гуанилатциклазы в клетках гладких мышц, что приводит к увеличению уровня циклического гуанозин-3,5-монофосфата (цГМФ). Кроме того, была обнаружена способность EDRF ингибировать агрегацию тромбоцитов. При дальнейшем изучении было установлено, что EDRF обладает фармакологическими, биохимическими и химическими свойствами оксида азота. NO-зависимому механизму трансмембранной трансляции сигнала не требуется посредничество G-белка ввиду высокой диффузионной способности оксида азота. Увеличение концентрации цГМФ активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу G. Это вызывает выход кальция (Ca^{2+}) из саркоплазматического ретикулума в цитоплазму через кальциевые каналы [304] и ингибирует Ca^{2+} -АТФ-азу саркоплазматического ретикулума, что приводит к увеличению транспорта Ca^{2+} из цитоплазмы [145]. Результат указанных реакций состоит в снижении уровня кальция в цитоплазме гладкомышечной клетки. Затем снижается активность Ca^{2+} -зависимой киназы легких цепей миозина, что приводит к релаксации гладкой мускулатуры [79]. Дисбаланс системы паракринной регуляции имеет отчетливые клинические последствия, так, у пациентов с артериальной гипертонией значительно снижен уровень кросс-метаболитов NO (нитраты и нитриты), более того, уровень артериального давления обратно пропорционален их концентрации [177].

В эндотелии кровеносных сосудов присутствует конститутивная e-NOS, уровень активности которой регулируется концентрацией ионов кальция с участием кальмодулина [58]. Возрастание внутриклеточной концентрации кальция немедленно активирует синтез NO. Конечным эффектом увеличения внутриклеточной концентрации NO является активация растворимой гуанилатциклазы, что снижает уровень кальция в клетке и приводит к расслаблению гладких мышц стенки кровеносных сосудов.

Примечательно, что от концентрации кальция зависит активность только конститутивных NOS, в то время как на i-NOS изменение концентрации Ca^{2+} не влияет и регуляция активности фермента осуществляется через генетические механизмы.

Цитотоксические свойства NO были реализованы в процессе филогенеза для создания первой линии защиты организма от чужеродных агентов — системы неспецифического (врожденного) иммунитета. Тканевые макрофаги, являющиеся основными клетками системы, реализуют свои эффекты через пероксинитрит-зависимый механизм цитотоксичности с одновременным запуском синтеза супероксидного анион-радикала и оксида азота [250]. В области фагосомы наблюдается высокий уровень пероксинитрита, необходимый для уничтожения патогенного микроорганизма.

Оксид азота, являясь самой маленькой энзиматической молекулой, продуцируемой клетками млекопитающих, обладает колоссальной диффузионной способностью и филогенетически приспособлен для участия в сигнальных каскадах в качестве универсального трансммиттера [207]. Для молекулы NO практически не существует структурных барьеров, что в совокупности с высокой реакционной способностью делает ее идеальным мессенджером межклеточных и межтканевых взаимодействий: NO вызывает релаксацию гладкомышечного слоя сосудистой стенки, оказывает самостоятельное ингибирующее влияние на локальную агрегацию тромбоцитов, тормозит активацию и адгезию лейкоцитов и выделение ими воспалительных и активирующих тромбоциты хемокинов. Комплексное действие локально выделившейся порции NO проявляется в поддержании кровотока на данном участке микроциркуляторного русла. Оксид азота, выступая в качестве медиатора паракринной сигнализации, имеет период жизни 3–5 секунд, что способствует эффективному удалению избытка сигнального агента в биологических системах [207].

В кардиомиоцитах представлены все три известные изоформы NO-синтазы: n-NOS, i-NOS и e-NOS, при этом интересно их внутриклеточное распределение:

n-NOS локализуется в саркоплазматической сети, в то время как e-NOS — на поверхности клеточной мембраны. Конститутивные изоформы моделируют активность кардиомиоцитов при физиологических состояниях через усиление n-NOS реакции на α -адренергическую стимуляцию, или, наоборот, ее подавление через активацию e-NOS. При этом i-NOS активизируется при патологических состояниях [36]. Физиологические низкие концентрации NO увеличивают сократимость миокарда, в то время как патологически высокие концентрации обладают отрицательным инотропным действием, нарушая функцию потенциал-зависимых кальциевых каналов [220].

1.4.2 Фармакологические свойства оксида азота

NO резко расслабляет гладкую мускулатуру сосудов, приводя к расширению сосудов легких без заметного гемодинамического действия на внелегочные сосуды («избирательная легочная вазодилатация»). К тому же NO расширяет гладкие мышцы суженных бронхов, что может улучшить артериальную оксигенацию у пациентов с гипоксемией за счет уменьшения внутрилегочного шунтирования и улучшения согласования вентиляции и перфузии. Избирательное легочное сосудорасширяющее действие NO было подтверждено на различных моделях животных, у пациентов с острой альвеолярной гипоксией и у пациентов с легочной артериальной гипертензией, вызванной сужением сосудов легких. Однако из-за его короткого периода полураспада длительная вазодилатация требует постоянной доставки NO в легкие. При этом прекращение терапии NO может привести к серьезным реакция отмены с эффектом рикошета и, возможно, тяжелой вазоконстрикции. Дозозависимый бронходилататорный эффект NO был продемонстрирован у анестезированных животных, у добровольцев и пациентов с активным бронхоспазмом. Даже при высоких дозах NO, используемых в этих исследованиях

(80 ppm), бронходилататорный ответ NO был меньше, чем последующее вдыхание стандартного $\beta 2$ -агониста.

1.4.3 Текущая парадигма клинического применения оксида азота в кардиохирургии

Молекула NO имеет короткий период полураспада, не попадает в системный кровоток и не оказывает системного воздействия на артериальное давление. Однако возможная реализация внелегочных эффектов NO связана с накоплением его метаболитов в отдаленных органах [265]. В настоящее время NO используется для лечения легочной гипертензии, а также в качестве «терапии спасения» у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) [70]. ОРДС характеризуется усилением внутрилегочного шунтирования крови через гиповентилируемые области и увеличением легочного сосудистого сопротивления, причем в 21% случаев у пациентов с ОРДС развивается острая недостаточность правого желудочка [259]. NO за счет снижения легочного сосудистого сопротивления может использоваться для терапии гипоксемии при ОРДС [316]. Несмотря на улучшение показателей оксигенации, NO не снижает смертность и может даже быть вредным из-за увеличения частоты ОПП у пациентов с ОРДС [92]. Аналогичные данные были получены при ОРДС, ассоциированном с COVID-19 [26]. Современные рекомендации не предусматривают рутинное применение NO у пациентов, находящихся на ИВЛ [240]. При этом NO широко используется для лечения легочной гипертензии (ЛГ). При персистирующей ЛГ новорожденных NO улучшает артериальную оксигенацию и системную гемодинамику и снижает потребность в экстракорпоральной мембранной оксигенации [154]. Применение NO после корригирующих операций при врожденных пороках сердца снижает риск развития кризов ЛГ и сокращает сроки пребывания пациентов в отделениях

реанимации и интенсивной терапии [143]. ЛГ увеличивает заболеваемость и смертность во взрослой популяции кардиохирургических пациентов. NO применяется у данной категории больных для предотвращения недостаточности правого желудочка (ПЖ) и кардиогенного шока, увеличения выброса ПЖ, снижения риска дисфункции ПЖ и улучшения выживаемости пациентов с ЛГ после трансплантации сердца [172]. Использование NO в кардиохирургии обладает важными физиологическими эффектами: селективная легочная вазодилатация снижает постнагрузку ПЖ и оптимизирует производительность и потребность миокарда в кислороде, оказывая кардиопротекторный эффект. Снижая постнагрузку ПЖ, NO может оказывать защитное действие на функцию почек за счет снижения давления наполнения в правых камерах сердца и предотвращения застоя в почечных венах [74].

На сегодняшний день наиболее обширная доказательная база в пользу применения NO имеется в когорте педиатрических пациентов. Американская ассоциация сердца и Американское торакальное общество рекомендуют применение ингаляционного NO для уменьшения необходимости в ЭКМО-поддержке у доношенных и недоношенных детей с персистирующей неонатальной ЛГ или гипоксемической дыхательной недостаточностью; терапия NO может быть использована для улучшения оксигенации у младенцев с врожденной диафрагмальной грыжей и тяжелой ЛГ, но должна применяться с осторожностью у пациентов с подозрением на дисфункцию левого желудочка [22]. Лечение NO также может быть эффективным у новорожденных с установленной бронхолегочной дисплазией и симптоматической ЛГ [22]. NO при использовании в условиях ОРИТ может быть полезен у пациентов с острым легочно-сосудистым кризом и/или острым обострением ЛГ на фоне основного заболевания паренхимы легких. Применение NO может быть рассмотрено для лечения послеоперационной ЛГ у пациентов, находящихся на ИВЛ, для улучшения оксигенации и снижения риска развития криза ЛГ [106]. NO следует использовать в качестве стартовой терапии недостаточности ПЖ после

хирургической коррекции врожденных пороков сердца [22]. NO используется для проведения теста острой вазореактивности для определения обратимости ЛГ у пациентов, готовящихся к проведению кардиохирургического вмешательства, или кандидатов на трансплантацию сердца [139]. Преходящие изменения тонуса легочных сосудов могут способствовать дисфункции ПЖ или гипоксемии при кардиохирургических вмешательствах у взрослых, применение NO приводит к улучшению функции ПЖ и увеличению сердечного выброса, снижению сопротивления легочных сосудов, снижению давления в легочной артерии и оптимизации вентиляционно-перфузионного сопряжения в легких [269, 298]. NO широко используется для лечения ЛГ, правожелудочковой недостаточности и гипоксемии у взрослых кардиохирургических пациентов. Ингаляционное применение NO увеличивает вероятность успешного отлучения от ИК, уменьшает потребность в инотропных препаратах или вазопрессорной поддержке, уменьшает продолжительность послеоперационной ИВЛ и сокращает продолжительность пребывания в ОРИТ после кардиохирургических вмешательств в условиях ИК [88]. Применение NO у реципиентов трансплантата сердца приводит к снижению давления в легочной артерии и улучшению гемодинамических показателей, но не влияет на долгосрочную выживаемость. Также имеется мало доказательств, подтверждающих долгосрочную пользу NO у пациентов с трансплантацией легких, однако некоторые международные медицинские профессиональные сообщества оценивают эффективность NO как высокую и рекомендуют государственную медицинскую страховку для ингаляционной терапии NO во время трансплантации легких [315]. Терапевтический потенциал NO в сочетании с хорошим профилем безопасности оправдывает его применение, несмотря на отсутствие окончательных доказательств, подтверждающих улучшение отдаленных результатов или выживаемости среди кардиохирургических пациентов, пациентов с трансплантацией сердца, пациентов с трансплантацией легких и пациентов, перенесших имплантацию устройств механической поддержки кровообращения [249]. Несмотря на почти 30-летнюю историю

применения, до сих пор нет убедительной доказательной базы и четких рекомендаций по применению NO в кардиохирургии [121]. Нет достаточных доказательств для достижения консенсуса относительно дозировки, продолжительности терапии или влияния на исходы лечения пациентов даже при рутинных показаниях [148]. Относительно недавние клинические данные об эффективности NO в рамках периоперационных стратегий защиты органов в кардиохирургии приводят клинициста и ученого к настоящей “terra incognita” [59]. Вероятно, до формирования научно обоснованного взгляда и четких практических рекомендаций, а также внедрения их в повседневную клиническую практику предстоит пройти еще долгий путь. На данный момент это довольно перспективная область для будущих исследований.

1.4.4 Механизмы органопротективных эффектов оксида азота

В последние годы ведущая роль NO в реализации феноменов ишемического, фармакологического и дистантного прекондиционирования для адьювантной кардиопротекции стала предметом пристального изучения [45]. Масштабный анализ влияния NO на степень ишемически-реперфузионного повреждения миокарда показал, что ингибирование эндогенной активности NOS усугубляет повреждение миокарда, в то время как доставка экзогенного NO оказывает кардиопротективное действие [51]. Прекондиционирование является защитным механизмом адаптации органов и тканей после воздействия эпизодов сублетальной стимуляции повреждающими агентами. Ранняя фаза ПК развивается в течение нескольких минут после кратковременного повреждающего воздействия, такого, как ишемия, фармакологические агенты или гуморальные стимулы.

Исследования эффектов ранней фазы ПК, вызванных ишемией, показали, что ингибирование синтеза эндогенного NO препятствует развитию раннего ПК

[175]. Экзогенный NO оказывает сопоставимое с ПК защитное действие на миокард [205]. Проведенные к настоящему времени экспериментальные исследования эффективности подачи NO в контур аппарата ИК для защиты миокарда выявили цитопротекторный эффект, заключающийся в уменьшении зоны инфаркта при моделировании ишемии-реперфузии [6]. Раннее ПК является многофакторной адаптивной реакцией и может быть вызвано физическими, химическими и метаболическими сигналами. Во время сублетального стресса ПК запускается высвобождением NO, аденозина, брадикинина, опиоидных агонистов, активных форм кислорода (АФК) и катехоламинов [46].

Эффекты ранней фазы ПК проявляются в течение 1–2 ч после повреждающего воздействия, в то время как стимулы ПК могут индуцировать отсроченную фазу кардиопротекции через 12–24 ч после повреждающего стимула и обеспечивать защиту миокарда в течение 72 ч [52].

Важно отметить разницу между триггерами позднего ПК и медиаторами позднего ПК. Имеющиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что для развития протективных эффектов позднего ПК требуется присутствие как NO, так и O₂. Ряд авторов идентифицируют NO в качестве химического сигнала, который опосредует трансформацию сердечного фенотипа в защитный в ответ на ишемическое повреждение или интенсивное стрессовое воздействие другой этиологии. Вероятно, e-NOS действует как источник генерации эндогенного NO, который действует как медиатор поздней фазы ПК. Эта гипотеза подтверждается и тем, что реализация феномена позднего ПК блокируется введением неселективных ингибиторов NO-синтазы [53]. После воздействия ишемического стимула наблюдается резкое повышение экспрессии кальцийзависимой NOS, при этом поздняя стадия ПК также блокируется неселективными ингибиторами NOS [309].

Изолированное введение доноров NO даже в отсутствии ишемической стимуляции вызывает выраженный кардиопротекторный эффект, аналогичный эффектам поздней фазы ПК. NO-опосредованный инфаркт-лимитирующий и

антиаритмические эффекты, а также эффект предотвращения миокардиального станнинга сравнимы с эффектами сублетальных ишемических стимулов. Эти факты подтверждают не только необходимость, но и достаточность воздействия NO для индуцирования позднего ПК [99].

Сигнальный путь NO-опосредованной индукции поздней фазы ПК включает генерацию активных форм кислорода, активацию протеинкиназы C^e (PKC e), тирозинзависимой протеинкиназы, активацию В-клеток и активацию гена i-NOS [275, 285]. Повышенная экспрессия i-NOS при ишемическом ПК возможна посредством активации тирозинкиназы JAK1/2 и активации транскрипции сигнального пути фактора STAT1/3 [308]. Примечательно, что активация данного сигнального пути приводит к реализации защитных эффектов ПК при ишемии [51]. Убедительно показано, что ишемическое ПК индуцирует экспрессию белков i-NOS, повышает ее активность в течение 24 ч после стимуляции и приводит к реализации кардиопротекторных эффектов позднего ПК [291]. I-NOS является медиатором нескольких форм фармакологического ПК, включая опосредованное аденозином, опиоидами и производными эндотоксина [100, 321].

Цитопротекция поздней фазы, опосредованная iNOS, происходит с участием двух различных изоформ NOS. Концептуальная модель предполагает наличие механизма обратной связи, при участии которого NO, вырабатываемый e-NOS, может регулировать активность i-NOS. Постулируется, что NO, вырабатываемый e-NOS, индуцирует позднюю фазу ПК в первые сутки после воздействия агрессивных факторов, а дальнейшая генерация NO обеспечивается i-NOS, что активирует защиту от ишемии-реперфузии в течение следующих 24–72 ч [98, 321].

Гипотеза об участии NO в позднем ПК дает представление о роли изоформ NOS. e-NOS способна активироваться с помощью Ca^{2+} -зависимых и Ca^{2+} -независимых механизмов, которые актуальны для немедленного, но кратковременного адаптивного ответа [144]. Напротив, экспрессия i-NOS

индуцируется при активации стрессом и не требует целевых уровней Ca^{2+} или других изменений клеточного гомеостаза [144]. Это определяет роль i-NOS для отсроченного, но продолжительного адаптивного ответа. Когда повреждающий стимул воздействует на неподготовленный миокард, e-NOS мобилизует немедленный всплеск биосинтеза NO для преодоления острой фазы кризиса [97]. Для этого требуется повышенный уровень NO в течение длительного периода, который поддерживается активацией i-NOS, которая опосредует кардиопротекторный эффект при сердечной адаптации на поздних этапах ПК [97]. Таким образом, клетки миокарда реагируют на стресс двухфазным образом, используя e-NOS в качестве немедленной и краткосрочной защиты, а i-NOS — в качестве отсроченной, но долгосрочной адаптации.

К настоящему времени предложено много гипотез для объяснения органопротективного эффекта NO при ишемически-реперфузионном повреждении, но точный механизм остается неясным (Таблица 1) [51].

Таблица 1 – Механизмы NO-опосредованной органопротекции

Наиболее вероятные
1. Ингибирование инфлюкса Ca^{2+} и ограничение перегрузки кальцием 2. Антагонизм с β -адренергической стимуляцией 3. Снижение сократительной способности 4. Открытие саркоплазматических и митохондриальных каналцев kATP: а) снижение потребления миокардом O_2 и глюкозы посредством обратимого ингибирования дыхательной цепи б) сохранение АТФ и пула адениновых нуклеотидов 5. Антиоксидантное действие 6. Активация ЦОГ-2, синтез цитопротекторных простагландинов
Менее вероятные
1. Сохранение эндотелийзависимой вазодилатации 2. Выработка “сигнального” количества АФК с ограничением окислительного стресса и нивелированием феномена “no-reflow” 3. Уменьшение компартментализации воспаления в миокарде: а) уменьшение инфильтрации лейкоцитами б) снижение секреции цитокинов и экспрессии молекул адгезии

На сегодняшний день основным путем, реализующим кардиопротекторный фенотип, считается путь NO-зависимой активации растворимой гуанилатциклазы с образованием циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), конечной точкой которого является активация протеинкиназы G (PKG) [182, 290]. На последней стадии цитозольной передачи сигналов PKG воздействует на митохондрии, что приводит к открытию митохондриальных калиевых каналов (mitoKATP) и ингибированию митохондриальной поры переменной проницаемости (mPTP), которые являются молекулярными эффекторами ПК, индуцирующими защиту митохондрий при ишемии-реперфузии [103, 258]. Известен еще один механизм защиты миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения, который представляет NO-зависимую стимуляцию активности циклооксигеназы 2 типа (ЦОГ-2) с последующей выработкой цитопротекторных простагландинов [264].

Терапевтическое применение NO может уменьшить феномен невозобновленного кровотока (“no-reflow”) [294], снижать инфильтрацию лейкоцитами, высвобождение цитокинов и экспрессию молекул адгезии, что предотвращает компартментализацию воспаления в миокарде [228]. Плюрипотентные эффекты NO вне внутримитохондриального сигнального пути усиливают его защитные свойства по отношению к миокарду. Помимо сигнального пути классического пре- и посткондиционирования, NO играет ключевую роль в кардиопротекции, индуцируемой фармакологическими препаратами. Терапия статинами приводит к изменению профиля экспрессии e-NOS, что оказывает благоприятное влияние как на течение основного заболевания сердца, так и на его толерантность к стрессовым и экстремальным воздействиям [158]. Рядом исследований подтверждено NO-опосредованное защитное действие статинов во время реперфузии [129]. Индукция i-NOS является центральным механизмом реализации защитных эффектов ингибиторов фосфодиэстеразы [257].

Значимость феномена отсроченной органопротекции может иметь большее клиническое значение, чем ранняя фаза ПК, их различия указаны в таблице 2.

Таблица 2 – Роль оксида азота в реализации феномена раннего и позднего прекондиционирования. Сравнение роли NO в раннем и позднем прекондиционировании

-	Раннее прекондиционирование	Позднее прекондиционирование
Роль NO	Триггер	Триггер и медиатор
Время реализации эффекта	5 мин	24 ч
Продолжительность эффекта	1–2 ч	48 ч
Сигнальные изоформы NOS	e-NOS	i-NOS e-NOS
Вторичный мессенджер	цГМФ-независимый механизм	цГМФ-зависимый механизм
Эффекты на клеточном уровне	Оптимизация биоэнергетики, ионного обмена и метаболизма	Активация транскрипции, синтез белка de novo, посттранскрипционные модификации
Эффекты на уровне тканей/органов	Экстренная немедленная адаптация	Фенотипический репрограмминг
Физиологические эффекты	- Антиаритмический - Цитопротективный - Эндотелий-протективный	- Цитопротективный - Предотвращение развития и уменьшение тяжести станнинга - Ускорение реверсии постишемической дисфункции - Антиаритмический - Антиапоптотический - Эндотелий-протективный
Клинические эффекты	- Повышение порога развития аритмий - Уменьшение размера инфаркта в зоне ишемии- реперфузии	- Уменьшение размера инфаркта в зоне ишемии- реперфузии - Сохранение сократительной функции - Повышение порога возникновения аритмий

Примечание: NO - оксид азота; цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат; e-NOS - эндотелиальная синтаза оксида азота; i-NOS - индуцируемая синтаза оксида азота.

1.4.5 Оксид азота и preconditioning почек

Высокий уровень метаболизма и анатомия сосудистой сети делают почки чрезвычайно чувствительным органом к недостатку поступления кислорода и ишемически-реперфузионному повреждению [190]. Крайне актуальным является разработка клинических стратегий, основанных на реализации ПК. Суть феномена ПК в почечной паренхиме аналогична таковой в миокарде и заключается в коротких циклах сублетального повреждения, которые способствуют формированию ренопротекторного фенотипа. В частности, дистанционное ишемическое preconditioning — это феномен, при котором короткий период ишемии-реперфузии обеспечивает толерантность к последующим периодам ишемии [55]. ДИП является распространенным вариантом индуцированной адаптации почек. Данный вариант ПК запускается короткими эпизодами транзиторной ишемии и реперфузии, при этом защитные эффекты не ограничиваются органом или тканью, получившими стимул для preconditioning, но также реализуются в отдаленных органах [318].

В ряде клинических исследований показана эффективность ДИП для предотвращения КХ-ОПП, при этом ДИП рассматривается как кандидатная технология для широкого применения, поскольку обладает низкой стоимостью, имеет патофизиологическое обоснование и является безопасной, не связанной с развитием ассоциированных осложнений [318]. Протективный эффект различных протоколов ПК при моделировании структурного повреждения почек был получен в морфологических исследованиях на животных [162]. Также была подтверждена эффективность ДИП для поддержания функциональных показателей почек: отмечено снижение пиковых концентраций креатинина в сыворотке крови и азота мочевины крови с 1-го по 7-й день после длительного эпизода ишемии [292].

Была изучена роль NO в инициации ПК и его влиянии на структурное состояние и функцию почек при опосредованном ишемией и реперфузией

повреждении [216]. Исследования с использованием e-NOS-дефицитных лабораторных животных установили решающую роль активности e-NOS и ключевое значение e-NOS-опосредованной продукции NO в ренопротективном эффекте ПК против индуцированного ишемией-реперфузией ОПП [312]. Значительное повышение сывороточных метаболитов NO связано с развитием эффекторной фазы ПК, которое и оказывает защитное действие на структуру и функцию почек. Исследования органной специфичности ПК в почках показали, что данный феномен, как и в миокарде, имеет раннюю и отсроченную фазы защитных эффектов, связанных с увеличением экспрессии и активности i-NOS после воздействия агрессивных стимулов [130].

Защитный эффект NO играет ключевую роль в запуске феномена ПК благодаря его антиоксидантным, антиапоптотическим и противовоспалительным свойствам [65, 231]. Клиническое применение прямого ишемического ПК в качестве органопротективной технологии реализуемо при операциях трансплантации почек. В практике сердечно-сосудистой хирургии реализация ПК по классическому ишемическому протоколу невозможна. Перспективным направлением является применение протоколов ДИП, однако текущие данные об эффективности ДИП для предупреждения ОПП в кардиохирургии остаются противоречивыми [318].

Экспериментальные фармакологические агенты, демонстрирующие свою эффективность для снижения частоты ОПП, также реализуют свои эффекты с вовлечением сигнальных путей NO. В случаях фармакологически-индуцированной адаптации, протективные эффекты опосредованы путем трансдукции e-NOS [29].

Экзогенные доноры NO, используемые при ишемически-реперфузионном повреждении, проявляют антиапоптотические эффекты посредством ингибирования фактора некроза опухоли α и снижения окислительного стресса, в том числе за счет модуляции активности митоген-активируемых протеинкиназ [142]. Нитропруссид натрия снижает экспрессию провоспалительных цитокинов

после ишемически-реперфузионного повреждения [27]. Продemonстрировано защитное действие NO против апоптоза эпителия почечных канальцев, опосредованного TNF- α [107]. Ишемически-реперфузионное повреждение приводит к индукции и усилению продукции молекул клеточной адгезии, экспрессия которых, в свою очередь, приводит к активации различных внутри- и внеклеточных воспалительных каскадов [180]. Ишемия-реперфузия снижает уровень эндогенного NO и повышает уровень молекул клеточной адгезии в клетке [181].

Резюмируя, можно заключить, что повышение уровня NO в тканях при экзогенной его доставке или при использовании прекурсоров NO во время ишемически-реперфузионного повреждения активирует в почечной паренхиме различные адаптационные пути, которые способны изменять экспрессию некоторых генов, оптимизирующих тканевое дыхание. В совокупности с уменьшением компартментализации воспаления в почках это может уменьшить выраженность апоптоза. Снижение апоптоза и клеточного воспаления приводит к повышению защиты и уменьшению повреждения почек во время ишемии-реперфузии. Экзогенный и эндогенный NO служит триггером и медиатором реализации защитного фенотипа, в том числе в почках.

1.4.6. Доставка оксида азота в оксигенаторы аппаратов искусственного кровообращения: текущая экспериментальная база

В 1996 году исследовательская группа под руководством К. Mellgren инициировала эксперимент *ex vivo* с целью минимизации риска геморрагических осложнений у новорожденных при применении экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО). В рамках работы были смоделированы два идентичных замкнутых контура ЭКМО, заполненных гепаринизированной донорской кровью, которые рециркулировали при скорости потока 0,6 л/мин в течение 24 часов. В

экспериментальную систему на вход оксигенатора вводили NO в концентрациях 15, 40 и 75 ppm, тогда как контрольный контур функционировал без добавления NO. Серия из 8 независимых экспериментов позволила оценить динамику общего количества тромбоцитов и маркеров их активации. Статистический анализ не выявил достоверных различий между группами при сравнении различных доз NO. Однако в течение первых 30 минут эксперимента в контурах с NO наблюдалось значимо более медленное снижение уровня тромбоцитов по сравнению с контролем. Указанный эффект сохранялся на протяжении всего исследования, что может свидетельствовать о потенциальном протективном влиянии NO на тромбоцитарный пул в условиях ЭКМО [189].

S. C. Body и соавт. провели исследование, посвященное оценке прямого воздействия оксида азота (NO) и его побочного продукта окисления — диоксида азота (NO₂) на полипропиленовые мембраны оксигенаторов, используемых в системах экстракорпорального кровообращения. В эксперименте были задействованы 15 замкнутых контуров, заполненных бычьей кровью. В 9 опытных системах в газовую смесь, подаваемую в оксигенатор, вводили NO (224 ± 10 ppm) и NO₂ ($6,7 \pm 1,7$ ppm), 6 контуров служили контролем. Продолжительность каждого эксперимента составляла 6 часов. По завершении опыта проводилась сканирующая электронная микроскопия мембран оксигенаторов для оценки структурных изменений. Результаты показали отсутствие статистически значимых различий между группами по основным параметрам, включая газотранспортную функцию. На основании данных электронной микроскопии авторы не выявили признаков деградации или повреждения полипропиленовых мембран. Это позволило заключить, что применение NO в указанных концентрациях не оказывает негативного влияния на функциональную целостность оксигенаторов, что подтверждает безопасность его использования в клинической практике [49].

А. М. Радовский и соавт. представили результаты экспериментального исследования, направленного на оценку воздействия высоких концентраций NO

на структурную и функциональную стабильность полипропиленовых мембран оксигенаторов аппаратов ИК. В работе использовались два типа замкнутых контуров, заполненных 0,9% раствором NaCl. В экспериментальном контуре в газо-воздушную смесь дополнительно подавали NO в концентрации 500 ppm в течение 6 часов. В контрольном контуре доставка NO не проводилась. Авторами проведен комплексный анализ, включавший масс-спектрометрию (для мониторинга химической стабильности мембран) и инфракрасную спектроскопию с преобразованием Фурье (для анализа структурных изменений полипропилена), а также дана оценка газотранспортной эффективности оксигенаторов. Показано, что доставка NO в концентрации 500 ppm не оказывает значимого влияния на функциональные и структурные характеристики полипропиленовых оксигенаторов аппаратов ИК [14].

А. О. Маричевым и соавт. проведено экспериментальное исследование, в котором оценивалось влияние подаваемого в оксигенатор NO на формирование газовых микроэмболов при моделировании экстракорпорального кровообращения. В основной группе 5 свиньям в газо-воздушную смесь оксигенатора вводили NO в концентрации 100 ppm. Контрольную группу составили 5 животных со стандартным протоколом подачи газо-воздушной смеси. Доставка NO статистически значимо снижала частоту и объем газовой микроэмболии, а также была ассоциирована с уменьшением маркеров церебрального повреждения [7].

Исследовательская группа под руководством А. Е. Баутина провела рандомизированное экспериментальное исследование, направленное на оценку влияния ингаляционного NO, подаваемого в оксигенатор аппаратов ИК на морфофункциональное состояние печени и почек в условиях продленного ИК. В эксперименте участвовали 10 свиней, перенесших четырёхчасовой период механической перфузии и 12-часовое послеоперационное наблюдение. Животные были разделены на две группы: в основной группе проводили доставку NO в концентрации 100 ppm в газовую смесь оксигенатора аппарата ИК, в контрольной

группе NO не применялся. Авторами показано, что применение NO в концентрации 100 ppm ассоциировано со значимым снижением маркеров печеночного и почечного повреждения, а также сохранением клубочковой фильтрации в условиях пролонгированного ИК у экспериментальных животных [247]. В исследовании этой же группы показано, что ингаляционная терапия NO в концентрации 80 ppm снижает уровень свободного гемоглобина при моделировании экспериментальной перфузии [1].

Таким образом, в настоящее время на основе целого ряда экспериментальных исследований получены обширные данные об отсутствии влияния NO на мембраны оксигенаторов аппаратов ИК [11].

1.4.7 Органопротекция оксидом азота в кардиохирургии: текущие клинические данные

Проблема органного повреждения является одной из главных двигателей научного поиска в современной сердечно-сосудистой хирургии, кардиоанестезиологии и перфузиологии. Гипотеза NO-индуцированного ПК имеет самостоятельную терапевтическую нишу, которая может быть использована в клинической практике. Обсуждаемые ранее экспериментальные исследования показали, что адьювантная терапия, основанная на применении доноров NO, может моделировать молекулярные и функциональные аспекты ПК, индуцированного ишемией [99].

В фундаментальном обзоре 2016 года опубликованы клинические исследования за 1990–2014 годы, в которых использовались ингаляции NO, нитриты, нитратсодержащие препараты или доноры NO для уменьшения ишемически-реперфузионного повреждения в экспериментальных и клинических исследованиях, при этом ценность этих вмешательств при инфаркте миокарда в клинической практике оставалась недоказанной [45]. Исследования, проведенные

на пациентах, перенесших чрескожную транслюминальную коронарную ангиопластику, показали, что инфузия нитроглицерина защищает миокард от ишемии через 24 ч после его введения [110, 164].

Кардиопротекторные эффекты внутривенного введения нитрита натрия и ингаляционного NO при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI) были дополнительно изучены в исследованиях NIAMI и NOMI [126, 199]. В исследовании NOMI не было выявлено существенной разницы между первичной (размер инфаркта левого желудочка) и вторичными конечными точками в сравниваемых группах, однако была выявлена тенденция к уменьшению размера зоны инфаркта в бассейне инфаркт-связанной артерии и зоне риска, а также суррогатов ремоделирования сердца по данным МРТ в группе ингаляционного применения NO через 4 месяца. При анализе частоты таких клинических исходов, как общая летальность, повторный инфаркт миокарда, инсульт или повторная госпитализация в группе ингаляционного применения NO наблюдалась тенденция к снижению частоты неблагоприятных событий через 4 месяца и 1 год [126]. Результаты данных исследований вызвали большую дискуссию среди медицинской общественности с формированием выводов о том, что требуются дополнительные исследования эффективности NO для уменьшения ишемически-реперфузионного повреждения при STEMI, а также, возможно, изменение протоколов данной терапии [174].

Кардиохирургия является клинически релевантной моделью повреждения сердца, опосредованного ишемией-реперфузией, которая вносит важный вклад в патогенез дисфункции миокарда в послеоперационном периоде. Кардиоплегическая остановка сердца резко изменяет метаболический профиль и энергетический обмен кардиомиоцитов, активирует анаэробный гликолиз и способствует снижению синтеза энергетических субстратов в митохондриях. Глобальное реперфузионное повреждение после снятия зажима с аорты может превышать ишемическое по тяжести [242]. В исследованиях, посвященных применению внутривенной инфузии нитроглицерина во время периода

согревания на ИК и далее в отделении интенсивной терапии, было получено положительное влияние на метаболизм глюкозы и лактата, а также потребности в инсулине и инотропной поддержке [228]. Как указывалось ранее, использование предшественников NO для кардиопротекции может иметь определенные ограничения. В частности, использование NO-доноров может привести к развитию гемодинамической нестабильности и может быть неэффективным в условиях ацидоза и снижения уровня кофакторов, таких, как аскорбиновая кислота и полифенолы [152]. Естественная выработка NO снижается во время проведения ИК, интраоперационная заместительная терапия его физиологическим предшественником L-аргинином практически невозможна, при этом интраоперационное переливание компонентов крови усиливает секвестрацию эндогенного NO [251, 295]. Стойкая вазоконстрикция из-за дефицита NO может в конечном итоге привести к дисфункции органов [196]. В связи с этим внимание многих исследователей было обращено на периоперационную кардиопротекцию, опосредованную нативной молекулой NO. Несмотря на то, что ишемически-реперфузионное повреждение во время операции на сердце является проблемой, существует ограниченное количество клинических исследований, подтверждающих органопротекторные эффекты NO у этой категории пациентов.

Группой Kamenshchikov N.O и соавт. одними из первых в мире было проведено исследование эффективности оксида азота для защиты миокарда у кардиохирургических пациентов [132]. Авторами был показан кардиопротективный эффект доставки NO, заключающийся в снижении маркеров повреждения и улучшении контрактильной функции миокарда в периоперационном периоде у кардиохирургических пациентов, оперированных в условиях искусственного кровообращения, дана оценка безопасности доставки оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции у пациентов при кардиохирургических операциях и установлено, что доставка оксида азота является контролируемой и безопасной технологией. Группой Пичугина В.В. и соавт. с использованием оригинальных авторских методик также

продемонстрированы кардиопротективные эффекты технологии доставки NO [5; 10, 11, 13]. Группами Cheschia P. A. и соавт. и James C. и соавт. были получены сопоставимые результаты. Так, группой Cheschia P. и соавт. было проведено проспективное исследование у детей, перенесших операцию радикальной коррекции тетрады Фалло [64]. 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 ИВЛ и меньшая продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии по сравнению с группой плацебо. В 2016 году группой исследователей James P. и соавт. выполнено рандомизированное исследование [124], включавшее 198 детей, перенесших кардиохирургическое вмешательство в условиях ИК. В группе доставки NO синдром малого сердечного выброса развивался достоверно реже, также пациенты исследуемой группы значимо реже нуждались в экстракорпоральной поддержке. Клинические исследования кардиопротекторных эффектов применения NO в кардиохирургии суммированы в таблице 3.

Таблица 3. Клинические исследования кардиопротекторных эффектов применения NO в кардиохирургии

Авторы	Дизайн	Популяция исследования	Модальность терапии	Исследуемые параметры	Результаты в группе NO	Комментарии
Kolcz et al., 2022	Одноцентровое RCT	97 детей; 1.8 -3.3 года; процедура Фонтена	20 ppm; ИК	-клинические исходы -гемодинамика -миокардиальное повреждение -цитокиновый профиль -метаболический стресс	меньшая продолжительность: -ИВЛ -пребывания в ОАР -гидротораксов меньший уровень: -ЦВД -сTnI, СК-МВ -лактат -глюкоза -CAI -IL-1 β , IL-6, and IL-8 более высокий уровень: -IL-10	популяция экстремально зависимая от ЛСС
Schlapbach L.J. et al., 2022	Многоцентровое RCT	1371 детей младше 2 лет; Различные ВПС	20 ppm; ИК	-клинические исходы	нет разницы: LCOS, ECLS, летальность длительность в ОАР	крайне неоднородные группы пациентов с точки зрения тяжести и сложности патологии
Elzein C. et al., 2020	Одноцентровое RCT	24 новорожденных; процедура Norwood	40 ppm; ИК	-миокардиальное повреждение -клинические исходы	-меньший уровень: сTnI -нет разницы: VIS, продолжительность ИВЛ, длительность в ОАР.	-небольшое количество пациентов -нетипичная техника ИК -послеоперационное iNO в обеих группах
Sardo S. et al., 2018	Мета-анализ	958 взрослые и дети	различные модальности	-клинические исходы	незначительное сокращение времени ИВЛ, длительности ИВЛ	-NO только для терапии ЛГ -большая вариабельность дозы, сроков начала и продолжительности лечения
Kamenshchikov N.O. et al., 2018	Одноцентровое RCT	60 взрослых; АКШ	40 ppm; ИК	-миокардиальное повреждение -функция ЛЖ	меньший уровень: сTnI, СК-МВ, VIS	-небольшой период наблюдения -механизм действия не был изучен

Продолжение таблицы 3

James C. et al., 2016	Одноцентровое RCT	101 ребенок; различная патология	20 ppm; ИК	-клинические исходы	-снижение частоты LCOS -меньшая потребность в iNO в ОАР -меньшая длительность в ОАР	положительные эффекты зависели от возрастной группы и сложности вмешательства -не были определены группы пациентов- бенефициаров
Checchia P. et al., 2013	Одноцентровое RCT	16 детей; Тетрада Фалло	20 ppm; ИК	-миокардиальное повреждение -функция ЛЖ -клинические исходы	-меньший уровень: сTnI, BNP; -меньшая продолжительность: ИБЛ, ОАР. -меньшая потребность в диуретиках	-механизм действия не был изучен -все пациенты получали кортикостерои ды
Potapov E. et al., 2011	Одноцентровое RCT	150 взрослых; LVAD	40 ppm; после ИК+ОАР	-функция ПЖ -клинические исходы	нет разницы в частоте ОПЖН тенденция: -к снижению продолжительности ИБЛ; -потребности в RVAD	-NO только для симптоматичес кого снижения ЛСС -26.0% в контрольной группе переведены на «open-label» iNO
Gianetti J. et al., 2004	Одноцентр овое RCT	29 взрослые; ПАК+АКШ	20ppm; операцио нная +ИК+ОА Р	-миокардиальное повреждение -функция ЛЖ -системное воспаление	меньший уровень: сTnI, BNP, СК-МВ и P-селектина	отсутствие основных клинических конечных точек

В последние годы было предпринято единичные клинические исследования эффективности и безопасности терапии оксидом азота для защиты почек от повреждения при интервенционных вмешательствах и в кардиохирургии. Органопротективная роль NO была изучена на модели контраст-индуцированной нефропатии и было показано, что различные модели нефротоксичности сопровождаются значительным снижением концентрации NO [132]. Ранее в экспериментальном исследовании было показано, что введение L-аргинина (донора NO) при экспериментальном моделировании почечного повреждения

значительно уменьшает почечное повреждение [28]. К настоящему времени опубликовано 1 РКИ, спроектированное для оценки влияния периоперационной донации NO на частоту послеоперационного ОПП в сердечно-сосудистой хирургии. В РКИ, проведенном Lei C. и соавт., было обнаружено, что введение NO с инициации ИК и на протяжении 24 ч. снижает послеоперационное ОПП у пациентов, оперированных по поводу патологии клапанов сердца [165]. Применение NO также улучшало отдаленные результаты, уменьшая частоту развития серьезных неблагоприятных явлений со стороны почек и развитие ХБП 3-й стадии в срок до 1 года после операции. Необходимо отметить, что данное исследование имеет существенные ограничения: объектом являлись молодые пациенты с изолированным поражением клапанов сердца ревматического генеза. Таким образом, переносить результаты исследования Lei C. и соавт. на широкую популяцию кардиохирургических пациентов не представляется возможным.

В настоящее время, применение оксида азота для адьювантной органопротекции в сердечно-сосудистой хирургии является крайне перспективной и востребованной технологией в мировой клинической практике и науке, однако для широкой имплементации метода требуется формирование серьезной доказательной базы.

1.4.8 Оксид азота и хроническая болезнь почек

Имеются убедительные доказательства того, что при ХБП имеет место системный дефицит NO, обусловленный реализацией многих механизмов и путей. Весьма вероятно, что обусловленный наличием ХБП дефицит NO по механизму отрицательной обратной связи способствует прогрессированию ХБП. Общую генерацию эндогенного NO можно оценить, используя стабильные продукты окисления NO (NO_2 , NO_3 , total NO), однако это возможно лишь при условии учета и контроля содержания total NO в моче [40]. Продукция total NO снижается при

терминальной стадии почечной недостаточности у пациентов, находящихся на перитонеальном диализе, гемодиализе, а также у пациентов на ранних стадиях ХБП [23, 25]. Данный показатель является полезным качественным маркером продукции NO, но не может быть использован в качестве количественного показателя биоактивности данной молекулы [40]. С использованием прямого измерения конверсии L-аргинина в цитруллин было доказано снижение продукции NO у пациентов с ХБП [293]. Имеется большой массив исследований, подтверждающих снижение продукции эндогенного NO на различных моделях ХБП у животных, включая нефросклероз, хронический гломерулонефрит и нормальное старение [23, 84, 272].

Эндогенный NO синтезируется в организме повсеместно, именно локальная продукция определяет его физиологические действия. Эндотелиальная дисфункция возникает при ХБП уже на ранних стадиях заболевания и характеризуется снижением синтеза NO эндотелием [156, 278]. Поскольку эндотелий сосудов представляет собой самый большой паракринный орган в организме человека, снижение общей выработки NO при заболевании почек может отражать дисфункцию эндотелия. Экспериментальные исследования на животных также подтверждают внутривисцеральный дефицит NO при ХБП [23, 40, 84, 272].

Дефицит генерации NO приводит к снижению продукции и его конечных метаболитов — total NO. Дефицит NO также может возникать в условиях окислительного стресса, что обуславливает его инактивацию активными кислородными радикалами, а также репрограммированием активности NOS и ее переключением на генерацию супероксидов-радикалов. Доказано, что состояние повышенного окислительного стресса возникает уже на ранних стадиях течения ХБП и усиливается по мере прогрессирования заболевания [111; 215]. При прогрессирующем заболевании почек уменьшается доступ NO к тканям-мишеням, что усиливает абсолютный и относительный дефицит NO [235].

L-аргинин, синтезируемый в проксимальных канальцах почек, обеспечивает основное эндогенное поступление этой аминокислоты в организм [302]. У пациентов с ХБП, у которых нормальная функциональная масса почек невелика, почечная выработка L-аргинина может быть нарушена [280]. Поддержание гомеостаза L-аргинина также связано с реабсорбции данной аминокислоты с помощью антипортера катионных аминокислот в проксимальных канальцах почек. Пациенты с терминальной почечной недостаточностью лишены этого механизма и теряют L-аргинин во время диализа [305]. Влияние различных типов ХБП и тяжести поражения почек на реабсорбцию аргинина в настоящее время неизвестно.

Повышенная плазменная концентрация мочевины, характерная для пациентов с ХБП, способна ингибировать транспорт L-аргинина к эндотелиальным клеткам и снижать активность эндотелиальной NOS. Формируемый таким образом кумулятивный дефицит субстрата приводит к снижению продукции NO [306]. Помимо мочевины в плазме крови пациентов с ХБП определены и другие паттерны ингибирования эндотелиального транспорта L-аргинина [306]. Дефекты эндотелиального транспорта L-аргинина у пациентов с ХБП могут объяснить их плохую переносимость добавок L-аргинина [320].

В настоящее время имеются убедительные данные о том, что ADMA (конкурентный ингибитор NOS) повышается в плазме крови пациентов с ХБП [261, 282, 289]. Уровни ADMA при ХБП превышают 2 ммоль/л при терминальной почечной недостаточности и эта концентрация достаточна для ингибирования синтеза NO эндотелиальными клетками *in vitro* [305]. Текущие экспериментальные данные указывают также на присутствие других пока не идентифицированных ингибиторов NOS в плазме крови при ХБП [305].

Ранее предполагалось, что повышенный уровень ADMA в плазме крови при ХБП является следствием снижения почечного клиренса [282]. Однако в настоящее время известно, что очень небольшое количество ADMA выводится с мочой в неизмененном виде, а большая часть расщепляется ферментативными

системами, при этом контроль уровней ADMA посредством ферментативной активности оказывает значительное влияние на выработку NO как в культивируемых эндотелиальных клетках, так и *in vivo* [61, 62]. ХБП — это состояние выраженного окислительного стресса, а окислительный стресс подавляет активность ферментных систем, отвечающих за распад ADMA [50; 122]. Уровень ADMA при ХБП имеет большое значение, поскольку риски сердечно-сосудистых катастроф в этой популяции кратно возрастают при повышении уровня ADMA в плазме крови [324, 325]. У пациентов с ХБП даже на ранних стадиях наблюдается увеличение частоты сердечно-сосудистых осложнений, уровня воспаления и окислительного стресса, а также эндотелиальной дисфункции [111, 156, 215, 278]. В дополнение к субстратному дефициту, обуславливающему снижение продукции NO, имеются данные о снижении содержания и экспрессии NOS при ХБП [23, 84, 272]. Более того, хроническое ингибирование NOS приводит к фульминантному прогрессированию ХБП [84]. Взятые вместе, эти данные позволяют предположить, что дефицит NO, генерируемого изоферментами NOS в коре почек, может играть основную роль в прогрессировании ХБП [41].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа представляет результаты серии одноцентровых, проспективных, рандомизированных, контролируемых исследований применения оксида азота для адьювантной нефропротекции в кардиохирургии. Работа выполнена на базе лаборатории медицины критических состояний и отделения анестезиологии-реанимации Научно-исследовательского института кардиологии - филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» и состоит из 3 частей: клинической №1 (проверка первичной гипотезы), экспериментальной и клинической №2.

2.1. Клиническое исследование №1 (проверка первичной гипотезы)

Исследование проводилось на основе Хельсинской декларации этических принципов для проведения клинических исследований с участием людей. Протокол проведения клинического исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ по биомедицинской этике (разрешение №133 от 15 мая 2015 г.) До начала включения пациентов данное исследование было зарегистрировано по адресу www.clinicaltrials.gov (ID: NCT03527381) в качестве проспективного рандомизированного контролируемого исследования, фокусирующегося на эффективности доставки NO по сравнению со стандартным протоколом лечения у взрослых пациентов, перенесших кардиохирургические операции в условиях ИК на базе отделения сердечно-сосудистой хирургии Научно-исследовательского института кардиологии Томского НИМЦ в период с сентября 2015 по апрель 2017 года.

Блок–схема процесса клинического исследования №1 представлена на рисунке 1.

96 пациентов рандомизированы в соотношении 1:1. Был использован 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». Интраоперационно, непосредственно после стернотомии, один слепо выбранный конверт вскрывался анестезиологом, содержимое конверта не разглашалось.

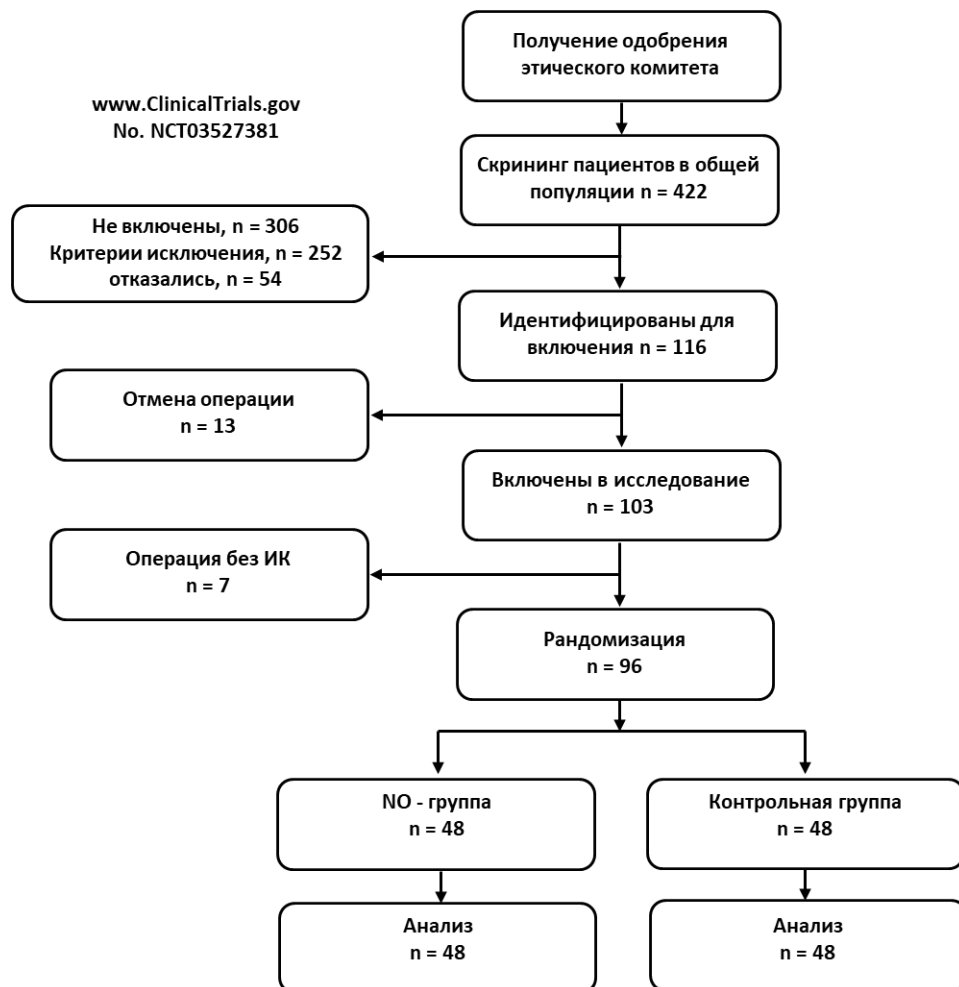


Рисунок 1 – Блок-схема клинического исследования №1

Критерии включения в исследование:

1. Плановая кардиохирургическая операция в условиях ИК;
2. Информированное согласие.

Критерии невключения в исследование:

1. Возраст <18 лет;
2. Предоперационная анемия (гемоглобин <130 г/л у мужчин и <120 г/л у женщин);
3. Введение рентгеноконтрастного вещества в течение 72 ч до операции;
4. Повышение уровня креатинина более чем в 1,5 раза по сравнению с исходным уровнем, которое наблюдалось в течение 7 дней после рентгеноконтрастного исследования;
5. Прием нестероидных противовоспалительных препаратов, диуретиков, препаратов группы аминогликозидов и/или амфотерицина перед операцией как потенциально нефротоксичных;
6. Активная фаза инфекционного эндокардита;
7. Экстренное вмешательство;
8. ХБП 3А и более высоких стадий с критериями согласно A. S. Levey и соавт [167];
9. Гематологические заболевания, сопровождающиеся гемолизом;
10. Критическое предоперационное состояние (потребность в предоперационной ИВЛ, инотропной и вазопрессорной поддержке, экстракорпоральной поддержке кровообращения).

2.1.1 Характеристика пациентов

Пациенты, рассматриваемые для включения в исследование, имели сопоставимый (умеренный) риск почечных осложнений в послеоперационном периоде в соответствии с шкалой прогнозирования почечной недостаточности

Клиники Кливленда (англ. Cleveland Clinic Foundation Acute Renal Failure Score) - CCS [277].

