

Защита кишечника за счет доставки оксида азота при моделировании искусственного кровообращения и «циркуляторного ареста»: экспериментальное исследование

Ю.К.Подоксенов, Е.А.Чурилина , Н.О.Каменщиков, О.Н.Дымбрылова, Б.Н.Козлов

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»: 634012, Россия, Томск, ул. Киевская, 111А

Резюме

Кардиохирургия сопряжена с высоким риском осложнений и этот риск возрастает, когда идет речь о хирургии аорты, что напрямую связано с технической сложностью проведения операций, использованием искусственного кровообращения (ИК) и «циркуляторного ареста» (ЦА), что приводит к ишемически-реперфузионным повреждениям. Абдоминальные осложнения в сердечно-сосудистой хирургии не занимают лидирующих позиций, но сопровождаются высокой летальностью. Защита органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) от ишемически-реперфузионных повреждений до сих пор является серьезной проблемой. По данным исследования органо-протективных свойств оксида азота (NO) доказана его эффективность при лечении заболеваний сердечно-сосудистой, легочной системы и почек, а по результатам наблюдений показано, что пациенты, которым осуществлялась доставка NO, в меньшей степени были подвержены осложнениям со стороны ЖКТ. **Целью** исследования явилось изучение протективных свойств NO для кишечника во время моделирования операции в условиях ИК и гипотермического ЦА. **Материалы и методы.** Исследование проводилось на баранах ($n = 24$). Животные были распределены на 4 группы: в группе «ИК» проводился стандартный протокол ИК, в группе «ИК + NO» – ИК с доставкой NO, в группе «ИК + ЦА» – стандартный протокол ИК и ЦА, в группе «ИК + ЦА + NO» – ИК и ЦА с доставкой NO. На всех этапах эксперимента осуществлялся инструментальный и лабораторный мониторинг с целью оценки эффективности и безопасности моделирования ИК и ЦА. В биоптатах кишечника оценивались динамика темпа дефекации, концентрация биохимического маркера ишемии кишечника (*intestinal enterocyte fatty acid binding protein* – i-FABP), тканевая концентрация аденозинтрифосфата (АТФ) и лактата. **Результаты.** В группе «ИК + NO» после ИК по сравнению с животными группы «ИК» установлен более высокий темп дефекации ($p = 0,046$). После ИК в группе «ИК + NO» концентрация i-FABP была ниже по сравнению с таковой в группе «ИК» ($p = 0,002$), а в группе «ИК + ЦА + NO» – ниже по сравнению с животными группы «ИК + ЦА» ($p = 0,033$). Через 1 ч после ИК тканевая концентрация АТФ в биоптатах кишечника в группе «ИК + NO» была больше, чем в группе «ИК» ($p = 0,005$). **Заключение.** При моделировании ИК и ЦА в эксперименте отмечено положительное влияние терапии NO на кишечник: улучшилось функциональное состояние, снизилась концентрация i-FABP, увеличилась концентрация АТФ в биоптатах кишечника.

Ключевые слова: оксид азота, «Тианокс», защита кишечника, i-FABP, сердечно-сосудистая хирургия, «циркуляторный арест».

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования на создание новой Лаборатории медицины критических состояний (Распоряжение Министерства науки и высшего образования МН-8/1284 от 24.10.22).

Этическая экспертиза. Все выполняемые процедуры осуществлялись в испытательной лаборатории согласно нормам приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.16, принципам надлежащей лабораторной практики (ГОСТ 33044-2014) и руководству J.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 осуществлялись во время хирургической стадии наркоза. Исследование выполнено в соответствии с международными стандартами гуманного обращения с животными и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.10 по охране животных, а также согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.16. Исследование проведено в лаборатории на базе отделений анестезиологии-реанимации и сердечно-сосудистой хирургии и одобрено местным комитетом по биомедицинской этике Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (одобрение № 230 от 28.06.22).

© Подоксенов Ю.К. и соавт., 2024

Для цитирования: Подоксенов Ю.К., Чурилина Е.А., Каменщиков Н.О., Дымбрылова О.Н., Козлов Б.Н. Защита кишечника за счет доставки оксида азота при моделировании искусственного кровообращения и «циркуляторного ареста»: экспериментальное исследование. *Пульмонология*. 2024; 34 (3): 375–384. DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-3-375-384

Intestinal protection by nitric oxide supply in the simulation of artificial blood circulation and circulatory arrest: an experimental study

Yuriy K. Podoksenov, Elena A. Churilina , Nikolay O. Kamenshchikov, Ochirma N. Dymbrylova, Boris N. Kozlov

Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences”: ul. Kievskaya 111A, Tomsk, 634012, Russia