Предоперационные характеристики пациентов по группам представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Демографические и клинические характеристики пациентов

Характеристика	НО-группа, <i>n</i> = 48	Контрольная группа, <i>n</i> = 48	<i>p</i>
Возраст, лет, Ме [25; 75]	64 [57,5; 68]	63 [58; 69]	0,264
Мужской пол, <i>n</i> (%)	30 (62,5%)	31 (64,5%)	0,282
ИМТ, кг/м ² , Ме [25; 75]	31 [26,24; 35]	29 [27; 34,6]	0,305
ФВ ЛЖ, %, Ме [25; 75]	59 [40; 63]	61 [52; 64]	0,12
Класс стенокардии			
I	7 (14,5%)	6 (12,5%)	0,146
II	11 (23%)	13 (27%)	0,25
III	30 (62,5%)	29 (60,4%)	0,282
ХСН, NYHA, I, <i>n</i> (%)	15 (31,25%)	14 (29,16%)	0,78
ХСН, NYHA, II, <i>n</i> (%)	33 (68,75%)	34 (70,84%)	0,65
ПИКС	35 (73%)	36 (75%)	0,427
АГ, <i>n</i> (%)	24 (50%)	22 (45,8%)	0,358
ЛГ, <i>n</i> (%)	15 (31,25%)	14 (29,1%)	0,6
Курение, <i>n</i> (%)	22 (45,8%)	24 (50%)	0,445
СД, <i>n</i> (%)	20 (41,6%)	18 (37,5%)	0,14
ХОБЛ, <i>n</i> (%)	10 (20,8%)	11 (22,9%)	0,29
EuroSCORE, Ме [25; 27]	3 [2; 6]	3 [2; 5]	0,347
CCS, баллы, Ме [25; 27]	3,8 [3,2; 5,4]	3,7 [3; 4,5]	0,42

Примечание: ИМТ - индекс массы тела; ФВ ЛЖ - фракция выброса левого желудочка; ПИКС - постинфарктный кардиосклероз; АГ - артериальная гипертензия, ЛГ - легочная гипертензия; ХСН - хроническая сердечная недостаточность; СД - сахарный диабет; ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких; EuroSCORE - Европейская система оценки риска неблагоприятного исхода при кардиохирургических вмешательствах; CCS - шкала прогнозирования почечной недостаточности Клиники Кливленда.

Пациенты в двух группах были сопоставимы по демографическим показателям и исходной тяжести состояния. Всем пациентам выполнялось плановое кардиохирургическое вмешательство в условиях ИК. Характеристики интраоперационного периода представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Характеристики интраоперационного периода

Характеристика	НО-группа, n = 48	Контрольная группа, n = 48	P
Продолжительность ИК, мин, Me [25; 75]	118 [95,5;167.5]	119 [91,7;130.4]	0,8
Время пережатия аорты, мин, Me [25; 75]	86 [68; 118]	84 [67,4;116,8]	0,64
АКШ, n (%)	20 (41,6%)	21 (43,75%)	0,4
Протезирование клапанов, n (%)	12 (25%)	10 (20,8%)	0,32
АКШ, МКШ + РАЛЖ, n (%)	4 (8,3%)	3 (6,25%)	0,56
АКШ, МКШ + протезирование клапана, n (%)	12 (25%)	14 (29%)	0,12
Протезирование клапанов, n (%)	12 (25%)	10 (20,8%)	0,32
АКШ, МКШ + протезирование клапана, n (%)	12 (25%)	14 (29%)	0,12

Примечание: АКШ - аортокоронарное шунтирование; МКШ - маммарокоронарное шунтирование; РАЛЖ - резекция аневризмы левого желудочка.

Пациенты в двух группах были сопоставимы по основным характеристикам интраоперационного периода.

2.1.2 Методики подготовки к оперативному вмешательству, анестезиологического обеспечения, проведения искусственного кровообращения, кардиopleгической защиты миокарда и послеоперационная терапия в отделении реанимации

Подготовка пациентов к операции осуществлялась согласно принятым в клинике общим принципам предоперационной подготовки и обследования.

Ведение анестезии у пациентов, включенных в исследование, осуществлялось в соответствии со стандартами медицинской помощи в клинике и с использованием стандартных протоколов. Антибиотик в профилактических целях (цефазолин 1 гр.) вводился через периферический венозный катетер (Vasofix Certo, B. Braun, Германия). До операции пациенты получали в премедикации седативные и антигистаминные препараты. Фентанил (3,0–5,0 мг/кг) и пропофол (1,5 мг/кг) использовались для индукции анестезии. Пипекурония бромид (0,1 мг/кг) использовался для нейромышечной блокады. Анестезия поддерживалась севофлюраном 2–3 об. % через контур наркозного аппарата до и после ИК; во время ИК севофлюран подавался в оксигенатор аппарата ИК. Для поддержания аналгезии вводился фентанил (3,0–5,0 мкг/кг/ч). Интраоперационная механическая вентиляция легких проводилась с помощью наркозного аппарата (Dräger Primus, Dräger, Германия) с использованием полужакрытого контура в режиме принудительной вентиляции с контролем по объему, уровнем РЕЕР 5–8 мбар и концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси 30% и выше в зависимости от клинической необходимости. Дыхательный объем устанавливался на уровне 6–7 мл/кг предсказанной массы тела, частота дыхания 14–16 в мин для поддержания парциального давления углекислого газа в артериальной крови (P_aCO_2) 35–40 мм рт. ст. Стандарт мониторинга при анестезии включал непрерывный мониторинг ЭКГ, инвазивный мониторинг артериального давления, пульсоксиметрию и термометрию в пищеводе с использованием монитора Infinity Delta XL (Dräger, Германия). Центральный венозный катетер (7F Certofix, B. Braun, Германия) был установлен в правой внутренней яремной вене, при невозможности был использован альтернативный сайт канюляции — правая подключичная вена. Лучевая артерия была катетеризирована с использованием артериальной канюли 20G (BD Arterial Cannula, BDITS Inc., США) для контроля артериального давления и получения образцов крови для газоанализа. Мочевой пузырь катетеризировался для контроля диуреза. Мониторировались метаболические параметры, кислотно-основной

баланс крови и ионограмма плазмы. Уровень седации контролировался с помощью биспектрального анализа электроэнцефалограммы (BIS-мониторинг), уровень поддерживался в диапазоне от 40 до 60 (Dräger Infinity® Delta XL с модулем Dräger Infinity «BISx SmartPod» (Dräger, Германия)).

Инотропные и вазопрессорные препараты применяли при соответствующих клинических показаниях с использованием протоколов цель-ориентированного поддержания параметров гемодинамики (GDH).

ИК проводилось с использованием принятых в клинике протоколов, данные протоколы не изменялись в течение всего периода исследования и соблюдались в обеих группах. ИК выполнялось в непульсирующем режиме с использованием системы Stockert (Stockert Inc., Германия) с одноразовыми мембранными оксигенаторами SKIPPER (EUROSETS S.r.l., Италия). Перфузионный индекс составлял 2,5 л/мин/м². Перед началом ИК пациентам вводился гепарин (3 мг/кг) для поддержания времени активированного свертывания (АСТ) на уровне >450 с. АСТ измерялось с помощью HEMOCHRON® Response (HEMOCHRON® Inc., США). Среднее артериальное давление во время ИК поддерживалось на уровне ≥65 мм рт.ст.; ИК проводилось в нормотермическом режиме. Для поддержания целевого уровня перфузионного давления при необходимости применялся норэпинефрин. Различия между группами по каким-либо параметрам ИК, включая объемную скорость потока, объем ультрафильтрации и кумулятивный баланс жидкости не допускались. РаСО₂ и РаО₂ поддерживались в пределах 35–40 и 100–120 мм рт. ст. соответственно, а насыщение кислородом смешанной венозной крови (SvO₂) должно было превышать 65%. Газы крови контролировались каждые 30 мин в течение всего периода ИК с применением стратегии альфа-стат.

Защита миокарда достигалась перфузией восходящей аорты или коронарных артерий раствором кристаллоида (Custodiol HTK-Bretschneider; доктор Franz Köhler Chemie GmbH, Бенсхайм, Германия) в течение 6–8 мин согласно инструкции производителя.

После перфузии гепарин нейтрализовали путем введения протамина сульфата в соотношении 1:1.

В послеоперационном периоде применялись стандартизированные протоколы для проведения седации, контроля температуры, боли, глюкозы крови, гемодинамики, проводилась инфузионная и трансфузионная терапия по показаниям.

2.1.3 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 доставки NO и линию мониторинга NO и NO₂. После достижения расчетной объемной скорости перфузии осуществляли подачу NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 40 ppm (Рисунок 2). Доставка NO проводилась только в период проведения ИК, после отлучения от ИК подачу NO прекращали.

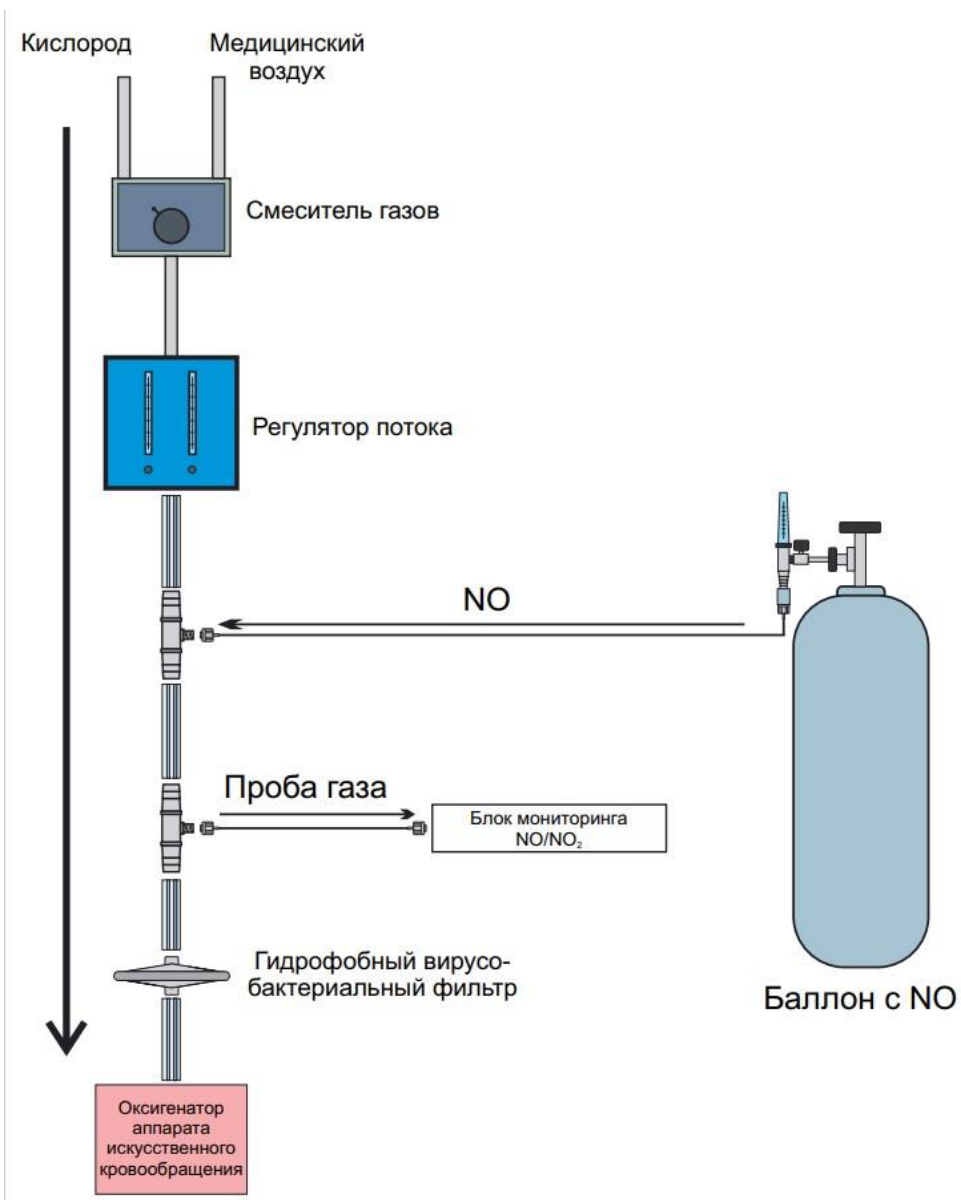


Рисунок 2 – Модифицированный контур доставки газовой смеси

2.1.4 Методы исследования

Первичной конечной точкой являлась частота ОПП.

Послеоперационное ОПП определялось и классифицировалось по стадиям в соответствии с практическими рекомендациями KDIGO.

Вторичными конечными точками являлись:

1. Диурез во время ИК;
2. Концентрация uNGAL через 4 ч после операции;

3. Концентрация свободного гемоглобина (fHb) в плазме крови пациентов исходно перед операцией, через 5 мин после пережатия аорты, через 5 мин после снятия зажима с аорты, в конце операции и через 24 ч после операции;

4. Плазменная концентрация метаболитов NO (eNO_2 , NO_3 , total NO_2) исходно перед операцией, через 5 мин после пережатия аорты, через 5 мин после снятия зажима с аорты, в конце операции и через 24 ч после операции;

5. Плазменная концентрация провоспалительных (TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-8) и противовоспалительных медиаторов (IL-1ra, IL-4) перед стернотомией, после отлучения от ИК, через 6 ч после операции и через 24 ч после операции.

Для оценки безопасности NO-терапии измеряли плазменную концентрацию MetHb и содержание NO_2 в газо-воздушной смеси.

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

– Клинические исследования

Для оценки влияния NO на функцию почек оценивали диурез во время ИК. В периоперационном периоде нами анализировались гемодинамические показатели, кумулятивный гидробаланс в течение 5 суток после операции, потребность в применении петлевых диуретиков (фуросемид) в палате реанимации и интенсивной терапии, длительность ИВЛ, степень дисфункции левого желудочка, потребность в трансфузионной терапии, послеоперационные осложнения и исходы.

– Биохимические исследования. Оценка почечного повреждения

Для определения уровня креатинина пробы крови пациентов забирались в вакутейнеры BD Vacutainer (США) с ЭДТА исходно перед операцией и ежедневно в течение 7 дней после кардиохирургического вмешательства. После центрифугирования цельной крови в течение 15 мин при 3000 об/мин креатинин в плазме определяли с помощью автоматического биохимического анализатора Pentra C 200 (Horiba ABX, Франция) с использованием набора Creatinine 120 CP (Horiba ABX, Франция) в соответствии с инструкциями производителя.

Для оценки уровня uNGAL забирались образцы мочи непосредственно из катетера, установленного в мочевого пузыря, через 4 ч после операции. Образцы мочи центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин, после чего замораживали при температуре -20°C . Уровень uNGAL определяли методом иммуноферментного анализа (Hycult Biotech, Нидерланды) с использованием анализатора иммуноферментного анализа SunRise (Tecan, США).

Концентрацию свободного гемоглобина в плазме крови (мг/дл) определяли до стернотомии, через 5 мин после пережатия аорты, через 5 мин после снятия аортального зажима, в конце операции и через 24 ч после операции с использованием анализатора НемоСие для низких плазменных концентраций Нб (НемоСие АВ, Швеция) в соответствии с инструкцией производителя.

– Оценка обмена оксида азота

Определение концентрации конечных метаболитов NO проводилось перед стернотомией, через 5 мин после пережатия аорты, через 5 мин после снятия аортального зажима, после вмешательства и через 24 ч после операции. Для этого 4 мл цельной крови забиралось в пробирку с ЭДТА. Полученные образцы крови центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин для сепарации плазмы. Затем образцы плазмы замораживали и хранили при -25°C до проведения анализа. Уровни метаболитов NO были оценены с помощью наборов R&D system (R&D Systems Parameter Total NO/Nitrite/NitrateKit, nitrate of 32–80 $\mu\text{M/L}$, nitrite of 63–165 $\mu\text{M/L}$) (США) ферментативным колориметрическим методом. Все образцы, полученные от одного субъекта, были исследованы с помощью одного и того же набора, чтобы избежать различий между тестами.

– Оценка цитокинового профиля

Концентрации провоспалительных цитокинов в плазме (IL-1 β , IL-6 и TNF α), хемокинов (IL-8), противовоспалительных цитокинов (IL-4, антагонист рецептора IL-1 (IL-1ra)) были оценены с использованием иммуноферментной тест-системы Biosource (Бельгия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию

цитокинов определяли перед стернотомией, при отлучении от ИК, через 6 ч после операции и через 24 ч после операции.

– Оценка безопасности периоперационной доставки оксида азота

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 с контрольными точками перед операцией, после отлучения от ИК и при поступлении в отделение реанимации и интенсивной терапии. Концентрацию NO и NO₂ в газо-воздушной смеси аппарата ИК мониторировали непрерывно с помощью анализатора PrinterNO_x (CareFusion, США).

– Расчет размера планируемого количества участников исследования

На старте данного исследования не было опубликованных данных о влиянии применения NO на частоту ОПП в кардиохирургии. Поэтому для определения величины эффекта перед изучением эффектов периоперационной NO-терапии, было проведено пилотное исследование для прогнозирования соответствующего размера выборки. Дизайн работы и протокол NO-терапии были идентичны настоящему исследованию. Тридцать один пациент были рандомизированы следующим образом: 16 пациентов вошли в группу, получавшую NO в концентрации 40 ppm через контур экстракорпоральной циркуляции во время ИК; 15 пациентов вошли в контрольную группу и получали стандартный протокол ИК. Частота ОПП была проанализирована как заранее запланированная первичная конечная точка. ОПП было задокументировано в 6 случаях (38%) в контрольной группе и в 10 случаях (67%) в контрольной группе. Ожидаемый размер эффекта составил 0,29. Расчет размера выборки для сравнения двух частот событий проводился следующим образом [48]:

$$N = [A+B]^2 \times [(p_1 \times (1-p_1) + (p_2 \times (1 - p_2)))] / [p_1 - p_2]^2$$

где

N — размер каждой группы;

p_1 — частота в контрольной группе (0,67 в данном случае);

p_2 — частота в группе NO-терапии (0,38 в данном случае);

$p_1 - p_2$ — ожидаемое различие между группами (0,29 в данном случае).

A — значение стандартного нормального распределения, зависит от уровня значимости (при заданном уровне статистической значимости, в нашем случае для уровня 0,05 данное значение составляет 1,96).

B — значение стандартного нормального распределения, зависит от мощности (при заданном уровне статистической мощности, в нашем случае для уровня 0,80 данное значение составляет 0,84).

При трансляции значений в формулу получили для обеспечения 80% статистической мощности заключения о превосходстве NO над стандартным протоколом периоперационного обеспечения при 2-х стороннем уровне статистической значимости $\alpha = 0,05$ должны быть рандомизированы не менее 77 человек. Расчетный размер выборки был увеличен на 25%, чтобы компенсировать потенциальный отсев и возможные причины отсутствия данных о первичной конечной точке [48], что соответствовало 19 пациентам. В результате финальный объем выборки для данного исследования составил 96 пациентов.

2.2 Экспериментальное исследование

2.2.1 Последовательность событий и методология исследования

1. Набор животных в исследование.
2. Осмотр ветеринарным врачом и допуск к участию в исследовании.
3. Рандомизация.
4. Индукция анестезии, старт проведения ИВЛ.
5. NO-кондиционирование или отсутствие подачи NO (стандартный протокол) в течение эксперимента.

6. Анестезия согласно стандартизованному протоколу.
7. Проведение ИК или ИК+циркуляторный арест (ЦА) согласно стандартизованному и принятому в клинике протоколу.
8. Отслеживание клинических событий и характеристик, серийные периоперационные измерения биохимических показателей.
9. Забор биопсийного материала.
10. Консервация биопсийного материала.
11. Вывод животных из эксперимента.
12. Морфологическая и гистохимическая оценка клинических событий.

2.2.2 Дизайн экспериментального исследования и рандомизация

Методология исследования была разработана в соответствии с международными рекомендациями для рандомизированных контролируемых исследований. Протокол проведения исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ по биомедицинской этике (разрешение № 230 от 28 июня 2022 г.).

Рандомизация осуществлялась методом запечатанных непрозрачных конвертов. Конверты были подготовлены до начала набора животных в исследование. Распределение обработки было подготовлено независимым оператором (научным сотрудником, не участвовавшим в исследовании) и скрыто непрозрачными запечатанными конвертами, которые были последовательно пронумерованы. Каждый конверт содержал одно кодовое наименование: «ИК», «ИК+NO», «ИК+ЦА», «ИК+ЦА+NO». Утром в день проведения эксперимента один конверт вскрывался, содержимое конверта не разглашалось. Таким образом животные включались в группу с периоперационным NO-кондиционированием на фоне ИК или ИК+ЦА, либо в группу стандартного протокола ИК или ИК+ЦА в соотношении 1:1:1:1. В экспериментальной части научной работы представлены и

проанализированы данные 24 экспериментальных животных, разделенных на 4 группы.

Графическая схема дизайна экспериментальной части научной работы представлена на рисунке 3.



Рисунок 3 – Блок-схема процесса экспериментального исследования

2.2.3 Характеристика лабораторных животных

Проспективное экспериментальное исследование проводили на 24 овцах Алтайской породы массой 30–34 кг. Животных содержали в условиях конвенционального вивария. Все процедуры исследования проводились в испытательной лаборатории согласно требованиям приказа Минздрава N199н «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 болезненные процедуры и выведение

животных из эксперимента осуществляли на наркотизированных животных и выполняли в соответствии с международными стандартами гуманного обращения с животными и директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, а также согласно приказу Минздрава N199н «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 4 равные группы: 6 овцам выполнялся стандартный, принятый в клинике протокол проведения ИВЛ и ИК; 6 овцам проводилась подача NO сразу после интубации трахеи через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm, а затем при старте ИК осуществлялась доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm на протяжении всего периода ИК (90 мин), а после отлучения от ИК продолжалась подача NO через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 1 ч; 6 овцам выполнялся стандартный, принятый в клинике протокол проведения ИВЛ, ИК и гипотермического циркуляторного ареста; 6 овцам проводилась подача NO сразу после интубации трахеи через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm, а затем при старте ИК осуществлялась доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm до инициации гипотермического циркуляторного ареста, а после его окончания доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm возобновлялась и поддерживалась до окончания согревания и достижения целевой температуры (кумулятивная продолжительность ИК и периода циркуляторного ареста составляла 90 мин), а после отлучения от ИК продолжалась подача NO через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 1 ч.

2.2.4 Методика анестезии и искусственного кровообращения

Эксперимент начинали с масочной индукции анестезии севофлюраном. После достижения целевого уровня анестезии проводили предоперационную подготовку - бритье и обработку операционного поля. Для этого животное укладывали на бок и фиксировали мягкими вязками. Для обеспечения оперативного доступа от шерсти освобождалась правая передне-боковая поверхность туловища животного; для обеспечения периферического и центрального венозных доступов, а также артериального доступа от шерсти у животных освобождалась передняя поверхность шеи и задних конечностей (Рисунок 4). Для проведения стартовой инфузионной терапии и индукции анестезии в асептических условиях проводили катетеризацию большой подкожной вены задней конечности катетером 18 G (Рисунок 5). Начинали инфузионную терапию раствором стерофундина (B.Braun, Германия). Внутривенно проводилась премедикация атропина сульфатом 0,5 мг и хлоропирамином 20 мг. Перед индукцией анестезии обеспечивались пульсоксиметрия и ЭКГ- мониторинг, при этом электроды ЭКГ располагались на надрезах кожи передне-боковой поверхности тела (Рисунок 6).

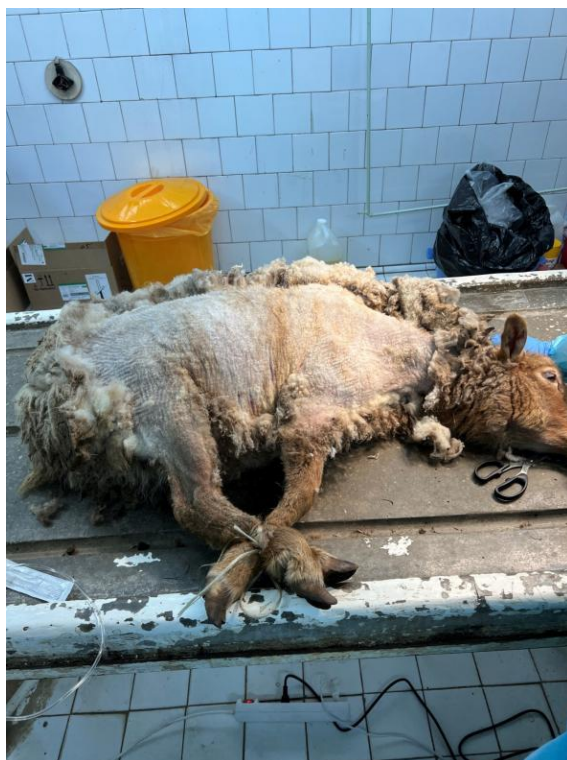


Рисунок 4 – Предоперационная подготовка-бритье операционного поля



Рисунок 5 – Обеспечение периферического венозного доступа



Рисунок 6 – Обеспечение мониторинга перед индукцией анестезии

При мониторинге основных витальных функций и после премедикации проводили индукцию общей анестезии дробным введением пропофола 1% в дозе 5 мг/кг, при этом на фоне сохранения спонтанного дыхания выполняли прямую ларингоскопию с последующей оротрахеальной интубацией эндотрахеальной трубкой №6,5 с проводником. После подтверждения положения эндотрахеальной трубки проводник извлекали, животное переводилось на искусственную вентиляцию легких (Рисунок 7).



Рисунок 7 – Выполнение оротрахеальной интубации

Искусственную вентиляцию легких проводили с помощью аппарата ИВЛ Puritan Bennett 760 (США) с использованием модифицированного дыхательного контура с дыхательным объемом 8 мл/кг и частотой дыхательных движений 20 в минуту в режиме Controlled Mandatory Ventilation (CMV) с управляемым объемом, фракционной концентраций кислорода во вдыхаемой смеси (FiO_2) 50% и положительным конечно-экспираторном давлением 5 см H_2O . В интервенционных группах экспериментальных животных, у которых выполнялось кондиционирование оксидом азота, сразу после интубации трахеи начинали доставку оксида азота через модифицированный дыхательный контур, позволяющий осуществлять подачу NO и отбор проб газо-воздушной смеси для анализа фракционной концентрации NO и NO_2 . Для синтеза, доставки и мониторинга NO использовали образец установки плазмохимического синтеза оксида азота (Рисунок 8).

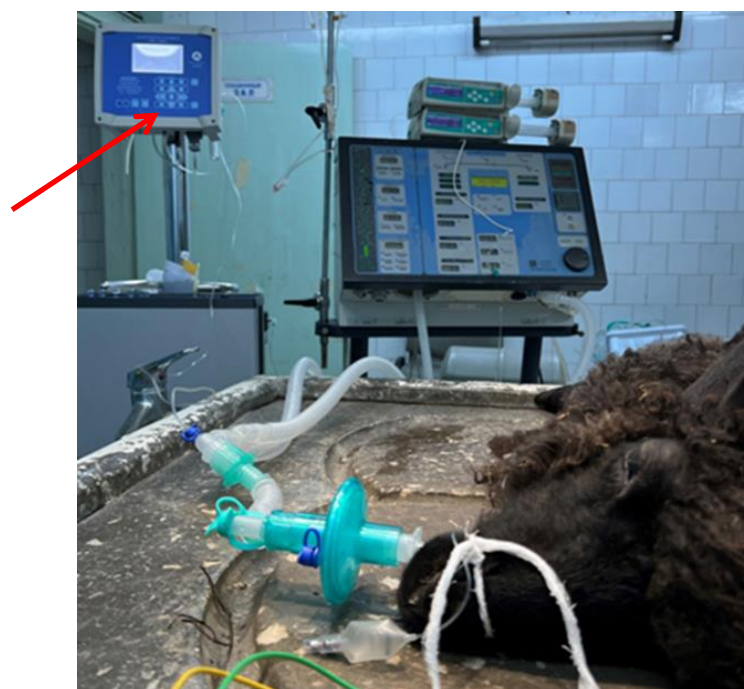


Рисунок 8 – Работа образца установки плазмохимического синтеза оксида азота при проведении искусственной вентиляции легких

Поддержание анестезии на протяжении всего эксперимента обеспечивали инфузией пропофола 5 мг/кг/ч. Нервно-мышечная блокада достигалась

применением пипекурония бромида 0,1 мг/кг. На протяжении всего эксперимента использовали расширенный мониторинг при анестезии, включавший мониторинг ЭКГ, инвазивный мониторинг артериального давления, пульсоксиметрию, непрерывно осуществляли мониторинг содержания углекислого газа в конце выдоха (etCO₂) и термометрию с помощью мониторинговой система Nihon Kohden BSM-4104A (Япония) (Рисунок 9); также проводили учет темпа мочеотделения. Температурный датчик устанавливали в пищевод.



Рисунок 9 – Расширенный мониторинг при анестезии на протяжении эксперимента

Для инвазивного мониторинга артериального давления и забора образцов крови, проведения терапии хирургическим путем выделяли и катетеризировали общую сонную артерию и внутреннюю яремную вену катетером 7F (Рисунок 10).

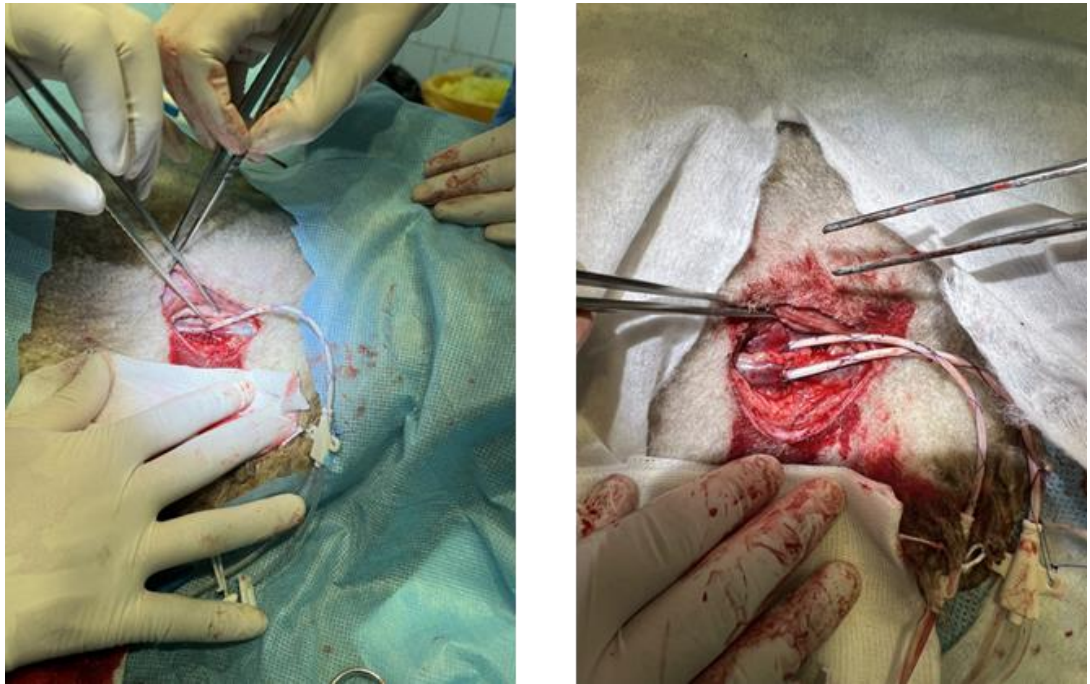


Рисунок 10 – Катетеризация общей сонной артерии и внутренней яремной вены

Для проведения ИК использовали аппарат искусственного кровообращения Maquet Jostra HL20 и неонатальный оксигенатор Kids D100 (Dideco, Италия) (Рисунок 11).



Рисунок 11 – Механический и физиологический блоки аппарата ИК во всех экспериментальных группах

Площадь поверхности тела животного считали равной $1,1 \text{ м}^2$ согласно формуле Blaxter K.L.: $S=0,09 \times m^{0,67}$. ИК осуществляли в непульсирующем режиме.

Подключение аппарата искусственного кровообращения осуществляли по бикавальной методике по схеме «аорта – верхняя полая вена – нижняя полая вена» (Рисунок 12).

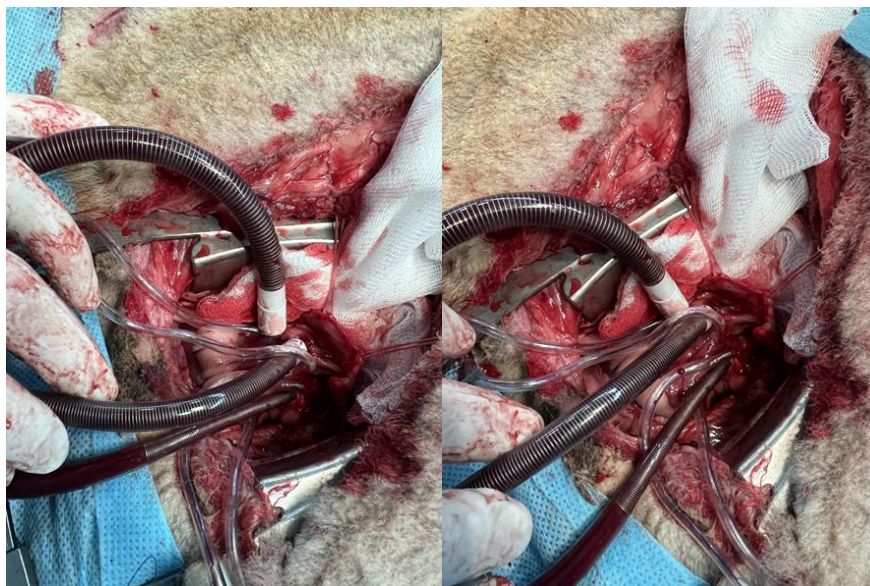


Рисунок 12 – Схема подключения ИК во всех экспериментальных группах

Перфузионный индекс составлял 2 л/мин/м². Среднее артериальное давление во время ИК поддерживалось на уровне 60 мм рт. ст. В группах экспериментальных животных, которым не моделировался циркуляторный арест, ИК проводили в условиях нормотермии: эзофагеальную температуру поддерживали на уровне 36–36,6 °С. В группах экспериментальных животных, которым моделировался циркуляторный арест, ИК проводили в гипотермическом режиме. После достижения целевой эзофагеальной температуры 30 °С производили окклюзию нисходящей аорты и таким образом моделировали бесперфузионный циркуляторный арест в течение 15 мин. Перфузионный индекс при этом снижали до 1 л/мин/м². Далее осуществляли отжатие нисходящей аорты, реперфузию и согревание до 36,6 °С. На этапе согревания перфузионный индекс составлял 2 л/мин/м². Кумулятивная продолжительность ИК во всех группах (в группах циркуляторного ареста во время ИК также вошло время продолжительности ЦА) составляло 90 мин. Для обеспечения гипокоагуляции во

время ИК применялся гепарин в дозе 3 мг/кг с поддержанием уровня времени активированного свертывания >450 сек.

2.2.5 Определение понятия кондиционирования оксидом азота, описание методики и контроль безопасности

Дозирование и мониторинг NO, а также мониторинг NO₂ осуществляли с помощью установки плазмохимического синтеза оксида азота (ТИАНОКС, «РФЯЦ-ВНИИЭФ», РФ) до целевой концентрации 80 ppm. Схемы, иллюстрирующие способы доставки NO, мониторинга NO/NO₂ во время операции представлены на рисунке 13 А, Б.

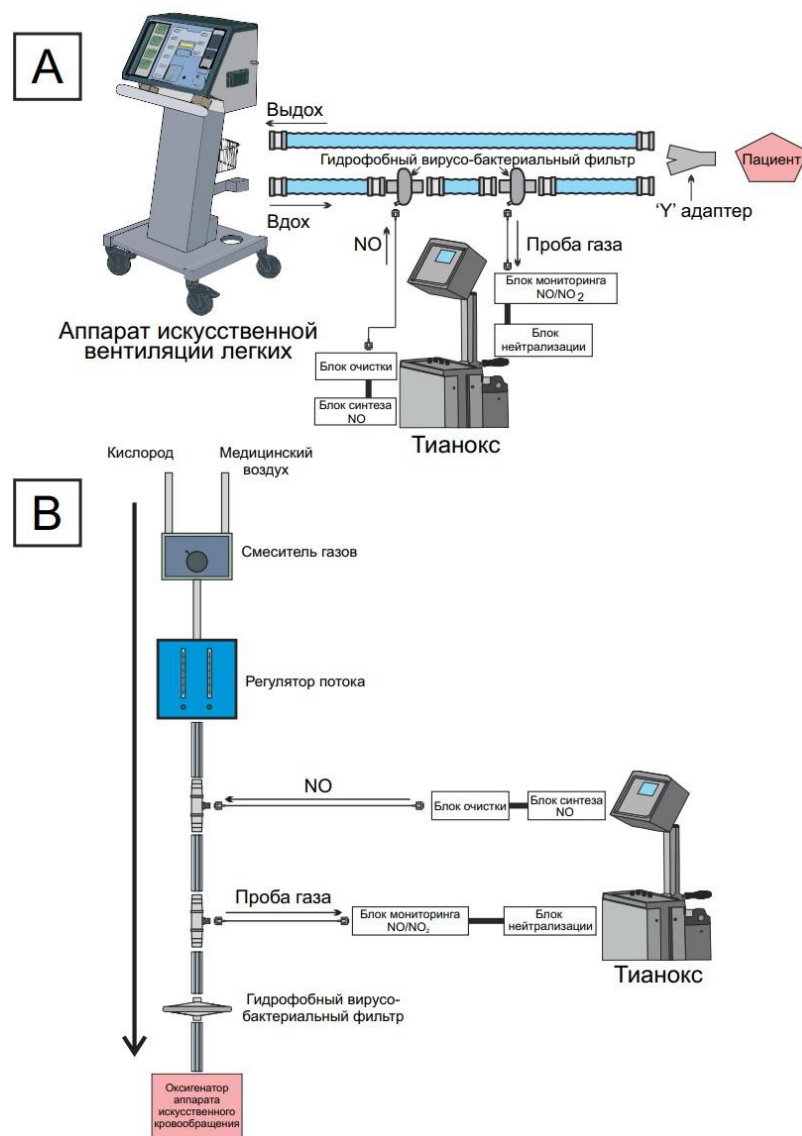


Рисунок 13 – Доставка оксида азота: А - в контур аппарата ИВЛ;
Б - в оксигенатор АИК

В рамках экспериментальной части работы была оптимизирована методика доставки оксида азота, охватывающая все этапы периоперационного периода: предперфузионный, интраперфузионный и постперфузионный. Предложенная стратегия была обозначена как «кондиционирование оксидом азота».

В биологии и медицине термин кондиционирование трактуется, в том числе, как феномен адаптивной защиты, при котором активация определённых сигнальных путей (например, каскадов фосфорилирования, экспрессии защитных белков, антиоксидантных систем) приводит к формированию устойчивости к ишемии, токсинам или другим стрессорам. В основе лежит модуляция клеточного

метаболизма и генетической экспрессии, направленная на снижение повреждений и улучшение выживаемости тканей.

Кондиционирование оксидом азота — стратегия периоперационного фармакологического воздействия NO, инициирующая каскад физиологических и биохимических изменений для повышения резистентности биологических систем (отдельных клеток, тканей, органов, систем органов и организма в целом) к повреждающим факторам операционного периода, минимизацию негативных эффектов стресс-факторов во время их непосредственного воздействия и/или усиления адаптационных возможностей после состоявшегося агрессивного воздействия. Данная стратегия объединяет для реализации в клинической практике все потенциальные механизмы NO-индуцированной органопroteкции и отражает трехфазный подход со следующими компонентами:

- Прекондиционирование: предстрессорная стимуляция NO-зависимых цитопротекторных путей;
- Интраоперационная заместительная терапия и коррекция возникающего в ходе проведения экстракорпорального кровообращения дефицита эндогенного NO;
- Посткондиционирование: постстрессорная минимизация повреждения через NO-опосредованную модуляцию окислительного стресса и воспаления.

NO относится к метгемоглобинообразователям, поэтому для исключения отравления во время исследования проводился мониторинг уровня MetHb в 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 эксперимента дискретно после интубации, перед началом ИК, а также через 60 мин после отлучения от аппарата ИК при переводе животного на спонтанное кровообращение.

2.2.6 Методы экспериментального исследования

Конечными точками исследования являлись:

1) Степень выраженности процессов острого почечного повреждения, оценённого по следующим показателям:

- маркер острого почечного повреждения uNGAL;
- диурез на протяжении эксперимента;
- морфологические показатели по данным гистологического исследования биоптатов почек экспериментальных животных.

2) Концентрация конечных метаболитов оксида азота — нитратов и нитритов (total NO₂, эндогенный NO₂ (eNO₂), NO₃) в крови экспериментальных животных;

3) Показатели адекватности искусственного кровообращения, оценённой на основании:

- веноартериального градиента pCO₂ (deltaCO₂);
- сатурации центральной венозной крови (SatCV);
- концентрации лактата в периферической крови.

4) Тяжесть митохондриальной дисфункции и состояние митохондриального дыхания в биоптатах почек экспериментальных животных, оцениваемых на основании:

- трансмембранного потенциала митохондрий ($\Delta\psi$);
- кальций-связывающей способности митохондрий (КСС);
- тканевой концентрации АТФ;
- тканевой концентрации лактата.

5) Выраженность процессов регулируемой клеточной гибели в биоптатах почек экспериментальных животных, оцениваемых на основании:

- тканевой концентрации индуктора апоптоза и некроптоза – фактора некроза опухоли альфа (TNF- α);

- тканевой концентрации маркера пироптоза – NLR пиринового домена с белками 3 (NLRP3) и гасдермина D (GSDMD);

- тканевой концентрации маркера – взаимодействующая с рецептором серин/треонин-протеинкиназа 3 (RIPK3).

6) Коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов цельной крови экспериментальных животных.

Перечень параметров безопасности исследуемого метода включал:

- 1) Увеличение MetHb >5%, требующее отмены доставки NO;
- 2) Повышение концентрации NO₂ в инспираторной фракции газовой воздушной смеси более 2 ppm, требующее отмены доставки NO.

Для решения задач настоящего исследования применялись клинические, биохимические методы исследования и оценка биоэнергетического состояния клеток.

– Клинические исследования

Для клинической оценки безопасности предлагаемой технологии периоперационного NO-кондиционирования и адекватности обеспечения эксперимента осуществляли непрерывный мониторинг показателей гомеостаза.

Для клинической оценки эффективности предлагаемой технологии периоперационного NO-кондиционирования катетеризировали мочевой пузырь и оценивали общий объем мочи за время эксперимента.

– Биохимические исследования

Получение образцов крови для биохимических исследований осуществлялось на следующих этапах: 1 – сразу после интубации, до начала ИК; 2 – начало ИК; 3 – 60 мин после отлучения от ИК.

Дискретно мониторировали показатели гемоглобина, гематокрита, сатурации центральной венозной крови (SvO₂), веноартериальный градиент pCO₂, уровень лактата, а также контролировали кислотно-основное состояние крови и MetHb.

Для оценки липокалина, ассоциированного с желатиназой нейтрофилов в моче (uNGAL), образцы мочи были взяты из катетера, установленного в мочевой пузырь, через 60 мин после отлучения от ИК (перед выводом животных из эксперимента) и центрифугированы при 1500 об/мин в течение 10 мин, после чего заморожены при температуре -20°C . Уровень uNGAL определяли методом иммуноферментного анализа (Hycult Biotech, Нидерланды) с использованием анализатора иммуноферментного анализа SunRise (Tecan, США).

Концентрации eNO_2 и NO_3 и total NO определяли сразу после интубации до начала ИК, на старте ИК и через 60 мин после отлучения от ИК. Для этого 4 мл крови отбирали из периферической вены в пробирку, содержащую ЭДТА. Полученные образцы центрифугировали в течение 15 мин при 3000 g для сепарации плазмы. Затем образцы плазмы были заморожены и хранились при температуре -25°C перед анализом. Уровни метаболитов NO в плазме крови были оценены с помощью наборов R&D system kits (R&D Systems NO/Нитрит/Нитрате Кит, нитрат 32–80 мкм/л, нитрит 63–165 мкм/л) (США) с помощью ферментативного колориметрического метода. Все образцы, полученные от одного субъекта, были изучены одним и тем же набором реактивов, чтобы избежать межтестовых вариаций.

– Исследования биоэнергетического состояния клеток. Выделение митохондрий

Для исключения ятрогенного повреждения забор биоматериала для исследования (биоптат ткани почек) проводился одномоментно на фоне спонтанного кровообращения, на 60-й минуте после отлучения от механической перфузии. Таким образом было смоделировано состояние митохондрий в клинических условиях продленного ИК и ИК и циркуляторного ареста. Часть почки, взятая для исследования, помещалась в охлажденный буферный раствор ($2-4^{\circ}\text{C}$). Сам буферный раствор имел следующий химический состав: 210 мМ маннитол (MP Biomedicals, США), 70 мМ сахароза (MP Biomedicals, США) и 10 мМ Hepes (Sigma-Aldrich, США). Данные вещества растворяли в

деионизированной воде. Для работы использовался раствор с $\text{pH}=7,4$. Значение pH определяли с помощью pH -метра Sartorius PP-25 (Sartorius AG, Германия). Выделение митохондрий из ткани проводилось методом дифференциального центрифугирования [30]. Для достижения высокого качества выделяемых органелл все процедуры осуществлялись при температуре $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в специально оборудованном холодильнике. Ткань почки измельчали ножницами в одноразовой пластиковой чашке Петри диаметром 30 мм до «кашеобразного» состояния. Полученную субстанцию гомогенизировали с помощью диспергатора Ultra-TurraxT10 (IKA-Werke, Германия) для получения однородного субстрата в 20 мл раствора, содержащего: сахароза (MP Biomedicals, США) — 70 ммоль/л, маннитол (MP Biomedicals, США) — 210 ммоль/л, EGTA (Sigma-Aldrich, США) — 6 ммоль/л, Hepes (Sigma-Aldrich, США) — 10 ммоль/л и БСА (бычий сывороточный альбумин) (Sigma-Aldrich, США) — 5 мг/мл. Данный раствор использовался при $\text{pH}=7,4$. Гомогенат центрифугировали 10 мин при 900 g с помощью центрифуги Centrifuge 5810 R (Eppendorf, Германия). Затем супернатант собирали и пропускали через нейлоновый фильтр и повторно центрифугировали 10 мин при 12000 g. Полученный осадок ресуспендировали в 20 мл изоляционного буфера (маннитол/сахароза/Hepes) с добавлением 0,1 ммоль/л EGTA (Sigma-Aldrich, США), а затем центрифугировали 10 мин при 12000 g. Полученный в конечном итоге осадок, содержащий фракцию митохондрий, ресуспендировали в 200 мкл изоляционного буфера (маннитол/сахароза/Hepes) без EGTA и БСА. Концентрацию белка в конечной суспензии митохондрий определяли по методу Бредфорд [56]. Метод основан на связывании красителя Coomassie brilliant blue G-250 с аминокислотными остатками белка, в первую очередь с аргинином, а также с триптофаном, тирозином, гистидином и фенилаланином. При связывании происходит сдвиг максимума поглощения с длины волны равной 465 нм (свободный краситель) до 595 нм (связанный), при которой и проводятся все измерения. Расчет белка в исследуемом образце проводят по известным концентрациям стандартных растворов белка.

– Измерение трансмембранного потенциала митохондрий в биоптатах почечной паренхимы

Трансмембранный потенциал митохондрий измеряли с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5301-PC (Shimadzu Corporation, Япония) с использованием катионного флюоресцентного зонда этилового эфира тетраметилродамина (TMRE; MolecularProbes, Invitrogen, США). Длина волны возбуждения составляла $\lambda_{Ex}=550$ нм, длина волны излучения $\lambda_{Em}=575$ нм. Реакция инициировалась добавлением суспензии митохондрий (2 мг белка) в кювету спектрофлуориметра к 3 мл буфера, содержащего 200 ммоль/л сахарозы (MP Biomedicals, США), 10 ммоль/л Tris-HCl (Sigma-Aldrich, США), 5 ммоль/л KH_2PO_4 (MP Biomedicals, США), 0,01 ммоль/л EGTA (Sigma-Aldrich, США), 2,5 мг/мл БСА (Sigma-Aldrich, США), 5 ммоль/л сукцината (Sigma-Aldrich, США), 40 нмоль/л TMRE (MolecularProbes, Invitrogen, США). О величине трансмембранного потенциала судили по падению интенсивности флюоресценции после добавления в среду инкубации 100 нмоль/л FCCP (Sigma-Aldrich, США). Величина трансмембранного потенциала митохондрий представлена как разница интенсивности флюоресценции до и после добавления FCCP (Ед) в пересчете на единицу массы белка в суспензии митохондрий (мг).

– Оценка КСС митохондрий в биоптатах почечной паренхимы

Кальций-связывающая способность митохондрий оценивалась с использованием Ca_2^{+} -чувствительного флюоресцентного красителя CalciumGreen-5N (MolecularProbes, Invitrogen, США) с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5301-PC (Shimadzu Corporation, Япония). Длина волны возбуждения составляла $\lambda_{Ex}=555$ нм; длина волны излучения $\lambda_{Em}=577$ нм [95]. Изолированные митохондрии (1 мг белка/мл) инкубировали в 3 мл буфера, содержащего 200 ммоль/л сахарозы (MP Biomedicals, США), 10 ммоль/л Tris-HCl (Sigma-Aldrich, США), 5 ммоль/л KH_2PO_4 (MP Biomedicals, США), 0,01 ммоль/л EGTA (Sigma-Aldrich, США), 2,5 мг/мл БСА (Sigma-Aldrich, США), 5 ммоль/л сукцината (Sigma-Aldrich, США). Концентрация CalciumGreen-5N составляла 100 нмоль/л.

Каждые 3 минуты в среду инкубации митохондрий добавляли по 100 нмоль CaCl_2 и регистрировали возрастание флуоресценции, которая затем снижалась, что соответствует поглощению кальция митохондриями. Порции раствора CaCl_2 добавляли до тех пор, пока не было зарегистрировано резкое возрастание флуоресценции CalciumGreen-5N, что соответствовало открытию МРТ-поры и выходу ионов Ca_2^+ из митохондрий. КСС митохондрий вычислялась по максимальному количеству аккумулированного митохондриями Ca_2^+ в расчете на 1 мг белка (нмоль CaCl_2 /мг белка) [95].

– Определение содержания АТФ в биоптатах почечной паренхимы

Часть почки, взятой для исследования, замораживали в жидком азоте. Полученные образцы гомогенизировали в жидком азоте, добавляя 2 мл 3% трихлоруксусной кислоты (ТХУ), охлажденной до 2 °С. Гомогенат центрифугировали 10 мин при 3000 g и температуре 2°С на центрифуге SL 16R (Thermo Scientific, США). Надосадочную жидкость отбирали, нейтрализовали 1M Trizma base (Sigma-Aldrich, США) и доводили объем образца деионизованной водой до 2 мл. Определение АТФ проводили с использованием биолюминесцентного набора «ATP Bioluminescent Assay Kit» (Sigma-Aldrich, США) на хемилюминометре Lucy-2 (Anthos Labtec Instruments, Австрия). Принцип данного анализа основан на протекании следующих реакций:

$\text{АТФ} + \text{Люциферин} \rightarrow (\text{фермент люцифераза}) \text{Аденил-люциферин} + \text{PPi} \quad (1);$

$\text{Аденил-люциферин} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Оксилюциферин} + \text{АМФ} + \text{CO}_2 + \text{свет} \quad (2).$

Первая реакция обратима и ее равновесие сдвинуто в правую сторону; вторая реакция необратима. Таким образом, содержание АТФ в исходном образце является лимитирующим фактором реакции и количество выделяющегося света прямо пропорционально содержанию АТФ в растворе.

– Определение содержания лактата в биоптатах почечной паренхимы

Образцы гомогенизировали в жидком азоте, добавляя 2 мл 3% трихлоруксусной кислоты (ТХУ), охлажденной до 2 °С. Гомогенат центрифугировали 10 минут при 3000 g и температуре 2 °С на центрифуге SL 16R

(Thermo Scientific, США). Надосадочную жидкость отбирали, нейтрализовали 1M Trizma base (Sigma-Aldrich, США) и доводили объем образца деионизованной водой до 2 мл. Определение лактата проводили иммуноферментным методом с использованием набора «L-Lactate Assay Kit» (Sigma-Aldrich, США) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия). Принцип данного анализа основан на окислении лактата, катализируемом лактатдегидрогеназой, при котором образовавшийся НАДН восстанавливает реагент формазан. Интенсивность окраски продукта пропорциональна концентрации лактата в образце.