Abstract

Cardiac surgery is associated with high risks of complications, and these risks increase when it comes to aortic surgery because of the technical complexity of the surgeries, the use of cardiopulmonary bypass (CPB) and “circulatory arrest” (CA) that leads to ischemia-reperfusion damage. Abdominal complications in cardiovascular surgery are not the most common complications but are associated with high mortality. Protecting the gastrointestinal (GI) organs from ischemia-reperfusion injury is still a serious problem. According to a study of the organoprotective properties of nitric oxide (NO), its effectiveness in the treatment of diseases of the cardiovascular system, lungs, and kidneys has been proven, and observational results have shown that patients who were administered NO were less prone to complications from the gastrointestinal tract. **The aim** of the study was to evaluate the protective properties of NO for the intestines during simulated surgery under CPB and hypothermic CA. **Methods.** The study was conducted on sheep ($n = 24$). The animals were divided into 4 groups: the “CPB” group with the standard CPB protocol, the “CPB + NO” group with CPB and NO administration, the “CPB + CA” group with the standard CPB and CA protocol, and the group “CPB + CA + NO” with CPB and CA and NO administration. Instrumental and laboratory parameters were monitored at all stages of the experiment to assess the effectiveness and safety of CPB and CA simulation. In intestinal biopsy samples, the changes in the defecation rate, the concentration of a biochemical marker of intestinal ischemia (intestinal enterocyte fatty acid binding protein – i-FABP), and tissue concentrations of adenosine triphosphate (ATP) and lactate were assessed. **Results.** A higher rate of defecation was established ($p = 0.046$) in the “CPB + NO” group after CPB compared to the “CPB” group. The concentration of i-FABP in the CPB + NO group after CPB was lower compared to that in the CPB group ($p = 0.002$), and it was lower in the “CPB + CA + NO” group compared to the “CPB + CA” group ($p = 0.033$). 1 hour after CPB, the tissue concentration of ATP in intestinal biopsies in the “CPB + NO” group was higher than in the CPB group ($p = 0.005$). **Conclusion.** When modeling CPB and CA in the experiment, a positive effect of NO therapy on the intestine was noted: the functional state improved, the concentration of i-FABP decreased, and the concentration of ATP in intestinal biopsies increased.

Key words: nitric oxide, Tianox, intestinal protection, i-FABP, cardiovascular surgery, circulatory arrest.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was conducted with the financial support in form of a grant by the Ministry of Higher Education and Science for the creation of a new laboratory “Laboratory of Critical Care Medicine” (Order of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation MN-8/1284 of 24.10.22).

Ethical review. All procedures were carried out in a laboratory in accordance with the standards set by the Order of the Ministry of Health No.199n “On Approval of the Rules of Good Laboratory Practice”, dated 04.01.16, GOST 33044-2014 “The Principles of Good Laboratory Practice” and the J.C.Garber manual “Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition National Research Council” (2011). All painful procedures and withdrawal of animals from the experiment were carried out during the surgical stage of anesthesia. The study was carried out in accordance with international standards for the humane treatment of animals and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union dated 09.22.10 on animal welfare. The study was conducted in a laboratory based in the departments of anesthesiology and resuscitation and cardiovascular surgery and approved by the local biomedical ethics committee of the Research Institute of Cardiology of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences” (approval No.230 dated 06.28.22).

© Podoksenov Yu.K. et al., 2024

For citation: Podoksenov Yu.K., Churilina E.A., Kamenshchikov N.O., Dymbrylova O.N., Kozlov B.N. Intestinal protection by nitric oxide supply in the simulation of artificial blood circulation and circulatory arrest: an experimental study. *Pul'monologiya*. 2024; 34 (3): 375–384 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-3-375-384

По данным Ассоциации сердечно-сосудистых хирургов, на сегодняшний день в России проводится около 300 тыс. кардиохирургических операций в год, около 50 тыс. из них — в условиях искусственного кровообращения (ИК). ИК с «циркуляторным арестом» (ЦА) в условиях гипотермии несет высокие риски развития ишемически-реперфузионных повреждений органов, развития системного воспалительного ответа, оксидативного стресса и истощения запасов энергетических субстратов, что в дальнейшем может привести к развитию сердечно-сосудистой, почечной, дыхательной недостаточности, а также абдоминальных осложнений [1]. На сегодняшний день, согласно разным литературным источникам, считается, что абдоминальные осложнения в кардиохирургии занимают незначительную часть послеоперационных осложнений, частота встречаемости гастроинтестинальных осложнений составляет $\leq 5\%$, но в случае их развития летальность среди таких пациентов достигает 70–100 % [2].

Влияние оксида азота (NO) на органы желудочно-кишечного тракта изучается на протяжении многих лет, а молекула NO часто упоминается в литературе [3]. NO участвует в обеспечении моторной функции желудочно-кишечного тракта, регулирует поступление желчи в кишечник и является одним из важных факторов защиты слизистой желудка путем воздействия на ее кровоснабжение, защищает гепатоциты

от действия ряда токсичных веществ, выступает в роли антиоксиданта [4]. Активное изучение NO обусловлено его разнонаправленными действиями. Сегодня он успешно применяется в неонатологии в борьбе с легочной гипертензией. Благодаря органопротективным свойствам NO активно внедряется в практику кардиохирургии с целью защиты миокарда и почек [5, 6], однако исследований и данных о том, сможет ли экзогенный NO защитить органы спланхической системы во время кардиохирургических операций, не обнаружено. Представляется перспективным изучение возможности использования экзогенного NO для восполнения его дефицита, улучшения тканевой перфузии кишечника, оптимизации митохондриального дыхания в эксперименте на животных с моделированием ИК и ЦА.

Целью исследования являлось изучение протективных свойств NO для кишечника во время моделирования операции в условиях ИК и гипотермического ЦА.

Материалы и методы

Проведено одноцентровое проспективное рандомизированное контролируемое исследование в соответствии с международными стандартами гуманного обращения с животными и директивой 2010/63/EU

Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.10 по охране животных, используемых в научных целях.

Работа выполнялась на базе отделения анестезиологии-реанимации Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Объектом исследования явились бараны алтайской породы ($n = 24$) массой тела 30–34 кг. Все животные были распределены на 4 равные группы по 6 баранов в каждой. Исследование проводилось по схеме, представленной на рис. 1.

Эксперимент во всех 4 группах начинался с масочной индукции анестезии севофлураном для катетеризации большой подкожной вены задней конечности, начала вводной анестезии и инфузии. Вводная анестезия выполнялась дробным введением 1%-ного пропофола до появления признаков анестезии, после чего на фоне спонтанного дыхания выполнялась прямая ларингоскопия с последующей оротрахеальной интубацией эндотрахеальной трубкой № 6,5, после начиналась искусственная вентиляция легких (ИВЛ) с помощью аппарата *Puritan Bennett 760*.

На протяжении всего эксперимента с целью поддержания анестезии выполнялась инфузия пропофола 6 мг / кг / ч, для нервно-мышечной блокады вводился ардуан в дозе 0,1 мг / кг.

Для инвазивного измерения артериального давления (АД) и забора образцов крови для лабораторного анализа хирургическим путем выделялась и катетеризовалась общая сонная артерия катетером 20G. Для инфузионной терапии, инотропной и вазопрессорной поддержки канюлировалась внутренняя яремная вена двухпросветным катетером 7F.

При расширенном мониторинге во время эксперимента выполнялись электрокардиография, инвазивное измерение АД, пульсоксиметрия, капнография и термометрия с помощью мониторинговой системы *Nihon Kohden BSM-4104A* (Япония) с установлением термодатчика в пищевод, а в группах с моделированием ЦА дополнительно устанавливался датчик в прямую кишку; также во всех группах осуществлялся контроль диуреза.

После катетеризации сосудов осуществлялась правосторонняя торакотомия по IV межреберью.

Для осуществления ИК использовались аппарат ИК *Maquet Jostra HL20* и неонатальный оксигенатор *Kids D100 (Dideco, Италия)*. ИК выполнялось в непulsирующем режиме. Подключение аппарата ИК осуществлялось по схеме «аорта – верхняя полая вена – нижняя полая вена». Среднее АД во время ИК поддерживалось на уровне 50–60 мм рт. ст. В группах «ИК + ЦА» и «ИК + ЦА + NO» ЦА начинался по достижении эзофагеальной температуры 30 °С: выполнялась окклюзия нисходящей аорты, снижался перфузионный индекс до 1 л / мин / м² в течение 15 мин. После истечения 15 мин осуществлялись отжатие нисходящей аорты, реперфузия и согревание до 36,6 °С. Общее время ИК во всех группах составляло 90 мин. Для обеспечения гипокоагуляции во время ИК использовался гепарин в дозе 3 мг / кг с поддержанием уровня времени активированного свертывания > 450 с.

Для доставки NO использовался образец установки плазмохимического синтеза NO («Тианокс»). В группах «ИК + NO» и «ИК + ЦА + NO» доставка ингаляционного NO начиналась после интубации через модифицированный контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm, вначале ИК – через модифицированный контур экстракорпоральной циркуляции в течение 90 мин, после отлучения от ИК подача NO продолжалась.



Рис. 1. Графическая схема дизайна исследования

Примечание: ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – «циркуляторный арест».

Figure 1. Flow chart of the study design

лась через модифицированный контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 1 ч.

В группах «ИК» и «ИК + ЦА» осуществлялась стандартная методика ИВЛ и ИК по протоколу, регламентированному Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

С целью контроля и безопасности во время эксперимента непрерывно осуществлялся мониторинг концентрации доставляемых NO и NO₂, а также уровня метгемоглобина (MetHb) в крови. Максимально допустимой считалась концентрация NO₂ до 2 ppm, максимальный уровень MetHb — до 3 %. На рис. 2, 3 представлены 2 схемы с иллюстрацией доставки NO через модифицированный контур ИВЛ (см. рис. 2) и модифицированный контур экстракорпоральной циркуляции (см. рис. 3).

Для оценки эффективности терапии NO и безопасности проведения эксперимента во всех группах на этапах до ИК, после ИК, через 1 ч после ИК оценивались темп дефекации (г / ч), диурез, кислотно-основное состояние, газовый состав крови, концентрация электролитов, лактата, глюкозы, показатели гемоглобина, гематокрита, MetHb.

С целью оценки степени повреждения кишечника при моделировании ИК и ЦА оценивался биохимиче-

ский маркер ишемии кишечника (*intestinal enterocyte fatty acid binding protein* — i-FABP), для этого во время эксперимента выполнялся забор крови на этапах до и после ИК.

Через 1 ч после отлучения от ИК выполнялся забор биоптата ткани кишечника для определения содержания тканевой концентрации аденозинтрифосфата (АТФ) и лактата.

Конечными точками исследования являлись темп дефекации, концентрация маркера i-FABP в плазме, тканевая концентрация АТФ в биоптате кишечника.