– Определение содержания RIPK3 (взаимодействующая с рецептором серин/треонин-протеинкиназа 3) в биоптатах почечной паренхимы

Полученные образцы гомогенизировали в жидком азоте, добавляя 500 мкл фосфатного буфера (ФСБ, pH=7) охлажденного до 2 °C. Для разрушения клеточных мембран использовали несколько циклов замораживания/оттаивания. Затем гомогенат центрифугировали 15 минут при 1500 g и температуре 2 °C на центрифуге SL 16R (Thermo Scientific, США). Надосадочную жидкость отбирали по 100 мкл в эппендорфы и замораживали при -80 °C. Определение RIPK3 проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep Receptor Interacting Serine Threonine Kinase 3 (RIPK3) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия). Принцип данного анализа основан на конкурентном методе ИФА, использующем поликлональное антитело к RIPK3 и конъюгат RIPK3 с пероксидазой хрена. Образцы и буфер инкубируются с ферментным конъюгатом в планшете в течение 1 ч. Затем не связавшиеся компоненты отмываются пятикратной промывкой. Далее добавляют хромогенный субстрат в каждую лунку. Фермент взаимодействует с субстратом, образуя голубое окрашивание. Ферментативная реакция прекращается добавлением раствора стоп-реагента. Интенсивность окрашивания в лунках обратно пропорциональна концентрации RIPK3, так как RIPK3 из образцов конкурирует с RIPK3, связанным с ферментом,

за центры связывания антител к RIPK3. Так как количество сайтов связывания ограничено, следовательно, чем больше сайтов занято RIPK3 из образца, тем меньше сайтов занято RIPK3 с пероксидазой хрена. Концентрация RIPK3 в образцах рассчитывается в соответствии со стандартной (калибровочной) кривой.

– Определение Протеина 3, содержащего пуриновый домен NLR (NLRP3) в биоптатах почечной паренхимы

Полученные образцы гомогенизировали в жидком азоте, добавляя 500 мкл фосфатного буфера (ФСБ, pH=7) охлажденного до 2 °C. Для разрушения клеточных мембран использовали несколько циклов замораживания/оттаивания. Затем гомогенат центрифугировали 15 минут при 1500 g и температуре 2 °C на центрифуге SL 16R (Thermo Scientific, США). Надосадочную жидкость отбирали по 100 мкл в эппендорфы и замораживали при -80 °C. Определение NLRP3 проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep NLR Pyrin Domain Containing Proteins 3 (NLRP3) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия). Набор основан на конкурентном методе ИФА, использующем поликлональное антитело к NLRP3 и конъюгат NLRP3 с пероксидазой хрена. Образцы и буфер инкубируются с ферментным конъюгатом в планшете в течение 1 ч. Затем несвязавшиеся компоненты отмываются пятикратной промывкой. Далее добавляют хромогенный субстрат в каждую лунку, и фермент взаимодействует с субстратом, образуя голубое окрашивание. Ферментативная реакция прекращается добавлением раствора стоп-реагента. Интенсивность окрашивания в лунках обратно пропорциональна концентрации NLRP3, так как NLRP3 из образцов конкурирует с NLRP3, связанным с ферментом, за центры связывания антител к NLRP3. Так как количество сайтов связывания ограничено, следовательно, чем больше сайтов занято NLRP3 из образца, тем меньше сайтов занято NLRP3 с пероксидазой хрена. Концентрация NLRP3 в образцах рассчитывается в соответствии со стандартной (калибровочной) кривой.

– Определение Гасдермина D (GSDMD) в биоптатах почечной паренхимы

Определение GSDMD проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep Gasdermin D (GSDMD) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия). Набор основан на конкурентном методе ИФА, использующем поликлональное антитело к GSDMD и конъюгат GSDMD с пероксидазой хрена. Образцы и буфер инкубируются с ферментным конъюгатом в планшете в течение 1 ч. Затем несвязавшиеся компоненты отмываются пятикратной промывкой. Далее добавляют хромогенный субстрат в каждую лунку, и фермент взаимодействует с субстратом, образуя голубое окрашивание. Ферментативная реакция прекращается добавлением раствора стоп-реагента. Интенсивность окрашивания в лунках обратно пропорциональна концентрации GSDMD, так как GSDMD из образцов конкурирует с GSDMD, связанным с ферментом, за центры связывания антител к GSDMD. Так как количество сайтов связывания ограничено, следовательно, чем больше сайтов занято GSDMD из образца, тем меньше сайтов занято GSDMD с пероксидазой хрена. Концентрация GSDMD в образцах рассчитывается в соответствии со стандартной (калибровочной) кривой.

– Определение фактора некроза опухоли α в биоптатах почечной паренхимы

Полученные образцы гомогенизировали в жидком азоте, добавляя 500 мкл фосфатного буфера (ФСБ, pH=7) охлажденного до 2 °C. Для разрушения клеточных мембран использовали несколько циклов замораживания/оттаивания. Затем гомогенат центрифугировали 15 мин при 1500 g и температуре 2 °C на центрифуге SL 16R (Thermo Scientific, США). Надосадочную жидкость отбирали по 100 мкл в эппендорфы и замораживали при 80 °C. Определение TNF- α проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep Tumor Necrosis Factor Alpha (TNFAlpha) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия). Набор основан на конкурентном методе ИФА, использующем поликлональное антитело к TNF- α и конъюгат TNF- α с пероксидазой хрена. Образцы и буфер

инкубируются с ферментным конъюгатом в планшете в течение 1 ч. Затем несвязавшиеся компоненты отмываются пятикратной промывкой. Далее добавляют хромогенный субстрат в каждую лунку, и фермент взаимодействует с субстратом, образуя голубое окрашивание. Ферментативная реакция прекращается добавлением раствора стоп-реагента. Интенсивность окрашивания в лунках обратно пропорциональна концентрации TNF- α , так как TNF- α из образцов конкурирует с TNF- α , связанным с ферментом, за центры связывания антител к TNF- α . Так как количество сайтов связывания ограничено, следовательно, чем больше сайтов занято TNF- α из образца, тем меньше сайтов занято TNF- α с пероксидазой хрена. Концентрация TNF- α в образцах рассчитывается в соответствии со стандартной (калибровочной) кривой.

– Гистологическое исследование биоптатов почечной паренхимы

Образцы тканей экспериментальных животных помещали в 10%-ный забуференный (pH 7,4) раствор формалина ("БиоВитрум", Россия). После 24-часовой фиксации в формалине образцы тканей промывали в проточной воде, обезвоживали растворами изопрепарата возрастающей концентрации (БиоВитрум, Россия) в течение 8 процедур, пропитывали и заливали в парафиновую смесь Histomix (БиоВитрум, Россия). Парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили на автоматическом микротоме (HM355S, Thermo Fisher Scientific, Китай). Срезы депарафинизировали в о-ксилене (ЭКОС-1, Россия), регидратировали в абсолютном этиловом спирте и дистиллированной воде в течение 3 процедур, а затем окрашивали в соответствии с рекомендациями производителя красителя. Окрашенные препараты обезвоживали в абсолютном этиловом спирте, очищали в о-ксилене (ЭКОС-1, Россия) и монтировали в канадском бальзаме (Рансгеас, Испания). Депарафинизированные срезы почек экспериментальных животных окрашивали гематоксилином Гилла ("БиоВитрум", Россия) и эозином ("БиоВитрум", Россия). Гистологические срезы исследовали с помощью светового микроскопа Axioscope 40 (Zeiss, Германия). Фотографии

гистологических срезов были получены с помощью цифровой камеры Canon G5 (Canon, Япония) с AxioVision 4.3 (Zeiss, Германия).

– Определение коэффициентов микровязкости и полярности мембран эритроцитов

Для выделения мембран эритроцитов и дальнейшего определения коэффициентов их микровязкости осуществляли забор венозной крови в вакутейнеры с гепарином лития (17 МЕ/мл) в начале ИК и через 60 мин после отключения животного от ИК. Образцы крови центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. После удаления плазмы эритроцитарный осадок 3 раза отмывали охлажденным физиологическим раствором. Каждый раз эритроциты осаждали при 1500 об/ мин в течение 10 мин. Мембраны эритроцитов получали путем гипоосмотического гемолиза, как описано ранее [16]. Количество общего белка в суспензии теней эритроцитов измеряли методом микро-Лоури в модификации S.T. Ohnishi [217] с использованием реактивов фирмы Sigma-Aldrich (США). Для определения спектральных характеристик образцы мембран эритроцитов разводили в 10мМ трис-HCl буфере (pH 7,4) до конечной концентрации белка 0,3 мг/мл. Характеристику структурных свойств липидной фазы мембран эритроцитов проводили с использованием определения интенсивности спектральных пиков при ее взаимодействии с флуоресцентным зондом пирен (Sigma-Aldrich) на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian, США). К 2 мл суспензии мембран эритроцитов добавляли 20 мкл 10 мкМ спиртового раствора пирена. Микровязкостные свойства мембран в области аннулярных и общих липидов оценивали по степени эксимеризации пирена, вычисляя отношение интенсивности флуоресценции эксимеров и мономеров (J_{470}/J_{370}) при длине волны возбуждающего света ($\lambda_{в}$) 285 нм и 340 нм соответственно [4, 15]. Полярность аннулярных и общих липидов анализировали по отношению амплитуд вибронных пиков мономеров (J_{390}/J_{370}) при $\lambda_{в} = 285$ и $\lambda_{в} = 340$ нм [4, 15].

– Расчет размера планируемого количества участников исследования

В современной научной практике концепция 3R (Replacement, Reduction, Refinement) признана международным стандартом гуманного проведения экспериментальных исследований, направленным на минимизацию использования лабораторных животных [255]. Однако оптимизация их численности должна осуществляться без ущерба для научной обоснованности: сокращение количества особей недопустимо, если оно ведет к снижению статистической мощности исследования или искажению воспроизводимости результатов. Для определения объема выборки при исследованиях на животных необходимо располагать данными о предполагаемой разнице средних значений между группами (которая может быть получена экспериментально или задана исследователем в качестве клинически значимой величины), а также информацией о стандартном отклонении изучаемого параметра (на основе предыдущих исследований или опубликованных научных данных) и размере эффекта исследуемого вмешательства. В данном исследовании было невозможно предварительно оценить вариабельность ключевых исследуемых параметров (выраженность морфологических изменений, тяжесть митохондриальной дисфункции и процессов регулируемой клеточной гибели в паренхиме почек, а также коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов) поскольку релевантных исследований в доступной научной литературе обнаружено не было. В этой связи для расчета размера планируемого числа экспериментальных животных применялся валидизированный для доклинических исследований «resource equation method» – метод балансировки ресурсов [89]. В рамках данного метода основным параметром выступает E (рассчитываемый как общее количество животных минус число экспериментальных групп), который определяется исследователем в ситуациях, когда невозможно провести расчет размера выборки с использованием анализа мощности. Для достижения оптимального объема выборки значение E должно находиться в диапазоне от 10 до 20. Если E меньше 10, рекомендуется включить большее количество животных в эксперимент. Если E превышает 20, количество животных следует уменьшить.

В экспериментальную часть исследования планировалось включить 24 животных, распределенных между собой в 4 равные группы. Таким образом, при выбранном дизайне исследования E равнялось 20, что соответствует оптимальному объему выборки для экспериментальных и доклинических исследований [89].

2.3 Клиническое исследование №2

Клиническая часть №2 представляет результаты одноцентрового проспективного рандомизированного контролируемого исследования периоперационного кондиционирования оксидом азота, полученным по технологии плазмохимического синтеза, для предотвращения острого почечного повреждения при кардиохирургических вмешательствах у пациентов с хронической болезнью почек.

Данное исследование проводилось в соответствии с действующими нормами и правилами проведения клинических исследований, том числе действующей редакцией (2013) Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации, международным стандартом ICH E6 “Good clinical practice”, Федеральным законом от 21 ноября 2011 г. N 323-ФЗ “Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации”, Приказом Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г. N 200н “Об утверждении правил надлежащей клинической практики”. До начала исследования вся информация, включающая протокол исследования, форму информационного согласия пациента, сведения об опыте работы исследователей по соответствующим специальностям и их опыте работы по проведению клинических исследований, была представлена в комитет по биомедицинской этике НИИ кардиологии ТНИМЦ для проведения этической экспертизы. Исследование было начато после получения заключения об одобрении проведения комитетом по биомедицинской

этике, который также осуществлял контроль за соблюдением этических норм при проведении исследования и прав участников исследования.

Критерии включения:

- 1) Плановые кардиохирургические операции в условиях ИК;
- 2) ХБП (С3а-С4).

Критерии невключения:

- 1) Экстренная операция (в том числе при остром коронарном синдроме);
- 2) Введение потенциально нефротоксичных препаратов в течение 24 ч до операции (рентгеноконтрастные препараты, антимикробная терапия аминогликозидами и/или амфотерицином);
- 3) Критический дооперационный статус (дооперационная потребность в искусственной вентиляции легких (ИВЛ), введении инотропных и вазопрессорных препаратов, вспомогательное кровообращение);
- 4) Беременность;
- 5) Текущая регистрация в другом РКИ;
- 6) Активная фаза эндокардита и/или сепсис;
- 7) Легочная гипертензия более III ст. (систолическое давление в легочной артерии более 65 мм рт. ст. по данным предоперационной трансторакальной эхокардиографии);
- 8) Возраст <18 лет;
- 9) Состояние после трансплантации почек.

Критерии исключения из исследования (соответствуют противопоказаниям к применению оксида азота):

- 1) Развитие в послеоперационном периоде левожелудочковой сердечной недостаточности/кардиогенного шока с повышением давления заклинивания легочных капилляров и/или риском развития отека легких;
- 2) Увеличение в послеоперационном периоде уровня MetHb >5% или повышение концентрации NO₂ в инспираторной фракции газо-воздушной смеси >3 ppm, требующие отмены доставки NO;

Каждому потенциальному участнику исследования была представлена информация об исследовании. Включение пациентов в исследование проводилось только после добровольного согласия на участие в исследовании, выраженное посредством подписания соответствующей формы информированного согласия самим пациентом или его законным представителем.

Обследование и лечение пациентов проводилось в соответствии с утвержденными стандартами оказания медицинской помощи для соответствующих заболеваний.

Протокол проведения исследования был одобрен локальным этическим комитетом учреждения (протокол N 237 от 20.12.2022). До начала включения пациентов данное исследование было зарегистрировано по адресу www.clinicaltrials.gov (ID: NCT0575755) в качестве проспективного рандомизированного контролируемого исследования.

2.3.1 Рандомизация

Пациенты, отвечающие критериям отбора в данное исследование, были предварительно рандомизированы в исследуемую группу (NO-группу) и контрольную группу в соотношении 1:1 в соответствии с рандомизационной последовательностью, сформированной с помощью компьютерной программы. Был использован 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 непосредственно перед началом вмешательства один слепо выбранный конверт вскрывался независимым оператором (врачом-исследователем), содержимое конверта не разглашалось. Таким образом пациенты слепо включались в группу с кондиционированием NO либо в контрольную группу в соотношении 1:1. Врач-исследователь, ответственный за доставку и мониторинг исследуемого газа, оставался незаслепленным и отвечал за маскировку систем доставки газов, мониторинг и безопасность доставки, а также за сохранение рандомизационных кодов.

Пациентам из NO-группы проводилась дополнительная ингаляционная терапия оксидом азота в концентрации 80 ppm через контур наркозно-дыхательного аппарата, магистраль подачи газо-воздушной смеси аппаратов ИК и через контур аппарата ИВЛ в послеоперационном периоде. Кондиционирование NO проводилось сразу после индукции анестезии и интубации трахеи в течение интраоперационного периода, включая период ИК, и на протяжении 6 ч после операции. Если пациент был экстубирован ранее, чем через 6 ч после вмешательства, доставка NO прекращалась. В контрольной группе дополнительная ингаляционная терапия NO не проводилась, использовался стандартный, принятый в клинике протокол периоперационного обеспечения кардиохирургических вмешательств.

Для оценки возможности участия в исследовании был выполнен скрининг 850 пациентов. Из данной популяции 158 пациентов были идентифицированы для возможного включения, 692 пациента не удовлетворяли критериям включения. Из 158 потенциальных кандидатов на участие 10 пациентов имели критерии исключения, 12 отказались участвовать в исследовании. 136 пациентов были включены в исследование в соответствии с критериями включения/исключения и рандомизированы в соотношении 1:1.

Таким образом, в данном исследовании представлены и проанализированы данные 136 пациентов, разделенных на равные группы по 68 человек: в группу

периоперационного кондиционирования NO и контрольную. Блок-схема дизайна исследования представлена на рисунке 14.

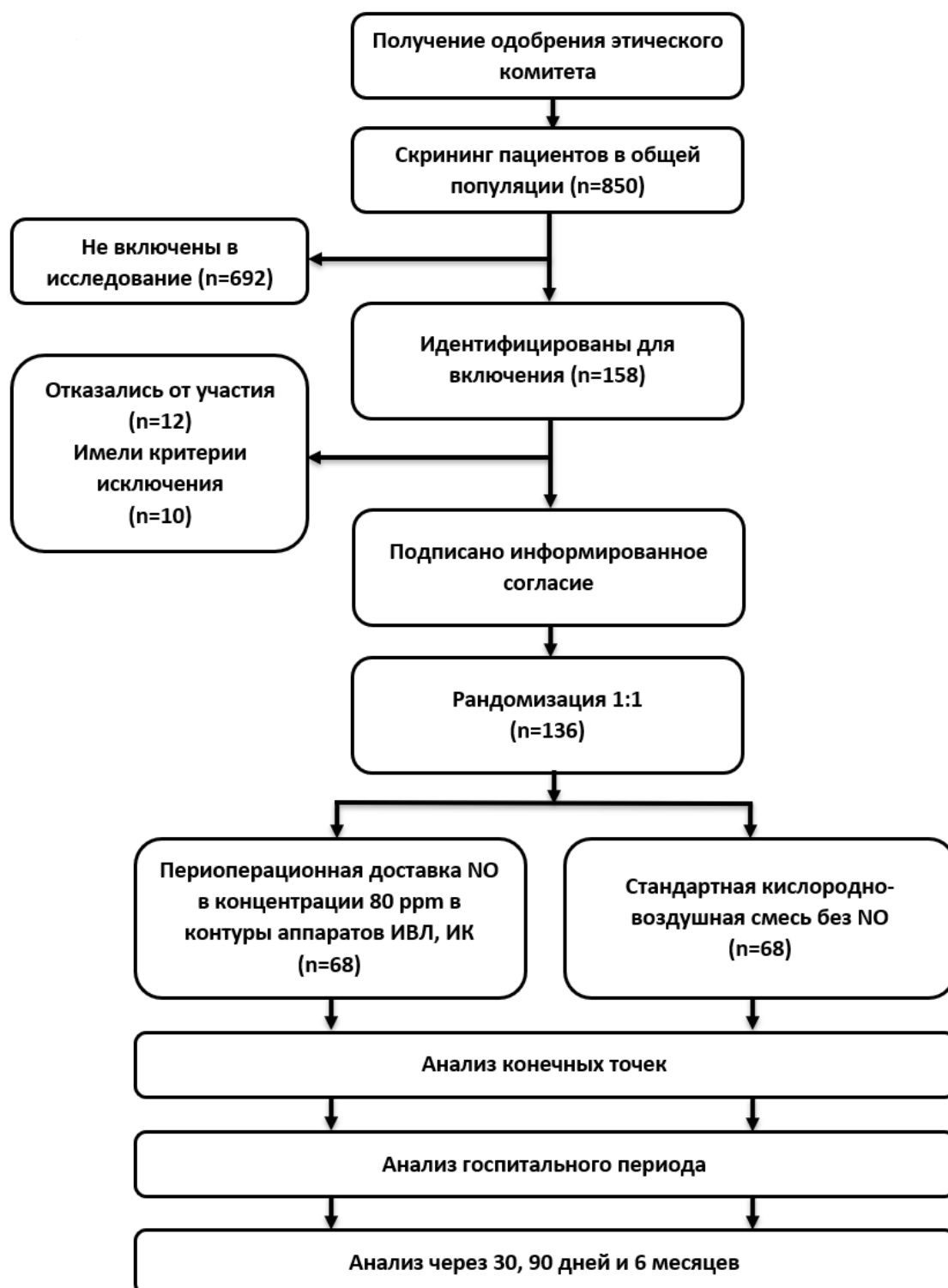


Рисунок 14 – Блок-схема процесса клинического исследования №2

2.3.2 Характеристика пациентов

В исследование включены пациенты, поступившие в кардиохирургическое отделение №1 НИИ кардиологии ТНИМЦ для планового хирургического вмешательства и имеющие высокий риск ОПП в периоперационном периоде, обусловленный наличием ХБП. Диагноз «Хроническая болезнь почек» был установлен в соответствии с определением Инициативной группы по качеству исходов болезней почек (Kidney Disease Outcome Quality Initiative — KDOQI) при снижении СКФ <60 мл/мин/1,73 м² в течение 3 месяцев перед операцией и более независимо от нозологической формы нефропатии. СКФ рассчитывали по формулам MDRD (Modification OF Diet in Renal Disease (группа по изучению модификации диеты при болезнях почек (Study group))) и CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (Сотрудничество в эпидемиологии хронических заболеваний почек)). Клинико-демографические данные пациентов обеих групп представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Клинико-демографическая характеристика пациентов

Характеристики	НО-группа (n=68)	Контрольная группа (n=68)	<i>p</i>
Возраст, лет, Ме [25; 75]	68 [63.5; 72]	69 [64.5; 74.5]	0,374
Женский пол, n (%)	17 (25)	23 (33,8)	0,259
ИМТ, кг/м ² , М±SD	30.1±4,47	28,8±4,94	0,120
ИБС, n (%)	60 (88,2)	60 (88,2)	>0,999
ПИКС, n (%)	38 (55,9)	32 (47,1)	0,303
Класс по NYHA			0,764
1, n (%)	4 (5,9)	5 (7,4)	
2, n (%)	36 (52,9)	32 (47,1)	
3, n (%)	27 (39,7)	31 (45,6)	
4, n (%)	1 (1,5)	0 (0)	

Продолжение таблицы 6

Риск по Cleveland Clinic Score			0, 35
низкий, n (%)	23 (33,8)	28 (41,2)	
умеренный, n (%)	39 (57,4)	39 (57,4)	
высокий, n (%)	6 (8,8)	1 (1,5)	
Курение, n (%)	31 (45,6)	25 (36,8)	0,296
РЧА в амнезие, n (%)	0 (0)	1 (1,5)	>0,999
ГБ, n (%)	67 (98,5)	66 (97,1)	>0,999
Стадия ХБП			0,218
3а, n (%)	54 (79,4)	54 (79,4)	
3в, n (%)	11 (16,2)	14 (20,6)	
4, n (%)	3 (4,4)	0 (0)	
Креатинин, мкмоль/л, Ме [Q1; Q3]	119 [106.5; 134]	115 [102.5; 126]	0,208
СКФ, мл/мин /1,73м ² , Ме [Q1; Q3]	53 [46; 56.5]	53 [47; 56.5]	0,408
Периферический атеросклероз, n (%)	63 (92,6)	63 (92,6)	>0,999
ФП, n (%)	15 (22,1)	20 (29,4)	0,327
СД, n (%)	19 (27,9)	19 (27,9)	>0,999
ХОБЛ, n (%)	14 (20,6)	9 (13,2)	0,253
БА, n (%)	2 (2,9)	1 (1,5)	>0,999
Стенозы сонных артерий, n (%)	64 (94,1)	62 (91,2)	0,744
Инсульт, n (%)	8 (11,8)	11 (16,2)	0,622
ТИА, n (%)	0 (0)	1 (1,5)	>0,999
Гепатит, n (%)	2 (2,9)	4 (5,9)	0,680
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$, $M \pm SD$	207 $\pm$ 54,2	208 $\pm$ 49,7	0,978
ФВ ЛЖ, %, Ме [Q1; Q3]	58 [50; 63.5]	59.5 [46; 67]	0,580
СВ, л/мин, Ме [Q1; Q3]	5.3 [3.35; 5.1]	4 [3.35; 4.95]	0.532
ЛГ, n (%)	38 (55,9)	35 (51,5)	0,606
СДПЖ, мм.рт.ст., Ме [25; 75]	31 [27; 36]	31 [27; 37]	0,308
EuroSCORE II, %, Ме [Q1; Q3]	2.17 [1.51; 2.86]	2.38 [1.55; 3.69]	0,234

Примечание: ИМТ - индекс массы тела; ИБС - NYHA - класс сердечной недостаточности согласно Нью-Йоркской ассоциации кардиологов; Cleveland

Clinic Score - клиническая шкала оценки риска диализ-зависимого ОПП: 0-2 балла – низкий риск, 3-5 баллов – средний риск, > 6 баллов – высокий риск; РЧА - радиочастотная абляция устьев легочных вен; ГБ - гипертоническая болезнь; ГЛЖ ХБП - хроническая болезнь почек; СКФ - скорость клубочковой фильтрации; гипертрофия левого желудочка; ФП - фибриляция предсердий; СД - сахарный диабет; ХОБЛ - хроническая обструктивная болезнь легких; БА - бронхиальная астма; ТИА - транзиторная ишемическая атака; ФВ ЛЖ - фракция выброса левого желудочка; СВ - сердечный выброс; ЛГ - легочная гипертензия; СДПЖ - систолическое давление правого желудочка.

Пациенты в двух группах были сопоставимы по демографическим показателям, исходной тяжести состояния и сопутствующей патологии.

Проведен анализ данных интраоперационного периода. Группы статистически значимо не различались по типу оперативных вмешательств, количеству дистальных анастомозов у пациентов с коронарным шунтированием, продолжительности искусственного кровообращения, времени пережатия аорты и доставке кислорода во время ИК. Характеристики интраоперационного периода представлены в таблице 7.

Таблица 7 — Характеристики интраоперационного периода

Характеристики	НО-группа (n=68)	Контрольная группа (n=68)	P
Тип оперативных вмешательств			0,868
Изолированное КШ, n (%)	48 (70,6)	42 (61,8)	
Одна процедура (не КШ), n (%)	11 (16,2)	6 (8,8)	
Две процедуры, n (%)	6 (8,8)	12 (17,6)	
Три процедуры, n (%)	3 (4,4)	8 (11,8)	
Продолжительность ИК, мин, Me [25; 75]	95 [85; 111]	96,5 [85; 115]	0,259
Время пережатия аорты, мин, Me [25; 75]	56 [43,5; 71]	55 [46,5; 77,5]	0,790
DO ₂ во время ИК, мл/мин, Me [25; 75]	302 [289,5; 313,5]	299 [291; 311]	0.634
ВАБК, n (%)	1 (1,5)	0 (0)	>0.999

Примечание: КШ – коронарное шунтирование; ИК – искусственное кровообращение; ВАБК – внутриаортальная баллонная контрпульсация; DO₂ – доставка кислорода.

2.3.3 Методики подготовки к оперативному вмешательству, анестезиологического обеспечения, проведения искусственного кровообращения, кардиopleгической защиты миокарда и послеоперационная терапия в отделении реанимации и интенсивной терапии

Все пациенты, включенные в исследование, рассматривались как пациенты с высоким риском КХ-ОПП, у всех пациентов применялся мультимодальный подход периоперационного обеспечения для снижения риска органного повреждения. У всех пациентов, включенных в исследование, применены комплексные стратегии по предотвращению периоперационного ОПП. Мультимодальная органопroteкция подразумевает рутинное применение в клинике технологий и методов, позволяющих улучшать клинические исходы: применение тактики цель-ориентированной перфузии (GDP) и практических рекомендаций EACTS/EACTA/EBSCР во время ИК, а также применение рекомендаций KDIGO на протяжении как минимум 48 ч после кардиохирургической операции [94, 185, 222, 248].

Ведение анестезии у пациентов, включенных в исследование, осуществлялось в соответствии со стандартами медицинской помощи в клинике и с использованием стандартных протоколов. Антибиотик в профилактических целях (цефазолин 1 гр.) вводился через периферический венозный катетер (Vasofix Certo, B Braun, Германия). До операции пациенты получали в премедикации седативные и антигистаминные препараты. Фентанил (3,0–5,0 мг/кг) и пропофол (1,5 мг/кг) использовались для индукции анестезии. Пипекурония бромид (0,1 мг/кг) использовался для нейромышечной блокады. Анестезия поддерживалась севофлюраном 2–3 об. % через контур наркозного

аппарата до и после ИК; во время ИК севофлюран подавался в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения. Для поддержания аналгезии вводился фентанил (3,0–5,0 мкг/кг/ч). Интраоперационная механическая вентиляция легких проводилась с помощью наркозного аппарата (Dräger Primus, Dräger, Германия) с использованием полужакрытого контура в режиме принудительной вентиляции с контролем по объему, уровнем РЕЕР 5–6 мбар и концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси 30% и выше в зависимости от клинической необходимости. Дыхательный объем устанавливался на уровне 6–7 мл/кг предсказанной массы тела, частота дыхания 14–16 в мин для поддержания парциального давления углекислого газа в артериальной крови (PaCO_2) 35–40 мм рт. ст. Стандарт мониторинга при анестезии включал непрерывный мониторинг ЭКГ, инвазивный мониторинг артериального давления, пульсоксиметрию и термометрию в пищеводе с использованием монитора Infinity Delta XL (Dräger, Германия). Центральный венозный катетер (7F Certofix, B. Braun, Германия) был установлен в правой внутренней яремной вене, при невозможности был использован альтернативный сайт канюляции — правая подключичная вена. Лучевая артерия была катетеризирована с использованием артериальной канюли 20G (BD Arterial Cannula, BDITS Inc., США) для контроля артериального давления и получения образцов крови для газоанализа. Мочевой пузырь катетеризировался для контроля диуреза. Мониторировались метаболические параметры, кислотно-основной баланс крови и ионограмма. Уровень седации контролировался с помощью биспектрального анализа электроэнцефалограммы (BIS-мониторинг), уровень поддерживался в диапазоне от 40 до 60 (Dräger Infinity® Delta XL с модулем Dräger Infinity «BISx SmartPod» (Dräger, Германия)).

ИК проводилось с использованием принятых в клинике протоколов, данные протоколы не изменялись в течение всего периода исследования и соблюдались в обеих группах. Типы экстракорпоральных контуров, поддержание антикоагуляции, прайминг, поддержание кислотно-основного и электролитного балансов, контроль САД, температурный режим перфузии, протоколы

трансфузии компонентов крови, контроль гликемии, фармакологические и другие интервенции осуществлялись в соответствии с рекомендациями EACTS/ЕАСТА/ЕВСР [288].

ИК выполнялось в непульсирующем режиме с использованием системы Stockert (Stockert Inc., Германия) с одноразовыми мембранными оксигенаторами SKIPPER (EUROSETS S.r.l., Италия). Перфузионный индекс составлял 2,5 л/мин/м². Для первичного заполнения АИК были использованы 500 мл 4% сукцинированного (модифицированного) желатина (Gelofusine, B. Braun, Германия), 500 мл сбалансированного кристаллоидного раствора (Sterofundin Iso, B. Braun, Германия) и 200 мл 15% маннитола.

Перед началом ИК пациентам вводился гепарин (3 мг/кг) для поддержания АСТ на уровне >450 с. АСТ измерялось с помощью HEMOCHRON® Response (HEMOCHRON® Inc., США). Среднее артериальное давление во время ИК поддерживалось на уровне ≥ 65 мм рт.ст.; ИК проводилось в нормотермическом режиме (температура в пищеводе 36–36,6 °С) либо в условиях умеренной гипотермии (температура в пищеводе 28–30 °С); уровень гемоглобина в крови поддерживался на уровне ≥ 80 г/л, гематокрит $\geq 21\%$. Для поддержания целевого уровня перфузионного давления (≥ 65 мм рт. ст. при перфузионном индексе 2,5 л/мин/м²) при необходимости применялся норэпинефрин. Для достижения целевой концентрации гемоглобина и гематокрита во время ИК использовалась ультрафильтрация или, если это невозможно, переливание эритроцитарной массы, а также аппаратная реинфузия аутологичной крови с применением системы Cell-Saver. Различия между группами по каким-либо параметрам ИК, включая объемную скорость потока, объем ультрафильтрации и кумулятивный баланс жидкости не допускались. РаСО₂ и РаО₂ поддерживались в пределах 35–40 и 100–120 мм рт. ст. соответственно, а насыщение кислородом смешанной венозной крови (SvO₂) должно было превышать 65%. Газы крови контролировались каждые 30 мин в течение всего периода ИК с применением стратегии альфа-стат.

Защита миокарда достигалась перфузией восходящей аорты или коронарных артерий (в случаях аортальной недостаточности) холодным (5–8°C) раствором кристаллоида (Custodiol НТК-Bretschneider; доктор Franz Köhler Chemie GmbH, Бенсхайм, Германия) в течение 6–8 мин согласно инструкции производителя. Использовалась локальная гипотермия ледяной кашицей [288].

После операции все пациенты были доставлены в отделение реанимации и интенсивной терапии. В послеоперационном периоде применялись стандартизированные протоколы для проведения седации, контроля температуры, боли, глюкозы крови, гемодинамики, проводилась инфузионная и трансфузионная терапия по показаниям.

2.3.4 Кондиционирование оксидом азота. Обоснование режима дозирования

При выборе концентрации и времени экспозиции NO руководствовались 2 базовыми принципами:

- 1) Применяемая концентрация оксида азота и время его экспозиции должны быть безопасны для пациентов;
- 2) Применяемая концентрация оксида азота и время его экспозиции должны быть достаточными для обеспечения потенциальных протективных эффектов.

Механизмом увеличения биодоступности NO при его экзогенном введении является S-нитрозилирование белков крови и увеличение концентрации сывороточных метаболитов NO (нитраты, нитриты, S-нитрозотиол, N-нитрозамин и др.), служащих резервными донорами NO в организме [241]. Накоплением этих метаболитов в органах, подвергнутых ишемии-реперфузии, и объясняются органопротективные эффекты экзогенного NO [202]. В этой связи представляется обоснованным начинать терапию NO до начала ИК. Начало доставки NO сразу после интубации пациента и достаточно длительная экспозиция к NO терапии в

течение подготовительного этапа хирургического вмешательства (обеспечение хирургического доступа, выделение внутренней грудной артерии, обеспечение схемы канюляции для проведения ИК) позволит достичь целевые концентрации NO и его метаболитов не только в плазме крови, но и непосредственно в висцеральных органах до начала ИК и ассоциированного с ним ишемически-реперфузионного повреждения. Экспозицию NO-терапии в послеоперационном периоде важно продлить на период ранней реперфузии после ИК, во время которого формируется основной массив органного повреждения. Более того, персистирование плазменного fHb после кардиохирургических операций было обнаружено у 83% пациентов в течение 2 дней после вмешательства, а пик концентрации fHb, связанный с развитием ОПП, наблюдается через 2 ч после отлучения от ИК [296]. При этом у части пациентов после кардиохирургических вмешательств пул NO и уровень экспрессии маркеров повреждения почек и кишечника возвращается к исходному уровню через 6 ч после ИК [295]. Такую же динамику демонстрируют показатели тканевой оксиметрии, которые снижаются относительно исходных значений на протяжении операции с ИК, сохраняются сниженными в раннем послеоперационном периоде и возвращаются к норме только спустя 6 ч после окончания операции, что согласуется с общей парадигмой для периоперационного использования NO и дизайном настоящего исследования.

Безопасность доставки NO в средних дозировках была подтверждена у пациентов с серповидно-клеточной анемией, непрерывная ингаляция NO в концентрации 40 ppm в течение 3,2 суток у пациентов с полиорганным поражением не вызывала побочных эффектов, но улучшала клиническое состояние [63]. В клиническом исследовании № 1 [131] была протестирована концепция доставки оксида азота с принципиально новой методикой (в контур ИК) и иными конечными точками (снижение частоты КХ-ОПП), предполагавшими внелегочные эффекты оксида азота в общей популяции кардиохирургических пациентов. Мы обнаружили, что концентрация метаболитов NO на протяжении послеоперационного периода была ниже исходной [131].

Данные других исследователей подтверждают, что дефицит NO может развиваться во время операции и сохраняться в постоперационном периоде за счет аллогенных трансфузий. [44]. Это послужило для нас поводом пересмотреть концентрацию оксида азота в сторону ее увеличения, а также основанием для продолжения NO-терапии в раннем послеоперационном периоде. В исследовании Lei и соавт. [166] была продемонстрирована эффективность и безопасность NO терапии в концентрации 80 ppm на протяжении периода ИК и в течение 24 ч после операции для предупреждения послеоперационного ОПП и развития ХБП в отдаленном периоде. Таким образом, для данного исследования мы выбрали концентрацию NO равную 80 ppm как оптимальную для максимальной реализации органопротективных эффектов. При решении вопроса о времени экспозиции крайне важным представлялась необходимость обеспечить терапевтические концентрации NO и его метаболитов в органах и тканях перед инициацией ишемически-реперфузионного повреждения. Начало ингаляции NO при старте ИК позволяет создать таргетную концентрацию доноров NO в плазме крови, однако его концентрация в органах-мишенях, страдающих при ишемически-реперфузионном повреждении, не достигает уровня, активирующего каскад органопротекции [202]. Учитывая различную органоспецифичную скорость распределения метаболитов NO в фазе кровь/ткань, для достижения стационарных уровней может потребоваться от 20 до 60 мин ингаляционного применения NO. Более того, период полураспада NO различается в различных органах и крови [202]. Начало доставки NO сразу после интубации пациента позволяет увеличить экспозицию терапии за счет времени подготовительного этапа хирургического, составляющего в среднем от 40 до 60 мин в зависимости от опыта и квалификации оперирующего хирурга. Таким образом удастся достичь таргетных концентраций NO и его метаболитов в органах и тканях еще до начала ИК и формирования циклов ишемии-реперфузии. Процессы реперфузионного повреждения не ограничиваются операционным периодом, а повышенные концентрации внеклеточного гемоглобина сохраняются в течение нескольких

часов после вмешательства, усугубляя микроциркуляторный дистресс. При этом патогенетические механизмы органного повреждения в раннем послеоперационном периоде могут действовать до 4–6 часов после вмешательства за счет пролонгированной вазоконстрикции, компартментализации воспаления и персистирования высоких концентраций свободного гемоглобина плазмы крови [295]. В этой связи пролонгированная до 6 ч доставка NO в периоперационном периоде является патогенетически и клинически обоснованной.

2.3.5 Описание технологии плазмохимического синтеза оксида азота

Для доставки оксида азота на всех этапах исследования была использована разработанная в научно-производственном центре физики Федерального государственного унитарного предприятия «Российский Федеральный ядерный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики» аппаратура для терапии оксидом азота. Для обеспечения кондиционирования оксидом азота на протяжении периоперационного периода и для доставки оксида азота в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения был использован образец установки плазмохимического синтеза оксида азота (ТИАНОКС, «РФЯЦ-ВНИИЭФ», РФ), позволяющий проводить терапию оксидом азота в прямом контакте газа с кровью пациента. В отличие от существующих аппаратов для ингаляционной терапии оксидом азота применяемые в данном исследовании аппаратные комплексы позволяют производить оксид азота из воздуха в газовом разряде [3]. Остальные аппараты используют оксид азота в баллонах, которые заправляют на стационарных станциях химического синтеза и доставляют к месту проведения терапии. Традиционный подход имеет ряд существенных недостатков, основными из которых являются сложная логистика, необходимость периодически закупать

баллоны с оксидом азота, ограниченный срок хранения газа в баллонах и высокая стоимость терапии.

В аппаратах ТИАНОКС решение данной задачи осуществлено за счет организации импульсно-периодического диффузного разряда, возбуждаемого в потоке воздуха атмосферного давления в промежутке с резко неоднородной геометрией электрического поля. Такой разряд обеспечивает эффективный синтез оксида азота в неравновесной низкотемпературной плазме [2].

В настоящее время представленные в исследовании установки плазмохимического синтеза оксида азота не имеют зарегистрированных промышленно выпускаемых аналогов.

2.3.6 Описание процедуры доставки оксида азота

Схемы, иллюстрирующие способы доставки NO, мониторинга NO/NO₂ во время операции, во время проведения ИК и в ОРИТ представлены на рисунках 15 и 16. Уровни метгемоглобина и сатурации (SpO₂) непрерывно измерялись с помощью периферического пульсоксиметра с возможностью измерения фракционной сатурации (технология Masimo Rainbow Set) либо дискретно через забор проб крови и использование соответствующего лабораторного оборудования.

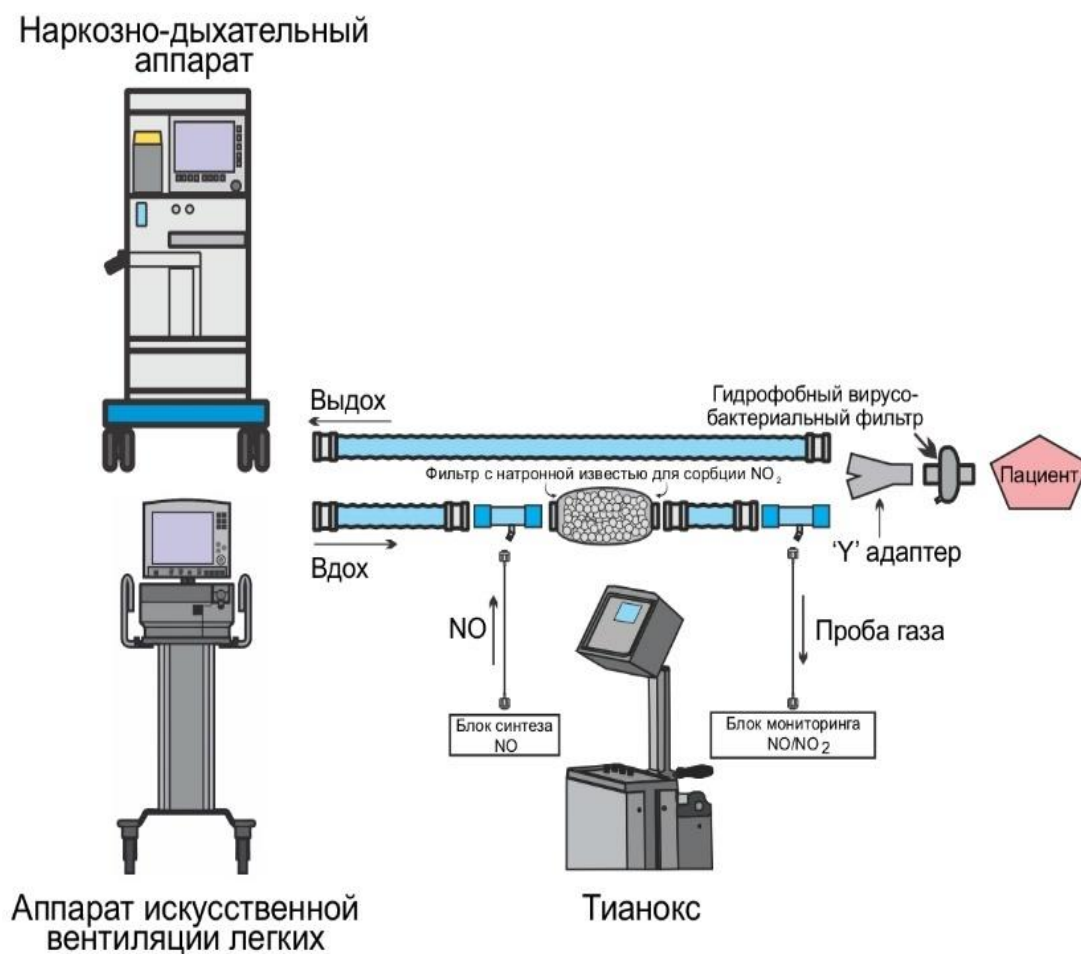


Рисунок 15 – Схема доставки оксида азота через контур наркозного-дыхательного аппарата и аппарата ИВЛ с использованием установки плазмохимического синтеза оксида азота (ТИАНОКС)

Для доставки NO в линию вдоха встроены 2 гидрофобных вирусобактериальных фильтра с разъемом Люэра. Через проксимальный производится подача NO, через дистальный происходит забор газа для непрерывного мониторинга уровня NO и NO₂. Линии вдоха и выдоха соединены 'Y' – образным адаптером.

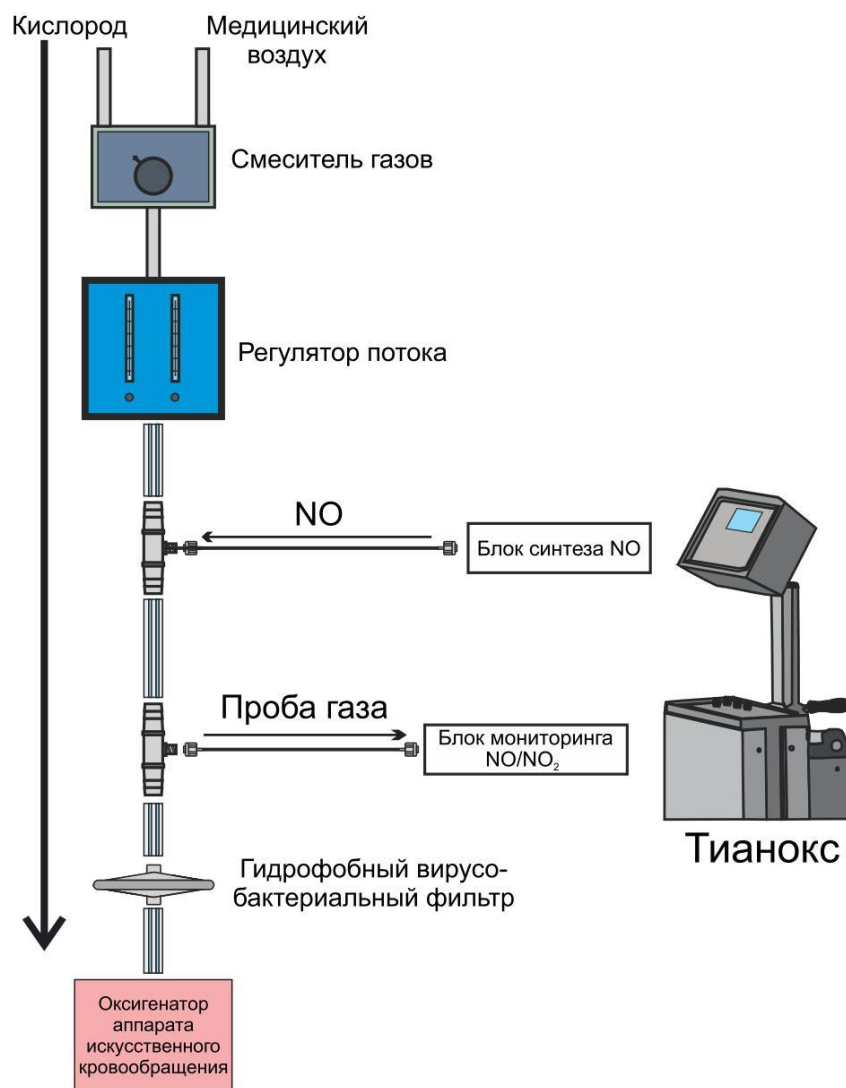


Рисунок 16 – Схема доставки оксида азота в оксигенатор аппарата ИК с использованием установки плазмохимического синтеза оксида азота (ТИАНОКС)

Для доставки NO в линию подачи газо-воздушной смеси аппарата ИК, ведущую к оксигенатору, встроены 2 переходника $\frac{1}{4}$ с разъемом Люэра. Через проксимальный производится подача NO, через дистальный происходит забор газа для непрерывного мониторинга уровня NO и NO₂.

2.3.7 Краткое описание известных и потенциальных рисков и пользы периперационной терапии оксидом азота

Оксид азота подвергается химической реакции с образованием диоксида азота — NO_2 . NO_2 является чрезвычайно токсичным газом, который может вызывать воспалительную реакцию в дыхательных путях и повреждение тканей легких [238]. Максимально допустимый уровень NO_2 в промышленности не должен превышать 5 ppm. Используемые сегодня протоколы содержат требования, чтобы во время NO-терапии уровни вдыхаемого NO_2 поддерживались на уровне ниже 2 ppm [166]. Скорость образования NO_2 зависит от концентрации NO и O_2 во вдыхаемой газо-воздушной смеси. Этот факт имеет важное значение: следует избегать источников с высокой концентрацией NO; необходимо использовать NO и инспираторную фракцию O_2 (FiO_2) в минимальных клинически приемлемых концентрациях. Наблюдательный совет в рамках данного исследования регламентировал контролировать и поддерживать уровень вдыхания NO_2 ниже 2 ppm. Во время стендовых испытаний нашей системы доставки концентрация NO_2 не превышала 2 ppm при подаче 80 ppm NO на фоне $\text{FiO}_2=100\%$ (за счет применения химических сорбентов), при этом при приведении СЧ ОКР была использована минимально достаточная инспираторная фракция O_2 .

В целом в данном исследовании не ожидалось значительного числа серьезных побочных эффектов, поскольку NO применялся в допустимых в клинической практике концентрациях при небольшом времени экспозиции. Истощение сосудистого NO способствует плохим результатам после сердечного ареста, поэтому мы ожидали улучшение исходов у пациентов с ИК [108].

2.3.8 Методы исследования

Первичной конечной точкой являлась частота ОПП.

Послеоперационное ОПП определялось и классифицировалось по стадиям в соответствии с практическими рекомендациями KDIGO.

Вторичные конечные точки

1. Тяжесть и длительность ОПП;
2. Показатели обмена оксида азота, определяемого по уровню NO во выдыхаемом пациентом воздухе;
3. Частота послеоперационных осложнений и исходы, которые были определены в соответствии со стандартными определениями ESA/ESICM, где это возможно.

Перечень параметров безопасности исследуемого метода

1. Увеличение MetHb >5%, требующее отмены доставки NO;
2. Повышение концентрации NO₂ в инспираторной фракции газовой воздушной смеси >3 ppm.

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

– Инструментальные исследования

Инотропные и вазопрессорные препараты применяли при соответствующих клинических показаниях с использованием протоколов цель-ориентированного поддержания параметров гемодинамики (GDH). Для мониторинга концентрации выдыхаемого NO использовали газоанализатор «NObreath» (Bedfont Scientific Ltd, Великобритания). Мониторинг показателей концентрации выдыхаемого NO проводили дискретно у 30 пациентов в каждой группе с фиксацией показателей на следующих этапах: 1 — исходно в операционной, сразу после интубации; 2 — через 2 ч после операции; 3 — через 24 ч после операции.

– Клинические исследования

Для оценки влияния NO на функцию почек оценивали диурез. В периоперационном периоде нами анализировались гемодинамические показатели, кумулятивный гидробаланс в течение 5 суток после операции, потребность в применении петлевых диуретиков (фуросемид) в ОРИТ, длительность ИВЛ, потребность в трансфузионной терапии, продолжительность нахождения в стационаре, послеоперационные осложнения.

– Биохимические исследования

Для идентификации и определения стадии острого почечного повреждения исследовали динамику показателей креатинина в сыворотки крови согласно рекомендациям KDIGO. Для определения уровня креатинина кровь забирали в вакутейнеры BD Vakuteiner (USA) перед операцией и каждый день в течение 7 дней после кардиохирургического вмешательства. После центрифугирования в течение 15 мин при 3000 g в полученной сыворотке определяли креатинин на автоматическом биохимическом анализаторе Конелаб 20 (Thermo, Финляндия) с использованием набора «Creatinine Jeffe» (Thermo scientific). Тест основан на реакции креатинина с пикратом натрия. Креатинин реагирует с щелочным пикратом, формируя красный комплекс. Для измерения выбирается временной интервал с отсутствием влияния других компонентов сыворотки. Изменение оптической плотности образующегося комплекса пропорционально концентрации креатинина в пробе. Референсные значения: мужчины — 59–104 мкмоль/л, женщины — 45–84 мкмоль/л.

Уровни MetHb непрерывно мониторировались с помощью портативного пульсоксиметра Radical-7d в комплекте с док-станцией с возможностью измерения фракционной сатурации (технология Masimo rainbow SET). При недоступности непрерывного мониторинга уровень MetHb 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 исследования дискретно каждые 2 ч.

2.3.9 Планируемое количество участников исследования

Расчет размера выборки для данного исследования основан на данных ранее проведенных исследований риска ОПП при хирургических операциях и его снижения при применении разных способов периоперационной защиты почек. Частота ОПП у пациентов высокого риска при кардиохирургических операциях с ИК может достигать 75% [87, 166, 322]. Недавнее одноцентровое рандомизированное контролируемое клиническое исследование (PrevAKI) показало, что применение в качестве стратегии периоперационной защиты почек рекомендаций клинического руководства KDIGO снижает частоту возникновения ОПП у пациентов, перенесших операцию на сердце, на 16,6%. В другом также одноцентровом исследовании у пациентов с высоким риском, подвергшихся операциям на брюшной полости, продемонстрировано, что оптимизация ведения пациентов с использованием рекомендаций KDIGO снижает частоту возникновения ОПП на 21% [94]. Таким образом, периоперационная стратегии KDIGO, которая также стандартно применяется в нашей клинике и будет использована в данном исследовании, снижает частоту ОПП в среднем на 20%. Соответственно, ожидаемая частота ОПП в контрольной группе: $75\% - 20\% = 55\%$. В отношении непосредственно нефропротективного эффекта периоперационного NO у кардиохирургических пациентов существуют лишь единичные публикации. Так, исследование группы Lei C. et al., выполненное у молодых пациентов при вмешательствах на клапанах сердца, продемонстрировало снижение относительного риска развития ОПП на 22% при периоперационном применении NO [165]. В РКИ, инициированном в Massachusetts General Hospital, авторы ожидают более значительное снижение риска ОПП на 35% (в предположении, что

американская популяция пациентов с эндотелиальной дисфункцией потенциально более восприимчива к периоперационному назначению NO) [179]. В недавнем мета-анализе 5 клинических испытаний периоперационного применения NO при кардиохирургических операциях с ИК было продемонстрировано снижение риска ОПП на 24% [117]. Следует отметить, что данное снижение риска ОПП было получено в общей группе кардиохирургических пациентов, в то время как в данное исследование планируется включать только пациентов с высоким риском ОПП, обусловленным наличием ХБП, что предполагает более выраженное снижение частоты ОПП под влиянием NO. Таким образом, в нашем исследовании консервативная оценка ожидаемого снижения частоты ОПП в группе NO-терапии в среднем 25%, соответственно, ожидаемая абсолютная частота ОПП в этой группе: $55\% - 25\% = 30\%$.

С учетом планируемой одинаковой численности групп и относительной центральной локализации ожидаемых значений частоты ОПП в группах для расчета размера выборки была использована упрощенная формула, основанная на аппроксимации биномиального распределения законом нормального распределения [48]:

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

где

n — размер каждой группы;

p_1 — частота в контрольной группе (0.55 в данном случае);

p_2 — частота в группе NO-терапии (0.30 в данном случае);

$p_1 - p_2$ — ожидаемое различие между группами (0.25 в данном случае);

A — значение стандартного нормального распределения, зависит от уровня значимости (при заданном уровне статистической значимости, в нашем случае для уровня 0,05 данное значение составляет 1,96);

B — значение стандартного нормального распределения, зависит от мощности (при заданном уровне статистической мощности, в нашем случае для уровня 0,80 данное значение составляет 0,84).

При трансляции значений в формулу получили $n = 61$.

Таким образом, для обеспечения 80% статистической мощности заключения о превосходстве (superiority) NO над стандартным протоколом периоперационного обеспечения при 2-х стороннем уровне статистической значимости $\alpha = 0,05$ в каждую группу должны быть рандомизированы не менее 61 пациента.

Первичная точка в рамках данного исследования представляет собой событие периоперационного периода, таким образом, возможные причины отсутствия данных о первичной конечной точке ограничены, главным образом развитием осложнений в этот период, препятствующих проведению/завершению NO-терапии в соответствии с протоколом. При консервативном предположении о частоте таких осложнений в 10% размер выборки требуется увеличить до 68 пациентов в каждой группе. В результате финальный объем выборки для данного исследования составляет 136 пациентов.

2.4 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 ($Me [25; 75]$).

Проверка гипотез исследования об эффективности и безопасности NO-терапии в клиническом исследовании №1, экспериментальном исследовании и клиническом исследовании №2 была выполнена с помощью тестирования

соответствующих нулевых статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий в соответствующих показателях, т.е. одинаковой частоте событий и одинаковом среднем изменении количественных переменных в группах исследования:

$H_0: PNO=PC,$

где PNO — значение показателя в группе терапии, а PC — значение показателя в контрольной группе.

Проверка гипотез об одинаковой частоте событий (качественных переменных) в группах исследования была выполнена с использованием критерия хи-квадрат, в случае малой частоты событий (<5%) — с использованием точного метода/критерия Фишера.

Проверка гипотез об одинаковом среднем изменении количественных переменных в группах исследования была выполнена с использованием 2-х стороннего критерия Стьюдента для независимых выборок. В случае существенного отклонения распределений внутригрупповой динамики показателей на фоне лечения от нормального закона был использован U критерий Манна-Уитни.

Эффекты внутригрупповой динамики и межгрупповых различий в значениях качественных и количественных переменных, отражающих эффекты лечения (конечные точки исследования), были оценены с помощью 95% доверительных интервалов, рассчитанных на основе аппроксимации нормальным распределением. Различия общих и поисковых количественных показателей в независимых группах анализировались с помощью однофакторного дисперсионного анализа (One-way ANOVA) или критерия Стьюдента (критерия Уэлча (Welch) при неоднородности дисперсии в группах) для независимых групп (Independent Samples t-test) при наличии нормальности распределения показателя во всех сравниваемых группах, либо с помощью критериев Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis test) и Манна-Уитни (Mann-Whitney test) в противном случае. Если показатель имел нормальное распределение на всех трех этапах измерения,

выявление статистически значимых различий показателей на этих этапах в группах проводилось с помощью многофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями (Repeated Measures MANOVA) с проверкой сферичности по критерию Мочли (Mauchly's test) с использованием поправок Гринхауса-Гейсера (Greenhouse-Geisser) или Хьюйна-Фельдта (Huynh-Feldt) при отсутствии сферичности и использованием для апостериорных (post-hoc) сравнений критерия Стьюдента для связанных выборок (Paired t-test) с поправками Бонферрони (Bonferroni's p-adjust) на множественность сравнений. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

ГЛАВА 3 ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Клиническое исследование №1

3.1.1 Влияние доставки оксида азота на частоту ОПП и выраженность субклинического ОПП у кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений

Доставка оксида азота в концентрации 40 ppm через контур экстракорпоральной циркуляции ассоциирована со статистически значимым снижением частоты случаев ОПП в послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств: 10 (20,8%) в NO-группе vs 20 (41,6%) в контрольной группе, ОР 0,5 (95% ДИ 0,26–0,95; $p=0,023$). В NO-группе ОПП 2 стадии было зарегистрировано в 2-х случаях (4,1%), в контрольной группе зарегистрировано 5 случаев (10,4%) ОПП 2 стадии. Один случай ОПП 3 стадии, потребовавший проведения ЗПТ, был зарегистрирован в контрольной группе.

Диурез на протяжении ИК был статистически значимо выше в NO-группе и составил 2,6 [2,1;5,08] мл/кг/ч по сравнению с 1,7 [0,80;2,50] мл/кг/ч в контрольной группе, $p=0,0002$ (Рисунок 17).

Субклиническое ОПП в послеоперационном периоде было менее выраженным в NO-группе. Уровень uNGAL через 4 ч после операции был статистически значимо ниже в группе доставки NO и составил 1,12 [0,75;5,8] нг/мл по сравнению с 4,62 [2,02;34,55] нг/мл в контрольной группе, $p=0,005$ (Рисунок 17).

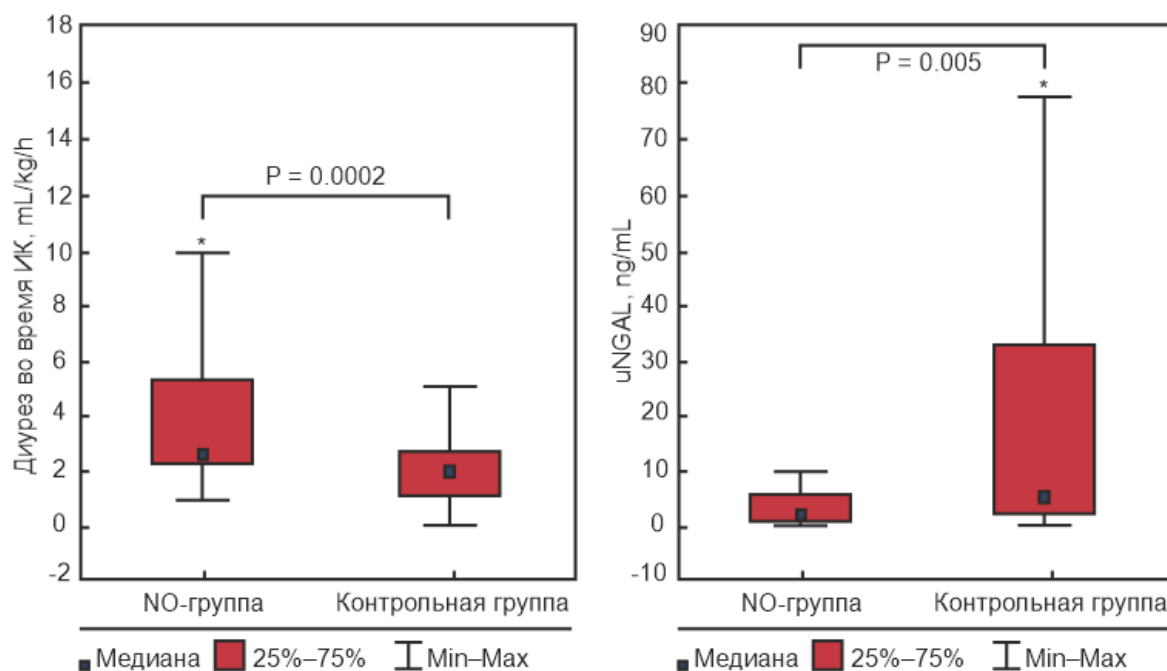


Рисунок 17 – Диурез во время ИК и уровень uNGAL через 4 ч после операции во время ИК в двух группах

Резюме

Данное проспективное рандомизированное контролируемое исследование подтвердило первичную гипотезу и продемонстрировало защитные эффекты введения NO в контур экстракорпоральной циркуляции во время ИК для снижения частоты ОПП и улучшения почечной функции у взрослых кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений. Доставка NO в газо-воздушную магистраль оксигенатора АИК была ассоциирована со статистически значимым снижением частоты КХ-ОПП по сравнению с группой стандартного протокола ИК.

Снижение темпа диуреза во время ИК является предиктором почечных осложнений и строго коррелирует с описанным риском возникновения ОПП в послеоперационном периоде [114]. Доставка NO согласно протоколу данного исследования была ассоциирована со статистически значимым увеличением диуреза во время ИК, возможно, за счет дистантных воздействий NO на афферентные артериолы почек. Вероятно, за счет NO-опосредованной дилатации

приносящих артериол почечного клубочка происходит улучшение локальной перфузии и нивелируются проявления вазомоторной нефропатии.

Прогностическая значимость уровня послеоперационной экспрессии uNGAL для прогнозирования краткосрочных и отдаленных исходов после кардиохирургических вмешательств была подтверждена рядом крупных РКИ. Уровни uNGAL, измеренные в течение первых часов после операций в условиях ИК, могут быть использованы для прогнозирования развития ОПП. Повышенные уровни uNGAL после кардиохирургических вмешательств также являются предикторами длительного пребывания в стационаре, потребности в заместительной почечной терапии и долгосрочной летальности [230]. Абсолютные значения уровня uNGAL в послеоперационном периоде имеют самостоятельное клиническое значение. Naase и соавт. было показано, что uNGAL-положительное ОПП даже в отсутствии увеличения концентрации сывороточного креатинина независимо предсказывало увеличение продолжительности пребывания в отделении интенсивной терапии и длительности госпитализации. Большой пул проведенных к настоящему времени РКИ продемонстрировал, что биомаркеры ОПП могут выявлять текущее повреждение почек даже в условиях отсутствия снижения почечной функции. На основании этих исследований был введен термин «субклиническое ОПП», которое играет важную роль в прогнозе данной категории пациентов [318].

Таким образом, доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при кардиохирургических операциях у пациентов с умеренным риском почечных осложнений оказывает нефропротективный эффект, заключающийся в снижении частоты КХ-ОПП, снижении выраженности субклинического ОПП и улучшению периоперационной функции почек.

3.1.2 Влияние доставки оксида азота на периоперационный уровень свободного гемоглобина и плазменную концентрацию метаболитов NO у кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений

Перед стернотомией уровень свободного гемоглобина составил $11,2 \pm 3$ мг/дл в NO-группе и $10,4 \pm 3,6$ мг/дл в контрольной группе. Уровень свободного гемоглобина в плазме крови начинал повышаться через 5 мин после наложения зажима на аорту в обеих группах, составляя $11,4 \pm 3,4$ мг/дл в NO-группе и $11,5 \pm 3,45$ мг/дл в контрольной группе, и достигал максимальных значений через 5 мин после снятия аортального зажима, составляя $44,7 \pm 6,1$ мг/дл в NO-группе и $46,2 \pm 5,2$ мг/дл в контрольной группе. В конце операции уровень свободного гемоглобина составил $31,3 \pm 3,5$ мг/дл в NO-группе и $29,4 \pm 4$ мг/дл в контрольной группе. Уровни свободного гемоглобина в плазме крови оставались повышенными по сравнению с исходными значениями в течение 24 ч после вмешательства в обеих группах и составили $14,8 \pm 5$ мг/дл в NO-группе и $15,9 \pm 2,8$ мг/дл в контрольной группе. Не было зафиксировано различий в изменениях свободного гемоглобина в плазме крови между NO-группой и контрольной группой, $p=0,98$ (Рисунок 18 А).

Периоперационные изменения концентраций метаболитов NO в плазме крови пациентов обеих групп представлены на рисунке 18 В, С, D.

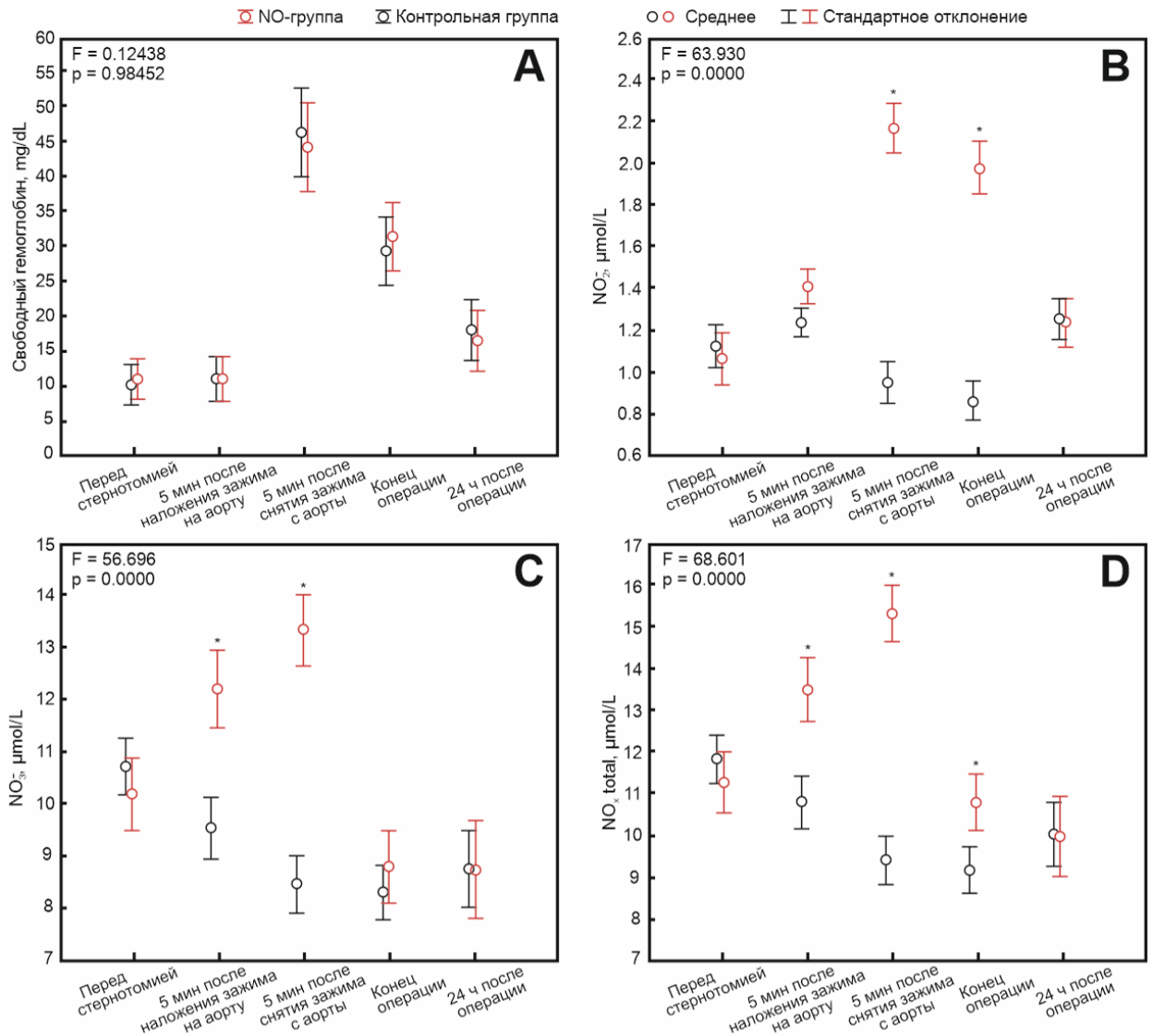


Рисунок 18 – А - динамика концентрации fHb; В - динамика концентрации NO²⁻ (мкм/мл); С - динамика концентрации NO³⁻ (мкм/мл); D - динамика концентрации NO total (мкм/мл). * p < 0,05 при межгрупповом сравнении на этапах исследования

Доставка 40 ppm NO в контур экстракорпоральной циркуляции на протяжении всего периода ИК приводила к статистически значимому повышению концентрации метаболитов оксида азота в периоперационном периоде по сравнению с контрольной группой. Концентрация NO²⁻ (мкм/мл) при межгрупповом сравнении не отличалась на этапах: перед стернотомией и составила $1,08 \pm 0,2$ мкм/мл в NO-группе и $1,1 \pm 0,15$ мкм/мл в контрольной группе, p=0,8; через 5 мин после наложения зажима на аорту, составляя $1,4 \pm 0,15$ мкм/мл в NO-группе и $1,25 \pm 0,1$ мкм/мл в контрольной группе, p=0,6; через 24

часа после операции, составляя $1,2 \pm 0,15$ мкм/мл в NO-группе и $1,22 \pm 0,12$ мкм/мл в контрольной группе, $p=0,7$. Концентрация NO^{2-} (мкм/мл) при межгрупповом сравнении была статистически значимо выше в NO-группе через 5 мин после снятия зажима с аорты, составляя $2,2 \pm 0,4$ мкм/мл в NO-группе и $1 \pm 0,3$ мкм/мл в контрольной группе, $p < 0,000$ и в конце операции, составляя $2 \pm 0,4$ мкм/мл в NO-группе и $0,9 \pm 0,3$ мкм/мл в контрольной группе, $p < 0,000$ Концентрация NO^{3-} (мкм/мл) при межгрупповом сравнении не отличалась на этапах: перед стернотомией, составляя $10,2 \pm 0,6$ мкм/мл в NO-группе и $10,7 \pm 0,15$ мкм/мл в контрольной группе, $p=0,8$; в конце операции, составляя $8,8 \pm 0,6$ мкм/мл в NO-группе и $8,4 \pm 0,3$ мкм/мл в контрольной группе, $p=0,48$; через 24 часа после операции, составляя $8,6 \pm 0,9$ мкм/мл в NO-группе и $8,6 \pm 0,6$ мкм/мл в контрольной группе, $p=0,74$. Концентрация NO^{3-} (мкм/мл) при межгрупповом сравнении была статистически значимо выше в NO-группе через 5 мин после наложения зажима на аорту, составляя $12,2 \pm 1,3$ мкм/мл в NO-группе и $9,5 \pm 2,34$ мкм/мл в контрольной группе, $p < 0,000$ и через 5 мин после снятия зажима с аорты, составляя $13,3 \pm 1,4$ мкм/мл в NO-группе и $8,4 \pm 2,1$ мкм/мл в контрольной группе, $p < 0,000$ Концентрация NO_{total} (мкм/мл) при межгрупповом сравнении не отличалась на этапах: перед стернотомией и составила $11,2 \pm 0,6$ мкм/мл в NO-группе и $11,8 \pm 0,4$ мкм/мл в контрольной группе, $p=0,45$; через 24 часа после операции, составляя $9,8 \pm 1,12$ мкм/мл в NO-группе и $9,84 \pm 0,96$ мкм/мл в контрольной группе, $p=0,64$. Концентрация NO_{total} (мкм/мл) при межгрупповом сравнении была статистически значимо выше в NO-группе через 5 мин после наложения зажима на аорту, составляя $13,5 \pm 1,4$ мкм/мл в NO-группе и $10,8 \pm 2,5$ мкм/мл в контрольной группе $p < 0,000$...; через 5 мин после снятия зажима с аорты, составляя $15,3 \pm 1,6$ мкм/мл в NO-группе и $9,4 \pm 2,1$ мкм/мл в контрольной группе $p < 0,000$...; и в конце операции, составляя $10,8 \pm 1,1$ мкм/мл в NO-группе и $9,2 \pm 2,3$ мкм/мл в контрольной группе $p < 0,000$ Уровень всех метаболитов оксида азота в NO-группе был выше исходных значений на всех этапах проведения механической перфузии, при этом концентрация NO^{2-} и

NO_{total} (мкм/мл) оставался выше исходных дооперационных значений и в конце операции. Примечательно, что через 24 ч после операции уровень NO²⁻ и NO_{total} (мкм/мл) в NO-группе был ниже исходных дооперационных значений.

Резюме

Постперфузионные реакции при кардиохирургических вмешательствах в условиях ИК включают развитие внутрисосудистого гемолиза, fHb связывает вырабатываемый эндотелием NO, что приводит к снижению биодоступности этой регуляторной молекулы и расстройствам микроциркуляции [251]. Связывание эндогенного NO приводит к снижению концентрации цГМФ, что усиливает агрегационные свойства тромбоцитов; fHb может приводить к активации тромбоцитов крови при констрикции микроциркуляторного русла [135]. Секвестрация эндогенного NO за счет снижения концентрации цГМФ в клетках усиливает адгезивные и агрегационные свойства тромбоцитов, более того, свободный гемоглобин может непосредственно воздействовать на серотониновые рецепторы тромбоцитов и гладкомышечных клеток, что приводит к дополнительной активации кровяных пластинок на фоне спазма микроциркуляторного русла [135]. Данное явление может быть связано со снижением органной перфузии и доставки кислорода к мозговому веществу почек; региональная ишемия приводит к канальцевому повреждению с абберациями почечной функции в послеоперационном периоде. Также в условиях кислой среды мочи внеклеточный гемоглобин может преципитировать в просвете канальцев, вызывая их обструкцию [51]. Значительное снижение уровня метаболитов NO в периоперационном периоде у пациентов контрольной группы само по себе имеет клиническое значение, поскольку данная динамика метаболического профиля NO является предиктором и маркером осложненного послеоперационного периода у кардиохирургических пациентов, оперированных в условиях ИК [194, 195]. Развитие ОПП в послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств ассоциировано с дефицитом эндогенного NO, определяемым по его конечным метаболитам, однако остается неясным,

способствует ли это манифесту и прогрессированию ОПП или является следствием почечной дисфункции [319].

В данном исследовании показано, что концентрация метаболитов NO была ниже исходного дооперационного уровня в обеих группах через 24 ч после вмешательства. Дефицит NO развивается уже в интраоперационном периоде с началом проведения механической перфузии. В раннем послеоперационном периоде дефицит NO может не только сохраняться за счет постперфузионных реакций, но и усугубляться из-за продолжающегося гемолиза при проведении аллогенных переливаний крови и аппаратной ретрансфузии аутокрови в послеоперационном периоде [44].

Данные факты делают обоснованным доставку NO в раннем послеоперационном периоде. Представляется обоснованным увеличение концентрации NO, применяемой для периоперационной доставки в кардиохирургии, а также увеличение времени экспозиции NO-терапии в раннем послеоперационном периоде. Периоперационная заместительная терапия NO представляется многообещающей у пациентов с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, включая, сахарный диабет, ожирение, гипертоническую болезнь, длительный стаж курения, периферическую васкулопатию и особенно ХБП.

Таким образом, доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при кардиохирургических операциях у пациентов с умеренным риском почечных осложнений способна замещать формирующийся при проведении ИК интраоперационный дефицит эндогенного NO и концентрации метаболитов NO во время проведения экстракорпоральной перфузии, что подтверждает первичную гипотезу данного исследования.

3.1.3 Влияние доставки оксида азота на цитокиновый профиль кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений

Данное исследование было сосредоточено на предотвращении DAMP-индуцированного ОПП (вызванного высокими плазменными концентрациями fHb) и опосредованного воспалением ОПП, поскольку NO потенциально может нивелировать оба этих процесса. Периоперационные изменения концентраций провоспалительных и противовоспалительных медиаторов в плазме крови представлены в таблице 8 и на рисунке 19.

Уровни всех про- и противовоспалительных маркеров в обеих группах статистически значимо повышались после ИК, оставались выше исходных значений или продолжали повышаться через 6 ч после операции, а затем незначительно снизились через 24 ч после операции. Эффект оставался значительным и после применения поправки Гринхауса-Гейссера при нарушении сферичности. Статистически значимых различий между группами на этапах исследования не обнаружено.

Таблица 8 – Концентрация провоспалительных и противовоспалительных медиаторов в плазме крови на этапах исследования

Маркеры	Группы	Этап			
		Перед стернотомией	После ИК	6ч после операции	24 часа после операции
		M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD
IL1β, pg/mL	Контрольная n=48	148,9 ± 47,24	281,8 ± 45,41	259,6 ± 48,73	235,3 ± 48,30
	NO-группа n=48	156,3 ± 51,72	272,2 ± 50,31	248,4 ± 46,63	237,1 ± 48,08
Эффект		межгрупповые (F = 0,035, p = 0,852), во времени (F = 785,957, p = 0,000), внутригрупповые во времени (F = 6,218, p = 0,001)			

Продолжение таблицы 8

IL-4, pg/mL	Контрольная n=48	74,4 ± 14,26	96,5 ± 13,82	105,2 ± 12,57	82,3 ± 18,40
	NO-группа	79,4 ± 14,03	93,2 ± 15,32	99,4 ± 24,38	77,3 ± 15,34
Эффект		межгрупповые (F = 0,179, p = 0,675), во времени (F = 247,791, p = 0,000), внутригрупповые во времени (F = 6,218, p = 0,001)			
IL-6, pg/mL	Контрольная n=48	27,5±5,31	78,2±6,29	74,1±9,54	59,7±8,64
	NO-группа	24,8±7,81	74,2±8,54	69,6±11,05	53,4±8,47
Эффект		межгрупповые (F = 2,793, p = 0,104), во времени (F = 2025,392, p = 0,000), внутригрупповые во времени (F = 2,663, p = 0,052)			
IL-8, pg/mL	Контрольная n=48	25,3±5,60	197,4±40,82	216,3±46,38	161,5±37,74
	NO-группа	24,9±7,28	172,8±38,62	192,2±35,45	136,0±33,94
Эффект		межгрупповые (F = 0,164, p = 0,688), во времени (F = 573,293, p = 0,000), внутригрупповые во времени (F = 0,640, p = 0,591)			
IL-1ra, pg/mL	Контрольная n=48	193,0±32,03	214,2±94,31	581,5±129,49	338,2±82,26
	NO-группа	180,3±22,15	212,2±84,58	559,5±116,42	3188,2±85,43
Эффект		межгрупповые (F = 0,002, p = 0,964), во времени (F = 536,730, p = 0,000), внутригрупповые во времени (F = 0,122, p = 0,947)			
TNF-α, pg/mL	Контрольная n=48	65.5±14.75	211.7±29.38	225.5±31.64	213.7±38.57
	NO-группа	57.9±12.84	206.0±25.60	193.9±36.17	157.8±44.82
Эффект		межгрупповые (F = 0.168, p = 0.685), во времени (F = 472.392, p = 0.000), внутригрупповые во времени (F = 0.020, p = 0.996)			

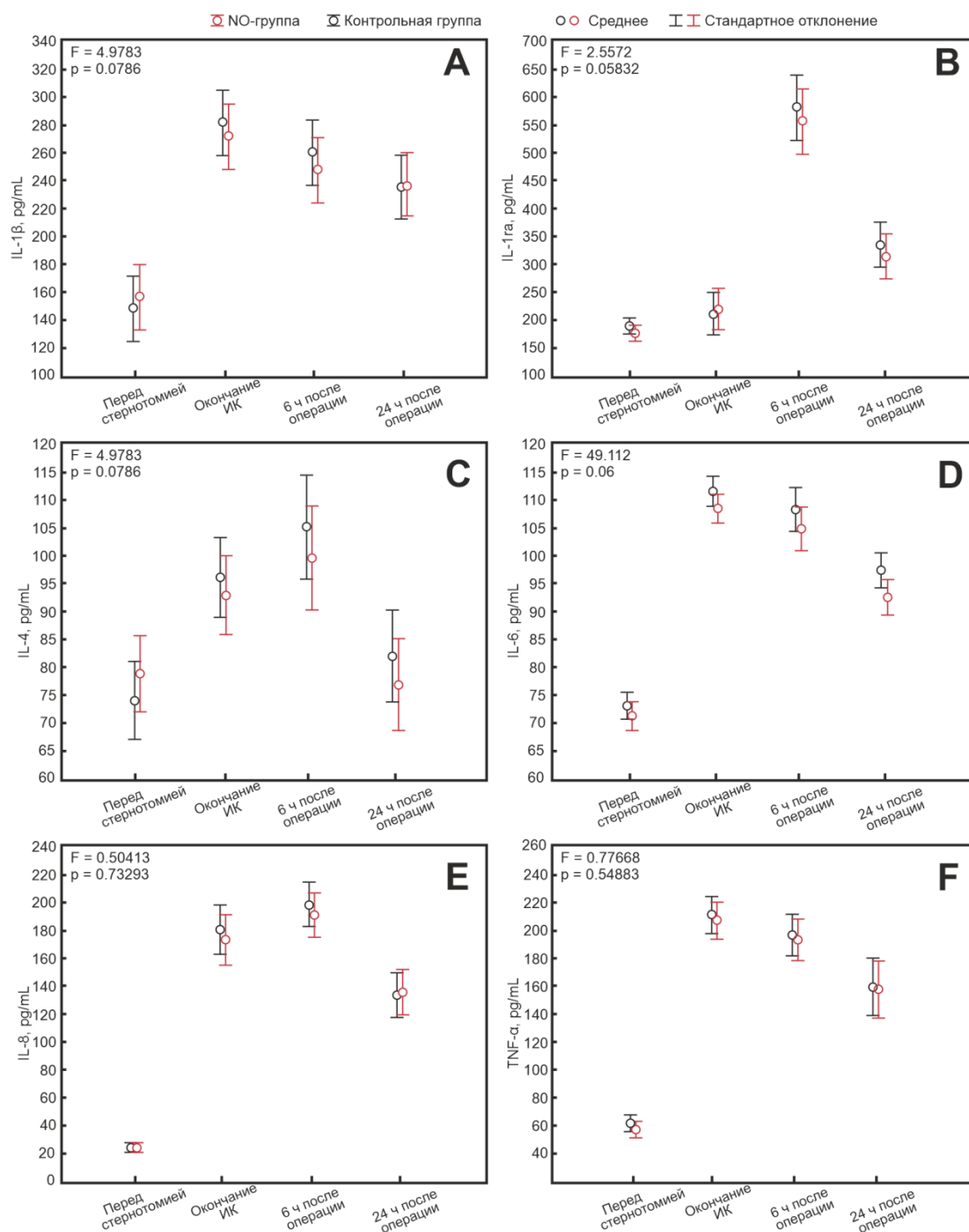


Рисунок 19 – Динамика про- и противовоспалительных цитокинов в двух группах на этапах исследования. А - динамика концентрации IL-1 β (pg/mL); В - динамика концентрации IL-1ra (pg/mL); С - динамика концентрации IL-4 (pg/mL); D - динамика концентрации IL-6 (pg/mL); Е - динамика концентрации IL-8 (pg/mL); F - динамика концентрации фактора некроза опухоли – α (TNF- α) (pg/mL)

Резюме

Повышение концентрации воспалительных цитокинов в плазме крови пациентов в послеоперационном периоде ассоциировано с развитием органной дисфункции, в том числе КХ-ОПП, увеличением времени пребывания в реанимации и стационаре, а также увеличением летальности [209]. Данное исследование не продемонстрировало статистически значимых различий в выраженности воспалительного ответа между группами. У пациентов обеих групп уровни провоспалительных и противовоспалительных медиаторов были сопоставимы. Однако в NO-группе на этапах исследования наблюдалась тенденция к снижению уровня части спектра провоспалительных цитокинов. Вероятно, NO при доставке в контур экстракорпоральной циркуляции на протяжении периода ИК не оказывает самостоятельного противовоспалительного эффекта, но способен косвенно ослаблять тяжесть системной воспалительной реакции в раннем послеоперационном периоде из-за уменьшения локальной гипоперфузии и нарушений микроциркуляции в тканях (в частности, в стенке кишечника), что является триггером высвобождения провоспалительных медиаторов. Безусловно, данный вопрос требует дальнейших исследований.

Таким образом, доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при кардиохирургических операциях у пациентов с умеренным риском почечных не оказывает значимого влияния на уровни медиаторов воспаления в периоперационном периоде. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей [78]. Вероятно, применение NO по указанному протоколу не оказывает влияние на КХ-ОПП, опосредованное воспалением.

3.1.4 Влияние доставки оксида азота на гемодинамический профиль кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений

Доставка NO в данном исследовании не была ассоциирована с системными гемодинамическими эффектами (Таблица 9, Рисунок 20). NO-группа и контрольная группа также не различались по степени потребности в вазопрессорной поддержке для поддержания целевого префузионного давления во время ИК.

Таблица 9 – Гемодинамический профиль пациентов обеих групп на этапах исследования

Интраоперационная гемодинамика		NO-группа, n = 48	Контрольная группа, n = 48	P
ЧСС, уд в мин	до стернотомии	73 [71; 76]	72 [71; 74]	0,23
	после стернотомии	84 [78; 88]	85 [83; 86]	0,45
	перед пережатием аорты	73 [66; 75]	71 [64; 73]	0,6
	конец ИК	79 [74; 85]	78 [74; 80]	0,32
	конец операции	78 [75; 80]	76 [74; 76]	0,44
САД, mmHg	до стернотомии	68 [66; 69]	67 [64; 70]	0,56
	после стернотомии	72 [70; 76]	74 [74; 80]	0,16
	перед пережатием аорты	68 [61; 74]	66 [65; 70]	0,68
	конец ИК	70 [64; 74]	70 [62; 73]	0,3
	конец операции	75 [70; 80]	74 [72; 81]	0,25
ЦВД, mmHg	до стернотомии	6 [5; 8]	7 [5; 7]	0,51
	после стернотомии	5 [3; 5]	5 [4; 6]	0,28
	перед пережатием аорты	2 [1; 5]	2 [2; 3]	0,54
	конец ИК	8 [6; 11]	8 [5; 10]	0,65
	конец операции	6 [4; 8]	5 [4; 7]	0,38

Примечание: ЧСС - частота сердечных сокращений; САД - среднее артериальное давление; ЦВД - центральное венозное давление.

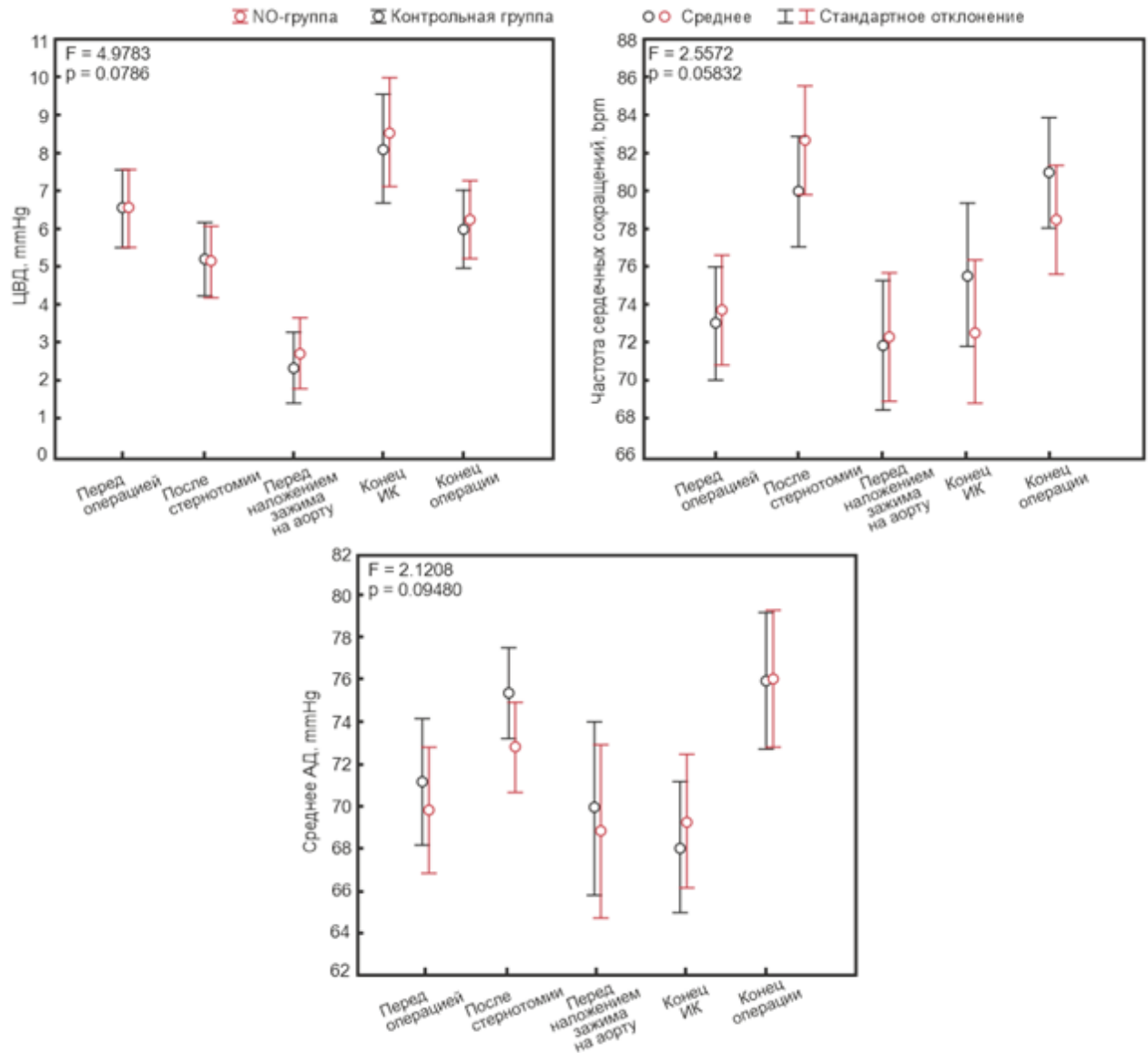


Рисунок 20 – Гемодинамический профиль пациентов обеих групп на этапах исследования

На всех этапах исследования ЧСС оставалась стабильной в обеих группах с диапазоном 71–85 уд. в мин. Статистически значимых межгрупповых различий ЧСС на этапах исследования обнаружено не было.

На всех этапах исследования САД находилось в целевом терапевтическом диапазоне (67–75 мм рт. ст.). На этапах исследования не было обнаружено статистически значимых межгрупповых различий САД. Доставка NO в данном исследовании не сопровождалась системными гемодинамическими эффектами.

Диапазон показателей ЦВД, регистрировавшихся на этапах исследования,

находился в пределах 6–8 мм рт. ст. в обеих группах в течение всего периода исследования. Статистически значимых межгрупповых различий параметра на этапах исследования зафиксировано не было.

Резюме

Оптимизация параметров гемодинамики пациентов является ключевой задачей периоперационного обеспечения операций. Поддержание в целевом диапазоне основных гемодинамических параметров преднагрузки (ЦВД) постнагрузки (САД) и ЧСС является ключевым фактором для предупреждения КХ-ОПП. Указанные гемодинамические переменные являются основными детерминантами доставки кислорода к паренхиме почек и важными факторами развития почечной дисфункции в послеоперационном периоде. В настоящем исследовании показано, что основные 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 целевого коридора физиологических норм с минимальными колебаниями, безопасными для пациентов.

3.1.5 Показатели безопасности доставки NO

Уровень MetHb в плазме крови пациентов в NO-группе статистически значимо повышался от исходного дооперационного уровня до окончания ИК, при этом уровень MetHb в контрольной группе значимо не изменился на этапах исследования. При межгрупповом сравнении уровень MetHb в плазме крови пациентов в NO-группе был статистически значимо выше при окончании ИК по сравнению с пациентами контрольной группы. На всех этапах исследования уровень MetHb в плазме крови пациентов в NO-группе был ниже 1,2% от общей концентрации гемоглобина (Таблица 10).

Таблица 10 – Динамика концентрации метгемоглобина в двух группах на этапах исследования

Характеристика	NO-группа, n = 48	Контрольная группа, n = 48	P
MetHb исходно, %, M ± SD	0,84±0,2	0,82±0,18	0,42
MetHb конец ИК, %, M ± SD	1,1±0,15	0,7±0,2	0,004
MetHb поступление в ОАР, %, M ± SD	0,9±0,3	0,8±0,1	0,09

Примечание: MetHb — метгемоглобин

При использовании предложенного протокола доставки NO ни в одном случае не отмечено повышение концентрации NO₂ более 1,8 ppm в магистрали доставки газо-воздушной смеси АИК.

Применяя доставку NO по описанной методике, ни в одном случае в NO-группе нами не отмечено повышение в магистрали доставки газо-воздушной смеси АИК концентрации NO₂ более допустимых в клинической практике значений 3 ppm.

Во время исследования не было зафиксировано никаких побочных эффектов, осложнений или органной дисфункции, связанных с доставкой NO.

Резюме

NO относится к метгемоглобинообразователям, поэтому для исключения отравления необходим тщательный мониторинг уровня метгемоглобина в крови. Доставка оксида азота по указанной методике не сопровождалась повышением содержания MetHb более 1,2% от общей концентрации гемоглобина. Содержание MetHb выше допустимых в клинической практике значений (5 % от общей концентрации гемоглобина) не было зарегистрировано ни в одном случае в NO группе ни во время проведения ИК, ни в постперфузионном или раннем послеоперационном периодах.

Доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции у кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений 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.

3.1.6 Влияние доставки оксида азота на осложнения и клинические исходы

Характеристики послеоперационного периода у пациентов обеих групп представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Клинические характеристики послеоперационного периода у пациентов обеих групп

Характеристики	NO-группа, n = 48	Контрольная группа, n = 48	Р
ОПП, все случаи, n (%)	10 (20,8%)	20 (41,6%)	0,023
ОПП, стадия 1, n (%)	8 (16,6%)	13 (27,3%)	0,16
ОПП, стадия 2, n (%)	2 (4,1%)	5 (10,4%)	0,22
ОПП, стадия 3, n (%)	0	1 (2%)	0,5
ЗПТ, %	0	1 (2%)	0,5
Продолжительность пребывания в реанимации, ч, Ме [25; 75]	22 [21; 26]	30 [22; 42,4]	0,22
Длительность пребывания в стационаре, дни, Ме [25; 75]	10 [8; 16]	12 [10,5; 13]	0,17
Длительность ИВЛ, ч, Ме [25; 75]	9 [6; 14]	10 [6; 22]	0,2
Летальность, n (%)	0	1 (2)	0,5
Объем инфузий в реанимации, мл/кг, Ме [25;75]	76 [64; 86,25]	74.8 [62; 84,8]	0,26
Диурез в реанимации, мл/кг, Ме [25; 75]	58 [41,6; 65,35]	56 [48,8; 64,2]	0,34
Фуросемид, мг, Ме [25; 75]	25 [14; 36]	24 [12; 36]	0,52
Выпито жидкости через 3 дня после операции, мл/кг, Ме [25; 75]	23 [20,5; 24,3]	24 [21,8; 25]	0,34
Диурез через 3 дня после операции, мл/кг, Ме [25; 75]	20 [19,5; 22,4]	19,6 [19,0; 22]	0,22

Продолжение таблицы 11

Выпито жидкости через 4 дня после операции, мл/кг, Ме [25; 75]	21 [20,2; 24]	20 [19,6; 22]	0,15
Диурез через 4 дня после операции, мл/кг, Ме [25; 75]	20.8 [19,0; 22,8]	20.5 [19,3; 22,2]	0,1
Выпито жидкости через 5 дней после операции, мл/кг, Ме [25; 75]	22 [21,5; 24,6]	22 [21,5; 24,6]	0,4
Диурез через 5 дней после операции, мл/кг, Ме [25; 75]	24 [23,6; 25,2]	23,7 [23; 24,8]	0,32
ОДН, реинтубация, или потребность в НИВЛ, n (%)	4 (8,3)	9 (18,7)	0,3
Пневмония, n (%)	5 (10)	7 (14,5)	0,16
Пневмоторакс, n (%)	2 (4,1)	1 (2)	0,45
Гидроторакс, n (%)	6 (12,5)	8 (16,6)	0,24
Ателектазы, n (%)	9 (18,7)	8 (16,6)	0,32
ОСН, потребность в ВАБК, n (%)	2 (4)	3 (6,25)	0,4
Периоперационный ИМ, n (%)	1 (2)	2 (4)	0,2
Тампонада сердца, n (%)	1 (2)	0	0,8
Фибрилляция предсердий, n (%)	9 (18,7)	11 (23)	0,28
Вазоплегический синдром, n (%)	7 (14,5)	6 (12,5)	0,46
Остановка кровообращения, n (%)	0	0	-
Неврологические осложнения			
ОНМК, n (%)	0	0	-
Делирий, n (%)	8 (16,6)	10 (20,8)	0,12
Кровотечение, рестернотомия, n (%)	2 (4)	1 (2)	0,5
Потребность в трансфузионной терапии, n (%)	18 (37,5)	16 (33,3)	0,42
Инфекция послеоперационной раны, n (%)	1 (2)	3 (6,2)	0,16
Повторное поступление в ОАР, n (%)	1 (2)	1 (2)	0,58

Примечание: ОПП - острое почечное повреждение; ЗПТ - заместительная почечная терапия; ИВЛ - искусственная вентиляция легких; ОДН - дыхательная недостаточность. ОДН диагностировалась при снижении P/F менее 250; НИВЛ - неинвазивная вентиляция легких; ОСН - острая сердечная недостаточность; ВАБК - внутриаортальная баллонная контрпульсация; ИМ - инфаркт миокарда; ОНМК -

острое нарушение мозгового кровообращения; ОАР - отделение анестезиологии и реанимации.

Все включенные и проанализированные в исследовании пациенты NO-группы были выписаны из клинических отделений в удовлетворительном состоянии с клиническим улучшением по основной патологии. В контрольной группе один пациент умер вследствие периоперационного инфаркта миокарда и развития рефрактерного кардиогенного шока.

Таким образом, 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, за исключением частоты ОПП, которая являлась первичной конечной точкой.

3.2 Экспериментальное исследование

3.2.1 Влияние кондиционирования оксидом азота на основные параметры гомеостаза, маркеры ОПП и метаболиты NO

В рамках экспериментальной части работы проведены экспериментальные исследования обмена NO при различных вариантах экстракорпорального кровообращения.

Данные об основных параметрах гомеостаза, маркерах острого почечного повреждения и концентрации конечных метаболитов оксида азота на этапах наблюдения в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO представлены в таблицах 12 и 13.

Таблица 12 – Различия в основных параметрах гомеостаза, маркерах острого почечного повреждения и конечных метаболитов оксида азота в группах стандартного ИК и ИК+NO на трех этапах наблюдения: интубация трахеи, начало ИК, через 60 мин после отлучения от ИК. М±SD

Показатель	Группа	Интубация трахеи	Начало ИК	60 мин после отлучения от ИК	p
Нб, г/л	ИК ИК+NO	95,50±5,61 97,00±4,10	94,50±3,99 98,00±1,79	83,83±4,31 82,83±4,71	0,00001 0,000002
Нт, %	ИК ИК+NO	29,0±1,52 28,33±2,42	27,67±1,63 27,33±1,75	24,83±3,06 22,50±2,95	0,0378 0,00016
MetHb, %	ИК ИК+NO	0,45±0,16 0,45±0,30	0,48±0,21 1,22±0,21*	0,58±0,14 2,20±0,34*	0,194 0,00013
Диурез, мл	ИК ИК+NO	-	-	753±191,34 972±89,3*	0,0297
uNGAL, ng/ml	ИК ИК+NO	-	-	1,69±0,751 0,62±0,268*	0,0039
Лактат, mmol/l	ИК ИК+NO	1,70±0,76 1,43±0,53	1,66±0,64 1,40±0,41	3,61±0,71 3,51±0,61	0,0024 0,0002
e NO ₂ , µmol/l	ИК ИК+NO	5,97±0,671 6,92±1,686	6,07±0,624 6,89±0,736	6,78±1,486 7,31±1,138	0,616 0,688
Total NO ₂ , µmol/l	ИК ИК+NO	24,21±1,797 43,92±15,28*	28,21±1,491 64,10±14,733*	25,09±2,179 55,88±9,177*	0,158 0,023
NO ₃ , µmol/l	ИК ИК+NO	18,21±1,591 37,02±14,43*	22,21±1,797 57,21±14,885*	18,376±2,098 45,85±9,402*	0,286 0,013
NO-терапия, мин	189,67±6,86 ИК+NO				
Концентрация NO ₂ , ppm	1,02±0,17 ИК+NO				

Примечание: * означает выявленные статистически значимые различия ($p < 0,05$) средних значений переменной в группах стандартного протокола ИК и ИК+NO. Нб - гемоглобин; Нт - гематокрит; MetHb - метгемоглобин; uNGAL - липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов в моче; e NO₂ - концентрация эндогенного нитрита в периферической крови; NO₃ - концентрация эндогенного нитрата в периферической крови; Total NO₂ - общая концентрация метаболитов оксида азота; NO₂ - диоксид азота.

Таблица 13 – Различия в основных параметрах гомеостаза, маркерах острого почечного повреждения и конечных метаболитов оксида азота в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на трех этапах наблюдения: интубация трахеи, начало ИК, через 60 мин после отлучения от ИК. M±SD

Показатель	Группа	Интубация трахеи	Старт ИК	60 мин отлучения от ИК	p
Hb, g/l,	ИК+ЦА ИК+ЦА+NO	95,83±5,64 93,00±5,76	96,83±5,81 91,83±4,40	82,0±5,48 76,67±3,83	0,00004 0,0007
Ht, %	ИК +ЦА ИК+ЦА+NO	29,00±2,61 28,00±1,41	28,33±2,42 27,50±1,87	22,67±2,58 20,83±2,64	0,00015 0,0001
MetHb, %	ИК+ЦА ИК+ЦА+NO	0,52±0,16 0,57±0,33	0,58±0,26 1,28±0,19*	0,70±0,23 2,28±0,34*	0,218 0,00025
Диурез, мл	ИК+ЦА ИК+ЦА+NO	-	-	678±199,2 683±201,9	0,77
uNGAL, ng/ml	ИК+ЦА ИК+ЦА+NO	-	-	2±0,9 0,7±0,3*	0,0001
Лактат, mmol/l	ИК+ЦА ИК+ЦА+NO	1,47±0,58 1,62±0,64	1,37±0,43 1,20±0,35	4,72±0,73 4,98±0,37	0,0006 0,0003
e NO ₂ , µmol/l	ИК+ЦА ИК+ЦА+NO	6,24±0,776 6,20±0,631	5,61±0,405 5,94±0,909	5,95±0,489 6,61±0,482	0,167 0,562
total NO ₂ , µmol/l	ИК +ЦА ИК+ЦА+NO	26,02 ±1,161 31,54±3,560*	26,41±2,008 35,17±3,036*	26,08±2,796 35,26±3,95*	0,101 0,513
NO ₃ , µmol/l	ИК+ЦА ИК+ЦА+NO	19,78±1,59 25,34±4,010*	20,80±1,591 29,23±3,117*	18,29±4,495 28,65±4,17*	0,626 0,265
NO-терапия, мин	190,17±6,27 ИК+ЦА+NO				
Концентрация NO ₂ , ppm	1,22±0,19 ИК+ЦА+NO				

Примечание: * означает выявленные статистически значимые различия ($p < 0,05$) средних значений переменной в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO. Hb - гемоглобин; Ht - гематокрит; MetHb - метгемоглобин; uNGAL - липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов в моче; e NO₂ - концентрация эндогенного нитрита в периферической крови; NO₃ - концентрация эндогенного нитрата в периферической крови; total NO - общая концентрация метаболитов оксида азота; NO₂ - диоксид азота.