Определение содержания биохимического маркера ишемии кишечника в плазме крови

Цельная кровь собиралась в вакутейнеры с этилендиаминтетрауксусной кислотой (*Becton Dickinson, Franklin Lakes, Нью-Джерси, США*) и немедленно помещалась в холодильник. После получения проб со всех этапов все образцы центрифугировались в течение 10 мин при 3 500 об. / мин, полученная плазма разливалась по пробиркам Эппендорфа и хранилась в морозильной камере до дальнейшего анализа. После получения всех проб в соответствии с инструкциями производителя использовался коммерчески доступный твердофазный иммуоферментный анализ для обнаружения i-FABP (*Hycult Biotech, Uden, Нидерланды*).

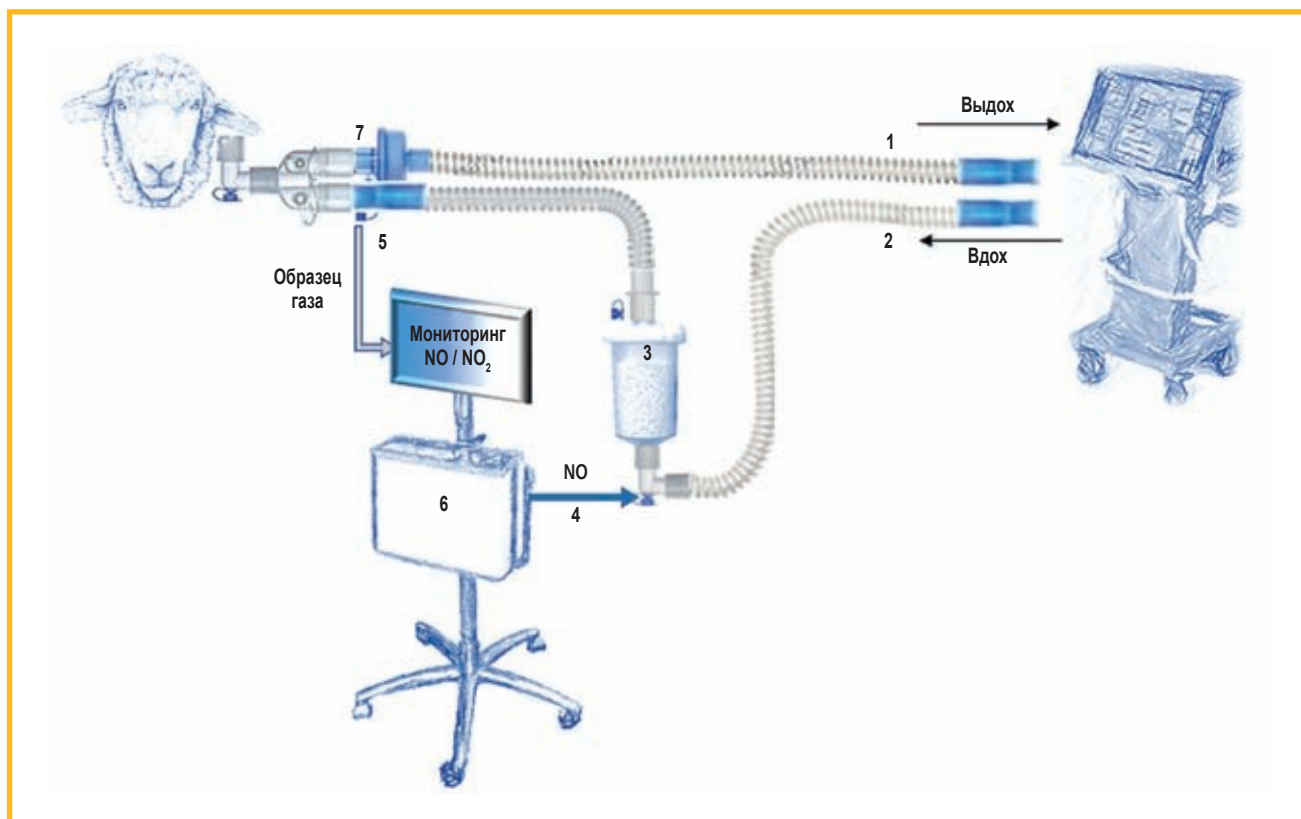


Рис. 2. Схема доставки оксида азота через контур аппарата искусственной вентиляции легких

Примечание: NO — оксид азота; 1 — контур выдоха; 2 — контур вдоха; 3 — абсорбер; 4 — линия для NO доставки в контур вдоха; 5 — линия забора образца газа; 6 — экспериментальный образец установки плазмохимического синтеза оксида азота; 7 — гидрофобный вирусобактериальный фильтр.

Figure 2. Schematic representation of nitric oxide delivery through the ventilator circuit

Note: NO — nitric oxide; 1 — exhalation circuit; 2 — inhalation circuit; 3 — absorber; 4 — line for NO delivery to the inspiratory circuit; 5 — gas sampling line; 6 — experimental sample of the installation for plasma-chemical synthesis of nitrogen oxide; 7 — hydrophobic viral and bacterial filter.

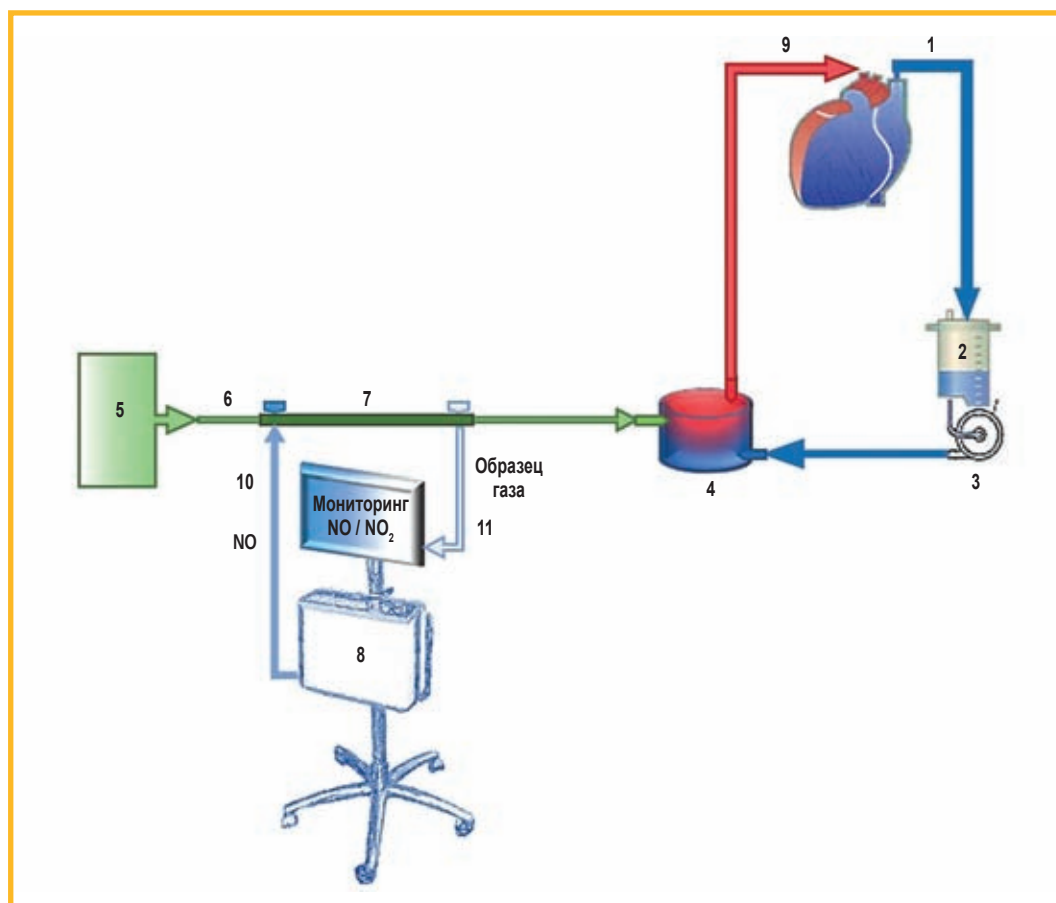


Рис. 3. Схема доставки оксида азота через газоздушную магистраль контура аппарата искусственного кровообращения

Примечание: NO – оксид азота; 1 – венозная магистраль; 2 – кардиотомный резервуар; 3 – роликовый насос; 4 – оксигенатор; 5 – смеситель газов; 6 – линия продувочного газа; 7 – встроенные в линию 2 переходника $\frac{1}{4}$ с разъемом Люэра; 8 – экспериментальный образец установки плазмохимического синтеза NO; 9 – артериальная магистраль; 10 – линия доставки NO; 11 – линия забора образца газа.

Figure 3. Schematic representation of nitric oxide delivery through the gas-air line of the heart-lung machine circuit

Note: NO – nitric oxide; 1 – venous line; 2 – cardiotomy reservoir; 3 – roller pump; 4 – oxygenator; 5 – gas mixer; 6 – purge gas line; 7 – 2 in-line adapters $\frac{1}{4}$ with Luer connector; 8 – experimental sample of an installation for plasma-chemical synthesis of NO; 9 – arterial line; 10 – NO delivery line; 11 – gas sampling line.

Определение содержания аденозинтрифосфата в биоптатах кишечника

После забора биоптат ткани кишечника замораживался в жидком азоте. Полученные образцы гомогенизировались в жидком азоте, после чего центрифугировались 10 мин при 3 000 об. / мин и температуре 2 °С. Затем отбиралась надосадочная жидкость и нейтрализовалась, объем образца доводился до 2 мл. Определение АТФ осуществлялось с использованием биолюминесцентного набора *ATP Bioluminescent Assay Kit* на хемилюминометре *Lucy-2* [7].

Определение содержания лактата в биоптатах кишечника

После забора биоптат ткани кишечника замораживался в жидком азоте. Полученные образцы гомогенизировались в жидком азоте, после чего центрифугировались в течении 10 мин при 3 000 об / мин и температуре 2 °С, полученная надосадочная жидкость отбиралась и нейтрализовалась, объем образца доводился до 2 мл. Определение лактата проводилось иммуноферментным методом с использованием на-

бора *L-Lactate Assay Kit* на многофункциональном микропланшетном ридере *Infinite 200*.

Принцип данного анализа основан на окислении лактата, катализируемом лактатдегидрогеназой, при котором образовавшийся никотинамидадениндинуклеотид восстанавливает реагент формазан. Интенсивность окраски продукта пропорциональна концентрации лактата в образце.

Статистический анализ полученных результатов выполнялся в программе *Statistica 12*, версия 12.0.0.0. Проверка согласия с нормальным законом проводилась с помощью критерия Шапиро–Уилка. Использовалось среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD). Для выявления статистически значимых различий количественных показателей в зависимых и независимых группах использовался критерий Стьюдента. Все результаты статистического анализа считались статистически значимыми при пороговом уровне значимости $p = 0,05$.