Концентрация uNGAL через 60 мин после отлучения от ИК составила: в группе стандартного ИК $1,69 \pm 0,751$ нг/мл; в группе ИК+NO $0,62 \pm 0,268$ нг/мл. Объем диуреза на протяжении всего эксперимента составил: в группе ИК $753 \pm 191,3$ мл; в группе ИК+NO $972 \pm 89,3$ мл. В группе ИК+NO концентрация uNGAL была на 70% статистически значимо ниже по сравнению с группой ИК, $p=0,0001$. В группе ИК+NO объем диуреза на протяжении всего эксперимента был на 29% статистически значимо выше по сравнению с группой ИК, $p=0,0297$.

Статистически значимых различий показателя эндогенного нитрита (eNO_2), $\mu\text{mol/l}$ между группами ИК и ИК+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,45$. Между тремя этапами наблюдения нет статистически значимых различий как в группе ИК, так и в группе ИК+NO.

Статистически значимых различий показателя эндогенного нитрита (eNO_2), $\mu\text{mol/l}$ между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,6$. Между тремя этапами наблюдения нет статистически значимых различий как в группе ИК+ЦА, так и в группе ИК+ЦА+NO.

Значения показателя суммарных нитритов (total NO_2), $\mu\text{mol/l}$ в группах стандартного протокола ИК и ИК+NO статистически значимо различаются на каждом из трех этапов наблюдения, $p=0,00006$.

Значения показателя нитраты (NO_3), $\mu\text{mol/l}$ в группах ИК и ИК+NO статистически значимо различаются на каждом из трех этапов наблюдения, $p=0,0035$.

Значения показателя нитраты (NO_3), $\mu\text{mol/l}$ в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO статистически значимо различаются на каждом из трех этапов наблюдения, $p=0,002$.

Полученные результаты указывают на сопоставимые базальную активность эндотелиального синтеза NO и тяжесть ассоциированного с ИК гемолиза на всех этапах эксперимента во всех группах. При этом на всех этапах исследования между группами стандартного ИК и ИК+NO, а также между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO группами получены статистически значимые различия в

концентрации суммарных нитритов (total NO₂) и нитратов (NO₃) с увеличением данных показателей в группах NO-терапии, что указывает на возможность замещения периоперационного дефицита NO на фоне различных вариантов экстракорпорального кровообращения.

Резюме

NO является газообразным свободным радикалом с коротким временем полужизни *in vivo* (около нескольких секунд). Уровень более стабильных NO-метаболитов — нитритов (NO₂) и нитратов (NO₃) — используется для непрямого определения NO в биологических жидкостях. NO высоко растворим в липидах, он не запасается, но синтезируется *de novo* при окислении аминокислоты L-аргинина и свободно диффундирует сквозь липидные мембраны. В экспериментальном исследовании применялись 2 аналитические опции: измерение эндогенного нитрита (eNO₂), а также превращение нитрата (NO₃) в нитрит (NO₂) с использованием нитрат-редуктазы и измерение общего нитрита (total NO₂) — вторая.

Полученные данные свидетельствуют, что кондиционирование оксидом азота ассоциировано с увеличением концентрации конечных метаболитов и оптимизацией обмена NO в экспериментальном исследовании при различных вариантах экстракорпорального кровообращения.

Данные по уровням свободного гемоглобина на этапах исследования представлены в таблицах 14 и 15.

Таблица 14 – Концентрация свободного гемоглобина в группах стандартного протокола ИК и ИК+NO на этапах экспериментального исследования. Межгрупповое сравнение

Этап исследования	ИК(M±SD)	ИК+NO(M±SD)	p
Интубация трахеи, fHb, мг/дл	6,50 ± 2,07	6,17 ± 2,79	0,8
Начало ИК, fHb, мг/дл	8,00 ± 3,69	7,67 ± 2,73	0,65
60 мин после отлучения от ИК, fHb, мг/дл	47,5 ± 6,44	49,5 ± 4,18	0,13

Примечание: fHb-свободный гемоглобин.

Таблица 15 – Концентрация свободного гемоглобина в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на этапах экспериментального исследования. Межгрупповое сравнение

Этап исследования	ИК+ЦА (M±SD)	ИК+ЦА+NO (M±SD)	p
Интубация трахеи, fHb, мг/дл	5,60 ± 2,02	5,17 ± 2,3	0,6
Начало ИК, fHb, мг/дл	8,00 ± 3,54	8,16 ± 3,1	0,54
60 мин после отлучения от ИК, fHb, мг/дл	48,6 ± 6,35	47,5 ± 5,26	0,2

Примечание: fHb-свободный гемоглобин.

Статистически значимых различий между группами ИК и ИК+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,93$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb статистически значимо увеличивается по сравнению с первым и вторым этапами в обеих группах, $p < 0,01$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb в обеих группах статистически значимо увеличивается по сравнению с этапами интубация — $p < 0,000...$ и началом ИК — $p < 0,000....$

Статистически значимых различий между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,8$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb статистически значимо увеличивается по сравнению с первым и вторым этапами в обеих группах, $p < 0,01$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb в обеих группах статистически значимо увеличивается по сравнению с этапами интубация — $p < 0,000...$ и началом ИК — $p < 0,000....$

Резюме

В интраоперационном периоде кардиохирургические пациенты подвергаются комплексному воздействию патологических факторов, включающих хирургическую травму, анестезию и экстракорпоральное кровообращение. Постперфузионные реакции при кардиохирургических вмешательствах в условиях ИК включают развитие внутрисосудистого гемолиза [283, 301]. Гемолиз может развиваться в результате травмы клеток при аспирации

из операционной раны, окклюзии магистралей роликовым насосом при механической перфузии, развития турбулентного потока крови в оксигенаторе и местах сужений экстракорпорального контура, а также при сепарации клеток аппаратами типа Cell-Saver. Восстановленное железо, высвобожденное из молекулы гемоглобина, способно участвовать в реакциях с органическими и неорганическими радикалами кислорода и стимулировать перекисное окисление липидов и активизацию образования гидроксильных радикалов с последующим повреждением тканей, оказывая прямое нефротоксическое действие и способствуя оксидативному повреждению эпителия почечных канальцев. Примерно в 25 % случаев генерация свободного гемоглобина и восстановленного железа после ИК превосходит железосвязывающую способность сыворотки, что крайне утяжеляет реперфузионное повреждение [35]. Свободный гемоглобин связывает вырабатываемый эндотелием NO, что приводит к снижению биодоступности этой регуляторной молекулы и расстройствам микроциркуляции [251]. Данное явление может быть связано со снижением органной перфузии и доставки кислорода к мозговому веществу почек; региональная ишемия приводит к канальцевому повреждению с абберациями почечной функции в послеоперационном периоде [251]. Секвестрация NO приводит к системному повреждению органов спланхнического бассейна [295]. Массивный внутрисосудистый гемолиз и гемоглобинемия индуцируют развитие мультиорганного повреждения с внутрисосудистым свертыванием крови, формированием почечной, дыхательной и, в конечном счете, полиорганной недостаточности [135]. В ряде случаев (при массивных гемотрансфузиях, операциях в условиях глубокой гипотермии, продленном ИК) концентрация свободного гемоглобина в плазме крови может достигать 1000 мг/дл [250], однако сочетанное повреждение органов спланхнического бассейна и, в частности, почек, может развиваться даже при внутрисосудистом гемолизе невысокой интенсивности, при этом с послеоперационным почечным повреждением коррелируют пиковые концентрации свободного гемоглобина в плазме крови, в то время как гемоглобин

в моче может еще не определяться. В послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств в основе мультиорганных осложнений, в том числе почечных, лежат системные расстройства микроциркуляции. Патогенетическим механизмом при этом выступает секвестрация свободным гемоглобином оксида азота, ответственного за механизмы релаксации сосудистой стенки. Реакция происходит чрезвычайно быстро (около 10 мс), при этом дезоксигемоглобин связывается с NO обратимо с образованием нитрозилгемоглобина, а оксигемоглобин необратимо с образованием нитрата и метгемоглобина [218]. Таким образом, расстройства обмена эндогенного NO, в том числе связанные с ИК-ассоциированным гемолизом, являются крайне важным триггером в патогенезе послеоперационных осложнений у кардиохирургических пациентов.

3.2.2 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на показатели адекватности искусственного кровообращения

У животных во всех группах в течение эксперимента показатели метаболизма, кислотно-основной состав крови и ионограмма: pH, уровни буферных оснований, показатели сатурации артериальной крови (SaO_2), сатурации центральной венозной крови (SatCV), концентрация лактата, глюкозы, ионов натрия, калия и кальция, – находились в пределах референтных значений и не различались между группами на этапах исследования. Для подтверждения стабильности основных параметров гомеостаза, а также для оценки адекватности проведения механической перфузии у животных во всех группах проанализирована динамика, внутригрупповые и межгрупповые различия на этапах эксперимента по следующим показателям: веноартериальный градиент pCO_2 (ΔCO_2), SatCV и концентрация лактата в периферической крови. Данные по уровням ΔCO_2 на этапах исследования представлены в таблицах 16 и 17.

Таблица 16 – Веноартериальный градиент pCO_2 в группах стандартного протокола ИК и ИК+NO на этапах экспериментального исследования. Межгрупповое сравнение

Этап исследования	ИК ($M \pm SD$)	ИК+NO ($M \pm SD$)	p
Интубация трахеи, delta pCO_2 , мм рт. ст	2,83 $\pm$ 1,47	3,00 $\pm$ 1,54	0,89
Начало ИК, delta pCO_2 , мм рт. ст	2,66 $\pm$ 1,366	3,66 $\pm$ 2,16	0,56
60 мин после отлучения от ИК, delta pCO_2 , мм рт. ст	3,50 $\pm$ 1,64	4,0 $\pm$ 1,78	0,94

Статистически значимых различий между группами ИК и ИК+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,8$. Между этапами интубация, начало ИК и 60 мин после отлучения от ИК уровень delta CO_2 статистически значимо не различается внутри групп ИК и ИК+NO, $p=0,52$.

Таблица 17 – Веноартериальный градиент pCO_2 в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на этапах экспериментального исследования. Межгрупповое сравнение

Этап исследования	ИК+ЦА ($M \pm SD$)	ИК+ЦА+NO ($M \pm SD$)	P
Интубация трахеи, delta pCO_2 , мм рт. ст	2,9 $\pm$ 1,6	3,1 $\pm$ 1,55	0,75
Начало ИК, delta pCO_2 , мм рт. ст	2,8 $\pm$ 1,5	2,6 $\pm$ 2,02	0,48
60 мин после отлучения от ИК, delta pCO_2 , мм рт. ст	4,5 $\pm$ 1,82	4,4 $\pm$ 1,88	0,84

Статистически значимых различий между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,6$. Между этапами интубация, начало ИК и 60 мин после отлучения от ИК уровень delta CO_2 статистически значимо не различается внутри групп ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO, $p=0,46$.

Данные по уровням SatCV на этапах исследования представлены в таблицах 18 и 19.

Таблица 18 – SatCV в группах стандартного протокола ИК и ИК+NO на этапах экспериментального исследования. Межгрупповое сравнение

Этап исследования	ИК(M±SD)	ИК+NO (M±SD)	p
Интубация трахеи, SatCV, %	70±3,28	75,5±3,33	0,14
Начало ИК, SatCV, %	71,66±2,42	74,66±2,65	0,13
60 мин после отлучения от ИК, SatCV, %	71±2,52	78,66±6,43	0,11

Средние значения показателя SatCV % в группе ИК+NO на каждом из этапов наблюдения по сравнению с группой ИК различаются, однако статистической значимости различия SatCV в группах не достигают, $p=0,079$. Статистически значимых динамических различий между средними значениями показателя SatCV % на каждом из трех этапов наблюдения нет ни в группе ИК, $p=0,58$, ни в группе ИК+ NO, $p=0,15$.

Таблица 19 – SatCV в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на этапах экспериментального исследования. Межгрупповое сравнение

Этап исследования	ИК+ЦА (M±SD)	ИК+ЦА+NO (M±SD)	p
Интубация трахеи, SatCV, %	72±4,06	72,5±3,12	0,84
Начало ИК, SatCV, %	71,8±2,5	73,5±2,6	0,12
60 мин после отлучения от ИК, SatCV, %	70±2,24	70,08±3,2	0,24

Средние значения показателя SatCV % в группе ИК+ЦА+NO на каждом из этапов наблюдения по сравнению с группой ИК+ЦА не различались, $p=0.14$. Статистически значимых динамических различий между средними значениями показателя SatCV % на каждом из трех этапов наблюдения нет ни в группе ИК+ЦА, $p=0.06$, ни в группе ИК+ ЦА+NO, $p=0.26$.

Статистически значимых различий в концентрации лактата между группами ИК и ИК+NO, а также ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO (таблицы 12 и 13) на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,82$; $p=0,6$. На этапах интубация и начало ИК

уровень лактата сыворотки статистически значимо не различается в группах ИК и ИК+NO, а также в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень лактата статистически значимо увеличивается по сравнению с первым и вторым этапами наблюдения во всех группах.

Резюме

В клинической практике мониторинг адекватности проведения ИК имеет решающее значение для снижения частоты и выраженности послеоперационных осложнений. Европейское общество сердечно-сосудистых хирургов и Европейское общество кардио-торакальных анестезиологов рекомендуют мониторинг веноартериального градиента $p\text{CO}_2$, сатурации центральной венозной крови и концентрации лактата во время проведения механической перфузии [288]. К настоящему времени накоплены убедительные доказательства того, что эти показатели являются маркерами микроциркуляторной гипоперфузии. В зонах мальперфузии веноартериальный градиент $p\text{CO}_2$ 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 центральной венозной крови. Высокий веноартериальный градиент $p\text{CO}_2$, высокая пиковая концентрация лактата и низкая SatCV ассоциированы с низким сердечным выбросом, худшим клиренсом лактата и большей тяжестью состояния, оцениваемой в баллах SOFA [198]. Изменения данных показателей коррелируют с персистирующим микроциркуляторным дистрессом по данным сублингвальной микроскопии даже в условиях нормального сердечного выброса [224]. Интригующие исследования последних лет подтверждают взаимосвязь между вено-артериальным градиентом $p\text{CO}_2$ и микрососудистой перфузией у больных с циркуляторными нарушениями различного генеза [284]. Сопоставление данных сублингвальной микроскопии с показателями макрогемодинамики позволяют

сделать вывод о тесной связи вено-артериального градиента $p\text{CO}_2$ с параметрами микроциркуляторного кровотока на ранней стадии формирования гипоперфузии, при этом метаболические показатели слабо коррелируют с системными гемодинамическими переменными. Снижение SatCV в определенных клинических ситуациях с высокой степенью вероятности может отражать снижение сердечного выброса, однако нормальное или высокое ScVO_2 может маскировать гипоперфузию в условиях централизации кровообращения, цитотоксической гипоксии и митохондриально-микроциркуляторного дистресса и не отражает адекватности снабжения тканей кислородом [101]. Для оценки статуса тканевой перфузии в данных клинических моделях было предложено сочетанное определение веноартериального градиента $p\text{CO}_2$, SatCV и лактата. В настоящее время данная стратегия является общепризнанной, отражающей глобальный кислородный бюджет организма во время операций с искусственным кровообращением, и позволяет прогнозировать развитие органной дисфункции у кардиохирургических пациентов [288].

3.2.3 Безопасность кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm

Среднее время терапии оксидом азота в группе ИК+NO составило 189.67 ± 6.86 мин. Среднее время терапии оксидом азота в группе ИК+ЦА+ NO составило 190.17 ± 6.27 мин.

Применяя доставку оксида азота в дозе 80 ppm по описанной методике, ни в одном случае в NO-группах не было отмечено повышение концентрации NO_2 более 1,3 ppm в доставляемой в контур аппарата ИВЛ и оксигенатор аппарата ИК газо-воздушной смеси. Средняя концентрация NO_2 на протяжении всего периода эксперимента в группе ИК+NO составила 1.02 ± 0.17 ppm. Средняя концентрация NO_2 на протяжении всего периода эксперимента в группе ИК+ЦА+NO составила 1.22 ± 0.19 ppm.

Доставка оксида азота по указанной методике в экспериментальном исследовании не сопровождалась клинически значимым повышением содержания MetHb. Содержание MetHb выше рекомендованных пороговых значений не было зарегистрировано ни в одном случае в NO-группах ни на одном из этапов экспериментального исследования.

Резюме

Применение NO-кондиционирования в дозе 80 ppm при различных вариантах экстракорпорального кровообращения является легко воспроизводимой и хорошо контролируемой методикой. Данный протокол доставки оксида азота не сопровождается повышением концентрации токсических метаболитов оксида азота в контуре аппарата ИВЛ и магистрали подачи газо-воздушной смеси аппарата ИК, а также клинически значимым повышением содержания MetHb в периферической крови экспериментальных животных.

3.2.4 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на выраженность морфологических изменений в биоптатах почечной паренхимы

Образцы почечной паренхимы, полученные в ходе эксперимента, были представлены в основном кортикальным слоем. В группах ИК и ИК+NO были обнаружены однотипные изменения различной степени выраженности. Просвет проксимальных извитых канальцев нефронов был расширен, эпителий выглядел уплощенным, высота эпителиальных клеток часто уменьшалась (потеря щеточной каймы). В ряде случаев наблюдалась фрагментация апикальной области нефроцитов, у некоторых экспериментальных животных наблюдалась множественная зернистость и небольшие оптические пустые пузырьки (зернистая и вакуолярная гидропическая дистрофия). Изменений в дистальных извитых канальцах нефронов не выявлено. Собирательные протоки были расширены в

обеих группах. В ряде наблюдений в почечных тельцах были увеличены мочевые пространства (клубочковый отек). Наблюдался небольшой интерстициальный отек.

Морфометрические показатели, характеризующие выраженность острого почечного повреждения представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Морфометрические данные, характеризующие выраженность острого почечного повреждения в группах ИК и ИК+NO через 60 мин после отлучения от ИК, $M \pm SD$

Показатель	Группа	60 мин после отключения ИК	p
GCI	ИК	2,098 $\pm$ 0,966	0,03
	ИК+NO	2,569 $\pm$ 0,657	
LEI	ИК	0,557 $\pm$ 0,3134	<0,01
	ИК+NO	0,446 $\pm$ 0,1972	

Примечание: GCI — клубочково-капсулярный индекс; LEI — просветно-эпителиальный индекс.

В группе ИК+NO GCI был статистически значимо больше по сравнению с группой стандартного ИК, $p=0,0267$.

В группе ИК+ NO LEI был статистически значимо ниже по сравнению с группой ИК, $p=0,0087$.

Таким образом, морфологические изменения в обеих группах были однотипными и соответствовали острому почечному повреждению. Степень тяжести морфологических изменений при попарном сравнении представлена следующим образом: ИК > ИК+NO. (Рисунок 21).

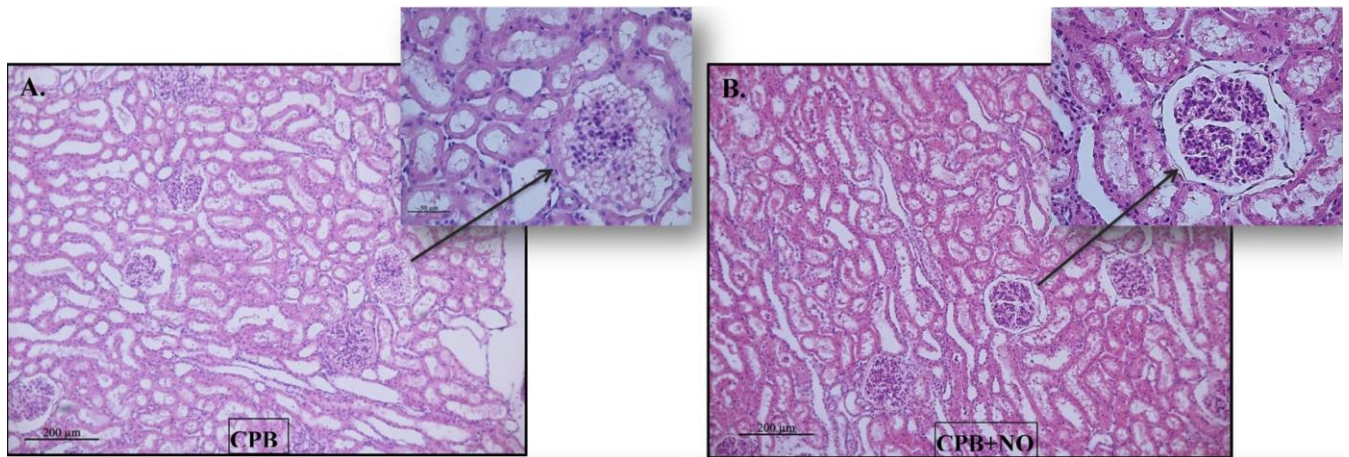


Рисунок 21 – Гистологическая картина в образцах биопсии почек через 60 мин после отлучения от ИК: А - группа ИК, В - группа ИК+NO.

Согласно полученным данным, между группами стандартного ИК и ИК+NO через 60 мин после отлучения от ИК при попарном сравнении получены статистически значимые различия в следующих показателях: uNGAL, объеме диуреза на протяжении эксперимента, GCI и LEI. Данные факты указывают на выраженное влияние кондиционирования оксидом азота на функциональные маркеры и морфологические проявления острого почечного повреждения при проведении экспериментального экстракорпорального кровообращения.

Резюме

Данное экспериментальное исследование показало, что оксид азота обладает выраженными нефропротективными свойствами, о чем свидетельствует значительно более низкая концентрация маркера повреждения почек — uNGAL в группе кондиционирования оксидом азота, а также значимо более высокий диурез в группе ИК+NO по сравнению с группой стандартного ИК. Гистологические признаки повреждения почечной ткани также менее выражены в группе, которой проводилось кондиционирование оксидом азота. Статистически значимое увеличение GCI в группе NO-терапии указывает на увеличение объема мочевыводящих путей под влиянием NO, увеличение площади продукции первичной мочи и является морфологическим субстратом увеличения скорости клубочковой фильтрации. Статистически значимое снижение LEI в группе NO-

терапии указывает на сохранение эпителия почечных канальцев под влиянием NO, что является субстратом сохранения массообменной и концентрационной функции почек.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что кондиционирование оксидом азота обладает нефропротективным эффектом при проведении экспериментального экстракорпорального кровообращения.

3.2.5 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на тяжесть митохондриальной дисфункции: митохондриальное повреждение и состояние митохондриального дыхания

Показатели трансмембранного потенциала митохондрий, Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий, концентрация тканевого АТФ и лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Показатели трансмембранного потенциала митохондрий, Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий, концентрация тканевого АТФ и лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO, $M \pm SD$

Показатель	ИК	ИК+NO	ИК+ЦА	ИК+ЦА+NO
$\Delta\psi$, Ed/mg protein	126,66 $\pm$ 18,61	171,66 $\pm$ 20,41	108,33 $\pm$ 23,16	123,33 $\pm$ 18,61
Ca^{2+} -связывающая способность митохондрий, Нм CaCl_2 /mg protein	866,66 $\pm$ 216,02	1466,66 $\pm$ 216,02	366,66 $\pm$ 163,29	516,66 $\pm$ 147,19
Концентрация АТФ, nmol/g	3,66 $\pm$ 0,62	6,82 $\pm$ 1,1	3,95 $\pm$ 0,64	3,63 $\pm$ 0,72
Концентрация лактата, nmol/g	12,92 $\pm$ 3,71	10,19 $\pm$ 2,14	15,36 $\pm$ 2,60	12,18 $\pm$ 4,02

Динамика межгрупповых различий трансмембранного потенциала митохондрий (Ed/mg protein) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO представлена на рисунке 22.

Статистически значимые различия выявлены между группами стандартного ИК и ИК+NO. В группе ИК+NO отмечено статистически значимое повышение на 36% уровня трансмембранного потенциала митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,00256$, мощность вывода о различиях 84,5%.

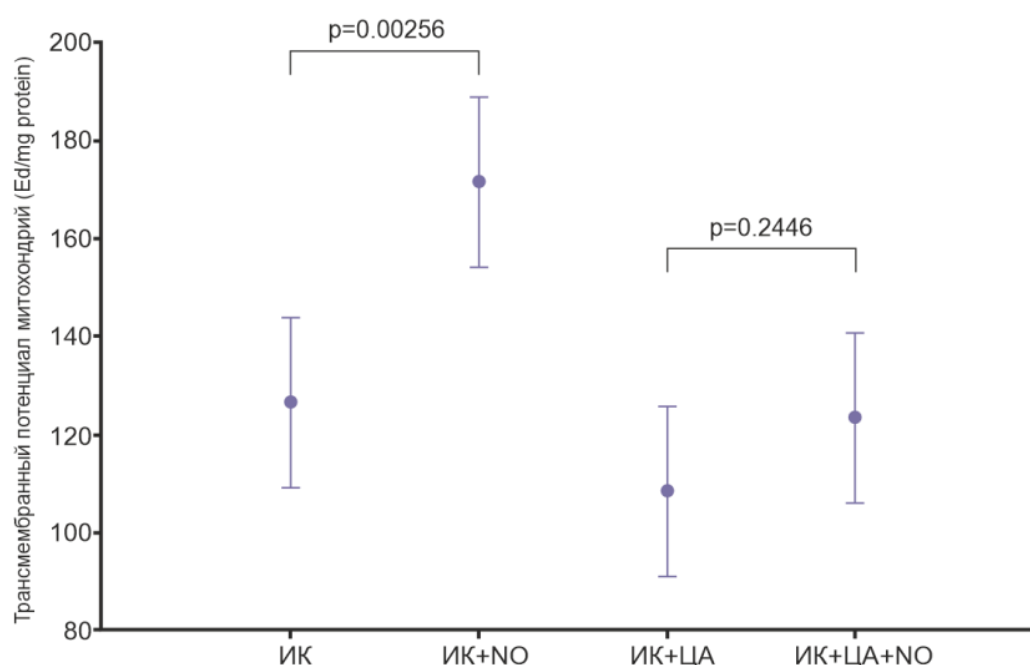


Рисунок 22 – Диаграмма средних значений и их 95% доверительных интервалов для показателя трансмембранного потенциала митохондрий (Ed/mg protein) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO нет статистически значимых различий в уровне трансмембранного потенциала митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,2446$. Однако более чувствительный байесовский коэффициент $\log_{10}K=0,628 > 0,5$ и $p=0,2446$, соответствовали 2 битам информации против нулевой гипотезы, что подтверждает существование небольших различий

между средними значениями ψ в исследуемых группах. В группе ИК+НО значения ψ были в среднем на 40% статистически значимо выше по сравнению с группой ИК+ЦА+НО, $p=0,0016$. В группах ИК и ИК+ЦА значения ψ существенно не отличались.

Динамика межгрупповых различий в Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий (Нм $\text{CaCl}_2/\text{mg protein}$) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+НО, ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО представлена на рисунке 23.

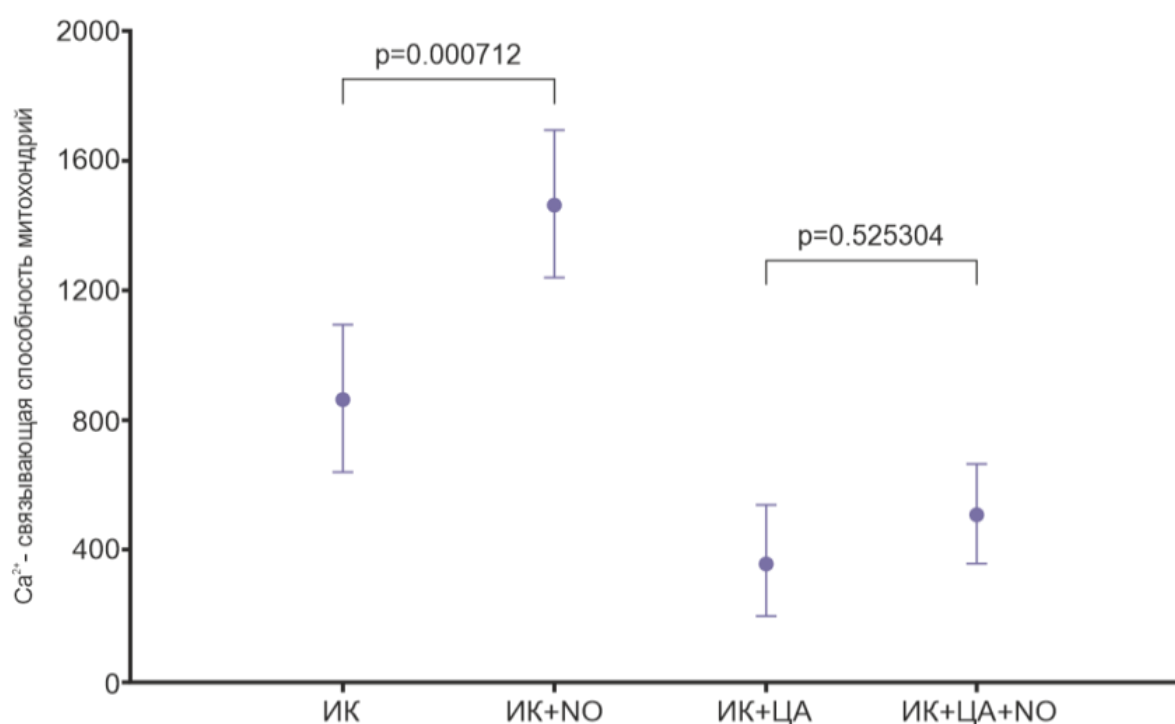


Рисунок 23 – Диаграмма средних значений и их 95% доверительных интервалов для показателя Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий (Нм $\text{CaCl}_2/\text{mg protein}$) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+НО, ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО

Статистически значимые различия выявлены между группами стандартного ИК и ИК+НО. В группе ИК+НО отмечено статистически значимое на 69% повышение Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,000712$, mean difference=600,0, мощность вывода о различиях 96,8%.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO нет статистически значимых различий в уровне Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,525$. Более чувствительный байесовский коэффициент $\log_{10}K=0,833 > 0,5$ и $p=0,205$ соответствовали 2 битам информации против нулевой гипотезы, что подтверждает существование небольших различий между средними значениями Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий в исследуемых группах.

В группе ИК Ca^{2+} -связывающая способность митохондрий была в среднем на 66% статистически значимо выше по сравнению с группой ИК+ЦА, $p=0,0011$. В группе ИК+NO Ca^{2+} -связывающая способность митохондрий была в среднем на 184% статистически выше по сравнению с группой ИК+ЦА+NO, $p=0,000$.

Динамика межгрупповых различий в концентрации АТФ (nmol/g) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO представлена на рисунке 24.

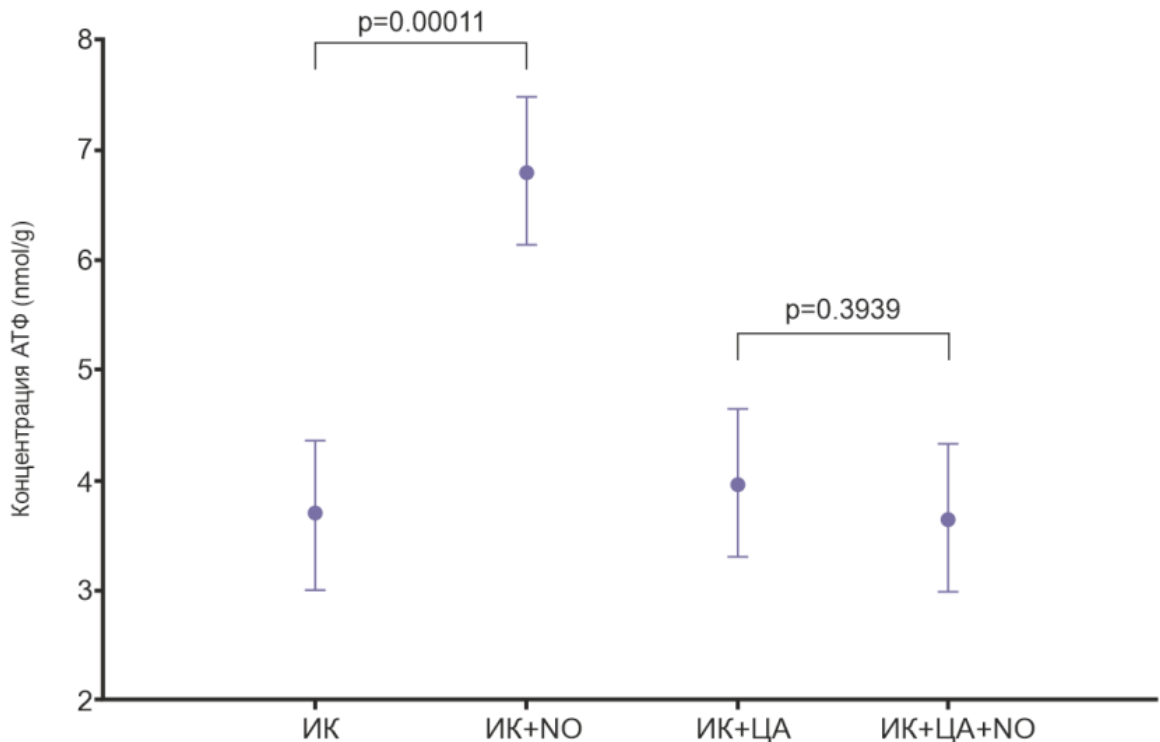


Рисунок 24 – Диаграмма средних значений и их 95% доверительных интервалов для показателя концентрация АТФ (nmol/g) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO

Статистически значимые различия выявлены между группами стандартного ИК и ИК+NO. В группе ИК+NO отмечено статистически значимое на 86 % повышение концентрации АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,00011$, мощность вывода о различиях 23,5%.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO нет статистически значимых различий в концентрации АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,39$.

В группе ИК+NO уровень АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК был на 88% выше по сравнению с группой ИК+ЦА+NO, $p=0,0002$. Концентрация АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах ИК и ИК+ЦА существенно не отличалась.

Динамика межгрупповых различий в концентрации лактата (nmol/g) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO представлена на рисунке 25.

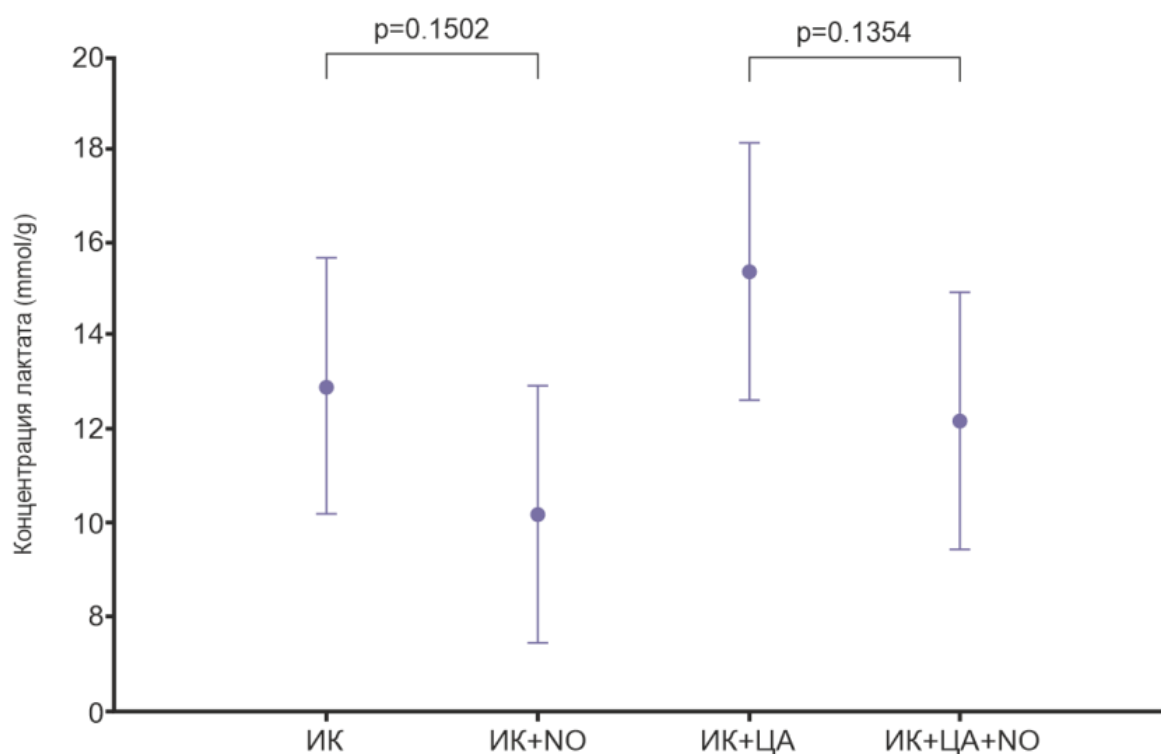


Рисунок 25 – Диаграмма средних значений и их 95% доверительных интервалов для показателя лактата (nmol/g) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO

Между группами стандартного ИК и ИК+НО не зарегистрировано статистически значимых различий в концентрации лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,1502$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,879 > 0,5$. Это согласуется с 3 битами информации против нулевой гипотезы и подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации лактата в исследуемых группах.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО не было статистически значимых различий в концентрации лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,1354$. Более чувствительный байесовский коэффициент $\log_{10}K=0,893 > 0,5$ и $p=0,135$, соответствующие 3 битам информации против нулевой гипотезы, подтверждают существование небольшого снижения между средними значениями концентрации лактата в группе ИК+ЦА+НО по сравнению с группой ИК+ЦА.

В группе ИК концентрация лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК была ниже по сравнению с группой ИК+ЦА, но статистически значимых различий не было, $p=0,216$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,794 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации лактата в этих группах.

Концентрации лактата в группах ИК+НО и ИК+ЦА+НО в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК существенно не различались.

Резюме

Для целей настоящего исследования при межгрупповом сравнении проводился статистический анализ различий исследуемых показателей митохондриальной дисфункции (митохондриального повреждения и состояния митохондриального дыхания) между парами групп, включенных в эксперимент: между группами стандартного ИК и ИК+НО, а также между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО. Данный подход позволил изучить возможности кондиционирования НО при различных модальностях проведения искусственного кровообращения, поскольку физиологические условия классического ИК и ИК, сопряженного с проведением гипотермического бесперфузионного циркуляторного ареста,

кардинально различны. Терапевтическая гипотермия, применяемая в определенных клинических сценариях ИК, позволяет снизить «метаболический запрос» органов и тканей. При этом кратковременное полное прекращение кровообращения в различных сосудистых бассейнах, требующееся для проведения оперативного вмешательства, сопряжено с формированием «запредельной» ишемически-реперфузионной травмы. Таким образом, для анализа любых профилактических и лечебных интервенций, в том числе кондиционирования НО, филогенетически беспрецедентные условия гипотермического ИК и бесперфузионного циркуляторного ареста необходимо рассматривать отдельно от рутинной практики ИК.

Митохондрии являются основным источником энергии в виде молекул АТФ, принимают непосредственное участие в поддержании ионного гомеостаза в клетке, осуществляют генерацию активных форм кислорода, а также могут быть триггерами апоптоза. Согласно хемиосмотической теории Митчелла митохондрии преобразуют химическую энергию, выделяющуюся при окислении ацетил-КоА, в электрический потенциал на внутренней мембране митохондрий ($\Delta\psi$), АТФ-синтаза преобразует электрическую энергию в химическую, а именно — синтезирует АТФ [197], которая транспортируется АДФ/АТФ-транслоказой из митохондрий в цитоплазму [213]. Следовательно, чем больше $\Delta\psi$, тем эффективнее митохондрии синтезируют АТФ. В случае разобщения окислительного фосфорилирования происходит падение $\Delta\psi$ до нуля, синтез АТФ митохондриями прекращается. Важным регулятором функционального состояния клетки и митохондрий является пора переменной проницаемости. Открытие МРТ-поры приводит к падению $\Delta\psi$ и прекращению синтеза АТФ митохондриями, что в конечном итоге ведёт к гибели клеток с высокими потребностями в АТФ, например, клеток почечной ткани [206]. Величина $\Delta\psi$ определяет эффективность синтеза АТФ митохондриями, а от состояния МРТ-поры и Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий зависит выживаемость клеток в неблагоприятных условиях. По измерению концентрации АТФ и лактата можно судить о функциональном состоянии митохондрий после воздействия ишемии, а

также любых протекторных препаратов, используемых для защиты клеток от гипоксии.

Таким образом, метаболические изменения, наблюдающиеся в органах и тканях при ишемии и реперфузии, приводят к повреждению митохондрий и нарушению их функционального состояния.

В настоящее время принято считать, что «гипотетическим конечным эффектором», обеспечивающим толерантность клетки к ишемии-реперфузии, являются АТФ-чувствительные K^+ -каналы (K_{ATP} -каналы) [109]. Существуют данные, что оксид азота может активировать эти каналы [279]. Представленные данные свидетельствуют, что органопротекторный эффект оксида азота может быть следствием активации мито K_{ATP} -каналов.

Также получены данные о возможности применения кондиционирования NO при различных модальностях проведения искусственного кровообращения, в частности, при проведении гипотермического ИК в сочетании с бесперфузионным циркуляторным арестом. В группе кондиционирования оксидом азота отмечена тенденция к снижению митохондриального повреждения в ткани почек, а также к улучшению состояния митохондриального дыхания, заключающемся в увеличении трансмембранного потенциала митохондрий и кальций-связывающей способности митохондрий, а также снижении тканевой концентрации лактата. Однако данные изменения указанных показателей не достигли уровня статистической значимости.

3.2.6 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на выраженность процессов регулируемой клеточной гибели в паренхиме почек

Данные об экспрессии маркеров регулируемой клеточной гибели в паренхиме почек представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Данные об экспрессии маркеров регулируемой гибели клеток в паренхиме почек в группах ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO через 60 мин после отлучения от ИК, М±SD

Показатель	Группы	60 мин после отлучения от ИК	р
TNF- α , ng/g	ИК	1349,5±588,08	0,64 (ИК vs ИК+NO)
	ИК +NO	1538,9±797,13	0,03 (ИК+ЦА vs ИК+ЦА+NO)
	ИК+ЦА	1731,7±497,27	0,26 (ИК vs ИК+ЦА)
	ИК+ЦА+NO	1013,5±422,07	0,41 (ИК+NO vs ИК+ЦА+NO)
RIPK3, ng/g	ИК	10,2±7,35	0,59 (ИК vs ИК+NO)
	ИК +NO	8,4±3,86	0,21 (ИК+ЦА vs ИК+ЦА+NO)
	ИК+ЦА	15,1±5,81	0,23 (ИК vs ИК+ЦА)
	ИК+ЦА+NO	11,84±5,01	0,21 (ИК+NO vs ИК+ЦА+NO)
NLRP3, ng/g	ИК	208,8±78,78	0,85 (ИК vs ИК+NO)
	ИК +NO	201,9±38,96	0,51 (ИК+ЦА vs ИК+ЦА+NO)
	ИК+ЦА	199,6±116,96	0,68 (ИК vs ИК+ЦА)
	ИК+ЦА+NO	159,9±82,49	0,21 (ИК+NO vs ИК+ЦА+NO)
GSDMD, ng/g	ИК	27,5±9,22	0,88 (ИК vs ИК+NO)
	ИК +NO	28,3±11,64	0,55 (ИК+ЦА vs ИК+ЦА+NO)
	ИК+ЦА	29,4±5,41	0,72 (ИК vs ИК+ЦА)
	ИК+ЦА+NO	33,1±13,76	0,42 (ИК+NO vs ИК+ЦА+NO)

Примечание: TNF- α - фактора некроза опухоли альфа; RIPK3 - взаимодействующая с рецептором серин/треонин-протеинкиназа 3; NLRP3 - NLR пириновый домен с белками 3; GSDMD - гасдермин D.

Динамика межгрупповых различий в концентрации TNF- α (нг/г) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO представлена на рисунке 26.

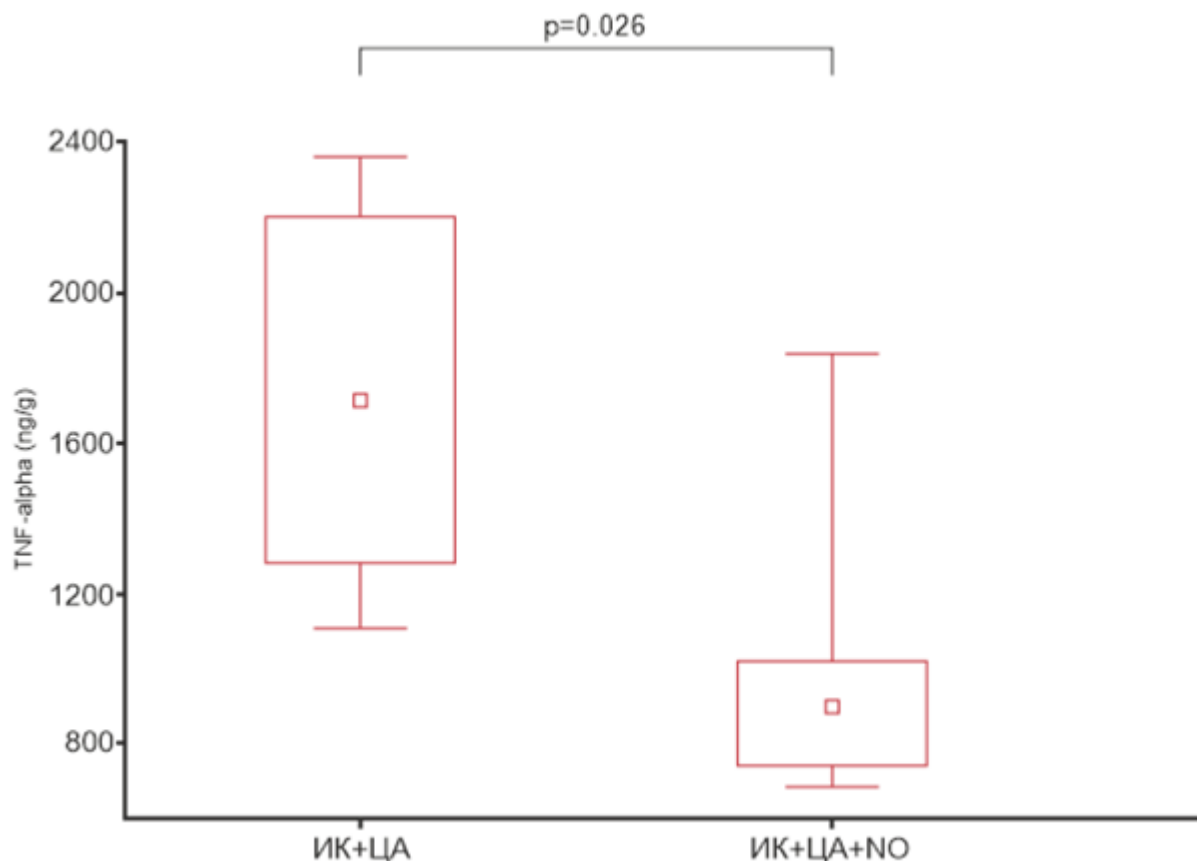


Рисунок 26 – Диаграмма средних значений и их 95% доверительных интервалов для показателя TNF-α (нг/г) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО

Между группами стандартного ИК и ИК+НО нет статистически значимых различий в концентрации TNF-α в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,64$.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО выявлены статистически значимые различия в концентрации TNF-α в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК; в группе ИК+ЦА+НО концентрация TNF-α была на 41,5% ниже по сравнению с группой ИК+ЦА $p=0,026$.

В группе ИК+ЦА концентрация TNF-α была в среднем выше по сравнению с группой ИК, но различия не были значимыми. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,736 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации TNF-α в этих группах. Концентрация TNF-α в группах ИК+НО и ИК+ЦА+НО существенно не отличалась.

Между группами стандартного ИК и ИК+НО не зарегистрировано статистически значимых различий в концентрации RIPK3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,59$. При этом в группе ИК+НО концентрация RIPK3 была в среднем ниже по сравнению с группой ИК.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО нет статистически значимых различий в концентрации RIPK3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,32$.

В группе ИК+ЦА концентрация RIPK3 была в среднем выше по сравнению с группой ИК, но без статистически значимых различий, $p=0,234$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,763 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации RIPK3 в этих группах. В группе ИК+ЦА+НО концентрация RIPK3 была в среднем выше по сравнению с группой СВВ+НО, но без статистически значимых различий, $p=0,2075$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,81 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации RIPK3 в этих группах.

Между группами стандартного ИК и ИК+НО не отмечено статистически значимых различий в концентрации NLRP3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,85$.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО нет статистически значимых различий в концентрации NLRP3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,51$.

В группе ИК+ЦА+НО концентрация NLRP3 была в среднем ниже по сравнению с группой ИК+НО, но без статистически значимых различий, $p=0,2075$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,693 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации NLRP3 в этих группах. В группе ИК по сравнению с группой ИК+ЦА не было статистически значимых различий в концентрации NLRP3.

Между группами стандартного ИК и ИК+NO не было статистически значимых различий в концентрации GSDMD в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,88$.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO не зарегистрировано статистически значимых различий в концентрации GSDMD в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,55$.

Не было выявлено статистически значимых различий в концентрации GSDMD в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК между группами ИК и ИК+ЦА, а также между группами ИК+NO и ИК+ЦА+NO.

Резюме

Нарушение функций митохондрий при ишемии и реперфузии, а также избыточное накопление ионов кальция в клетках приводят к активации ферментов, запускающих каскад реакций, приводящих к различным типам регулируемой клеточной гибели (некроптоз, пироптоз и апоптоз). Тяжесть повреждения органов-мишеней, а также эффективность применения технологий органопротекции можно оценивать по выраженности активации в тканях сигнальных путей некроптоза, пироптоза и апоптоза.

Гибель клетки путем апоптоза происходит на фоне сохраненной целостности клеточной мембраны и поэтому не сопровождается воспалительной реакцией. Апоптотическая гибель клетки запускается как внеклеточными, так и внутриклеточными сигналами. Во внеклеточном пути апоптоза важную роль играет активация рецепторов к фактору некроза опухоли- α и Fas-рецепторов. Конечный эффект достигается активацией ферментов каспазы-8 и каспазы-3, непосредственно разрушающих клетку при апоптозе. Запуск внутриклеточного пути апоптоза связан с открытием MPT-поры и Вах/Вак-поры митохондрий. Открытие этих пор приводит к падению $\Delta\psi$, выходу из митохондрий проапоптотических белков, а также входу в митохондрии ионов и воды, их набуханию и разрыву митохондриальной мембраны. Дальнейшая активация эффекторных каспаз-3 и -7 приводит к разрушению ДНК и цитоскелета. В результате происходит конденсации хроматина и апоптотическое

сморщивание клеток. Считается, что во время реперфузии главным механизмом клеточной гибели является апоптоз.

Некроптоз может запускаться в тех случаях, когда апоптоз по тем или иным причинам невозможен. В отличие от апоптоза, некроптоз сопровождается высвобождением содержимого клетки во внешнюю среду и вызывает сильный ответ со стороны иммунной системы. Запуск некроптоза также связан с активацией рецепторов фактора некроза опухоли, которое, в свою очередь, активирует белки RIPK1 и RIPK3. Процесс некроптоза протекает крайне быстро и связан главным образом с событиями, происходящими в клетке во время ишемии.

Основным отличием пироптоза является присутствие обязательного воспалительного компонента. Ключевую роль в пироптозе играет каспаза-1 (не участвует в апоптозе), которая превращает предшественники провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18 в их активные формы. Активированные цитокины увеличивают миграцию лейкоцитов в ткань и привлекают в процесс другие цитокины и хемокины, что способствует еще большему воспалительному процессу.

Большинство исследователей склоняются к точке зрения о том, что стимуляция пироптоза и некроптоза усугубляет ишемические и реперфузионные повреждения за счет формирования воспаления и внутриклеточных структур, повреждающих мембрану клеток. Одним из главных воспалительных цитокинов является фактор некроза опухоли α , появление которого влечет за собой активацию апоптоза и некроптоза. В свою очередь формирование некроптоза также связано с активацией взаимодействующей с рецептором протеинкиназы-3 (RIPK3), которая способна активировать апоптоз.

Подавление возникающего воспаления (TNF- α) и появления предикторов некроптоза RIPK3 и пироптоза NLRP3 и Gasdermin D является благоприятным фактором для уменьшения ишемических и реперфузионных повреждений. Следовательно, по определению уровня маркеров пироптоза, апоптоза и некроптоза (NLRP3, Gasdermin D, RIPK3 и TNF- α) можно судить об эффективности применения протекторных препаратов, применяемых для уменьшения повреждений органов в

результате воздействия длительной ишемии и/или гипоксии. При этом за формирование клеточной гибели по типу апоптоза отвечает гиперэкспрессия TNF- α , некроптоза — RIPK3, пироптоза — NLRP3 и Gasdermin D (GSDMD).

Согласно полученным данным, между группами стандартного ИК и ИК+NO через 60 мин после отлучения от ИК в биоптатах почек не получено статистически значимых различий в следующих показателях: NLRP3, Gasdermin D, RIPK3 и TNF- α . Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO через 60 мин после отлучения от ИК в биоптатах почек получены статистически значимые различия в тканевой концентрации TNF- α . Данные факты указывают на отсутствие влияния кондиционирования оксидом азота на выраженность экспрессии маркеров регулируемой клеточной гибели в экспериментальном исследовании при проведении стандартного ИК, но при более инвазивном варианте перфузионного обеспечения операции (ИК+ЦА) оксид азота может снижать выраженность экспрессии индукторов апоптоза.

3.2.7 Влияние кондиционирования оксидом азота в дозе 80 ppm на показатели коэффициентов микровязкости и полярности мембран эритроцитов по данным исследования цельной крови экспериментальных животных

Были проанализированы следующие переменные: коэффициент микровязкости в зонах межлипидных взаимодействий (CMLI) и коэффициент микровязкости в зонах белок–липидных взаимодействий (CMPLI), а также коэффициент полярности в областях межлипидных взаимодействий (CPLLI) и коэффициент полярности в областях белок–липидных взаимодействий (CPPLI) мембран эритроцитов в группах до инициации ИК (начало эксперимента) и через 60 мин после отлучения от ИК.

В таблице 23 и на рисунке 27 представлены коэффициенты микровязкости (J470/J370) и полярности (J390/J370) в области белок-липидных ($\lambda_B = 285$ нм) и

липид-липидных взаимодействий ($\lambda_B = 340$ нм), полученные для мембран эритроцитов экспериментальных животных в группах исследования.

Таблица 23 – Коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов в группах до инициации ИК (начало эксперимента) и через 60 мин после отлучения от ИК, $M \pm SD$

Коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов в группах ИК и ИК+NO						
Показатель	Этапы	Группа ИК	p	Группа ИК+NO	p	p (межгрупповое сравнение ИК – ИК+NO)
CMLLI J_{470}/J_{370} , $\lambda_B=340$ nm	До ИК	0,29±0,109	p=0,741	0,26±0,119	p=0,885	p=0,668
	60 мин после отлучения от ИК	0,28±0,101		0,25±0,026		p=0,520
CMPLI J_{470}/J_{370} , $\lambda_B=285$ nm	До ИК	0,40±0,111	p=0,009	0,41±0,165	p=0,827	p=0,946
	60 мин после отлучения от ИК	0,18±0,054		0,39±0,147		p=0,008
CPLLI J_{390}/J_{370} , $\lambda_B=340$ nm	До ИК	1,05±0,011	p=0,616	1,04±0,033	p=0,735	p=0,474
	60 мин после отлучения от ИК	1,05±0,015		1,05±0,017		p=0,869
CPPLI J_{390}/J_{370} , $\lambda_B=285$ nm	До ИК	5,11±0,903	p=0,013	5,14±0,669	p=0,773	p=0,948
	60 мин после отлучения от ИК	3,47±0,534		5,02±0,457		p=0,0003

Примечание: CMLLI - коэффициент микровязкости в зонах межлипидных взаимодействий; CMPLI - коэффициент микровязкости в зонах белок–липидных взаимодействий; CPLLI - коэффициент полярности в областях межлипидных взаимодействий; CPPLI - коэффициент полярности в областях белок–липидных взаимодействий.

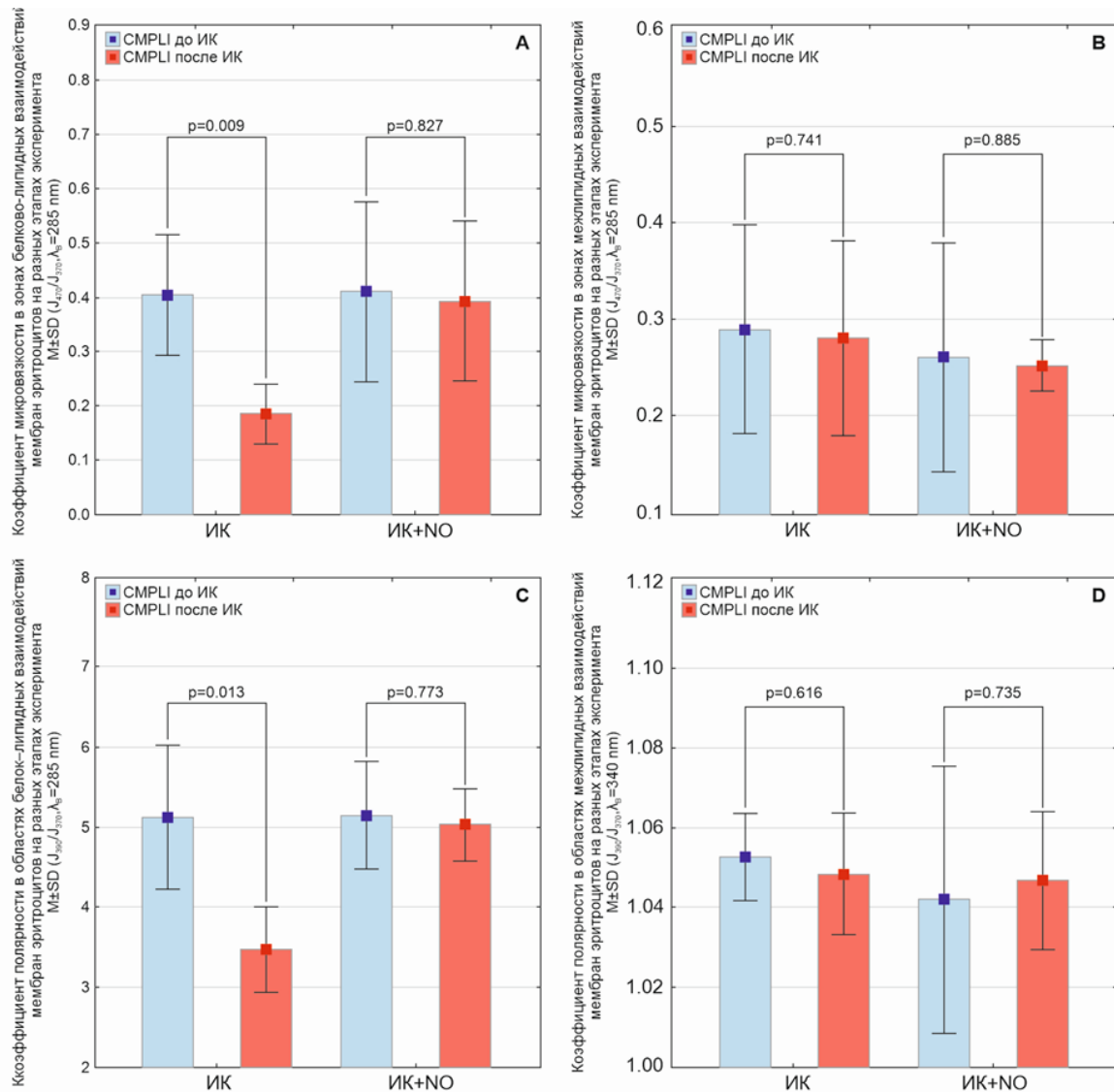


Рисунок 27 – А - коэффициент микровязкости в зонах белково-липидных взаимодействий мембран эритроцитов на разных этапах эксперимента; Б - коэффициент микровязкости в зонах межлипидных взаимодействий мембран эритроцитов на разных этапах эксперимента; С - коэффициент полярности в областях белок-липидных взаимодействий мембран эритроцитов на разных этапах эксперимента; D - коэффициент полярности в областях межлипидных взаимодействий мембран эритроцитов на разных этапах эксперимента

В начале эксперимента коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов были сопоставимы во всех группах.

При анализе CMLI внутри групп и между группами ИК и ИК + NO до ИК и через 60 мин после отлучения от ИК статистически значимых различий не выявлено.

Анализ CMPLI в группе ИК выявил снижение этого показателя через 60 мин после отлучения от ИК на 55% от исходных значений ($p = 0,009$). В группе ИК + NO на этапах эксперимента изменений CMPLI не наблюдалось.

При анализе CPLLI в группах ИК и ИК + NO не было выявлено межгрупповых различий на этапах эксперимента. В группе ИК наблюдалось снижение CPPLI через 60 мин после отлучения от ИК на 32% от исходных значений ($p = 0,013$). В группе ИК + NO на этапах эксперимента изменений CPPLI не наблюдалось.

Резюме

Оксид азота является одним из наиболее важных гуморальных факторов, взаимодействующих с эритроцитами [57]. Клетки крови и, в частности, эритроциты являются важной межорганной коммуникационной сетью, которая выполняет различные функции, включая контроль системного метаболизма NO, регуляцию окислительно-восстановительных процессов и реологических свойств крови [273]. Основным источником NO являются эндотелиальные клетки, но NO также может вырабатываться самими эритроцитами [66]. Одним из эффектов NO на эритроциты является их защита от субгемолитических механических повреждений [38]. NO повышает деформируемость эритроцитов, а также защищает эритроциты от эриптоза [212]. Возможно, данный противоэриптотический эффект предотвращает дальнейшее снижение деформируемости эритроцитов. Деформируемость эритроцитов — это способность клеток адаптировать свою форму к динамически изменяющимся условиям кровотока, чтобы свести к минимуму сопротивление текущей объемной скорости кровотока [37]. Данное свойство эритроцитов крайне важно для обеспечения транскапиллярного транзита. Пониженная эритроцитарная деформируемость (повышенная жесткость) приводит к нарушению микроциркуляции и локальной перфузии и снижению доставки кислорода к периферическим тканям [46]. Эритроциты воспринимают механические воздействия, приводящие к деформации, и реагируют на них высвобождением

вазоактивных медиаторов, которые также влияют на кровоток, воздействуя на эндотелиальные или гладкомышечные клетки сосудов. Например, АТФ, экспортируемый из деформированных эритроцитов, воздействует на эндотелиальные клетки через пуринаргические рецепторы и повышает активность e-NOS. Таким образом, деформация эритроцитов является важным стимулом для экспорта АТФ из эритроцитов и позволяет им расширять артериолы и легко пересекать капилляры, которые в некоторых случаях имеют меньший диаметр, чем сами эритроциты [37].

Влияние NO на жесткость эритроцитов зависит от концентрации NO [191]. Если концентрация NO составляет 10^{-7} М, деформируемость эритроцитов увеличивается; при концентрации 10^{-5} М, текучесть липидов мембран снижается, а в случаях присутствия NO в концентрации 10^{-3} М, наблюдается увеличение метгемоглобина и снижение деформируемости эритроцитов, при этом текучесть мембран и детерминанты перекисного окисления липидов не изменяются. Таким образом, NO является основным физиологическим регулятором реологических свойств крови благодаря его прямому влиянию на деформируемость эритроцитов [57].

Деформирующие, медиаторные и антиадгезивные эффекты эритроцитов нарушаются при патологии в соответствии с механизмами, которые остаются малоизученными [37]. Гипотермия, гемодилюция и механический стресс во время ИК и ЦА синергически снижают деформируемость эритроцитов и могут нарушать микроциркуляцию и снабжение тканей кислородом.

Данное исследование позволило изучить изменение деформируемости эритроцитов при ИК и сочетании ИК с ЦА. Были проанализированы CMPLI, CMLLI, CPPLI и CPLLI мембран эритроцитов. Результаты данного исследования демонстрируют статистически значимое снижение CMPLI на 55% ($p = 0,009$) и CPPLI на 32% ($p = 0,013$) через 60 мин после отлучения от ИК по сравнению с исходными значениями, что подтверждает факт ухудшения деформируемости эритроцитов во время проведения ИК. Вероятно, это связано с дефицитом

эндогенного NO во время ИК, поскольку поступление экзогенного NO позволило уменьшить негативное влияние экстракорпорального кровообращения на деформируемость эритроцитов. В группе ИК + NO показатели CPPLI, CPLLI, CMPLI и CMLLI через 60 мин после отлучения от ИК были сопоставимы с исходными значениями.

Микровязкость и полярность служат важными характеристиками структурно-функционального состояния биологических мембран.

Регуляция состава фосфолипидов и степени насыщенности жирнокислотных остатков в клеточных мембранах основана на связи между процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ) с одной стороны, и скоростью обновления липидов – с другой. Усиление активности процессов ПОЛ сопровождается изменением липидного состава, что, в свою очередь, приводит к изменению вязкости и заряда молекул фосфолипидов липидного бислоя. Состояние аннулярных липидов и мембранных белков находится в тесной взаимосвязи и взаимозависимости [253]. Белки так же, как и липиды, подвергаются модифицирующему влиянию активных форм кислорода [24]. Окисление белков сопровождается образованием внутримолекулярных сшивок и изменением зарядов аминокислотных остатков. Результаты данного исследования свидетельствуют об отсутствии изменений микровязкости и полярности в липидном бислое мембран эритроцитов экспериментальных животных. В то же время выполнение операции с ИК сопровождается повышением микровязкости и полярности в области белок-липидных контактов мембран эритроцитов, о чем свидетельствует выявленное уменьшение абсолютных значений соответствующих коэффициентов. Изменение структурно-функциональных свойств в зоне аннулярных липидов эритроцитарных мембран на окончательном этапе проведения операции может быть обусловлено усилением активности процессов свободнорадикального окисления липидов и белков. Правомерность такого объяснения доказана многочисленными исследованиями содержания продуктов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов при проведении

кардиохирургических операций с использованием ИК у пациентов с ИБС. Молекула гемоглобина, а возможно, и продукты ее взаимодействия с метаболитами NO могут тормозить развитие реакций ПОЛ, т. е. выступать в роли антиоксидантов [9].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что кондиционирование оксидом азота позволяет снизить негативное влияние ИК на деформируемость эритроцитов экспериментальных животных.

3.3 Клиническое исследование №2

В клиническое исследование №2 включено 136 пациентов, поступивших в кардиохирургическое отделение №1 НИИ кардиологии ТНИМЦ для планового хирургического вмешательства и имеющих высокий риск ОПП в периоперационном периоде, обусловленный наличием ХБП.

Пациентам из NO-группы проводилась ингаляционная терапия оксидом азота в концентрации 80 ppm через контур наркозно-дыхательного аппарата, магистраль подачи газо-воздушной смеси аппаратов ИК и через контур аппарата ИВЛ в течение 6 ч послеоперационного периода. В контрольной группе дополнительная ингаляционная терапия NO не проводилась.

3.3.1 Влияние периоперационного кондиционирования оксидом азота на частоту ОПП у кардиохирургических пациентов с исходно высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек

Структура ОПП представлена в таблице 24.

Таблица 24 – Структура острого почечного повреждения в исследуемых группах

Показатель	НО-группа, n = 68	Контрольная группа, n = 68	p
ОПП, n (%)	16 (23,5)	27 (39,7)	0,043
Стадия ОПП, n (%)			0,144
1	13 (81,3)	22 (81,5)	
2	1 (6,3)	5 (18,5)	
3	2 (12,5)	0 (0)	
Длительность ОПП, дней, Me [25; 75]	1 [1;2]	2 [1; 2.5]	0,513
ОПП транзиторное, n (%)	12 (75)	20 (74,1)	1
ОПП персистирующее, n (%)	4 (25)	7 (25,9)	1

Примечание: ОПП - острое почечное повреждение (транзиторное длительностью до 48 ч, персистирующее длительностью более 48 ч).

Периоперационное кондиционирование NO, полученным по технологии плазмохимического синтеза, статистически значимо снижало частоту развития ОПП в послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств у пациентов с ХБП. В основной группе частота развития ОПП была статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой: 16 (23,5%) в основной группе против 27 (39,7%) в контрольной группе ОР 0,59 (95% ДИ 0,35–0,99; p=0,043). Структура (стадии и длительность) ОПП не различалась между группами.

Круговая диаграмма частоты развития острого почечного повреждения представлена на рисунке 28.



Рисунок 28 – Частота развития острого почечного повреждения в основной и контрольной группах

Резюме

Периоперационное кондиционирование оксидом азота в дозе 80 ppm, полученным по технологии плазмохимического синтеза, оказывает нефропротективный эффект, что проявляется в статистически значимом снижении частоты развития острого почечного повреждения в послеоперационном периоде при кардиохирургических вмешательствах у пациентов с хронической болезнью почек.

3.3.2 Влияние периоперационного кондиционирования оксидом азота на обмен оксида азота, определяемый по уровню NO в выдыхаемом пациентом воздухе

Проведен анализ результатов измерения концентрации NO в выдыхаемом воздухе, полученных исходно, через 2 и 24 ч после оперативного вмешательства у 30 пациентов в каждой группе (Таблица 25).

Таблица 25 – Динамика концентрации выдыхаемого NO исходно до операции, через 6 и 24 часа после оперативного вмешательства в исследуемых группах, ppb, Me [25; 75]

Показатель	NO-группа, n = 30	Контрольная группа, n = 30	p
Выдыхаемый NO до операции	18 [14; 32]	16 [14; 21]	0,137
Выдыхаемый NO 6 ч после операции	19 [14; 32]	4 [2; 10]	<0,001
Выдыхаемый NO 24 ч после операции	21 [12; 28]	15 [12; 20]	0,035
—	0,966	<0,001 P ₁₋₂ <0,001 P ₂₋₃ =0,006	—

Медианы показателя концентрации NO в выдыхаемом воздухе исходно были сопоставимы в обеих группах, в группе кондиционирования оксидом азота показатель составил 18 ppb [14; 32], в контрольной группе 16 ppb [14; 21], $p = 0,137$.

В группе кондиционирования NO концентрация NO в выдыхаемом воздухе оставалась сопоставимой с исходными значениями на этапах через 2 ч и через 24 ч после операции.

В группе контроля отмечено значительное снижение концентрации NO в выдыхаемом воздухе через 2 ч после операции относительно исходных значений ($p < 0,001$). Через 2 ч и 24 ч после операции данный показатель также был значимо ниже в группе контроля по сравнению с группой кондиционирования NO ($p < 0,001$; $p = 0,035$ соответственно).

Резюме

Постперфузионные реакции при кардиохирургических вмешательствах в условиях ИК включают развитие внутрисосудистого гемолиза [283, 301]. Гемолиз может развиваться в результате травмы клеток при аспирации из операционной раны, окклюзии магистралей роликовым насосом при механической перфузии, развития турбулентного потока крови в оксигенаторе и местах сужений экстракорпорального контура, а также при сепарации клеток аппаратами типа

Cell-Saver. Восстановленное железо, высвобожденное из молекулы гемоглобина, способно участвовать в реакциях с органическими и неорганическими радикалами кислорода и стимулировать перекисное окисление липидов и образование гидроксильных радикалов с последующим повреждением тканей, оказывая прямое нефротоксическое действие и способствуя оксидативному повреждению эпителия почечных канальцев [90, 301]. Примерно в 25% случаев генерация свободного гемоглобина и восстановленного железа после ИК превосходит железосвязывающую способность сыворотки, что крайне утяжеляет реперфузионное повреждение [34, 236]. Свободный гемоглобин связывает вырабатываемый эндотелием NO, что приводит к снижению биодоступности этой регуляторной молекулы и расстройствам микроциркуляции [252]. Данное явление может быть связано со снижением органной перфузии и доставки кислорода к мозговому веществу почек; региональная ишемия приводит к канальцевому повреждению с абберациями почечной функции в послеоперационном периоде [254, 295]. Секвестрация NO приводит к системному повреждению органов спланхнического бассейна [296]. В ряде случаев (при массивных гемотрансфузиях, операциях в условиях глубокой гипотермии, продленном ИК) концентрация свободного гемоглобина в плазме крови может достигать 1000 мг/дл [135], однако сочетанное повреждение органов спланхнического бассейна и, в частности, почек, может развиваться даже при внутрисосудистом гемолизе невысокой интенсивности, при этом с послеоперационным почечным повреждением коррелируют пиковые концентрации свободного гемоглобина в плазме крови, в то время как гемоглобин в моче может еще не определяться [75]. В послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств в основе мультиорганных осложнений, в том числе почечных, лежат системные расстройства микроциркуляции. Патогенетическим механизмом при этом выступает секвестрация свободным гемоглобином NO, ответственного за механизмы релаксации сосудистой стенки. Реакция происходит чрезвычайно быстро (около 10 мс), при этом дезоксигемоглобин связывается с NO обратимо с

образованием нитрозилгемоглобина, а оксигемоглобин необратимо с образованием нитрата и метгемоглобина [219]. Концентрация свободного гемоглобина уже в 10 мг/дл может ингибировать вазодилатацию *in vivo* [204, 243]. Таким образом, расстройства обмена эндогенного NO, в том числе связанные с ИК-ассоциированным гемолизом, являются крайне важным триггером в патогенезе послеоперационных осложнений у кардиохирургических пациентов.

Согласно полученным данным у пациентов контрольной группы имели место периоперационные расстройства обмена эндогенного NO с формированием его дефицита в раннем послеоперационном периоде. Кондиционирование экзогенным оксидом азота приводит к оптимизации обмена NO, определяемого по концентрации NO в выдыхаемом воздухе, при кардиохирургических вмешательствах у пациентов с хронической болезнью почек.

3.3.3 Влияние периоперационного кондиционирования оксидом азота на послеоперационные осложнения и клинические исходы у пациентов с ХБП после кардиохирургических вмешательств

Основные исходы и характеристики послеоперационного периода представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Интрагоспитальные осложнения и клинические исходы после вмешательства в исследуемых группах

Показатель	NO-группа, n = 68	Контрольная группа, n = 68	p
Госпитальный период			
Госпитальная летальность, n (%)	2 (2,9)	3 (4,4)	1
Снижение СКФ на 25%, n (%)	18 (26,5)	23 (33,8)	0,35
ЗПТ во время госпитализации, n (%)	2 (2,9)	0 (0)	0,496
МАКЕ, n (%)	18 (26,5)	24 (35,3)	0,265
Инсульт, n (%)	1 (1,5)	3 (4,4)	1

Продолжение таблицы 26

ИМ, n (%)	1 (1,5)	5 (7,4)	0,208
МАСЕ, n (%)	3 (4,4)	8 (11,8)	0,207
SOFA 1 сутки, баллы, Ме [Q1; Q3]	3 [2; 3]	3 [2; 4]	0,784
Длительность ИВЛ, мин, Ме [Q1; Q3]	500 [418; 655]	546 [430; 980]	0,317
Пневмония, n (%)	10 (14,7)	20 (29,4)	0,039
Неврологические осложнения 1 типа, n (%)	1 (1,5)	3 (4,4)	0,619
Неврологические осложнения 2 типа, n (%)	6 (8,8)	9 (13,2)	0,585
Дыхательная недостаточность, n (%)	17 (25)	18 (26,5)	0,844
Раневые инфекции, n (%)	3 (4,4)	5 (7,4)	0,718
Сепсис, n (%)	2 (2,9)	3 (4,4)	1
Повторное поступление в ОРИТ, n (%)	6 (8,8)	6 (8,8)	1
Время пребывания в ОРИТ, суток, Ме [Q1; Q3]	1 [1; 2,5]	1 [1; 2,5]	0,782
Время госпитализации, суток, Ме [Q1; Q3]	16 [14; 22]	16 [14; 22]	0,932
СКФ при выписке мл/мин/1.73м ² , Ме [Q1; Q3]	55 [47; 64,5]	54,5 [46; 63,5]	0,591
30 сут.			
СКФ мл/мин/1.73м ² , Ме [Q1; Q3]	50 [42; 54]	48,5 [42; 52]	0,22
МАСЕ, n (%)	4 (5,9)	9 (13,2)	0,243
МАКЕ, n (%)	18 (26,5)	24 (35,3)	0,265
90 сут			
СКФ мл/мин/1.73м ² , Ме [Q1; Q3]	50 [43; 53]	47 [41; 52,5]	0,277
МАСЕ, n (%)	5 (7,4)	10 (14,7)	0,273
МАКЕ, n (%)	18 (26,5)	25 (36,8)	0,197
6 мес.			
СКФ мл/мин/1.73м ² , Ме [Q1; Q3]	50 [45; 54]	45 [41; 51]	0,038
МАСЕ, n (%)	7 (10,3)	12 (17,6)	0,323
МАКЕ, n (%)	19 (27,9)	26 (38,2)	0,202
Летальность, n (%)	3 (4,4)	4 (5,9)	1
Переход к более тяжелой стадии ХБП, n (%)	7 (10,3)	15 (22,1)	0,062

Примечание: СКФ - скорость клубочковой фильтрации; ЗПТ - заместительная почечная терапия; ИМ - острый инфаркт миокарда; SOFA - шкала тяжести полиорганной недостаточности; ИВЛ - искусственная вентиляция легких; Неврологические осложнения 1 типа: инсульт, кома, транзиторная ишемическая атака; Неврологические осложнения 2 типа: делирий, послеоперационная когнитивная дисфункция; Дыхательная недостаточность: снижение P/F индекса менее 300 с потребностью в высокопоточной оксигенотерапии или неинвазивной вентиляции легких; ОРИТ - отделение реанимации и интенсивной терапии; СКФ - скорость клубочковой фильтрации; МАКЕ: частота больших неблагоприятных почечных событий (смерть, заместительная почечная терапия, снижение СКФ на 25%); МАСЕ: частота больших неблагоприятных кардиальных событий (инфаркт миокарда, инсульт, **СС** смерть); ХБП - хроническая болезнь почек.

В NO-группе значимо реже возникала послеоперационная пневмония: 10 (14,7%) vs 20 (29,4%) RR 0,5; (95% CI 0,25–0,99; $p=0,039$). В NO-группе через 6 месяцев после вмешательства отмечалась значимо более высокая СКФ (50 [45; 54] vs 45 [41; 51] мл/мин/1,73 м², $p=0,038$) и тенденция к снижению частоты прогрессирования ХБП.

По другим госпитальным исходам различий между группами обнаружено не было.

Резюме

Периоперационное кондиционирование NO по предлагаемой методике позволяет снизить частоту развития послеоперационных пневмоний в 2 раза. ХБП является значимым фактором риска развития послеоперационных пневмоний. Так, у пациентов с почечной недостаточностью риск развития послеоперационной пневмонии повышался в 2,7 раз. Улучшение функции почек рассматривается как стратегия для уменьшения количества легочных осложнений у пациентов с ХБП.

Благоприятные краткосрочные эффекты периоперационного NO-кондиционирования сохраняются на протяжении 6 месяцев после вмешательства и проявляются в значимо более высокой СКФ в NO-группе.

3.3.4 Безопасность периоперационного кондиционирования оксидом азота у кардиохирургических пациентов с ХБП

Уровень вдыхаемого NO₂ в газовой смеси ни у одного из пациентов NO-группы уровень MetHb не превышал допустимые 3 ppm (Min-Max = 0,8–2,0 ppm).

Уровень MetHb в плазме крови пациентов NO-группы достоверно повышался по сравнению с исходным уровнем через 6 ч после операции и был достоверно выше по сравнению с контрольной группой: 3,6% [2,8; 4,1] против 0,7% [0,4; 0,8] (p=0,001). Однако ни у одного из пациентов NO-группы уровень MetHb не превышал допустимые 5% (Min-Max = 2,1–4,5 %).

Все пациенты NO-группы были отлучены от терапии без осложнений, ни одному пациенту не потребовалось повторное лечение NO. Не было отмечено никаких побочных эффектов или органной дисфункции, связанных с доставкой NO.

Резюме

Кондиционирование NO является безопасной, легко воспроизводимой и хорошо контролируемой методикой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ассоциированное с кардиохирургическим вмешательством острое почечное повреждение (КХ-ОПП) является распространенным и серьезным осложнением в кардиохирургии и закономерно ведет к увеличению общей заболеваемости и смертности в этой популяции пациентов [299]. Развитие острого почечного повреждения (ОПП) у пациентов в послеоперационном периоде приводит к росту частоты инфекционных осложнений, увеличению продолжительности госпитализации и пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии, росту частоты повторных госпитализаций и увеличению 30 и 90-дневной смертности [42, 113]. Отдаленные исходы ОПП демонстрируют увеличение рисков развития острого заболевания почек, частоты развития хронической болезни почек (ХБП), риска отторжения трансплантата, развития диализ-зависимой ХБП и смертности вне зависимости от того, восстановилась ли почечная функция после выписки из стационара [153, 203].

В настоящее время не существует фармакологических интервенций или немедикаментозных вмешательств с высоким уровнем доказательности, которые могли бы снизить степень органной дисфункции и улучшить результаты кардиохирургических операций [128].

Патофизиология КХ-ОПП многофакторна и включает в себя пред-, интра- и послеоперационные факторы [240]. В частности, интраоперационный гемолиз, связанный с кардиохирургическими вмешательствами в условиях искусственного кровообращения (ИК), является важным фактором ОПП, в том числе за счет ограничения биодоступности оксида азота (NO) [150]. Благодаря своим плюрипотентным свойствам NO может быть использован в качестве средства для периоперационной защиты органов и тканей, в частности, для снижения частоты и выраженности ОПП [216, 312].

Особенно большое значение периоперационная органопротекция NO может иметь для пациентов с ХБП. Это связано с системным и локальным

интратрениальным снижением базального уровня эндогенного NO у пациентов с ХБП, обусловленным дефицитом субстратов, необходимых для его синтеза, а также снижением содержания и экспрессии ферментов семейства NO-синтаз [23, 84, 272]. Для широкой имплементации NO-кондиционирования в клиническую практику крайне важно определить механизмы реализации органопротекции при применении предлагаемой технологии, идентифицировать субклеточные мишени воздействия и конечные клеточные эффекторы, а также применить ее в комплексном контексте ренального повреждения и текущей парадигмы периоперационного обеспечения кардиохирургических пациентов, что будет выполнено в представленной научной работе.

Целью исследования являлось патогенетическое обоснование, разработка и внедрение в клиническую практику технологию кондиционирования оксидом азота как метода адьювантной нефропротекции, позволяющего повысить эффективность профилактики периоперационного острого почечного повреждения у кардиохирургических пациентов высокого риска, оперированных в условиях искусственного кровообращения.

Работа представляет результаты серии одноцентровых, проспективных, рандомизированных, контролируемых исследований применения оксида азота для адьювантной нефропротекции в кардиохирургии. Работа выполнена на базе лаборатории медицины критических состояний и 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 3 частей: клинической №1 (проверка первичной гипотезы), экспериментальной и клинической №2.

Клиническое исследование №1 было одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ по биомедицинской этике (разрешение №133 от 15 мая 2015 г.) и отвечало всем современным требованиям. До начала включения пациентов данное исследование было зарегистрировано по

адресу www.clinicaltrials.gov (ID: NCT03527381) в качестве проспективного рандомизированного контролируемого исследования.

Критерии включения в исследование:

1. Плановая кардиохирургическая операция в условиях ИК;
2. Информированное согласие.

Критерии невключения в исследование:

1. Возраст <18 лет;
2. Предоперационная анемия (гемоглобин <130 г/л у мужчин и <120 г/л у женщин);
3. Введение рентгеноконтрастного вещества в течение 72 ч до операции;
4. Повышение уровня креатинина более чем в 1,5 раза по сравнению с исходным уровнем, которое наблюдалось в течение 7 дней после рентгеноконтрастного исследования;
5. Прием нестероидных противовоспалительных препаратов, диуретиков, препаратов группы аминогликозидов и/или амфотерицина перед операцией как потенциально нефротоксичных;
6. Активная фаза инфекционного эндокардита;
7. Экстренное вмешательство;
8. ХБП с критериями согласно A. S. Levey и соавт [167];
9. Гематологические заболевания, сопровождающиеся гемолизом;
10. Критическое предоперационное состояние (потребность в предоперационной ИВЛ, инотропной и вазопрессорной поддержке, экстракорпоральной поддержке кровообращения).

96 пациентов рандомизированы в соотношении 1:1 в основную (NO) группу и контрольную группу. Пациенты основной (NO) группы получали оксид азота через модифицированный контур аппарата ИК на основном этапе операции.

Пациенты в двух группах были сопоставимы по демографическим показателям и исходной тяжести состояния. Всем пациентам выполнялось плановое кардиохирургическое вмешательство в условиях ИК. Пациенты в двух

группах были сопоставимы по основным характеристикам интраоперационного периода.

Подготовка пациентов к операции осуществлялась согласно принятым в клинике общим принципам предоперационной подготовки и обследования.

Для обеспечения доставки оксида азота в исследуемой группе применялся модифицированный контур доставки газо-воздушной смеси аппарата ИК.

Первичной конечной точкой являлась частота ОПП.

Послеоперационное ОПП определялось и классифицировалось по стадиям в соответствии с практическими рекомендациями KDIGO.

Вторичными конечными точками являлись:

1. Диурез во время ИК;
2. Концентрация uNGAL через 4 ч после операции;
3. Концентрация свободного гемоглобина (fHb) в плазме крови пациентов исходно перед операцией, через 5 мин после пережатия аорты, через 5 мин после снятия зажима с аорты, в конце операции и через 24 ч после операции;
4. Плазменная концентрация метаболитов NO (eNO_2 , NO_3 , total NO_2) исходно перед операцией, через 5 мин после пережатия аорты, через 5 мин после снятия зажима с аорты, в конце операции и через 24 ч после операции;
5. Плазменная концентрация провоспалительных (TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-8) и противовоспалительных медиаторов (IL-1ra, IL-4) перед стернотомией, после отлучения от ИК, через 6 ч после операции и через 24 ч после операции.

Для оценки безопасности NO-терапии измеряли плазменную концентрацию MetHb и содержание NO_2 в газо-воздушной смеси.

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

Для оценки влияния NO на функцию почек оценивали диурез во время ИК, анализировались гемодинамические показатели, послеоперационные осложнения и исходы.

На этапах исследования определяли уровни креатинина, uNGAL, концентрацию свободного гемоглобина в плазме крови.

Определение концентрации конечных метаболитов NO проводилось перед стернотомией, через 5 мин после пережатия аорты, через 5 мин после снятия аортального зажима, после вмешательства и через 24 ч после операции.

Концентрации провоспалительных цитокинов в плазме (IL-1 β , IL-6 и TNF α), хемокинов (IL-8), противовоспалительных цитокинов (IL-4, антагонист рецептора IL-1 (IL-1ra)) были оценены с использованием иммуноферментной тест-системы Biosource (Бельгия) в соответствии с инструкцией производителя. Концентрацию цитокинов определяли перед стернотомией, при отлучении от ИК, через 6 ч после операции и через 24 ч после операции.

Уровень метгемоглобина в периферической крови контролировали методом отражающей фотометрии с помощью газоанализатора Stat Profile CCX (Nova Biomedical, USA). Концентрацию NO₂ в газо-воздушной смеси аппарата ИК мониторировали непрерывно с помощью анализатора PrinterNOX (CareFusion, США).

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

Проспективное экспериментальное исследование проводили на 24 овцах Алтайской породы массой 30–34 кг. Животных содержали в условиях конвенционального вивария. Все процедуры исследования проводились в испытательной лаборатории согласно требованиям. Рандомизация осуществлялась методом запечатанных непрозрачных конвертов. Конверты были подготовлены до начала набора животных в исследование. Каждый конверт содержал одно кодовое наименование: «ИК», «ИК+NO», «ИК+ЦА», «ИК+ЦА+NO». Утром в день проведения эксперимента один конверт вскрывался, содержимое конверта не разглашалось. Таким образом животные включались в группу с периоперационным NO-кондиционированием на фоне ИК или ИК+ЦА,

либо в группу стандартного протокола ИК или ИК+ЦА в соотношении 1:1:1:1. В экспериментальной части научной работы представлены и проанализированы данные 24 экспериментальных животных, разделенных на 4 группы: 6 овцам выполнялся стандартный, принятый в клинике протокол проведения ИВЛ и ИК; 6 овцам проводилась подача NO сразу после интубации трахеи через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm, а затем при старте ИК осуществлялась доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm на протяжении всего периода ИК (90 мин), а после отлучения от ИК продолжалась подача NO через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 1 ч; 6 овцам выполнялся стандартный, принятый в клинике протокол проведения ИВЛ, ИК и гипотермического циркуляторного ареста; 6 овцам проводилась подача NO сразу после интубации трахеи через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm, а затем при старте ИК осуществлялась доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm до инициации гипотермического циркуляторного ареста, а после его окончания доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm возобновлялась и поддерживалась до окончания согревания и достижения целевой температуры.

Эксперимент начинали с масочной индукции анестезии севофлюраном. После достижения целевого уровня анестезии проводили предоперационную подготовку. При мониторинге основных витальных функций и после премедикации проводили индукцию общей анестезии дробным введением пропофола 1% в дозе 5 мг/кг, при этом на фоне сохранения спонтанного дыхания выполняли прямую ларингоскопию с последующей оротрахеальной интубацией эндотрахеальной трубкой №6,5 с проводником. В группах NO-прекондиционирования сразу после интубации трахеи и начала поддерживающей анестезии начинали доставку оксида азота через модифицированный дыхательный контур, позволяющий осуществлять подачу NO и отбор проб газовой воздушной смеси для анализа фракционной концентрации NO и NO₂. Для синтеза,

доставки и мониторинга NO использовали образец установки плазмохимического синтеза оксида азота ТИАНОКС («РФЯЦ-ВНИИЭФ», РФ).

Для проведения ИК использовали аппарат искусственного кровообращения Maquet Jostra HL20, неонатальный оксигенатор Kids D100 (Dideco, Италия). В группах экспериментальных животных, которым моделировался циркуляторный арест, ИК проводили в гипотермическом режиме. После достижения целевой эзофагеальной температуры 30 °С производили окклюзию нисходящей аорты и таким образом моделировали бесперфузионный циркуляторный арест в течение 15 мин.

Дозирование и мониторинг NO осуществляли с помощью установки плазмохимического синтеза оксида азота (ТИАНОКС, «РФЯЦ-ВНИИЭФ», РФ) до целевой концентрации 80 ppm. При указанной методике доставки NO большое внимание уделяли вопросам безопасности.

Конечными точками исследования являлись:

1. Степень выраженности процессов острого почечного повреждения, оцененного по следующим показателям:

- маркер острого почечного повреждения uNGAL;
- диурез на протяжении эксперимента;
- морфологические показатели по данным гистологического исследования биоптатов почек экспериментальных животных.

2. Концентрация конечных метаболитов оксида азота — нитратов и нитритов (total NO₂, эндогенный NO₂ (eNO₂), NO₃) в крови экспериментальных животных.

3. Показатели адекватности искусственного кровообращения, оцененной на основании:

- веноартериального градиента pCO₂ (deltaCO₂);
- сатурации центральной венозной крови (SatCV);
- концентрации лактата в периферической крови.

4. Тяжесть митохондриальной дисфункции и состояние митохондриального дыхания в биоптатах почек экспериментальных животных, оцениваемых на основании:

- трансмембранного потенциала митохондрий ($\Delta\psi$);
- кальций-связывающей способности митохондрий (КСС);
- тканевой концентрации АТФ;
- тканевой концентрации лактата.

5. Выраженность процессов регулируемой клеточной гибели в биоптатах почек экспериментальных животных, оцениваемых на основании:

- тканевой концентрации маркера апоптоза и некроптоза — фактора некроза опухоли альфа ($\text{TNF-}\alpha$);
- тканевой концентрации маркера пироптоза — NLR пиринового домена с белками 3 (NLRP3) и гасдермина D (GSDMD);
- тканевой концентрации маркера — взаимодействующая с рецептором серин/треонин-протеинкиназа 3 (RIPK3).

6. Коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов цельной крови экспериментальных животных.

Перечень параметров безопасности исследуемого метода включал:

1. увеличение MetHb $>5\%$, требующее отмены доставки NO;
2. повышение концентрации NO_2 в инспираторной фракции газовой воздушной смеси более 2 ppm, требующее отмены доставки NO.

Для решения задач настоящего исследования применялись клинические, биохимические методы исследования и оценка биоэнергетического состояния клеток.

Для клинической оценки безопасности предлагаемой технологии периоперационного NO-кондиционирования и адекватности обеспечения эксперимента осуществляли непрерывный мониторинг показателей гомеостаза.

Для клинической оценки эффективности предлагаемой технологии периперационного NO-кондиционирования катетеризировали мочевой пузырь и оценивали общий объем мочи за время эксперимента.

Получение образцов крови для биохимических исследований осуществлялось на следующих этапах: 1 – сразу после интубации, до начала ИК; 2 – начало ИК; 3 – 60 мин после отлучения от ИК.

Дискретно мониторировали показатели гемоглобина, гематокрита, сатурации центральной венозной крови (SvO_2), веноартериальный градиент pCO_2 , уровень лактата, а также контролировали кислотно-основное состояние крови и MetHb.

На этапах исследования оценивали концентрацию uNGAL, концентрации eNO_2 и NO_3 и total NO.

Для исследования биоэнергетического состояния митохондрий, измерения трансмембранного потенциала митохондрий, оценки КСС митохондрий и показателей регулируемой клеточной гибели в биоптатах почечной паренхимы забор биоматериала для исследования (биоптат ткани почек) проводился на фоне спонтанного кровообращения, на 60-й минуте после отлучения от механической перфузии.

Производился забор тканей почек для гистологического исследования.

Осуществляли забор венозной крови для определения коэффициентов микровязкости и полярности мембран эритроцитов.

Клиническая часть №2 представляет результаты одноцентрового проспективного рандомизированного контролируемого исследования периперационного кондиционирования оксидом азота, полученным по технологии плазмохимического синтеза, для предотвращения острого почечного повреждения при кардиохирургических вмешательствах у пациентов с хронической болезнью почек.

Данное исследование проводилось в соответствии с действующими нормами и правилами проведения клинических исследований.

Критерии включения:

1. Плановые кардиохирургические операции в условиях ИК;
2. ХБП (С3а-С4).

Критерии невключения:

1. Экстренная операция (в том числе при остром коронарном синдроме);
2. Введение потенциально нефротоксичных препаратов в течение 24 ч до операции (рентгеноконтрастные препараты, антимикробная терапия аминогликозидами и/или амфотерицином);
3. Критический дооперационный статус (дооперационная потребность в искусственной вентиляции легких (ИВЛ), введении инотропных и вазопрессорных препаратов, вспомогательное кровообращение);
4. Беременность;
5. Текущая регистрация в другом РКИ;
6. Активная фаза эндокардита и/или сепсис;
7. Легочная гипертензия более III ст. (систолическое давление в легочной артерии более 65 мм рт. ст. по данным предоперационной трансторакальной эхокардиографии);
8. Возраст <18 лет;
9. Состояние после трансплантации почек.

Критерии исключения из исследования (соответствуют протовопоказаниям к применению оксида азота):

- 1) Развитие в послеоперационном периоде левожелудочковой сердечной недостаточности/кардиогенного шока с повышением давления заклинивания легочных капилляров и/или риском развития отека легких;
- 2) Увеличение в послеоперационном периоде уровня MetHb >5% или повышение концентрации NO₂ в инспираторной фракции газо-воздушной смеси >3 ppm, требующие отмены доставки NO.

Обследование и лечение пациентов проводилось в соответствии с утвержденными стандартами оказания медицинской помощи для соответствующих заболеваний.

Протокол проведения исследования был одобрен локальным этическим комитетом учреждения (протокол N 237 от 20.12.2022).

До начала включения пациентов данное исследование было зарегистрировано по адресу www.clinicaltrials.gov (ID: NCT0575755) в качестве проспективного рандомизированного контролируемого исследования.

В данном исследовании представлены и проанализированы данные 136 пациентов, разделенных на равные группы по 68 человек: в группу периоперационного кондиционирования NO и контрольную.

Пациенты в двух группах были сопоставимы по демографическим показателям, исходной тяжести состояния и сопутствующей патологии.

Пациентам из NO-группы проводилась дополнительная ингаляционная терапия оксидом азота в концентрации 80 ppm через контур наркозно-дыхательного аппарата, магистраль подачи газо-воздушной смеси аппаратов ИК и через контур аппарата ИВЛ в послеоперационном периоде. Кондиционирование NO проводилось сразу после индукции анестезии и интубации трахеи в течение интраоперационного периода, включая период ИК, и на протяжении 6 ч после операции. Если пациент был экстубирован ранее, чем через 6 ч после вмешательства, доставка NO прекращалась. В контрольной группе дополнительная ингаляционная терапия NO не проводилась, использовался стандартный, принятый в клинике протокол периоперационного обеспечения кардиохирургических вмешательств.

Методики подготовки к оперативному вмешательству, анестезиологического обеспечения, проведения искусственного кровообращения, кардиopleгической защиты миокарда и послеоперационная терапия в отделении реанимации и интенсивной терапии соответствовали современным клиническим

рекомендациям. У всех пациентов, включенных в исследование, применены комплексные стратегии по предотвращению периоперационного ОПП.

Для доставки оксида азота на всех этапах исследования была использована разработанная в научно-производственном центре физики Федерального государственного унитарного предприятия «Российский Федеральный ядерный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики» аппаратура для терапии оксидом азота. Для обеспечения кондиционирования оксидом азота на протяжении периоперационного периода и для доставки оксида азота в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения был использован образец установки плазмохимического синтеза оксида азота (ТИАНОКС, «РФЯЦ-ВНИИЭФ», РФ), позволяющий проводить терапию оксидом азота в прямом контакте газа с кровью пациента. В отличие от существующих аппаратов для ингаляционной терапии оксидом азота применяемые в данном исследовании аппаратные комплексы позволяют производить оксид азота из воздуха в газовом разряде.

Первичной конечной точкой являлась частота ОПП.

Послеоперационное ОПП определялось и классифицировалось по стадиям в соответствии с практическими рекомендациями KDIGO.

Вторичные конечные точки

1. Тяжесть и длительность ОПП;
2. Показатели обмена оксида азота, определяемого по уровню NO в выдыхаемом пациентом воздухе;
3. Частота послеоперационных осложнений и исходы, которые были определены в соответствии со стандартными определениями ESA/ESICM, где это возможно.

Перечень параметров безопасности исследуемого метода

1. Увеличение MetHb >5%, требующее отмены доставки NO;
2. Повышение концентрации NO₂ в инспираторной фракции газовой воздушной смеси >3 ppm.

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

По результатам клинического исследования №1 доставка оксида азота в концентрации 40 ppm через контур экстракорпоральной циркуляции ассоциирована со статистически значимым снижением частоты случаев ОПП в послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств: 10 (20,8%) в NO-группе vs 20 (41,6%) в контрольной группе, ОР 0,5 (95% ДИ 0,26–0,95; $p=0,023$). В NO-группе ОПП 2 стадии было зарегистрировано в 2-х случаях (4,1%), в контрольной группе зарегистрировано 5 случаев (10,4%) ОПП 2 стадии. Один случай ОПП 3 стадии, потребовавший проведения ЗПТ, был зарегистрирован в контрольной группе.

Диурез на протяжении ИК был статистически значимо выше в NO-группе и составил 2,6 [2,1;5,08] мл/кг/ч по сравнению с 1,7 [0,80;2,50] мл/кг/ч в контрольной группе, $p=0,0002$ (Рисунок 17).

Субклиническое ОПП в послеоперационном периоде было менее выраженным в NO-группе. Уровень uNGAL через 4 ч после операции был статистически значимо ниже в группе доставки NO и составил 1,12 [0,75;5,8] нг/мл по сравнению с 4,62 [2,02;34,55] нг/мл в контрольной группе, $p=0,005$ (Рисунок 17).

Данное проспективное рандомизированное контролируемое исследование подтвердило первичную гипотезу и продемонстрировало защитные эффекты введения NO в контур экстракорпоральной циркуляции во время ИК для снижения частоты ОПП и улучшения почечной функции у взрослых кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений. Доставка NO в газовоздушную магистраль оксигенатора АИК была ассоциирована со статистически значимым снижением частоты КХ-ОПП по сравнению с группой стандартного протокола ИК.

Уровень свободного гемоглобина в плазме крови начинал повышаться через 5 мин после наложения зажима на аорту в обеих группах и достигал

максимальных значений через 5 мин после снятия аортального зажима. Уровни свободного гемоглобина в плазме крови оставались повышенными по сравнению с исходными значениями в течение 24 ч после вмешательства в обеих группах. Не было зафиксировано различий в изменениях свободного гемоглобина в плазме крови между NO-группой и контрольной группой.

Доставка 40 ppm NO в контур экстракорпоральной циркуляции на протяжении всего периода ИК приводила к статистически значимому повышению концентрации метаболитов оксида азота в периоперационном периоде по сравнению с контрольной группой. Концентрация NO^{2-} (мкм/мл) при межгрупповом сравнении была статистически значимо выше в NO-группе через 5 мин после снятия зажима с аорты и в конце операции. Концентрация NO^{3-} (мкм/мл) при межгрупповом сравнении была статистически значимо выше в NO-группе через 5 мин после наложения зажима на аорту и через 5 мин после снятия зажима с аорты. Концентрация NOtotal (мкм/мл) при межгрупповом сравнении была статистически значимо выше в NO-группе через 5 мин после наложения зажима на аорту, через 5 мин после снятия зажима с аорты и в конце операции. Уровень всех метаболитов оксида азота в NO-группе был выше исходных значений на всех этапах проведения механической перфузии, при этом концентрация NO^{2-} и NOtotal (мкм/мл) оставался выше исходных дооперационных значений и в конце операции. Примечательно, что через 24 ч после операции уровень NO^{2-} и NOtotal (мкм/мл) в NO-группе был ниже исходных дооперационных значений.

В данном исследовании показано, что концентрация метаболитов NO была ниже исходного дооперационного уровня в обеих группах через 24 ч после вмешательства. Дефицит NO развивается уже в интраоперационном периоде с началом проведения механической перфузии. В раннем послеоперационном периоде дефицит NO может не только сохраняться за счет постперфузионных реакций, но и усугубляться из-за продолжающегося гемолиза при проведении

аллогенных переливаний крови и аппаратной ретрансфузии аутокрови в послеоперационном периоде.

Данные факты делают обоснованным доставку NO в раннем послеоперационном периоде. Представляется обоснованным увеличение концентрации NO, применяемой для периоперационной доставки в кардиохирургии, а также увеличение времени экспозиции NO-терапии в раннем послеоперационном периоде.

Таким образом, доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при кардиохирургических операциях у пациентов с умеренным риском почечных осложнений способна замещать формирующийся при проведении ИК интраоперационный дефицит эндогенного NO и концентрации метаболитов NO во время проведения экстракорпоральной перфузии, что подтверждает первичную гипотезу данного исследования.

Уровни всех про- и противовоспалительных маркеров в обеих группах статистически значимо повышались после ИК, оставались выше исходных значений или продолжали повышаться через 6 ч после операции, а затем незначительно снизились через 24 ч после операции. Эффект оставался значительным и после применения поправки Гринхауса-Гейссера при нарушении сферичности. Статистически значимых различий между группами на этапах исследования не обнаружено.

NO-группа и контрольная группа не различались по гемодинамическим показателям и степени потребности в вазопрессорной поддержке для поддержания целевого префузионного давления во время ИК.

Оптимизация параметров гемодинамики пациентов является ключевой задачей периоперационного обеспечения операций. Поддержание в целевом диапазоне основных гемодинамических параметров преднагрузки (ЦВД) постнагрузки (САД) и ЧСС является ключевым фактором для предупреждения КХ-ОПП. Указанные гемодинамические переменные являются основными детерминантами доставки кислорода к паренхиме почек и важными факторами

развития почечной дисфункции в послеоперационном периоде. В настоящем исследовании показано, что основные 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 целевого коридора физиологических норм с минимальными колебаниями, безопасными для пациентов.