Результаты

Во время эксперимента у животных всех 4 групп показатели кислотно-основного состояния, газового

состава крови, концентрации электролитов, лактата, глюкозы, гемоглобина, гематокрита были в пределах референсных значений и на разных этапах не различались между группами.

Темп дефекации до начала ИК был сопоставим в 4 группах с последующим выраженным снижением к концу эксперимента во всех группах (табл. 1; рис. 4, 5).

Темп дефекации на этапе после отлучения от ИК в группе «ИК + NO» был больше, чем в группе «ИК» ($p = 0,046$); в группе «ИК + ЦА + NO» темп дефекации также был выше, но различие статистически незначимо ($p = 0,085$).

Концентрация маркера i-FABP до начала ИК была сопоставима во всех группах с последующим ее увеличением на этапе после ИК во всех 4 группах (табл. 2; рис. 6).

Концентрация i-FABP в группах «ИК + NO», «ИК + ЦА + NO» на этапе после ИК была ниже, чем в группах «ИК», «ИК + ЦА» ($p = 0,002$ и $p = 0,033$ соответственно).

Динамика концентрации лактата и АТФ в биоптатах ткани кишечника представлена в табл. 3 и на рис. 7.

Концентрация АТФ в биоптатах кишечника через 1 ч после отлучения от ИК в группе «ИК + NO» была больше, чем в группе «ИК» ($p = 0,005$) (см. табл. 3; рис. 7). В группах «ИК + ЦА» и «ИК + ЦА + NO» концентрация АТФ в исследуемых тканях была сопоставима (см. табл. 3, рис. 7).

Статистически значимая разница в концентрации лактата на этапах исследования между группами не выявлена.

Таблица 1

Динамика темпа дефекации на этапах эксперимента до, после и через 1 ч после искусственного кровообращения; г/ч ($M \pm SD$)

Table 1

The rate of defecation throughout the experiment – before, immediately after, and 1 hour after artificial circulation; g/h ($M \pm SD$)

Этапы эксперимента:	Группа		p	Группа		p
	«ИК»	«ИК + NO»		«ИК + ЦА»	«ИК + ЦА + NO»	
• до ИК	133,50 $\pm$ 10,09	131,33 $\pm$ 8,01	0,689	124,66 $\pm$ 8,26	132,16 $\pm$ 10,72	0,204
• после ИК	45,00 $\pm$ 9,25	56,33 $\pm$ 8,04	0,046	42,66 $\pm$ 9,91	52,166 $\pm$ 7,130	0,085
• через 1 ч после ИК	3,16 $\pm$ 2,78	3,83 $\pm$ 2,31	0,661	1,50 $\pm$ 1,76	3,00 $\pm$ 2,52	0,260

Примечание: ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – «циркуляторный арест».

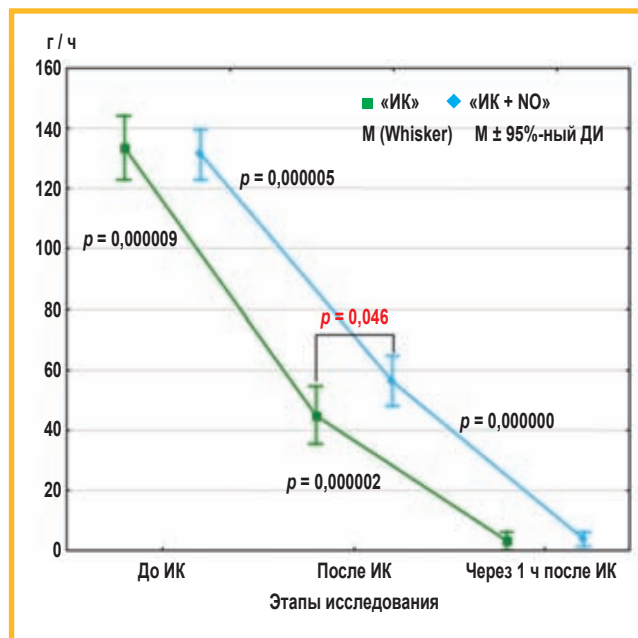


Рис. 4. Динамика темпа дефекации (г/ч) на этапах эксперимента в группах «Искусственное кровообращение» и «Искусственное кровообращение + оксид азота»

Примечание: ДИ – доверительный интервал; ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – «циркуляторный арест».

Figure 4. The rate of defecation (g/h) at the stages of the experiment in the groups “Cardiopulmonary bypass” and “Cardiopulmonary bypass + nitric oxide”