Уровень MetHb в плазме крови пациентов в NO-группе статистически значимо повышался от исходного дооперационного уровня до окончания ИК, при этом уровень MetHb в контрольной группе значимо не изменился на этапах исследования. При межгрупповом сравнении уровень MetHb в плазме крови пациентов в NO-группе был статистически значимо выше при окончании ИК по сравнению с пациентами контрольной группы. На всех этапах исследования уровень MetHb в плазме крови пациентов в NO-группе был ниже 1,2% от общей концентрации гемоглобина.

При использовании предложенного протокола доставки NO ни в одном случае не отмечено повышение концентрации NO₂ более 1,8 ppm в магистрали доставки газо-воздушной смеси АИК.

Применяя доставку NO по описанной методике, ни в одном случае в NO-группе нами не отмечено повышение в магистрали доставки газо-воздушной смеси АИК концентрации NO₂ более допустимых в клинической практике значений 3 ppm.

Во время исследования не было зафиксировано никаких побочных эффектов, осложнений или органной дисфункции, связанных с доставкой NO.

Доставка NO в контур экстракорпоральной циркуляции у кардиохирургических пациентов с умеренным риском почечных осложнений 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.

В рамках экспериментальной части работы получены следующие результаты.

Концентрация uNGAL через 60 мин после отлучения от ИК составила: в группе стандартного ИК $1,69 \pm 0,751$ нг/мл; в группе ИК+NO $0,62 \pm 0,268$ нг/мл. Объем диуреза на протяжении всего эксперимента составил: в группе ИК $753 \pm 191,3$ мл; в группе ИК+NO $972 \pm 89,3$ мл. В группе ИК+NO концентрация uNGAL была на 70% статистически значимо ниже по сравнению с группой ИК, $p=0,0001$. В группе ИК+NO объем диуреза на протяжении всего эксперимента был на 29% статистически значимо выше по сравнению с группой ИК, $p=0,0297$.

Статистически значимых различий показателя эндогенного нитрита (eNO_2), $\mu\text{mol/l}$ между группами ИК и ИК+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,45$. Между тремя этапами наблюдения нет статистически значимых различий как в группе ИК, так и в группе ИК+NO.

Статистически значимых различий между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,6$. Между тремя этапами наблюдения нет статистически значимых различий как в группе ИК+ЦА, так и в группе ИК+ЦА+NO.

Значения показателя суммарных нитритов (total NO_2), $\mu\text{mol/l}$ в группах ИК и ИК+NO статистически значимо различаются на каждом из трех этапов наблюдения, $p=0,00006$

Значения показателя нитраты (NO_3), $\mu\text{mol/l}$ в группах ИК и ИК+NO статистически значимо различаются на каждом из трех этапов наблюдения, $p=0,0035$.

Значения показателя нитраты (NO_3), $\mu\text{mol/l}$ в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO статистически значимо различаются на каждом из трех этапов наблюдения, $p=0,002$.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что кондиционирование оксидом азота ассоциировано с увеличением концентрации конечных метаболитов и оптимизацией обмена NO в экспериментальном исследовании при различных вариантах экстракорпорального кровообращения.

Статистически значимых различий по уровню свободного гемоглобина между группами ИК и ИК+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,93$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb статистически значимо увеличивается по сравнению с первым и вторым этапами в обеих группах, $p < 0,01$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb в обеих группах статистически значимо увеличивается по сравнению с этапами интубация — $p < 0,000...$ и началом ИК — $p < 0,000....$

Статистически значимых различий между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,8$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb статистически значимо увеличивается по сравнению с первым и вторым этапами в обеих группах, $p < 0,01$. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень fHb в обеих группах статистически значимо увеличивается по сравнению с этапами интубация — $p < 0,000...$ и началом ИК — $p < 0,000....$

У животных во всех группах в течение эксперимента показатели метаболизма, кислотно-основной состав крови и ионнограмма: pH, уровни буферных оснований, показатели сатурации артериальной крови (SaO_2), сатурации центральной венозной крови (SatCV), концентрация лактата, глюкозы, ионов натрия, калия и кальция, — находились в пределах референтных значений и не различались между группами на этапах исследования. Для подтверждения стабильности основных параметров гомеостаза, а также для оценки адекватности проведения механической перфузии у животных во всех группах проанализирована динамика, внутригрупповые и межгрупповые различия на этапах эксперимента по следующим показателям: веноартериальный градиент pCO_2 (ΔCO_2), SatCV и концентрация лактата в периферической крови.

Статистически значимых различий по уровням ΔCO_2 между группами ИК и ИК+НО на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,8$. Между этапами интубация, начало ИК и 60 мин после отлучения от ИК уровень ΔCO_2 статистически значимо не различается внутри групп ИК и ИК+НО, $p=0,52$.

Статистически значимых различий веноартериального градиента между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,6$. Между этапами интубация, начало ИК и 60 мин после отлучения от ИК уровень ΔCO_2 статистически значимо не различается внутри групп ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО, $p=0,46$.

Средние значения показателя SatCV % в группе ИК+НО на каждом из этапов наблюдения по сравнению с группой ИК различаются, однако статистической значимости различия SatCV в группах не достигают, $p=0,079$. Статистически значимых динамических различий между средними значениями показателя SatCV % на каждом из трех этапов наблюдения нет ни в группе ИК, $p=0,58$, ни в группе ИК+НО, $p=0,15$.

Средние значения показателя SatCV % в группе ИК+ЦА+НО на каждом из этапов наблюдения по сравнению с группой ИК+ЦА не различались, $p=0,14$. Статистически значимых динамических различий между средними значениями показателя SatCV % на каждом из трех этапов наблюдения нет ни в группе ИК+ЦА, $p=0,06$, ни в группе ИК+ЦА+НО, $p=0,26$.

Статистически значимых различий в концентрации лактата между группами ИК и ИК+НО, а также ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО (Таблицы 12 и 13) на каждом из трех этапов наблюдения нет, $p=0,82$; $p=0,6$. На этапах интубация и начало ИК уровень лактата сыворотки статистически значимо не различается в группах ИК и ИК+НО, а также в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО. На этапе 60 мин после отлучения от ИК уровень лактата статистически значимо увеличивается по сравнению с первым и вторым этапами наблюдения во всех группах.

Среднее время терапии оксидом азота в группе ИК+NO составило 189.67 ± 6.86 мин. Среднее время терапии оксидом азота в группе ИК+ЦА+ NO составило 190.17 ± 6.27 мин.

Применяя доставку оксида азота в дозе 80 ppm по описанной методике, ни в одном случае в NO-группах не было отмечено повышение концентрации NO_2 более 1,3 ppm в доставляемой в контур аппарата ИВЛ и оксигенатор аппарата ИК газо-воздушной смеси. Средняя концентрация NO_2 на протяжении всего периода эксперимента в группе ИК+NO составила 1.02 ± 0.17 ppm. Средняя концентрация NO_2 на протяжении всего периода эксперимента в группе ИК+ЦА+NO составила 1.22 ± 0.19 ppm.

Доставка оксида азота по указанной методике в экспериментальном исследовании не сопровождалась клинически значимым повышением содержания MetHb. Содержание MetHb выше рекомендованных пороговых значений не было зарегистрировано ни в одном случае в NO-группах ни на одном из этапов экспериментального исследования.

Таким образом, применение NO-кондиционирования в дозе 80 ppm при различных вариантах экстракорпорального кровообращения является легко воспроизводимой и хорошо контролируемой методикой. Данный протокол доставки оксида азота не сопровождается повышением концентрации токсических метаболитов оксида азота в контуре аппарата ИВЛ и магистрали подачи газо-воздушной смеси аппарата ИК, а также клинически значимым повышением содержания MetHb в периферической крови экспериментальных животных.

Образцы почечной паренхимы, полученные в ходе эксперимента, были представлены в основном кортикальным слоем. Во всех группах были обнаружены однотипные изменения различной степени выраженности. Просвет проксимальных извитых канальцев нефронов был расширен, эпителий выглядел уплощенным, высота эпителиальных клеток часто уменьшалась (потеря щеточной каймы). В ряде случаев наблюдалась фрагментация апикальной области

нефроцитов, у некоторых экспериментальных животных наблюдалась множественная зернистость и небольшие оптические пустые пузырьки (зернистая и вакуолярная гидропическая дистрофия). Изменений в дистальных извитых канальцах нефронов не выявлено. Собирательные протоки были расширены во всех группах. В ряде наблюдений в почечных тельцах были увеличены мочевые пространства (клубочковый отек). Наблюдался небольшой интерстициальный отек.

В группе ИК+NO клубочково-капсулярный индекс (GCI) был статистически значимо больше по сравнению с группой стандартного ИК, $p=0,0267$.

В группе ИК+NO просветно-эпителиальный индекс (LEI) был статистически значимо ниже по сравнению с группой ИК, $p=0,0087$.

Таким образом, морфологические изменения во всех группах были однотипными и соответствовали острому почечному повреждению. Степень тяжести морфологических изменений при попарном сравнении представлена следующим образом: ИК > ИК+NO.

Согласно полученным данным, между группами стандартного ИК и ИК+NO через 60 мин после отлучения от ИК при попарном сравнении получены статистически значимые различия в следующих показателях: uNGAL, объеме диуреза на протяжении эксперимента, GCI и LEI. Данные факты указывают на выраженное влияние кондиционирования оксидом азота на функциональные маркеры и морфологические проявления острого почечного повреждения при проведении экспериментального экстракорпорального кровообращения.

Данное экспериментальное исследование показало, что оксид азота обладает выраженными нефропротективными свойствами, о чем свидетельствует значительно более низкая концентрация маркера повреждения почек — uNGAL в группе кондиционирования оксидом азота, а также значимо более высокий диурез в группе ИК+NO по сравнению с группой стандартного ИК. Гистологические признаки повреждения почечной ткани также менее выражены в группе, которой проводилось кондиционирование оксидом азота. Статистически значимое

увеличение GCI в группе NO-терапии указывает на увеличение объема мочевыводящих путей под влиянием NO, увеличение площади продукции первичной мочи и является морфологическим субстратом увеличения скорости клубочковой фильтрации. Статистически значимое снижение LEI в группе NO-терапии указывают на сохранение эпителия почечных канальцев под влиянием NO, что является субстратом сохранения массообменной и концентрационной функции почек.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что кондиционирование оксидом азота обладает нефропротективным эффектом при проведении экспериментального экстракорпорального кровообращения.

Статистически значимые различия трансмембранного потенциала митохондрий выявлены между группами стандартного ИК и ИК+NO. В группе ИК+NO отмечено статистически значимое повышение на 36% уровня трансмембранного потенциала митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,00256$, мощность вывода о различиях 84,5%.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO нет статистически значимых различий в уровне трансмембранного потенциала митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,2446$. Однако более чувствительный байесовский коэффициент $\log_{10}K=0,628 > 0,5$ и $p=0,2446$, соответствовали 2 битам информации против нулевой гипотезы, что подтверждает существование небольших различий между средними значениями ψ в исследуемых группах. В группе ИК+NO значения ψ были в среднем на 40% статистически значимо выше по сравнению с группой ИК+ЦА+NO, $p=0,0016$. В группах ИК и ИК+ЦА значения ψ существенно не отличались.

При изучении Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий (Нм $\text{CaCl}_2/\text{mg protein}$) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO статистически значимые различия выявлены между группами стандартного ИК и ИК+NO. В группе ИК+NO отмечено статистически значимое на 69% повышение Ca^{2+} -связывающей

способности митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,000712$, mean difference=600,0, мощность вывода о различиях 96,8%.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO нет статистически значимых различий в уровне Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,525$. Более чувствительный байесовский коэффициент $\log_{10}K=0,833 > 0,5$ и $p=0,205$ соответствовали 2 битам информации против нулевой гипотезы, что подтверждает существование небольших различий между средними значениями Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий в исследуемых группах.

В группе ИК Ca^{2+} -связывающая способность митохондрий была в среднем на 66% статистически значимо выше по сравнению с группой ИК+ЦА, $p=0,0011$. В группе ИК+NO Ca^{2+} -связывающая способность митохондрий была в среднем на 184% статистически выше по сравнению с группой ИК+ЦА+NO, $p=0,000$.

При изучении концентрации АТФ (nmol/g) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO статистически значимые различия выявлены между группами стандартного ИК и ИК+NO. В группе ИК+NO отмечено статистически значимое на 86 % повышение концентрации АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,00011$, мощность вывода о различиях 23,5%.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO нет статистически значимых различий в концентрации АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,39$.

В группе ИК+NO уровень АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК был на 88% выше по сравнению с группой ИК+ЦА+NO, $p=0,0002$. Концентрация АТФ в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах ИК и ИК+ЦА существенно не отличалась.

При изучении концентрации лактата (nmol/g) в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК в группах стандартного ИК, ИК+NO, ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO не зарегистрировано статистически значимых различий в

концентрации лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,1502$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,879 > 0,5$. Это согласуется с 3 битами информации против нулевой гипотезы и подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации лактата в исследуемых группах.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО не было статистически значимых различий в концентрации лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,1354$. Более чувствительный байесовский коэффициент $\log_{10}K=0,893 > 0,5$ и $p=0,135$, соответствующие 3 битам информации против нулевой гипотезы, подтверждают существование небольшого снижения между средними значениями концентрации лактата в группе ИК+ЦА+НО по сравнению с группой ИК+ЦА.

В группе ИК концентрация лактата в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК была ниже по сравнению с группой ИК+ЦА, но статистически значимых различий не было, $p=0,216$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,794 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации лактата в этих группах.

Концентрации лактата в группах ИК+НО и ИК+ЦА+НО в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК существенно не различались.

Получены данные о возможности применения кондиционирования NO при различных модальностях проведения искусственного кровообращения, в частности, при проведении гипотермического ИК в сочетании с бесперфузионным циркуляторным арестом. В группе кондиционирования оксидом азота отмечено снижение митохондриального повреждения в ткани почек, а также улучшение состояния митохондриального дыхания, заключающееся в увеличении трансмембранного потенциала митохондрий и кальций-связывающей способности митохондрий, а также увеличении тканевой концентрации АТФ.

Получены данные об экспрессии маркеров регулируемой клеточной гибели в паренхиме почек экспериментальных животных.

Между группами стандартного ИК и ИК+NO нет статистически значимых различий в концентрации TNF- α в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,64$.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO выявлены статистически значимые различия в концентрации TNF- α в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК; в группе ИК+ЦА+NO концентрация TNF- α была на 41,5% ниже по сравнению с группой ИК+ЦА $p=0,026$.

В группе ИК+ЦА концентрация TNF- α была в среднем выше по сравнению с группой ИК, но различия не были значимыми. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,736 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации TNF- α в этих группах. Концентрация TNF- α в группах ИК+NO и ИК+ЦА+NO существенно не отличалась.

Между группами стандартного ИК и ИК+NO не зарегистрировано статистически значимых различий в концентрации RIPK3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,59$. При этом в группе ИК+NO концентрация RIPK3 была в среднем ниже по сравнению с группой ИК.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO нет статистически значимых различий в концентрации RIPK3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,32$.

В группе ИК+ЦА концентрация RIPK3 была в среднем выше по сравнению с группой ИК, но без статистически значимых различий, $p=0,234$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,763 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации RIPK3 в этих группах. В группе ИК+ЦА+NO концентрация RIPK3 была в среднем выше по сравнению с группой ИК+NO, но без статистически значимых различий, $p=0,2075$. Более чувствительный коэффициент Байеса

составил $\log_{10}K=0,81 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации RIPK3 в этих группах.

Между группами стандартного ИК и ИК+НО не отмечено статистически значимых различий в концентрации NLRP3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,85$.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО нет статистически значимых различий в концентрации NLRP3 в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,51$.

В группе ИК+ЦА+НО концентрация NLRP3 была в среднем ниже по сравнению с группой ИК+НО, но без статистически значимых различий, $p=0,2075$. Более чувствительный коэффициент Байеса составил $\log_{10}K=0,693 > 0,5$. Это подтверждает существование небольших различий между средними значениями концентрации NLRP3 в этих группах. В группе ИК по сравнению с группой ИК+ЦА не было статистически значимых различий в концентрации NLRP3.

Между группами стандартного ИК и ИК+НО не было статистически значимых различий в концентрации GSDMD в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,88$.

Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО не зарегистрировано статистически значимых различий в концентрации GSDMD в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК, $p=0,55$.

Не было выявлено статистически значимых различий в концентрации GSDMD в биоптатах почек через 60 мин после отлучения от ИК между группами ИК и ИК+ЦА, а также между группами ИК+НО и ИК+ЦА+НО.

Согласно полученным данным между группами стандартного ИК и ИК+НО через 60 мин после отлучения от ИК в биоптатах почек не получено статистически значимых различий в следующих показателях: NLRP3, Gasdermin D, RIPK3 и TNF- α . Между группами ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО через 60 мин после отлучения от ИК в биоптатах почек получены статистически значимые различия в

тканевой концентрации TNF- α . Данные факты указывают на отсутствие влияния кондиционирования оксидом азота на выраженность экспрессии маркеров регулируемой клеточной гибели в экспериментальном исследовании при проведении стандартного ИК, но при более инвазивном варианте перфузионного обеспечения операции (ИК+ЦА) оксид азота снижает выраженность экспрессии индукторов апоптоза.

Были проанализированы следующие переменные, характеризующие свойство деформируемости эритроцитов: коэффициент микровязкости в зонах межлипидных взаимодействий (CMLI) и коэффициент микровязкости в зонах белок–липидных взаимодействий (CMPLI), а также коэффициент полярности в областях межлипидных взаимодействий (CPLLI) и коэффициент полярности в областях белок–липидных взаимодействий (CPPLI) мембран эритроцитов в группах до инициации ИК (начало эксперимента) и через 60 мин после отлучения от ИК.

В начале эксперимента коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов были сопоставимы во всех группах.

При анализе CMLI внутри групп и между группами ИК и ИК+NO до ИК и через 60 мин после отлучения от ИК статистически значимых различий не выявлено.

Анализ CMPLI в группе ИК выявил снижение этого показателя через 60 мин после отлучения от ИК на 55% от исходных значений ($p = 0,009$). В группе ИК + NO на этапах эксперимента изменений CMPLI не наблюдалось.

При анализе CPLLI в группах ИК и ИК+NO не было выявлено межгрупповых различий на этапах эксперимента. В группе ИК наблюдалось снижение CPPLI через 60 мин после отлучения от ИК на 32% от исходных значений ($p = 0,013$). В группе ИК+NO на этапах эксперимента изменений CPPLI не наблюдалось.

Данное исследование позволило изучить изменение деформируемости эритроцитов при ИК. Были проанализированы CMPLI, CMLLI, CPPLI и CPLLI

мембран эритроцитов. Результаты данного исследования демонстрируют статистически значимое снижение CMPLI на 55% ($p = 0,009$) и CPPLI на 32% ($p = 0,013$) через 60 мин после отлучения от ИК по сравнению с исходными значениями, что подтверждает факт ухудшения деформируемости эритроцитов во время проведения ИК. Вероятно, это связано с дефицитом эндогенного NO во время ИК, поскольку поступление экзогенного NO позволило уменьшить негативное влияние экстракорпорального кровообращения на деформируемость эритроцитов. В группе ИК+NO показатели CPPLI, CPLLI, CMPLI и CMLLI через 60 мин после отлучения от ИК были сопоставимы с исходными значениями.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что кондиционирование оксидом азота позволяет снизить негативное влияние ИК на деформируемость эритроцитов экспериментальных животных.

В проспективное рандомизированное контролируемое клиническое исследование №2 включено 136 пациентов, поступивших в кардиохирургическое отделение №1 НИИ кардиологии ТНИМЦ для планового хирургического вмешательства и имеющих высокий риск ОПП в периоперационном периоде, обусловленный наличием ХБП.

Пациентам из NO-группы проводилась ингаляционная терапия оксидом азота в концентрации 80 ppm через контур наркозно-дыхательного аппарата, магистраль подачи газо-воздушной смеси аппаратов ИК и через контур аппарата ИВЛ в течение 6 ч послеоперационного периода. В контрольной группе дополнительная ингаляционная терапия NO не проводилась.

Периоперационное кондиционирование NO, полученным по технологии плазмохимического синтеза, статистически значимо снижало частоту развития ОПП в послеоперационном периоде кардиохирургических вмешательств у пациентов с ХБП. В основной группе частота развития ОПП была статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой: 16 (23,5%) в основной группе против 27 (39,7%) в контрольной группе ОР 0,59 (95% ДИ 0,35–0,99;

$p=0,043$). Структура (стадии и длительность) ОПП не различалась между группами.

Таким образом, периоперационное кондиционирование оксидом азота в дозе 80 ppm, полученным по технологии плазмохимического синтеза, оказывает нефропротективный эффект, что проявляется в статистически значимом снижении частоты развития острого почечного повреждения в послеоперационном периоде при кардиохирургических вмешательствах у пациентов с хронической болезнью почек.

Проведен анализ результатов измерения концентрации NO в выдыхаемом воздухе, полученных исходно, через 2 и 24 ч после оперативного вмешательства.

Медианы показателя концентрации NO в выдыхаемом воздухе исходно были сопоставимы в обеих группах, в группе кондиционирования оксидом азота показатель составил 18 ppb [14; 32], в контрольной группе — 16 ppb [14; 21], $p = 0,137$.

В группе кондиционирования NO концентрация NO в выдыхаемом воздухе оставалась сопоставимой с исходными значениями на этапах через 2 ч и через 24 ч после операции.

В группе контроля отмечено значительное снижение концентрации NO в выдыхаемом воздухе через 2 ч после операции относительно исходных значений ($p < 0,001$). Через 2 ч и 24 ч после операции данный показатель также был значимо ниже в группе контроля по сравнению с группой кондиционирования NO ($p < 0,001$; $p=0,035$ соответственно).

При оценке основных исходов и характеристик послеоперационного периода установлено, что в NO-группе значимо реже возникала послеоперационная пневмония: 10 (14,7%) vs 20 (29,4%) ОР 0,5; (95% ДИ 0,25–0,99; $p=0,039$). По другим госпитальным исходам различий между группами обнаружено не было.

В NO-группе через 6 месяцев после вмешательства отмечалась значимо более высокая СКФ (50 [45; 54] vs 45 [41; 51] мл/мин/1,73 м², p=0,038) и тенденция к снижению частоты прогрессирования ХБП.

Уровень вдыхаемого NO₂ в газовой смеси ни у одного из пациентов NO-группы уровень MetHb не превышал допустимые 3 ppm (Min-Max = 0,8–2,0 ppm).

Уровень MetHb в плазме крови пациентов NO-группы достоверно повышался по сравнению с исходным уровнем через 6 ч после операции и был достоверно выше по сравнению с контрольной группой: 3,6% [2,8; 4,1] против 0,7% [0,4; 0,8] (p=0,001). Однако ни у одного из пациентов NO-группы уровень MetHb не превышал допустимые 5% (Min-Max = 2,1–4,5 %).

Все пациенты NO-группы были отлучены от терапии без осложнений, ни одному пациенту не потребовалось повторное лечение NO. Не было отмечено никаких побочных эффектов или органной дисфункции, связанных с доставкой NO.

Таким образом, периоперационное кондиционирование оксидом азота у кардиохирургических пациентов с ХБП является безопасной, легко воспроизводимой и хорошо контролируемой методикой.

ВЫВОДЫ

1. Оксид азота при его доставке в концентрации 40 ppm в контур экстракорпоральной циркуляции во время кардиохирургических операций у пациентов с умеренным риском почечного повреждения: снижает частоту инцидентов острого почечного повреждения на 20,8%, ОР 0,5 (95% ДИ 0,26–0,95; $p=0,023$); уменьшает субклиническое повреждение почек (снижает концентрацию uNGAL, $p=0,005$), увеличивает диурез во время ИК ($p=0,0002$); статистически значимо повышает концентрацию метаболитов оксида азота, восполняя его дефицит в периоперационном периоде. Доставка оксида азота в концентрации 40 ppm является безопасной: не сопровождается повышением концентрации MetHb в крови более 1,2% и NO_2 более 1,8 ppm в магистрали доставки газо-воздушной смеси; не ассоциирована с нарушениями гемодинамического и цитокинового профилей.

2. Доставка оксида азота в концентрации 80 ppm, полученного по технологии плазмохимического синтеза, не сопровождается повышением концентрации NO_2 более 1,41 ppm в магистрали доставки газо-воздушной смеси и MetHb в крови более 2,62% у экспериментальных животных при моделировании искусственного кровообращения. На всех этапах исследования между группами стандартного ИК и ИК+ЦА получены статистически значимые различия в концентрации суммарных нитритов (total NO_2) и нитратов (NO_3) с увеличением данных показателей в группах NO-терапии, что указывает на необходимость замещения периоперационного дефицита NO на фоне различных вариантов экстракорпорального кровообращения.

3. Оксид азота в концентрации 80 ppm, полученный по технологии плазмохимического синтеза, при проведении ИК снижает концентрацию uNGAL на 70%, $p=0,0001$. Диурез в группе ИК+NO на протяжении всего эксперимента на 29% статистически значимо выше по сравнению с группой стандартного ИК, $p=0,0297$. Гистологические признаки повреждения почечной ткани менее

выражены в группе кондиционирования оксидом азота. Оксид азота в концентрации 80 ppm, полученный по технологии плазмохимического синтеза, снижает выраженность митохондриальной дисфункции (в группе ИК+NO отмечено повышение на 36% уровня трансмембранного потенциала митохондрий, $p=0,00256$, а также повышение на 69% кальций связывающей способности митохондрий в биоптатах почек); улучшает состояние митохондриального дыхания (в группе ИК+NO отмечено повышение на 86% уровня АТФ) в ткани почек экспериментальных животных при моделировании искусственного кровообращения.

4. Оксид азота в концентрации 80 ppm, полученный по технологии плазмохимического синтеза, стабилизирует показатели микровязкости и полярности мембран эритроцитов у экспериментальных животных при моделировании искусственного кровообращения.

5. Периоперационное кондиционирование оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, нивелирует периоперационный дефицит эндогенного оксида азота (в NO-группе концентрация NO в выдыхаемом воздухе оставалась сопоставимой с исходными значениями на этапах через 2 ч и через 24 ч после операции при статистически значимом снижении показателя в контрольной группе).

6. Периоперационное кондиционирование оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, не сопровождается повышением концентрации NO_2 более 1,8 ppm в магистрали доставки газовой воздушной смеси и MetHb в крови более 3,6% и является безопасной технологией у пациентов с высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек.

7. Периоперационное кондиционирование оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, снижает частоту ОПП (риск развития ОПП в контрольной группе был на 41% выше, по сравнению с NO-группой (ОР 0,59 (95% ДИ 0,35–0,99; $p=0,043$)). Периоперационное

кондиционирование оксидом азота (80 ppm), полученным по технологии плазмохимического синтеза, позволяет снизить частоту развития послеоперационных пневмоний в 2 раза.

Благоприятные краткосрочные эффекты периоперационного NO-кондиционирования сохраняются на протяжении 6 месяцев после вмешательства и проявляются в значимо более высокой СКФ в NO-группе.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью нефропротекции и улучшения результатов кардиохирургических операций рекомендуется доставка оксида азота в концентрации 80 ppm в периоперационном периоде в контур аппарата ИВЛ и в контур экстракорпоральной циркуляции у пациентов с исходно высоким риском почечного повреждения, обусловленным наличием предоперационной хронической болезни почек. Доставку оксида азота рекомендуется начинать сразу после интубации трахеи, проводить в течение всего интраоперационного периода, включая период ИК, и на протяжении 6 ч после операции.

2. Рекомендуется мониторинг NO_2 и метгемоглобина во время доставки оксида азота в контур аппарата ИВЛ и контур экстракорпоральной циркуляции при кардиохирургических операциях.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФ — аденозинтрифосфат

АФК — активные формы кислорода

ДИП — дистантное ишемическое прекондиционирование

ЗПТ — заместительная почечная терапия

ИВЛ — искусственная вентиляция легких

ИК — искусственное кровообращение

КСС — кальций-связывающая способность митохондрий

КХ-ОПП — ассоциированное с кардиохирургическим вмешательством острое почечное повреждение

ЛГ — легочная гипертензия

ОПН — острая почечная недостаточность

ОПП — острое почечное повреждение

ОРДС — острый респираторный дистресс-синдром

ОРИТ — отделение реанимации и интенсивной терапии

ПК — прекондиционирование

ПОЛ — перекисное окисление липидов

ПЖ — правый желудочек

САД — среднее артериальное давление

СКФ — скорость клубочковой фильтрации

ХБП — хроническая болезнь почек

ЦА — циркуляторный арест

цГМФ — циклический гуанозинмонофосфат

$\Delta\psi$ — трансмембранный потенциал митохондрий

fHb — свободный гемоглобин

GSDMD — гасдермин D

MetHb — метгемоглобин

mitoKATP — митохондриальные калиевые каналы

mPTP —митохондриальные поры переменной проницаемости

NLRP3 — NLR пириновый домен с белками 3

NO — оксид азота

NO₂ — нитрит

NO₃ — нитрат

NOS — синтазы оксида азота

RIPK3 — взаимодействующая с рецептором серин/треонин-протеинкиназа 3

SPD — сурфактантный белок D

TNF- α — фактор некроза опухоли альфа

uNGAL —липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов в моче

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баутин, А. Е. Влияние ингаляции оксида азота (II) на концентрацию свободного гемоглобина в плазме крови при гемолизе. Экспериментальное исследование/А.Е.Баутин, И.Г.Чомахашвили, А.М.Радовский//Трансляционная медицина. – 2024. – Т. 11. – №. 2. – С. 181-190.
2. Буранов, С. Н. Аппарат для ингаляционной NO-терапии/С.Н. Буранов, В.И.Карелин, В.Д.Селемир, А.С.Ширшин//Приборы и техника эксперимента. – 2019. – № 5. – С. 158-159.
3. Буранов, С. Н. Импульсно-периодический диффузный разряд с автоионизацией в потоке газа/С.Н.Буранов, В.В.Горохов, В.И.Карелин и др.//Журнал технической физики. – 2020. – Т. 90, № 5. – С. 755-759.
4. Добрецов, Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов: монография/Г.Е.Добрецов. – М.: Наука, 1989. – 277с.
5. Домнин, Р. Е. Эффективность защиты миокарда при ингаляционном и экстракорпоральном пути введения газообразного оксида азота при операциях с искусственным кровообращением/Р.Е.Домнин, В.В.Пичугин, Е.В.Сандалкин, А.В. Дерюгина//Биорадикалы и антиоксиданты. – 2021. – Т. 8, № 2. – С. 136-139.
6. Каменщиков, Н. О. Защита миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения посредством подачи оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при проведении искусственного кровообращения/Н.О.Каменщиков, И.А.Мандель, Ю.К.Подоксенов [и др.]/Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2017. – Т. 21, № 4. – С. 79-86.
7. Маричев, А. О. Влияние оксида азота, подаваемого в оксигенатор, на образование газовых микроэмболов в кровяном контуре аппарата искусственного кровообращения (экспериментальное исследование)/А.О.Маричев, А.М.Радовский, В.В.Осовских [и др.]/Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2024. – Т. 177, № 6. – С. 776–781.

8. Муравьев, А. В. Деформация эритроцитов: роль в микроциркуляции/А.В.Муравьев, В.Л.Комлев, П.В.Михайлов [и др.]/Ярославский педагогический вестник. – 2013. – Т. 3, № 2. – С. 93-102.

9. Насыбуллина, Э. И. Влияние метаболитов оксида азота на образование мембраносвязанного гемоглобина в условиях карбонильного стресса/Э.И.Насыбуллина, О.В.Космачевская, А.Ф.Топунов//Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2018. – № 4. – С. 93-104.

10. Пичугин, В. В. Влияние различных технологий применения газообразного оксида азота на функционально-морфологическое состояние легких, маркеры повреждения миокарда и клинические исходы при кардиохирургических вмешательствах с искусственным кровообращением/В.В.Пичугин, С.Е.Домнин, А.Е.Баутин, [и др.]/Пульмонология. – 2024. – Т. 34, № 3. – С. 364–374.

11. Пичугин, В. В. Доставка газообразного оксида азота в экстракорпоральный контур циркуляции: экспериментальные и клинические данные: обзор литературы/В.В.Пичугин, А.Е.Баутин, С.Е.Домнин [и др.]/Вестник интенсивной терапии имени АИ Салтанова. – 2021. – №. 3. – С. 109-116.

12. Пичугин, В. В. Ингаляционный оксид азота в профилактике ишемических и реперфузионных повреждений сердца при операциях с искусственным кровообращением/В.В.Пичугин, И.Р.Сейфетдинов, А.П.Медведев, С.Е. Домнин//Медицинский альманах. – 2019. – Т. 1, № 58. – С. 81-87.

13. Пичугин, В. В. Первый опыт комбинированного применения оксида азота и молекулярного водорода в обеспечении операций на сердце у пациентов высокого риска/В.В.Пичугин, А.В.Дерюгина, С.Е.Домнин [и др.]/Пульмонология. – 2024. – Т. 34. – №. 1. – С. 32-41.

14. Радовский, А. М. Воздействие высокой концентрации оксида азота на оксигенаторы аппаратов искусственного кровообращения (экспериментальное исследование)/А.М.Радовский, И.В.Воротынцев, А.А.Атласкин [и др.]/Общая реаниматология. – 2023. – Т. 20, № 1. – С. 50–62.

15. Реброва, Т. Ю. Микровязкость мембран эритроцитов при хронической коронарной недостаточности у лиц средней и старшей возрастных групп/Т.Ю.Реброва, С.А.Афанасьев, О.Д.Путрова, А.Н.Репин//Успехи геронтологии. – 2014. – Т. 27, № 3. – С.457-462.

16. Реброва, Т. Ю. Возрастзависимые особенности микровязкости мембран эритроцитов при экспериментальном кардиосклерозе/Т.Ю.Реброва, С.А.Афанасьев, О.Д.Путрова, С.В.Попов//Успехи геронтологии. – 2012. – Т. 25, № 4. – С. 644-647.

17. Смирнов, А. В. Национальные рекомендации Острое повреждение почек: основные принципы диагностики, профилактики и терапии (2015 г.). Часть I/А.В.Смирнов, В.А.Добронравов, А.Ш.Румянцев [и др.]//Почки. – 2016. – № 2. – С. 63-84.

18. Смирнов, А. В. Национальные рекомендации. Острое повреждение почек: основные принципы диагностики, профилактики и терапии. Часть I/А.В.Смирнов, В.А.Добронравов, А.Ш.Румянцев [и др.]//Нефрология. – 2016. – Т. 20, № 1. – Р. 79-104.

19. Смирнов, А. В. Острое повреждение почек. Часть I/А.В.Смирнов, А.Ш.Румянцев//Нефрология. – 2020. – Т. 24, № 1. – С. 67-95.

20. Смирнов, А. В. Острое повреждение почек. Часть II/А.В.Смирнов, А.Ш.Румянцев//Нефрология. – 2020. – Т. 24, № 2. – С. 96-128.

21. Чумакова Р. П. Роль предрасполагающей патологии эритроцита в патогенезе гемолиза при искусственном кровообращении: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук: 14.03.03/Чумакова Светлана Петровна. – Томск, 2013. – 335 с.

22. Abman, S. H. Pediatric pulmonary hypertension: guidelines from the American heart association and American thoracic society/S.H.Abman, G.Hansmann, S.L.Archer et al.//Circulation. – 2015. – Vol. 132, N 21. – P. 2037-2099.

23. Aiello, S. Renal and systemic nitric oxide synthesis in rats with renal mass reduction/S. Aiello, M.Todeschini, M.Todeschini et al.//Kidney international. – 1997. – Vol. 52, N 1. – P. 171-181.

24. Akagawa, M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical approaches/M.Akagawa//Free Radical Research. – 2021. – Vol. 55, N 4. – P. 307-320.

25. Akbar, F. Haplotypic association of DDAH1 with susceptibility to pre-eclampsia/F.Akbar, S.Heinonen, M.Pirskanen et al.//Molecular human reproduction. – 2005. – Vol. 11, N 1. – P. 73-77.

26. Al Sulaiman, K. Evaluation of inhaled nitric oxide (iNO) treatment for moderate-to-severe ARDS in critically ill patients with COVID-19: a multicenter cohort study /K.Al Sulaiman, G.B.Korayem, A.F.Altebainawi et al.//Critical Care. – 2022. – Vol. 26, N 1. – P. 304.

27. Anaya-Prado, R. Exogenous nitric oxide donor and related compounds protect against lung inflammatory response after hemorrhagic shock and resuscitation/R.Anaya-Prado, L.H.Toledo-Pereyra, J.Walsh et al.//Journal of Trauma and Acute Care Surgery. – 2004. – Vol. 57, N 5. – P. 980-988.

28. Andrade, L. Hypercholesterolemia aggravates radiocontrast nephrotoxicity: protective role of L-arginine/L.Andrade, S.B.Campos, A.C.Seguro//Kidney international. – 1998. – Vol. 53, N 6. – P. 1736-1742.

29. Arab, H. H. Camel milk attenuates methotrexate-induced kidney injury via activation of PI3K/Akt/eNOS signaling and intervention with oxidative aberrations/H. H.Arab, S.A.Salama, I.A.Maghrabi//Food & function. – 2018. – Vol. 9, N 5. – P. 2661-2672.

30. Argaud, L. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition/L.Argaud, O.Gateau-Roesch, O.Raisky et al.//Circulation. – 2005. – Vol. 111, N 2. – P. 194-197.

31. Arnold, W. P. 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, N 8. – P. 3203-3207.

32. Axtell, A. L. Correlation of cardiopulmonary bypass duration with acute renal failure after cardiac surgery/A.L.Axtell, A.G.Fiedler, S.Melnitchouk et al.//The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2020. – Vol. 159, N 1. – P. 170-178.
33. Azarov, I. Rate of nitric oxide scavenging by hemoglobin bound to haptoglobin/I. Azarov, X.He, A.Jeffers et al.//Nitric oxide. – 2008. – Vol. 18, N 4. – P. 296-302.
34. Baliga, R. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure/R.Baliga, N.Ueda, P.D.Walker et al.//American Journal of Kidney Diseases. – 1997. – Vol. 29, N 3. – P. 465–477.
35. Baliga, R. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure/R.Baliga, N.Ueda, N.Walker, S.V.Shah//American Journal of Kidney Diseases. – 1997. – Vol. 29, N 3. – P. 465-477.
36. Barouch, L. A. 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. 416, N 6878. – P. 337-339.
37. Barshtein, G. Deformability of stored red blood cells/G.Barshtein, I.Pajic-Lijakovic, A.Gural//Frontiers in Physiology. – 2021. – Vol. 12, N 1. – P. 722896.
38. Baskurt, O. K. Protection of erythrocytes from sub-hemolytic mechanical damage by nitric oxide mediated inhibition of potassium leakage/O.K.Baskurt, M.Uyuklu, H.J.Meiselman//Biorheology. – 2004. – Vol. 41, N 2. – P. 79-89.
39. Bayat, F. A study of the efficacy of furosemide as a prophylaxis of acute renal failure in coronary artery bypass grafting patients: A clinical trial/F.Bayat, Z.Faritous, N.Aghdaei, A.Dabbagh//ARYA atherosclerosis. – 2015. – Vol. 11, N 3. – P. 173-178.
40. Baylis, C. Measurement of nitrite and nitrate levels in plasma and urine-what does this measure tell us about the activity of the endogenous nitric oxide system?/C.Baylis, P.Vallance//Current opinion in nephrology and hypertension. – 1998. – Vol. 7, N 1. – P. 59-62.
41. Baylis, C. Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease / C. Baylis // American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2008. – Vol. 294, N 1. – P. F1-F9.

42. Bedford, M. What is the real impact of acute kidney injury? BMC nephrology/M. Bedford, P.E.Stevens, T.W.Wheeler, C.K.Farmer//BMC nephrology. – 2014. – Vol. 15, N 1. – P. 1-9.
43. Bellomo, R. Acute renal failure-definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group/R. Bellomo//Critical care. – 2004. – Vol. 8. – P. 204-212.
44. Berra, L. Autologous transfusion of stored red blood cells increases pulmonary artery pressure/L.Berra, R.Pinciroli, C.P.Stowell et al.//American journal of respiratory and critical care medicine. – 2014. – Vol. 190, N 7. – P. 800-807.
45. Bice, J. S. Nitric oxide treatments as adjuncts to reperfusion in acute myocardial infarction: a systematic review of experimental and clinical studies/J.S.Bice, B.R. Jones, G.R.Chamberlain, G.F.Baxter//Basic research in cardiology. – 2016. – Vol. 111, N 1. – P. 1-15.
46. Billah, M. Circulating mediators of remote ischemic preconditioning: search for the missing link between non-lethal ischemia and cardioprotection /M.Billah, A.Ridiandries, U.Allahwala et al.//Oncotarget. – 2019. – Vol. 10, N 2. – P. 216.
47. Björne, H. 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, N 8. – P. 1722-1727.
48. Bland, M. An introduction to medical statistics/M.Bland. – Oxford: Oxford university press, 2020. – 405 p. – ISBN 0-19-263269-8.
49. Body, S. C. Effect of nitric oxide upon gas transfer and structural integrity of a polypropylene membrane oxygenator/ S.C. Body, D. FitzGerald, C. Voorhees C. et al.//ASAIO journal. – 1999. – Vol. 45, № 6. – P. 550–554.
50. Böger, R. H. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia/R.H.Böger, S.M.Bode-Böger, A.Szuba et al.//Circulation. – 1998. – Vol. 98, N 18. – P. 842-1847.

51. Bolli, R The late phase of preconditioning/R.Bolli//Circulation research. – 2000. – Vol. 87, N 11. – P. 972-983.
52. 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, N 1. – P. 57-63.
53. Bolli, R. 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, N 6. – P. 1094-1107.
54. Bonanni, A. Volatile anesthetics versus propofol for cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: meta-analysis of randomized trials/A.Bonanni, A.Signori, C.Alicino et al.//Anesthesiology. – 2020. – Vol. 132, N 6. – P. 1429-1446.
55. Bonventre, J. V. Kidney ischemic preconditioning/J.V.Bonventre//Current opinion in nephrology and hypertension. – 2002. – Vol. 11, N 1. – P. 43-48.
56. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding /M.M.Bradford//Analytical biochemistry. – 1976. – Vol. 72, N 1-2. – P. 248-254.
57. Brun, J. F. Metabolic Influences Modulating Erythrocyte Deformability and Eryptosis/J.F.Brun, E.Varlet-Marie, J.Myzia et al.//Metabolites. – 2021. – Vol. 12, N 4.
58. Bryan, N. S. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development/N.S.Bryan, K.Bian, F.Murad//Front Biosci. – 2009. – Vol. 14, N 1. – P. 1-18.
59. Canet, E. Perioperative renal protection/E.Canet, R.Bellomo//Current opinion in critical care. – 2018. – Vol. 24, N 6. – P. 568-574.
60. Casanova, A. G. Diagnosis of cardiac surgery-associated acute kidney injury: state of the art and perspectives/A.G.Casanova, S.M.Sancho-Martínez, L.Vicente-Vicente et al.//Journal of Clinical Medicine. – 2022. – Vol. 11, N 15. – P. 4576.
61. Casellas, P. Protein methylation in animal cells I. Purification and properties of S-adenosyl-l-methionine: protein (arginine) N-methyltransferase from Krebs II ascites

cells/P.Casellas, P.Jeanteur//*Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Nucleic Acids and Protein Synthesis*. – 1978. – Vol. 519, N 1. – P. 243-254.

62. Casellas, P. Protein methylation in animal cells I. Purification and properties of S-adenosyl-l-methionine: protein (arginine) N-methyltransferase from Krebs II ascites cells/P.Casellas, P.Jeanteur//*Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Nucleic Acids and Protein Synthesis*. – 1978. – Vol. 519, N 1. – P. 255-268.

63. Chang, W. L. Continuous inhaled nitric oxide therapy in a case of sickle cell disease with multiorgan involvement/W.L.Chang, L.M.Corate, J.M.Sinclair et al.//*Journal of Investigative Medicine*. – 2008. – Vol. 56, N 8. – P. 1023-1027.

64. Checchia, P. A. 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, N 3. – P. 530-536.

65. Chen, H. Similarities between ozone oxidative preconditioning and ischemic preconditioning in renal ischemia/reperfusion injury/H.Chen, B.Xing, X.Liu et al.//*Archives of medical research*. – 2008. – Vol. 39, N 2. – P. 169-178.

66. Chen, K. Nitric oxide production pathways in erythrocytes and plasma/K. Chen, A.S.Popel//*Biorheology*. – 2009. – Vol. 46, N 2. – P. 107-119.

67. Chen, Q. H. Effects of restrictive red blood cell transfusion on the prognoses of adult patients undergoing cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials/Q. H. Chen, H. L. Wang, L. Liu et al.//*Critical care*. – 2018. – Vol. 22, N 1. – P. 1-9.

68. Chen, X. Comparative efficacy of drugs for preventing acute kidney injury after cardiac surgery: a network meta-analysis/X.Chen, T.Huang, X.Cao, T.Huang//*American Journal of Cardiovascular Drugs*. – 2018. – Vol. 18. – P. 49-58.

69. Chen, Y. IL-1 β induction of MUC5AC gene expression is mediated by CREB and NF- κ B and repressed by dexamethasone/Y.Chen, L.M.Garvin, T.J.Nickola et al.//*American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. – 2014. – Vol. 306, N 8. – P. L797-L807.

70. Cherian, S. V. Salvage therapies for refractory hypoxemia in ARDS/S.V.Cherian, A.Kumar, K.Akasapu et al.//Respiratory medicine. – 2018. – Vol. 141. – P. 150-158.

71. Chida, J. An efficient extraction method for quantitation of adenosine triphosphate in mammalian tissues and cells/J.Chida, K.Yamane, T.Takei, H.Kido//Analytica chimica acta. – 2012. – Vol. 727, N 1. – P. 8-12.

72. Cho, J. S. Perioperative dexmedetomidine reduces the incidence and severity of acute kidney injury following valvular heart surgery/J.S.Cho, J.K.Shim, S.Soh et al.//Kidney international. – 2016. – Vol. 89, N 3. – P. 693-700.

73. Coca, S. G. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis/S.G.Coca, S.Singanamala, C.R.Parikh//Kidney international. – 2012. – Vol. 81, N 5. – P. 442-448.

74. Coutrot, M. Is nitric oxide nephro-or cardioprotective?/M.Coutrot, F.Dépret, M.Legrand//American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2019. – Vol. 299, N 11. – P. 1441-1442.

75. Davis, C. L. Acute renal failure after cardiopulmonary bypass is related to decreased serum ferritin levels /C.L.Davis, A.T.Kausz, R.A.Zager et al.//Journal of the American Society of Nephrology. – 1999. – Vol. 10, N 11. – P. 2396–2402.

76. De Somer, F. O₂ delivery and CO₂ production during cardiopulmonary bypass as determinants of acute kidney injury: time for a goal-directed perfusion management?/F.De Somer, J.W.Mulholland, M.R.Bryan et al.//Critical Care. – 2011. – Vol. 15, N 4. – P. 192.

77. Deferrari, G. Remote ischaemic preconditioning for renal and cardiac protection in adult patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials/G.Deferrari, A.Bonanni, M.Bruschi et al.//Nephrology Dialysis Transplantation. – 2018. – Vol. 33, N 5. – P. 813-824.

78. Diegeler, A. Off-pump versus on-pump coronary-artery bypass grafting in elderly patients/A.Diegeler, J.Börgermann, U.Kappert et al.//New England journal of medicine. – 2013. – Vol. 368, N 13. – P. 1189-1198.

79. Ding, H. L. Signaling processes for initiating smooth muscle contraction upon neural stimulation/H.L.Ding, J.W.Ryder, J.T.Stull, K.E.Kamm et al.//Journal of Biological Chemistry. – 2009. – Vol. 284, N 23. – P. 15541-15548.

80. Doyle, J. F. Acute kidney injury: short-term and long-term effects/J.F.Doyle, L.G.Forni//Critical care. – 2016. – Vol. 20, N 1. – P. 188.

81. Dvirnik, N. Steroids in cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis/N.Dvirnik, E.P.Belley-Cote, H.Hanif et al.//British journal of anaesthesia. – 2018. – Vol. 120, N 4. – P. 657-667.

82. Engelman, D. T. Adult cardiac surgery and the COVID-19 pandemic: aggressive infection mitigation strategies are necessary in the operating room and surgical recovery/D.T.Engelman, S.Lother, I.George et al.//The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2020. – Vol. 160, N 2. – P. 447-451.

83. Engelman, D. T. Guidelines for perioperative care in cardiac surgery: enhanced recovery after surgery society recommendations/D.T.Engelman, W.B.Ali, J.B.Williams et al.//JAMA surgery. – 2019. – Vol. 154, N 8. – P. 755-766.

84. Erdely, A. Protection of wistar furth rats from chronic renal disease is associated with maintained renal nitric oxide synthase/A.Erdely, L.Wagner, V.Muller et al.//Journal of the American Society of Nephrology: JASN. – 2003. – Vol. 14, N 10. – P. 2526-2533.

85. Fakhari, S. Prophylactic furosemide infusion decreasing early major postoperative renal dysfunction in on-pump adult cardiac surgery: a randomized clinical tr

86. al/S.Fakhari, F.M.Bavil, E.Bilehjani et al.//Research and reports in urology. – 2017. – Vol. 9. – P. 5-13.

87. Fang, Z. Moderate and deep hypothermic circulatory arrest has a comparable effect on acute kidney injury after total arch replacement with frozen elephant trunk procedure in type A aortic dissection/Z.Fang, G.Wang, Q.Liu et al.//Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery. – 2019. – Vol. 29, N 1. – P. 130–136.

88. Fattouch, K. Treatment of pulmonary hypertension in patients undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: a randomized, prospective, double-blind

study/K.Fattouch, F.Sbraga, R.Sampognaro et al.//Journal of Cardiovascular Medicine. – 2006. – Vol. 7, N 2. – P. 119-123.

89. Festing, M. F. W. Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals/M.F.W.Festing, D.G.Altman//ILAR journal. – 2002. – Vol. 43, N 4. – P. 244-258.

90. Flaherty, J. T. Reperfusion injury/F.J.T.laherty, M.L.Weisfeldt//Free Radical Biology and Medicine. – 1988. – Vol. 5, N 5-6. – P. 409–419.

91. Garg, A. X. Safety of a restrictive versus liberal approach to red blood cell transfusion on the outcome of AKI in patients undergoing cardiac surgery: a randomized clinical trial/A.X.Garg, N.Badner, S.M.Bagshaw et al.//Journal of the American Society of Nephrology: JASN. – 2019. – Vol. 30, N 7. – P. 1294-1304.

92. Gebistorf, F. Inhaled nitric oxide for acute respiratory distress syndrome (ARDS) in children and adults/F.Gebistorf, O.Karam, J.Wetterslev, A.Afshari//Cochrane database of systematic reviews. – 2016. – N. 6.

93. Gladwin, M. T. Storage lesion in banked blood due to hemolysis-dependent disruption of nitric oxide homeostasis/M.T.Gladwin, D.B.Kim-Shapiro//Current opinion in hematology. – 2009. – Vol. 16, N 6. – P. 515-523.

94. Göcze, I. Biomarker-guided intervention to prevent acute kidney injury after major surgery: the prospective randomized BigpAK study/I.Göcze, D.Jauch, M.Götz et al.//Annals of Surgery. – 2018. – Vol. 267, N 6. – P. 1013–1020.

95. Gomez, L. Inhibition of GSK3 β by postconditioning is required to prevent opening of the mitochondrial permeability transition pore during reperfusion/L.Gomez, M.Paillard, H.Thibault et al. //Circulation. – 2008. – Vol. 117, N 21. – P. 2761-2768.

96. Graça-Souza, A. V. Neutrophil activation by heme: implications for inflammatory processes/A.V.Graça-Souza, M.A.B.Arruda, M.S. de Freitas et al.//Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2002. – Vol. 99, N 11. – P. 4160-4165.

97. Guo, Y. Exercise-induced late preconditioning in mice is triggered by eNOS-dependent generation of nitric oxide and activation of PKC ϵ and is mediated by increased

iNOS activity/Y.Guo, Q.Li, Y.T.Xuan et al.//International journal of cardiology. – 2021. – Vol. 340. – P. 68-78.

98. Guo, Y. Nitric oxide donors induce late preconditioning against myocardial infarction in mice/Y.Guo, W.Bao, X.L.Tang et al.//Journal of molecular and cellular cardiology. – 2001. – Vol. 6, N 33. – P. A41.

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

100. Guo, Y. R. 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, N 18. –121p.

101. Habicher, M. Central venous-arterial pCO₂ 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 et al.//Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2015. – Vol. 29, N 3. – P. 646-655.

102. Hajjar, L. A. Vasopressin versus norepinephrine in patients with vasoplegic shock after cardiac surgery: the VANCS randomized controlled trial/L.A. Hajjar, J.L.Vincent, F.R.Barbosa Gomes Galas et al.//Anesthesiology. – 2017. – Vol. 126, N 1. – P. 85-93.

103. 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, N 4. – P. RA801-RA819.

104. Hansen, M. K. Acute kidney injury and long-term risk of cardiovascular events after cardiac surgery: a population-based cohort study/M.K.Hansen, H.Gammelager, C.J.Jacobsen et al.//Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2015. – Vol. 29, N 3. – P. 617-625.

105. Hansen, M. K. Post-operative acute kidney injury and five-year risk of death, myocardial infarction, and stroke among elective cardiac surgical patients: a cohort

study/M.K.Hansen, H.Gammelager, M.M.Mikkelsen et al.//Critical care. – 2013. – Vol. 17. – P. 1-10.

106. Hansmann, G. 2019 updated consensus statement on the diagnosis and treatment of pediatric pulmonary hypertension: The European Pediatric Pulmonary Vascular Disease Network (EPPVDN), endorsed by AEPC/G.Hansmann, M.Koestenberger, T.P.Alastalo et al.//The Journal of Heart and Lung Transplantation. – 2019. – Vol. 38, N 9. – P. 879-901.

107. Hatano, E. NF- κ B stimulates inducible nitric oxide synthase to protect mouse hepatocytes from TNF- α -and Fas-mediated apoptosis/E.Hatano, B.L.Bennett, A.M.Manning et al.//Gastroenterology. – 2001. – Vol. 120, N 5. – P. 1251-1262.

108. Hayashida, K. Depletion of vascular nitric oxide contributes to poor outcomes after cardiac arrest/K.Hayashida, Y.Miyazaki, B.Yu et al.//American journal of respiratory and critical care medicine. – 2019. – Vol. 199, N 10. – P. 1288–1290.

109. Heusch, G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post, and remote conditioning/G.Heusch//Circulation research. – 2015. – Vol. 116, N 4. – P. 674-699.

110. Heusch, G. Nitroglycerin and delayed preconditioning in humans: yet another new mechanism for an old drug?/G.Heusch//Circulation. – 2001. – Vol. 103, N 24. – P. 2876-2878.

111. Himmelfarb, J. Linking oxidative stress and inflammation in kidney disease: which is the chicken and which is the egg?/J.Himmelfarb//Seminars in dialysis. – 2004. – Vol. 17, N 6. – P. 449-454.

112. Hobson, C. Cost and mortality associated with postoperative acute kidney injury/C.Hobson, T.Ozrazgat-Baslanti, A.Kuxhausen et al.//Annals of surgery. – 2015. – Vol. 261, N 6. – P. 1207–1214.

113. Hobson, C. E. Acute kidney injury is associated with increased long-term mortality after cardiothoracic surgery/C.E.Hobson, S.Yavas, M.S.Segal et al.// Circulation. – 2009. – Vol. 119, N 18. – P. 2444-2453.

114. Hori, D. Defining oliguria during cardiopulmonary bypass and its relationship with cardiac surgery-associated acute kidney injury/N.M. Katz, D.M.Fine et al.//BJA: British Journal of Anaesthesia. – 2016. – Vol. 117, N 6. – P. 733-740.

115. Hougardy, J. M. Chronic kidney disease as major determinant of the renal risk related to on-pump cardiac surgery: a single-center cohort study/J.M.Hougardy, P.Revercez, A.Pourcelet et al//Acta Chirurgica Belgica. – 2016. – Vol. 116, N 4. – P. 217-224.

116. Howell, N. J. Mild renal dysfunction predicts in-hospital mortality and post-discharge survival following cardiac surgery/N.J.Howell, B.E.Keogh, R.S.Bonser et al.//European journal of cardio-thoracic surgery. – 2008. – Vol. 34, N 2. – P. 390-395.

117. Hu, J. Effect of nitric oxide on postoperative acute kidney injury in patients who underwent cardiopulmonary bypass: a systematic review and meta-analysis with trial sequential analysis/J.Hu, S.Spina, F.Zadek et al.//Annals of Intensive Care. – 2019. – Vol. 9, N 1. – P. 1–11.

118. Hu, J. Global incidence and outcomes of adult patients with acute kidney injury after cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis/J.Hu, R.Chen, S.Liu et al.//Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2016. – Vol. 30, N 1. – P. 82-89.

119. Huang, T. M. Preoperative proteinuria predicts adverse renal outcomes after coronary artery bypass grafting/T.M.Huang, V.C.Wu, G.H.Young et al.//Journal of the American Society of Nephrology: JASN. – 2011. – Vol. 22, N 1. – P. 156-163.

120. Huber, M. Mortality and cost of acute and chronic kidney disease after vascular surgery/M.Huber, T.Ozrazgat-Baslanti, P.Thottakkara et al.//Annals of vascular surgery. – 2016. – Vol. 30. – P. 72-81.

121. Ichinose, F. Inhaled pulmonary vasodilators in cardiac surgery patients–Correct answer is “NO”/F.Ichinose, W.M.Zapol//Anesthesia and analgesia. – 2017. – Vol. 125, N 2. – P. 375.

122. Ito, A. Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase/A.Ito, P.S.Tsao, S.Adimoolam et al.//Circulation. – 1999. – Vol. 99, N 24. – P. 3092-3095.

123. James, A. Vasopressin versus norepinephrine in patients with vasoplegic shock after cardiac surgery: a discussion of the level of evidence/A. James, J.Amour//Anesthesiology. – 2018. – Vol. 128, N 1. – P. 228-228.

124. James, C. Nitric oxide administration during paediatric cardiopulmonary bypass: a randomised controlled trial/C.James, J.Millar, S.Horton et al.//Intensive care medicine. – 2016. – Vol. 42. – P. 1744-1752.

125. Jammer, I. B. Standards for definitions and use of outcome measures for clinical effectiveness research in perioperative medicine: European Perioperative Clinical Outcome (EPCO) definitions: a statement from the ESA-ESICM joint taskforce on perioperative outcome measures/I.B.Jammer, N.Wickboldt, M.Sander et al.//European Journal of Anaesthesiology EJA. – 2015. – Vol. 32, N 2. – P. 88–105.

126. Janssens, S. P. 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, N 29. – P. 2717-2725.

127. Joannidis, M. Prevention of acute kidney injury and protection of renal function in the intensive care unit: update 2017: Expert opinion of the Working Group on Prevention, AKI section, European Society of Intensive Care Medicine/M. Joannidis, W.Druml, L.G Forni et al.//Intensive care medicine. – 2020. – Vol. 46. – P. 654-672.

128. Joannidis, M. Prevention of acute kidney injury and protection of renal function in the intensive care unit: update 2017: Expert opinion of the Working Group on Prevention, AKI section, European Society of Intensive Care Medicine /M.Joannidis, W.Druml, L.G.Forni et al.//Intensive care medicine. – 2017. – Vol. 43. – P. 730-749.

129. Jones, S. P. Direct vascular and cardioprotective effects of rosuvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor/S.P. Jones, M.F.Gibson, D.M.Rimmer//Journal of the American College of Cardiology. – 2002. – Vol. 40, N 6. – P. 1172-1178.

130. Joo, J. D. Ischemic preconditioning provides both acute and delayed protection against renal ischemia and reperfusion injury in mice/J.D.Joo, M.Kim, V.D.D'Agati, H.T.Lee//Journal of the American Society of Nephrology. – 2006. – Vol. 17, N 11. – P. 3115-3123.

131. Kamenshchikov, N. O. Nitric oxide delivery during cardiopulmonary bypass reduces acute kidney injury: A randomized trial/N.O.Kamenshchikov, Y.J.Anfinogenova, B.N.Kozlov et al.//The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2022. – Vol. 163, N 4. – P. 1393-1403.

132. Kamenshchikov, N. O. Nitric oxide provides myocardial protection when added to the cardiopulmonary bypass circuit during cardiac surgery: randomized trial/N.O. Kamenshchikov, I.A.Mandel, Y.K.Podoksenov et al.//The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2019. – Vol. 157, N 6. – P. 2328-2336.

133. Kandler, K. Higher arterial pressure during cardiopulmonary bypass may not reduce the risk of acute kidney injury/K.Kandler, J.C.Nilsson, P.Oturai et al.//Journal of Cardiothoracic Surgery. – 2019. – T. 14, N 1. – P. 1-7.

134. Kannan, M. S. Nitric oxide: biological role and clinical uses/M.S.Kannan, S.Guiang, D.E.Johnson//The Indian Journal of Pediatrics. – 1998. – Vol. 65. – P. 333-345.

135. Kato, G. J. Pleiotropic effects of intravascular haemolysis on vascular homeostasis/G.J.Kato, J.G.Taylor//British journal of haematology. – 2010. – Vol. 148, N 5. – P. 690-701.

136. Kellum, J. A. Kidney disease: improving global outcomes (KDIGO) acute kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury/J.A.Kellum, N.Lameire, P.Aspelin et al.//Kidney International Supplements. – 2012. – Vol. 2, N 1. – P. 1-138.

137. Kellum, J. A. Recovery after acute kidney injury/J.A. Kellum, F.E.Sileanu, A.Bihorac et al.//American journal of respiratory and critical care medicine. – 2017. – Vol. 195, N 6. – P. 784-791.

138. Kertai, M. D. Platelet counts, acute kidney injury, and mortality after coronary artery bypass grafting surgery/M.D. Kertai, S.Zhou, J.A.Karhausen et al.//Anesthesiology. – 2016. – Vol. 124. – P. 339-352.

139. Kheterpal, S. Development and validation of an acute kidney injury risk index for patients undergoing general surgery: results from a national data set/S.Kheterpal,

K.K.Tremper, M.Heung et al.//The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2009. – Vol. 138, N 6. – P. 1417-1424.

140. Kheterpal, S. Development and validation of an acute kidney injury risk index for patients undergoing general surgery: results from a national data set/S.Kheterpal, K.K.Tremper, M.Heung et al.//The Journal of the American Society of Anesthesiologists. – 2009. – Vol. 110, N 3. – P. 505-515.

141. Kim, J.H. Meta-analysis of sodium bicarbonate therapy for prevention of cardiac surgery-associated acute kidney injury/J.H.Kim, H.J.Kim, J.Y.Kim et al.//Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. – 2015. – Vol. 29, N 5. – P. 1248-1256.

142. Kim, P.K. The regulatory role of nitric oxide in apoptosis/P.K.Kim, R.Zamora, P.Petrosko, T.R.Billiar//International immunopharmacology. – 2001. – Vol. 1, N 8. – P. 1421-1441.

143. Kirbas, A. Comparison of inhaled nitric oxide and aerosolized iloprost in pulmonary hypertension in children with congenital heart surgery/A.Kirbas, Y.Yalcin, N.Tanrikulu et al.//Cardiology Journal. – 2012. – Vol. 19, N 4. – P. 387-394.

144. 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.

145. Koller, A. 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, N 1. – P. 155-160.

146. Kork, F. Minor postoperative increases of creatinine are associated with higher mortality and longer hospital length of stay in surgical patients/F.Kork, F Balzer, C.D.Spies et al.//Anesthesiology. – 2015. – Vol. 123, N 6. – P. 1301-1311.

147. Koshland, D.E. Molecule of the year/D.E.Koshland//Science. – 1991. – Vol. 254, N 5039. – P. 1705.

148. Krebs, R. Inhaled Pulmonary Vasodilators and Thoracic Organ Transplantation: Does Evidence Support Its Use and Cost Benefit?/R.Krebs,

Y.Morita//Seminars in Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. – 2020. – Vol. 24, N 1. – P. 67-73.

149. Krylatov, A.V. Reactive oxygen species as intracellular signaling molecules in the cardiovascular system/A.V.Krylatov, L.N.Maslov, N.S.Voronkov et al.//Current cardiology reviews. – 2018. – Vol. 14, N 4. – P. 290-300.

150. Küllmar, M. A multinational observational study exploring adherence with the kidney disease: improving global outcomes recommendations for prevention of acute kidney injury after cardiac surgery/M.Küllmar, R.Weiß, M.Ostermann et al.//Anesthesia & Analgesia. – 2020. – Vol. 130, N 4. – P. 910-916.

151. Kumada, Y. Perioperative risk factors for acute kidney injury after off-pump coronary artery bypass grafting: a retrospective study/Y.Kumada, K.Yoshitani, Y.Shimabara, Y.Ohnishi//JA clinical reports. – 2017. – Vol. 3. – P. 1-8.

152. Kuno, A. Nicorandil opens mitochondrial K ATP channels not only directly but also through a NO-PKG-dependent pathway/A.Kuno, S.D.Critz, M.V.Cohen, J.M.Downey//Basic research in cardiology. – 2007. – Vol. 102, N 1. – P. 73-79.

153. Lafrance, J.P. Acute kidney injury associates with increased long-term mortality/J.P.Lafrance, D.R.Miller// Journal of the American Society of Nephrology: JASN. – 2010. – Vol. 21, N 2. – P. 345.

154. Lai, M.Y. Beyond the inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn/M.Y.Lai, S.M.Chu, S.Lakshminrusimha, H.C.Lin//Pediatrics & Neonatology. – 2018. – Vol. 59, N 1. – P. 15-23.

155. Landoni, G. Volatile anesthetics versus total intravenous anesthesia for cardiac surgery/G.Landoni, V.V.Lomivorotov, C.Nigro Neto et al.//New England Journal of Medicine. – 2019. – Vol. 380, N 13. – P. 1214-1225.

156. Landray, M.J. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study/M.J.Landray, D.C.Wheeler, G.Y.Lip et al.//American journal of kidney diseases. – 2004. – Vol. 43, N 2. – P. 244-253.

157. Lassnigg, A. Lack of renoprotective effects of dopamine and furosemide during cardiac surgery/A.Lassnigg, E.V.A.Donner, G.Grubhofer et al.//Journal of the American Society of Nephrology. – 2000. – Vol. 11, N 1. – P. 97-104.

158. Laufs, U. 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, N 12. – P. 1129-1135.

159. Leaf, D.E. Increased plasma catalytic iron in patients may mediate acute kidney injury and death following cardiac surgery/D.E.Laif, M.Rajapurkar, S.S.Lele et al.//Kidney international. – 2015. – Vol. 87, N 5. – P. 1046-1054.

160. Lee, E.H. Effect of exogenous albumin on the incidence of postoperative acute kidney injury in patients undergoing off-pump coronary artery bypass surgery with a preoperative albumin level of less than 4.0 g/dl/E.H.Lee, W.J.Kim, J.Y.Kim et al.//Anesthesiology. – 2016. – Vol. 124, N 5. – P. 1001-1011.

161. Lee, H.T. Differential protective effects of volatile anesthetics against renal ischemia–reperfusion injury in vivo/H.T.Lee, A.Ota-Setlik, Y.Fu et al.//The Journal of the American Society of Anesthesiologists. – 2004. – Vol. 101, N 6. – P. 1313-1324.

162. Lee, H.T. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A1 and A3 receptors/H.T.Lee, C.W.Emala//American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2000. – Vol. 278, N 3. – P. F380-F387.

163. Lee, J. Altered nitric oxide system in cardiovascular and renal diseases/J. Lee, E.H. Bae, S.K.Ma, S.W.Kim//Chonnam medical journal. – 2016. – Vol. 52, N 2. – P. 81-90.

164. Leesar, M.A. 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, N 24. – P. 2935-2941.

165. Lei, C. Nitric oxide decreases acute kidney injury and stage 3 chronic kidney disease after cardiac surgery/C.Lei, L.Berra, E.Rezoagli et al.//American journal of respiratory and critical care medicine. – 2018. – Vol. 198, N 10. – P. 1279-1287.

166. Lei, G. Single-stage hybrid aortic arch repair is associated with a lower incidence of postoperative acute kidney injury than conventional aortic surgery/G.Lei, G.Wang, Q.Liu et al.//Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. – 2019. – Vol. 33, N 12. – P. 3294–3300.

167. Levey, A.S. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report/A.S.Levey, P.E.De Jong, J.Coresh et al.//Kidney international. – 2011. – Vol. 80, N 1. – P. 17-28.

168. Li, S.Y. Proteinuria predicts postcardiotomy acute kidney injury in patients with preserved glomerular filtration rate/S.Y.Li, C.L.Chuang, W.C.Yang, S.J.Lin//The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2015. – Vol. 149, N 3. – P. 894-899.

169. Li, X. Impact of dexmedetomidine on the incidence of delirium in elderly patients after cardiac surgery: a randomized controlled trial/X.Li, J.Yang, X.L.Nie et al.//PloS one. – 2017. – Vol. 12, N 2. – P. e0170757.

170. Ling, Q. Consequences of continuing renin angiotensin aldosterone system antagonists in the preoperative period: a systematic review and meta-analysis/Q.Ling, Y.Gu, J.Chen et al. // BMC anesthesiology. – 2018. – Vol. 18, N 1. – P. 26.

171. Litmathe, J. The impact of pre-and postoperative renal dysfunction on outcome of patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG)/J.Litmathe, M.Kurt, P.Feindt et al. // The Thoracic and cardiovascular surgeon. – 2009. – Vol. 57, N 08. – P. 460-463.

172. Liu, K. Inhaled pulmonary vasodilators: a narrative review/K.Liu, H.Wang, S.J.Yu et al.//Annals of translational medicine. – 2021. – Vol. 9, N 7. – P. 597.

173. Liu, Y. Dexmedetomidine prevents acute kidney injury after adult cardiac surgery: a meta-analysis of randomized controlled trials/Y.Liu, B.Sheng, S.Wang et al.//BMC Anesthesiology. – 2018. – Vol. 18, N 1. – P. 7.

174. 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, N 29. – P. 2726-2729.

175. Lochner, A. 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, N 6. – P. H2752-H2765.

176. Lu, C. Nicorandil improves post-ischemic myocardial dysfunction in association with opening the mitochondrial KATP channels and decreasing hydroxyl radicals in isolated rat hearts/C.Lu, S.Minatoguchi, M.Arai et al.//Circulation Journal. – 2006. – Vol. 70, N 12. – P. 1650-1654.

177. Lyamina, N.P. 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, N 7. – P. CR304-CR310.

178. Lysak, N. Mortality and cost of acute and chronic kidney disease after cardiac surgery/N.Lysak, A.Bihorac, C.Hobson//Current opinion in anaesthesiology. – 2017. – Vol. 30, N 1. – P. 113.

179. Marrazzo, F. Protocol of a randomised controlled trial in cardiac surgical patients with endothelial dysfunction aimed to prevent postoperative acute kidney injury by administering nitric oxide gas/F.Marrazzo, S.Spina, F.Zadek et al.//BMJ open. – 2019. – Vol. 9, N 7. – P. 026848.

180. Martinez-Mier, G. Adhesion molecules in liver ischemia and reperfusion/G.Martinez-Mier, L.H.Toledo-Pereyra, P.A.War//Journal of Surgical Research. – 2000. – Vol. 94, N 2. – P. 185-194.

181. Martinez-Mier, G. P-selectin and chemokine response after liver ischemia and reperfusion1/G.Martinez-Mier, L.H.Toledo-Pereyra, E.J.McDuffie et al.//Journal of the American College of Surgeons. – 2000. – Vol. 191, N 4. – P. 395-402.

182. 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, N 1. – P. 63-75.

183. Medical Management Guidelines for Nitrogen Oxides (NO, NO₂, and others): сайт. — URL:

<https://wwwn.cdc.gov/TSP/MMG/MMGDetails.aspx?mmgid=394&toxid=69> (дата обращения: 31.05.2024).

184. Meersch, M. Perioperative acute kidney injury: an under-recognized problem/M.Meersch, C.Schmidt, A.Zarbock//Anesthesia & Analgesia. – 2017. – Vol. 125, N 4. – P. 1223-1232.

185. Meersch, M. Prevention of cardiac surgery-associated AKI by implementing the KDIGO guidelines in high risk patients identified by biomarkers: the PrevAKI randomized controlled trial/M.Meersch, C.Schmidt, A.Hoffmeier et al.//Intensive care medicine. – 2017. – Vol. 43. – P. 1551-1561.

186. Megson, I. L. Inhibition of human platelet aggregation by a novel S-nitrosothiol is abolished by haemoglobin and red blood cells in vitro: implications for anti-thrombotic therapy/I.L.Megson, N.Sogo, F.A.Mazzei et al.//British journal of pharmacology. – 2000. – Vol. 131, N 7. – P. 1391-1398.

187. Mehta, R.L. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury/R.L.Mehta, J.A.Kellum, S.V.Shah et al. // Critical Care. – 2007. – Vol. 11. – P. 1-8.

188. Mei, M. Efficacy of N-acetylcysteine in preventing acute kidney injury after cardiac surgery: A meta-analysis study/M.Mei, H.W.Zhao, Q.G.Pan et al.//Journal of Investigative Surgery. – 2018. – Vol. 31, N 1. – P. 14-23.

189. Mellgren, K. et al. 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. – N 4. – P. 1194-1198.

190. Menting, T.P. Ischaemic preconditioning for the reduction of renal ischaemia reperfusion injury/T.P.Menting, K.E.Weaver, D.Ozdemir-van Brunschot et al.//Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2017. – N. 3.

191. Mesquita, R. Nitric oxide effects on human erythrocytes structural and functional properties—an in vitro study/R.Mesquita, B.Piçarra, C.Saldanha, J.Martins e Silva//Clinical hemorheology and microcirculation. – 2002. – Vol. 27, N 2. – P. 137-147.

192. Meyer, C. Hemodialysis-induced release of hemoglobin limits nitric oxide bioavailability and impairs vascular function/C.Meyer, C.Heiss, C.Drexhage et al.//Journal of the American College of Cardiology. – 2010. – Vol. 55, N 5. – P. 454–459.

193. Miceli, A. Preoperative anemia increases mortality and postoperative morbidity after cardiac surgery/A.Miceli, F.Romeo, M.Glauber//Journal of Cardiothoracic Surgery. – 2014. – Vol. 9. – P. 1-7.

194. Mikheev, S.S. Circulating nitric oxide metabolites predict outcomes of cardiac surgery for heart failure with reduced ejection fraction /S.S.Mikheev, I.A.Mandel, V.M.Shipulin et al.//European journal of heart failure. – 2017. – Vol. 19. – P. 478-478.

195. Mikheev, S.S. P3605 ADMA/nitrite ratio: possible marker of early post-operative adverse events in HFrEF patients undergoing CABG/S.S.Mikheev, I.A.Mandel, V.M.Shipulin et al.//European Heart Journal. – 2018. – Vol. 39, N suppl_1. – P. ehy563. P3605.

196. Minneci, P.C. Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by decompartmentalized oxyhemoglobin/P.C.Minneci, K.J.Deans, H.Zhi//The Journal of clinical investigation. – 2005. – Vol. 115, N 12. – P. 3409-3417.

197. Mitchell, P. Translocation of some anions cations and acids in rat liver mitochondria/P.Mitchell, J.Moyle//European Journal of Biochemistry. – 1969. – Vol. 9, N 2. – P. 149-155.

198. 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, N 2. – P. 287-289.

199. Morris, J.L. Nitrates in myocardial infarction: influence on infarct size, reperfusion, and ventricular remodelling/J.L.Morris, A.G.Zaman, J.H.Smyllie, J.C.Cowan//Heart. – 1995. – Vol. 73, N. 4. – P. 310-319.

200. Mukaida, H. Oxygen delivery-guided perfusion for the prevention of acute kidney injury: a randomized controlled trial/H. Mukaida, S.Matsushita, T.Yamamoto et

al.//The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2023. – T. 165, N 2. – P. 750-760.

201. Nadim, M.K. Cardiac and vascular surgery–associated acute kidney injury: the 20th international consensus conference of the ADQI (acute disease quality initiative) group/M.K. Nadim, L.G. Forni, A. Bihorac et al.//Journal of the American Heart Association. – 2018. – Vol. 7, N 11. – P. e008834.

202. Nagasaka, Y. 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.

203. Najjar, M. Acute kidney injury after aortic valve replacement: incidence, risk factors and outcomes/M.Najjar, M.Salna, I.George//Expert review of cardiovascular therapy. – 2015. – Vol. 13, N 3. – P. 301-316.

204. Nakai, K. Inhibition of endothelium-dependent relaxation by hemoglobin in rabbit aortic strips: comparison between acellular hemoglobin derivatives and cellular hemoglobins/K.Nakai, T.Ohta, I.Sakuma et al.//Journal of cardiovascular pharmacology. – 1996. – Vol. 28, N 1. – P. 115–123.

205. Nakano, A. 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, N 7. – P. 1159-1167.

206. Naryzhnaya, N.V. Pharmacology of mitochondrial permeability transition pore inhibitors/N.V.Naryzhnaya, L.N.Maslov, P.R.Oeltgen//Drug development research. – 2019. – Vol. 80, N 8. – P. 1013-1030.

207. Nathan, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells/C.Nathan//The FASEB journal. – 1992. – Vol. 6, N 12. – P. 3051-3064.

208. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Acute kidney injury: prevention, detection and management Clinical guideline [CG169] Published: 28 August 2013: сайт. – URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/CG169> (дата обращения: 03.06.2024].

209. Nearman, H. Perioperative complications of cardiac surgery and postoperative care/H.Nearman, J.C.Klick, P.Eisenberg, N.Pesa//Critical Care Clinics. – 2014. – Vol. 30, N 3. – P. 527-555.

210. Nezc, D. Differences in cardiac surgery mortality rates/D.Nezic//European Journal of Cardio-thoracic Surgery: Official Journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery. – 2017. – Vol. 51, N 3. – P. 609-609.

211. Ngu, J.M. Defining an intraoperative hypotension threshold in association with de novo renal replacement therapy after cardiac surgery/J.M.Ngu, H.Jabagi, A.M.Chung et al. // Anesthesiology. – 2020. – Vol. 132, N 6. – P. 1447-1457.

212. Nicolay, J.P. Inhibition of suicidal erythrocyte death by nitric oxide/J.P.Nicolay, G.Liebig, O.M.Niemoeller et al.//Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. – 2008. – Vol. 456. – P. 293-305.

213. Nury, H. Relations between structure and function of the mitochondrial ADP/ATP carrier/H.Nury, C.Dahout-Gonzalez, V.Trezeguet et al.//Annual review of biochemistry. – 2006. – Vol. 75, N 1. – P. 713-741.

214. 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, N 1. – P. 187.

215. Oberg, B.P. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease/B.P.Oberg, E.McMenamin, F.L.Lucas et al.//Kidney international. – 2004. – Vol. 65, N 3. – P. 1009-1016.

216. Ogawa, T. Contribution of nitric oxide to the protective effects of ischemic preconditioning in ischemia-reperfused rat kidneys/T.Ogawa, A.K.Nussler, E.Tuzuner et al.//Journal of Laboratory and Clinical Medicine. – 2001. – Vol. 138, N 1. – P. 50-58.

217. Ohnishi, S.T. A simplified method of quantitating protein using the biuret and phenol reagents/S.T.Ohnishi, J.K.Barr//Analytical biochemistry. – 1978. – Vol. 86, N 1. – P. 193-200.

218. Olson, J.S. No scavenging and the hypertensive effect of hemoglobin-based blood substitutes/J.S.Olson, E.W.Foley, C.Rogge et al.//Free Radical Biology and Medicine. – 2004. – Vol. 36, N 6. – P. 685-697.

219. Olson, J.S. No scavenging and the hypertensive effect of hemoglobin-based blood substitutes/J.S.Olson, E.W.Foley, C.Rogge et al.//Free Radical Biology and Medicine. – 2004. – Vol. 36, N 6. – P. 685–697.

220. Omar, S.A. Nitrite reduction and cardiovascular protection/S.A.Omar, A.J.Webb//Journal of molecular and cellular cardiology. – 2014. – Vol. 73. – P. 57-69.

221. Ono, M. Blood pressure excursions below the cerebral autoregulation threshold during cardiac surgery are associated with acute kidney injury/M.Ono, G.J.Arnaoutakis, D.M.Fine et al.//Critical care medicine. – 2013. – Vol. 41, N 2. – P. 464-471.

222. Ortega-Loubon, C. Acute kidney injury after adult cardiac surgery: Trying to find the magic gun/C.Ortega-Loubon, P.Jorge-Monjas, E.Tamayo//The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2020. – Vol. 159, N 1. – P. 69–70.

223. Ortega-Loubon, C. Postoperative kidney oxygen saturation as a novel marker for acute kidney injury after adult cardiac surgery/C.Ortega-Loubon, M.Fernández-Molina, I.Fierro et al.//The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2019. – Vol. 157, N 6. – P. 2340–2351.

224. Ortega-Loubon, C. Postoperative kidney oxygen saturation as a novel marker for acute kidney injury after adult cardiac surgery/C.Ortega-Loubon, M.Fernández-Molina, I.Fierro et al.//Intensive care medicine. – 2016. – Vol. 42, N 2. – P. 211-221.

225. Ostermann, M. A narrative review of the impact of surgery and anaesthesia on acute kidney injury/M.Ostermann, A.Cennamo, M.Meersch, G.Kunst//Anaesthesia. – 2020. – Vol. 75. – P. e121-e133.

226. Ostermann, M. Cardiac surgery associated AKI prevention strategies and medical treatment for CSA-AKI/M.Ostermann, G.Kunst, E.Baker et al.//Journal of Clinical Medicine. – 2021. – Vol. 10, N 22. – P. 5285.

227. Ostermann, M. Pathophysiology of AKI/M.Ostermann, K.Liu//Best practice & research Clinical anaesthesiology. – 2017. – Vol. 31, N 3. – P. 305-314.

228. Pabla, R. 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, N 1. – P. 65-72.

229. Pallet, N. Involvement of endoplasmic reticulum stress in solid organ transplantation/N.Pallet, N.Bouvier, P.Beaune et al.//Medecine Sciences: M/S. – 2010. – Vol. 26, N 4. – P. 397-403.

230. Parikh, C.R. Postoperative biomarkers predict acute kidney injury and poor outcomes after adult cardiac surgery/C.R.Parikh, S.G.Coca, H.Thiessen-Philbrook et al.//Journal of the American Society of Nephrology. – 2011. – Vol. 22, N 9. – P. 1748-1757.

231. Park, K.M. Inducible nitric-oxide synthase is an important contributor to prolonged protective effects of ischemic preconditioning in the mouse kidney/K.M. Park, J.Y.Byun, C.Kramers et al.//Journal of Biological Chemistry. – 2003. – Vol. 278, N. 29. – P. 27256-27266.

232. Pathak, S. Pharmacological interventions for the prevention of renal injury in surgical patients: a systematic literature review and meta-analysis/S.Pathak, G.Olivieri, W.Mohamed et al.//British Journal of Anaesthesia. – 2021. – Vol. 126, N 1. – P. 131-138.

233. Peng, K. Effect of dexmedetomidine on cardiac surgery-associated acute kidney injury: a meta-analysis with trial sequential analysis of randomized controlled trials/K.Peng, D.Li, R.L.Applegate II et al.//Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2020. – Vol. 34, N 3. – P. 603-613.

234. Peng, K. Society of cardiovascular anesthesiologists clinical practice update for management of acute kidney injury associated with cardiac surgery/K.Peng, D.R.McIlroy, B.A.Bollen et al.//Anesthesia & Analgesia. – 2022. – Vol. 135, N 4. – P. 744-756.

235. Peppia, M. Glycooxidation and inflammation in renal failure patients/M.Peppia, J.Uribarri, W.Cai et al.//American journal of kidney diseases. – 2004. – Vol. 43, N 4. – P. 690-695.

236. Pepper, J.R. Blood cardioplegia increases plasma iron overload and thiol levels during cardiopulmonary bypass/J.R.Pepper, S.Mumby, J.M.C.Gutteridge//The Annals of thoracic surgery. – 1995. – Vol. 60, N 6. – P. 1735–1740.

237. Pepper, J.R. Sequential oxidative damage, and changes in iron-binding and iron-oxidising plasma antioxidants during cardiopulmonary bypass surgery/J.R.Pepper, S.Mumby, J.M.C.Gutteridge//Free radical research. – 1994. – Vol. 21, N 6. – P. 377–385.

238. Petit, P.C. The pathophysiology of nitrogen dioxide during inhaled nitric oxide therapy/P.C.Petit, D.H.Fine, G.B.Vásquez et al.//ASAIO journal. – 2017. – Vol. 63, N 1. – P. 7–13.

239. Piccolo, R. Stable coronary artery disease: revascularisation and invasive strategies/R. Piccolo, G.Giustino, R.Mehran, S.Windecker//Lancet. – 2015, Vol. 386 – N 9994. – P. 702-713.

240. Pickkers, P. Acute kidney injury in the critically ill: an updated review on pathophysiology and management/P.Pickkers, M.Darmon, E.Hoste//Intensive care medicine. – 2021. – Vol. 47, N 8. – P. 835-850.

241. Piknova, B. Electron paramagnetic resonance analysis of nitrosylhemoglobin in humans during NO inhalation/B.Piknova, M.T.Gladwin, A.N. Schechter, N.Hogg//Journal of Biological Chemistry. – 2005. – Vol. 280, N 49. – P. 40583–40588.

242. Piper, H.M. Cellular mechanisms of ischemia-reperfusion injury/H.M. Piper, K. Meuter, C. Schäfer//The Annals of thoracic surgery. – 2003. – Vol. 75, N 2. – P. S644-S648.

243. Pohl, U. Impaired tissue perfusion after inhibition of endothelium-derived nitric oxide/U.Pohl, D.Lamontagne//Endothelial Mechanisms of Vasomotor Control. – Steinkopff, 1991. – P. 97–105.

244. Prediction of acute kidney injury within 30 days of cardiac surgery / S.Y. Ng, M. Sanagou, R. Wolfe et al. // The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2014. – Vol. 147, N 6. – P. 1875-1883. e1.

245. Predictive models for kidney disease: improving global outcomes (KDIGO) defined acute kidney injury in UK cardiac surgery / K. Birnie, V. Verheyden, D. Pagano et al. // Critical Care. – 2014. – Vol. 18, N 1. – P. 1-20.

246. Putzu, A. Perioperative statin therapy in cardiac and non-cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials/A.Putzu, C.M.P.D.de Carvalho E Silva, J.P.de Almeida et al.//Annals of intensive care. – 2018. – Vol. 8. – P. 1-14.

247. Radovskiy, A. M. NO Addition during Gas Oxygenation Reduces Liver and Kidney Injury during Prolonged Cardiopulmonary Bypass/A.M.Radovskiy, A.E.Bautin, A.O.Marichev et al.//Pathophysiology. – 2023. – Vol. 30, N 4. – P. 484–504.

248. Ranucci, M. Goal-directed perfusion to reduce acute kidney injury: a randomized trial/M.Ranucci, I.Johnson, T.Willcox et al.//The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2018. – Vol. 156, N 5. – P. 1918-1927. e2.

249. Rao, V. Inhaled nitric oxide (iNO) and inhaled epoprostenol (iPGI2) use in cardiothoracic surgical patients: is there sufficient evidence for evidence-based recommendations?/V.Rao, K.Ghadimi, W.Keeyapaj et al.//Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia. – 2018. – Vol. 32, N 3. – P. 1452-1457.

250. Ratnam, S. The regulation of superoxide generation and nitric oxide synthesis by C-reactive protein/S.Ratnam, S.Mookerjee//Immunology. – 1998. – Vol. 94, N 4. – P. 560.

251. Reiter, C.D. 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, N 12. – P. 1383-1389.

252. Reiter, C.D. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease/C.D.Reiter, X.Wang, J.E.Tanus-Santos et al.//Nat. Med. – 2002. – Vol. 8, N. – P. 1383–1389.

253. Revin, V.V. Effects of polyphenol compounds and nitrogen oxide donors on lipid oxidation, membrane-skeletal proteins, and erythrocyte structure under hypoxia./V.V.Revin, N.V.Gromova, E.S.Revina et al.//BioMed Research Internation. – 2019.

254. Rother, R.P. The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin/R.P.Rother, L.Bell, P.Hillmen et al.//JAMA. – 2005. – Vol. 293. – P. 1653–1662.

255. Russell, W.M. S. The principles of humane experimental technique/W.M.S.Russell, R.L.Burch, C.W.Hume.//London:Methuen. – 1959. – Vol. 238. – P. 1-229.

256. Sadrzadeh, S. M. Hemoglobin. A biologic fenton reagent/S.M.Sadrzadeh, E.Graf, S.S.Panter et al.//Journal of Biological Chemistry. – 1984. – Vol. 259, N 23. – P. 14354-14356.

257. Salloum, F. 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, N 6. – P. 595-597.

258. Sasaki, N. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide/N.Sasaki, T.Sato, A.Ohler et al.//Circulation. – 2000. – Vol. 101, N 4. – P. 439-445.

259. Sato, R. The impact of right ventricular injury on the mortality in patients with acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis/R.Sato, S.Dugar, W.Cheungpasitporn et al.//Critical Care. – 2021. – Vol. 25, N 1. – P. 172.

260. Schäfer, A. Rapid regulation of platelet activation in vivo by nitric oxide/A.Schäfer, F.Wiesmann, S.Neubauer et al.//Circulation. – 2004. – Vol. 109, N 15. – P. 1819-1822.

261. Schmidt, R.J. Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis/R.J.Schmidt, S.Yokota, T.S.Tracy et al.//American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 1999. – Vol. 276, N 5. – P. F794-F797.

262. Scrascia, G. Anti-inflammatory strategies to reduce acute kidney injury in cardiac surgery patients: a meta-analysis of randomized controlled trials/G.Scrascia, P. Guida, C.Rotunno et al.//Artificial Organs. – 2014. – Vol. 38, N 2. – P. 101-112.

263. Shavit, L. Influence of minimal changes in preoperative renal function on outcomes of cardiac surgery/L.Shavit, R.Tauber, M.Lifschitz et al.//Kidney and Blood Pressure Research. – 2013. – Vol. 35, N 6. – P. 400-406.

264. Shinmura, K. 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, N 5. – P. 602-608.

265. Signori, D. Inhaled nitric oxide: role in the pathophysiology of cardio-cerebrovascular and respiratory diseases/D.Signori, A.Magliocca, K.Hayashida et al.//Intensive Care Medicine Experimental. – 2022. – Vol. 10, N 1. – P. 28.

266. Smith, M.N.A. The effect of mannitol on renal function after cardiopulmonary bypass in patients with established renal dysfunction /M.N.A.Smith, D.Best, S.V.Sheppard, D.C.Smith et al. // Anaesthesia. – 2008. – Vol. 63, N 7. – P. 701-704.

267. Soh, S. Effect of dexmedetomidine on acute kidney injury after aortic surgery: a single-centre, placebo-controlled, randomised controlled trial/S.Soh, J.K.Shim, J.W.Song et al.//British Journal of Anaesthesia. – 2020. – Vol. 124, N 2. – P. 386-394.

268. Spencer, S. Leukodepletion for patients undergoing heart valve surgery/S.Spencer, A.Tang, E.Khoshbin // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2013, N 7.

269. Strong, C. Hemodynamic effects and potential clinical implications of inhaled nitric oxide during right heart catheterization in heart transplant candidates/C.Strong, L.Raposo, M.Castro et al.//ESC Heart Failure. – 2020. – Vol. 7, N 2. – P. 673-681.

270. Sullivan, P.G. Meta-analysis comparing established risk prediction models (EuroSCORE II, STS Score, and ACEF Score) for perioperative mortality during cardiac surgery/P.G.Sullivan, J.D.Wallach, J.P.A.Ioannidis//The American journal of cardiology. – 2016. – Vol. 118, N 10. – P. 1574-1582.

271. Sun, H. Does fenoldopam protect kidney in cardiac surgery? A systemic review and meta-analysis with trial sequential analysis/H.Sun, Q.Xie, Z.Peng//Shock. – 2019. – Vol. 52, N 3. – P. 326-333.

272. Szabo, A.J. Renal neuronal nitric oxide synthase protein expression as a marker of renal injury/A.J.Szabo, L.Wagner, A.Erdely et al.//Kidney international. – 2003. – Vol. 64, N 5. – P. 1765-1771.

273. Tai, Y.H. High-dose nitroglycerin administered during rewarming preserves erythrocyte deformability in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass/Y.H.Tai, Y.H.Chu, H.L.Wu et al.//*Microcirculation*. – 2020. – Vol. 27, N 4. – P. e12608.

274. Tai, Y.H. Intravenous loading of nitroglycerin during rewarming of cardiopulmonary bypass improves metabolic homeostasis in cardiac surgery: a retrospective analysis/Y.H.Tai, K.Y.Chang, S.W.Liao et al.//*Journal of anesthesia*. – 2016. – Vol. 30. – P. 779-788.

275. Tang, X.L. 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. 6, N 33. – P. A120.

276. Thakar, C.V. A clinical score to predict acute renal failure after cardiac surgery/C.V.Thakar, S.Arrigain, S.Worley et al.//*Journal of the American Society of Nephrology*. – 2005. – Vol. 16, N 1. – P. 162-168.

277. Thakar, C.V. Influence of renal dysfunction on mortality after cardiac surgery: modifying effect of preoperative renal function/C.V.Thakar, S.Worley, S.Arrigain et al.//*Kidney international*. – 2005. – Vol. 67, N 3. – P. 1112-1119.

278. Thambyrajah, J. Abnormalities of endothelial function in patients with predialysis renal failure/J.Thambyrajah, M.J.Landray, F.J.McGlynn et al.//*Heart*. – 2000. – Vol. 83, N 2. – P. 205-209.

279. Tinker, A. ATP-Sensitive potassium channels and their physiological and pathophysiological roles/A.Tinker, Q.Aziz, Y.Li, M.Specterman//*Comprehensive Physiology*. – 2018. – Vol. 8, N 4. – P. 1463–1511.

280. Tizianello, A. Renal metabolism of amino acids and ammonia in subjects with normal renal function and in patients with chronic renal insufficiency/A. Tizianello, G.De Ferrari, G.Garibotto et al.//*The Journal of clinical investigation*. – 1980. – Vol. 65, N 5. – P. 1162-1173.

281. Turan, A. Dexmedetomidine for reduction of atrial fibrillation and delirium after cardiac surgery (DECADE): a randomised placebo-controlled trial/A.Turan, A.Duncan, S.Leung et al.//The Lancet. – 2020. – Vol. 396, N 10245. – P. 177-185.

282. Vallance, P. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure/P.Vallance, A.Leone//Lancet (British edition). – 1992. – Vol. 339, N 8793. – P. 572-575.

283. Vercaemst, L. Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: a review in search of a treatment algorithm/L.Vercaemst//The Journal of extra-corporeal Technology. – 2008. – Vol. 40, N 4. – P. 257-267.

284. Vincent, J.L. Circulatory shock/J.L.Vincent, D.De Backer//New England Journal of Medicine. – 2013. – Vol. 369, N 18. – P. 1726-1734.

285. Vondriska, T.M. Protein Kinase C ϵ -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, N 12. – P. 1306-1313.

286. Wagener, F.A. Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase/F.A.Wagener, A.Eggert, O.C.Boerman et al.//Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 98(6), 1802-1811. – 2001. – Vol. 98, N 6. – P. 1802-1811.

287. Wagener, G. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery/G.Wagener, M.Jan, M.Kim et al.//The Journal of the American Society of Anesthesiologists. – 2006. – Vol. 105, N 3. – P. 485-491.

288. Wahba, A. 2019 EACTS/EACTA/EBCP guidelines on cardiopulmonary bypass in adult cardiac surgery/A.Wahba, M.Milojevic, C.Boer et al.//European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. – 2020. – Vol. 57, N 2. – P. 210-251.

289. Wahbi, N. Dimethylarginines in chronic renal failure/N.Wahbi, R.N.Dalton, C.Turner et al.//Journal of clinical pathology. – 2001. – Vol. 54, N 6. – P. 470-473.

290. Wang, H. Endothelial nitric oxide synthase decreases β -adrenergic responsiveness via inhibition of the L-type Ca^{2+} current/H.Wang, M.J.Kohr, D.G.Wheeler, M.T.Ziolo//American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2008. – Vol. 294, N 3. – P. H1473-H1480.

291. Wang, Y. 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, N 1. – P. 5-15.

292. Wever, K.E. Ischemic preconditioning in the animal kidney, a systematic review and meta-analysis/K.E.Weaver, T.P.Menting, M.Rovers et al.//PloS one. – 2012. – Vol. 7, N 2. – P. e32296.

293. Wever, R. Nitric oxide production is reduced in patients with chronic renal failure/R.Weaver, P.Boer, M.Hijmering et al.//Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 1999. – Vol. 19, N 5. – P. 1168-1172.

294. Weyrich, A.S. The role of L-arginine in ameliorating reperfusion injury after myocardial ischemia in the cat/A.S.Weyrich, X.L.Ma, A.M.Lefer et al.//Circulation. – 1992. – Vol. 86, N 1. – P. 279-288.

295. Windsant, I.C.V. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage/I.C.V.Windsant, N.C.de Wit, J.T.Sertorio et al.//Frontiers in physiology. – 2014. – Vol. 5. – P. 340.

296. Windsant, I.C.V. Hemolysis is associated with acute kidney injury during major aortic surgery/I.C.V.Windsant, M.G.Snoeijs, S.J.Hanssen et al.//Kidney international. – 2010. – Vol. 77, N10. – P. 913–920.

297. Windsant, I.C.V.J. Cardiovascular surgery and organ damage: time to reconsider the role of hemolysis/I.C.V.J.Windsant, S.J.Hanssen, W.A.Buurman, M.J.Jacobs//The Journal of thoracic and cardiovascular surgery. – 2011. – Vol. 142, N 1. – P. 1-11.

298. Winterhalter, M. Comparison of inhaled iloprost and nitric oxide in patients with pulmonary hypertension during weaning from cardiopulmonary bypass in cardiac

surgery: a prospective randomized trial/M. Winterhalter, A.Simon, S.Fischer et al.//Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2008. – Vol. 22, N 3. – P. 406-413.

299. Wong, B. Validating a scoring tool to predict acute kidney injury (AKI) following cardiac surgery/B.Wong, J.St.Onge, S.Korkola, B.Prasad//Canadian Journal of Kidney Health and Disease. – 2015. – Vol. 2. – P. 37.

300. Work Group Acute Kidney Injury. Acute Kidney Injury, Work Group Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO), Section 2: AKI Definition/Work Group Acute Kidney Injury//KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. – 2012. – Vol. 2, N 1. – P. 19-36.

301. Wright, G. Haemolysis during cardiopulmonary bypass: update/G.Wright//Perfusion. – 2001. – Vol. 16, N 5. – P. 345–351.

302. Wu, G. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond/G.Wu, S.M.Morris Jr//Biochemical Journal. – 1998. – Vol. 336, N 1. – P. 1-17.

303. Wu, V.C. Long-term risk of coronary events after AKI/V.C.Wu, C.H.Wu, T.M.Huang et al.//Journal of the American Society of Nephrology: JASN. – 2014. – Vol. 25, N 3. – P. 595–605.

304. Xia, C. Phosphorylation and regulation of G-protein-activated phospholipase C- β 3 by cGMP-dependent protein kinases/C.Xia, Z.Bao, C.Yue et al.//Journal of Biological Chemistry. – 2001. – Vol. 276, N 23. – P. 19770-19777.

305. Xiao, S. Plasma from ESRD patients inhibits nitric oxide synthase activity in cultured human and bovine endothelial cells/S.Xiao, C.Baylis// Acta physiologica scandinavica. – 2000. – Vol. 168, N 1. – P. 175-179.

306. Xiao, S. Uremic levels of urea inhibit L-arginine transport in cultured endothelial cells/S.Xiao, L.Wagner, J.Mahaney, C.Baylis et al.//American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2001. – Vol. 280, N 6. – P. F989-F995.

307. Xu, J.R. Risk factors for long-term mortality and progressive chronic kidney disease associated with acute kidney injury after cardiac surgery/J.R. Xu, J.M.Zhu, J.Jiang et al.//Medicine. – 2015. – Vol. 94, N 45. – P. e2025.

308. Xuan, Y.T. 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, N 16. – P. 9050-9055.

309. Xuan, Y.T. Biphasic response of cardiac NO synthase isoforms to ischemic preconditioning in conscious rabbits/Y.T.Xuan, X.L.Tang, Y.Qiu et al.//American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. – 2000. – Vol. 279, N 5. – P. H2360-H2371.

310. Yallop, K.G. The effect of mannitol on renal function following cardiopulmonary bypass in patients with normal pre-operative creatinine/K.G.Yallop, S.V.Sheppard, D.C.Smith//Anaesthesia. – 2008. – Vol. 63, N 6. – P. 576-582.

311. Yamashita, H. Inhaled nitric oxide attenuates apoptosis in ischemia-reperfusion injury of the rabbit lung/H.Yamashita, S.Akamine, Y.Sumida et al.//The annals of thoracic surgery. – 2004. – Vol. 78, N 1. – P. 292-297.

312. Yamasowa, H. Endothelial nitric oxide contributes to the renal protective effects of ischemic preconditioning/H.Yamasowa, S.Shimizu, T.Inoue et al.//Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2005. – Vol. 312, N 1. – P. 153-159.

313. Yazer, M.H. A comparison of hemolysis and red cell mechanical fragility in blood collected with different cell salvage suction devices/M.H.Yazer, J.H.Waters, K.R.Elkin et al.//Transfusion. – 2008. – Vol. 48, N 6. – P. 1188-1191.

314. Yoo, Y. C. Anesthetics influence the incidence of acute kidney injury following valvular heart surgery/Y.C.Yoo, J.K.Shim, Y.Song et al.//Kidney international. – 2014. – Vol. 86, N 2. – P. 414-422.

315. Yoshiyasu, N. Current status of inhaled nitric oxide therapy for lung transplantation in Japan: A nationwide survey/N.Yoshiyasu, M.Sato, D.Nakajima et al.//General Thoracic and Cardiovascular Surgery. – 2021. – Vol. 69, N 10. – P. 1421-1431.

316. Yu, B. Inhaled nitric oxide/B.Yu, F.Ichinose, D.B.Bloch, W.M.Zapol//British journal of pharmacology. – 2019. – Vol. 176, N 2. – P. 246-255.

317. Zarbock, A. Prevention of cardiac surgery-associated acute kidney injury by implementing the KDIGO guidelines in high-risk patients identified by biomarkers: The PrevAKI-multicenter randomized controlled trial/A.Zarbock, M.Küllmar, M.Ostermann et al.//Anesthesia & Analgesia. – 2021. – Vol. 133, N 2. – P. 292-302.

318. Zarbock, A. Update on perioperative acute kidney injury/A. Zarbock, J.L. Koyner, E.A.Hoste, J.A.Kellum//Anesthesia & Analgesia. – 2018. – Vol. 127, N 5. – P. 1236-1245.

319. Zhang, W.R. Plasma IL-6 and IL-10 concentrations predict AKI and long-term mortality in adults after cardiac surgery/W.R.Zhang, A.X.Garg, S.G.Coca et al.//Journal of the American Society of Nephrology. – 2015. – Vol. 26, N 12. – P. 3123-3132.

320. Zhang, X.Z. L-arginine supplementation in young renal allograft recipients with chronic transplant dysfunction/X.Z. Zhang, G.Ardissino, L.Ghio et al.//Clinical nephrology. – 2001. – Vol. 55, N 6. – P. 453-459.

321. Zhao, T. 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, N 8. – P. 902-907.

322. Zhou, H. Acute kidney injury after total arch replacement combined with frozen elephant trunk implantation: incidence, risk factors, and outcome/H.Zhou, G.Wang, L.Yang et al.//Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia. – 2018. – Vol. 32, N 5. – P. 2210–2217.

323. Zhou, Z. Hemoglobin blocks von Willebrand factor proteolysis by ADAMTS-13: a mechanism associated with sickle cell disease/Z.Zhou, H.Han, M.A.Cruz et al.//Thrombosis and haemostasis. – 2009. – Vol. 101, N 06. – P. 1070-1077.

324. Zoccali, C. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients/C.Zoccali, F.Mallamaci, R.Maas et al.//Kidney international. – 2002. – Vol. 62, N 1. – P. 339-345.

325. Zoccali, C. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study/C.Zoccali, S.M.Bode-Böger, F.Mallamaci et al.//The Lancet. – 2001. – Vol. 358, N 9299. – P. 2113-2117.