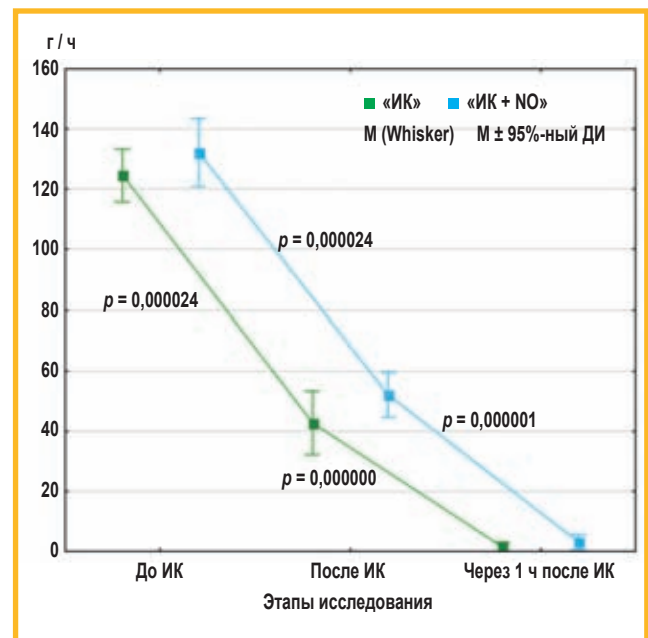


Рис. 5. Динамика темпа дефекации (г/ч) на этапах эксперимента в группах «Искусственное кровообращение + циркуляторный арест» и «Искусственное кровообращение + циркуляторный арест + оксид азота»

Примечание: ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – «циркуляторный арест».

Figure 5. The rate of defecation (g/h) at the stages of the experiment in the groups “Cardiopulmonary bypass + circulatory arrest” and “Cardiopulmonary bypass + circulatory arrest + nitric oxide”

Таблица 2

Динамика уровня концентрации биохимического маркера ишемии кишечника на этапах эксперимента до и после искусственного кровообращения; $\text{нг} / \text{мл}$ ($M \pm SD$)

Table 2

The levels of the biochemical marker of intestinal ischemia before and after artificial circulation in the experiment; pg/ml ($M \pm SD$)

Этапы эксперимента:	Группа		p	Группа		p
	«ИК»	«ИК + NO»		«ИК + ЦА»	«ИК + ЦА + NO»	
• до ИК	11,27 $\pm$ 2,85	10,73 $\pm$ 1,73	0,698	11,89 $\pm$ 4,11	10,19 $\pm$ 3,63	0,466
• после ИК	62,79 $\pm$ 14,79	33,23 $\pm$ 10,38	0,002	60,42 $\pm$ 9,24	43,41 $\pm$ 14,13	0,033

Примечание: ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – циркуляторный арест.

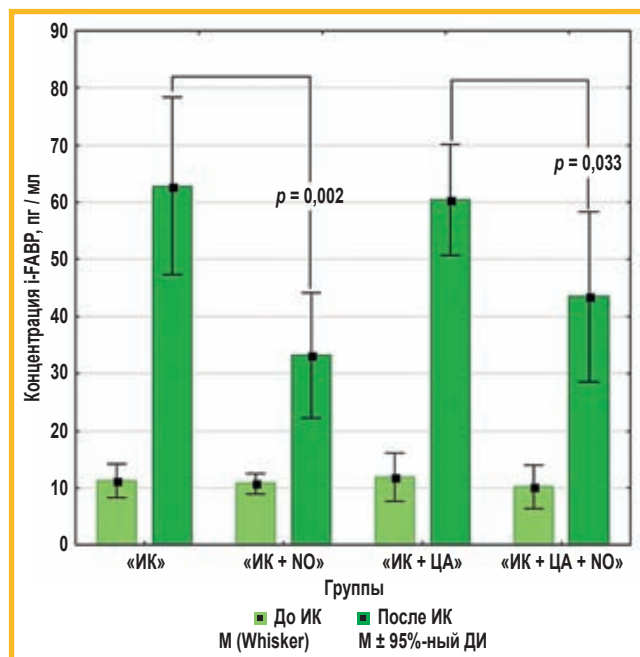


Рис. 6. Динамика концентрации биохимического маркера ишемии кишечника на этапах эксперимента в группах «Искусственное кровообращение» и «Искусственное кровообращение + оксид азота», «Искусственное кровообращение + циркуляторный арест» и «Искусственное кровообращение + циркуляторный арест + оксид азота»

Примечание: ДИ – доверительный интервал; ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – циркуляторный арест; i-FABP (intestinal enterocyte fatty acid binding protein) – биохимический маркер ишемии кишечника.

Figure 6. Levels of the biochemical marker of intestinal ischemia in the groups “Cardiopulmonary bypass” and “Cardiopulmonary bypass + nitric oxide”, “Cardiopulmonary bypass + circulatory arrest” and “Cardiopulmonary bypass + circulatory arrest + nitric oxide” throughout the experiment

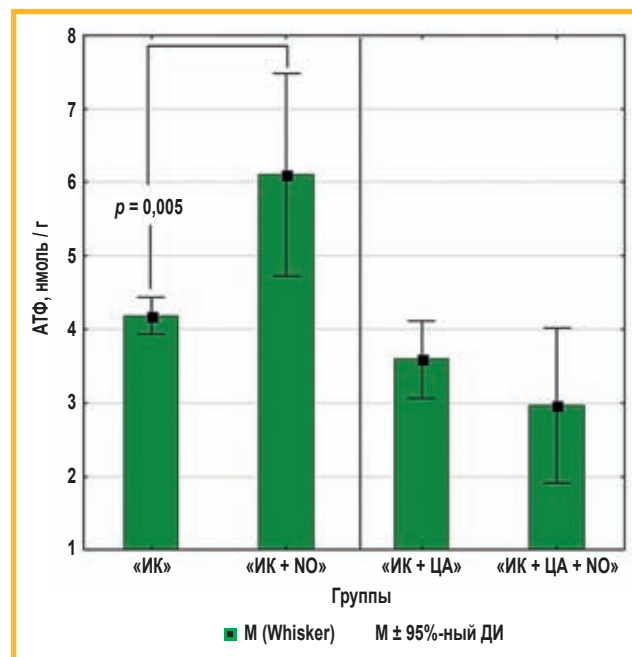


Рис. 7. Диаграмма средних значений и их 95%-ных доверительных интервалов для показателя тканевой концентрации аденозинтрифосфата (нмоль / г) в биоптатах кишечника через 1 ч после искусственного кровообращения в группах «Искусственное кровообращение» и «Искусственное кровообращение + оксид азота», «Искусственное кровообращение + циркуляторный арест» и «Искусственное кровообращение + циркуляторный арест + оксид азота»

Примечание: АТФ – аденозинтрифосфат; ДИ – доверительный интервал; ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – циркуляторный арест.

Figure 7. The concentration of adenosine triphosphate (nmol/g) in intestinal biopsies 1 hour after cardiopulmonary bypass in the “Cardiopulmonary bypass” and “Cardiopulmonary bypass + nitric oxide”, “Cardiopulmonary bypass + circulatory arrest” and “Cardiopulmonary bypass + circulatory arrest + nitric oxide” groups; presented as the mean values with 95% confidence intervals

Таблица 3

Показатели аденозинтрифосфата и лактата в биоптатах кишечника через 1 ч после отлучения от искусственного кровообращения ($M \pm SD$)

Table 3

Levels of adenosine triphosphate and lactate in intestinal biopsies 1 hour after weaning from cardiopulmonary bypass ($M \pm SD$)

Показатель	Орган	Группа		p	Группа		p
		«ИК»	«ИК + NO»		«ИК + ЦА»	«ИК + ЦА + NO»	
АТФ, нмоль / г	Кишечник	4,18 $\pm$ 0,23	6,10 $\pm$ 1,31	0,005	3,59 $\pm$ 0,50	2,96 $\pm$ 1,00	0,200
Лактат, ммоль / г	Кишечник	10,21 $\pm$ 2,48	8,88 $\pm$ 3,63	0,476	11,32 $\pm$ 0,78	10,70 $\pm$ 2,89	0,506

Примечание: АТФ – аденозинтрифосфат; ИК – искусственное кровообращение; NO – оксид азота; ЦА – циркуляторный арест.

Обсуждение

В исследовании оценивалось влияние NO на степень ишемически-реперфузионного повреждения кишечника при моделировании ИК и гипотермического ЦА. Органопротективные свойства NO давно исследуются и используются в кардиохирургии. По результатам исследований уже было продемонстрировано и доказано его протективное воздействие на почки, сердце, головной мозг [5, 6, 8].

Во время ИК и ЦА длительная гипоперфузия в совокупности с ишемией-реперфузией приводят к повреждению клеток, оксидативному стрессу, ишемии интестинальных ворсинок, потере интестинального барьера с последующей резорбцией эндотоксинов и бактерий, запуску системного воспалительного ответа, который, в свою очередь, может привести к отдаленному повреждению органов и полиорганной недостаточности [9, 10].

Еще одним механизмом повреждения является гемолиз, возникающий во время ИК, с последующим высвобождением свободного гемоглобина, который вызывает внутрисосудистое поглощение NO, что приводит к нарушению перфузии органов с последующим повреждением тканей [11].

Клиническая оценка динамики состояния кишечника проводилась на основании темпа дефекации. Полученные данные свидетельствуют о лучшей моторно-эвакуаторной функции кишечника в группах с экзогенной доставкой NO во время ИК и ЦА.

Кишечный белок i-FABP, связывающий жирные кислоты, являясь чувствительным маркером повреждения слизистой оболочки кишечника, экспрессируется зрелыми энтероцитами и быстро высвобождается в кровоток при их повреждении [11]. Поэтому в эксперименте с ИК и ЦА i-FABP был диагностическим показателем ишемического повреждения кишечника, благодаря которому продемонстрировано, что в группах с экзогенной доставкой NO во время ИК и ЦА ишемическое повреждение кишечника было менее выражено.

На основании тканевой концентрации АТФ и лактата в биоптатах кишечника можно судить о функциональном состоянии митохондрий после ишемии, возникшей во время ИК и ЦА. Митохондрии являются основным источником энергии в виде молекул АТФ, они принимают участие в поддержании ионного гомеостаза в клетке, осуществляют генерацию активных форм кислорода, запускают процессы апоптоза. При воздействии повреждающих стимулов на эндотелий кишечника возникает недостаток поступления кислорода, в результате нарушается работа электронной транспортной цепи митохондрий, что приводит к снижению содержания АТФ в ткани кишечника. Ишемически-реперфузионное повреждение приводит к дисбалансу между доставкой и потреблением кислорода и питательных веществ, перестройке на анаэробный гликолиз и накопление лактата. В эксперименте наглядно продемонстрировано, что концентрация лактата через 1 ч после ИК в биоптатах кишечника была высокой во всех группах животных, что свиде-

тельствует об ишемии во время моделирования ИК и ЦА. АТФ через 1 ч после ИК в биоптатах кишечника в группе «ИК + NO» был выше во время ИК и ЦА, что свидетельствует о лучшей оптимизации АТФ-связанного дыхания митохондрий.

В группе «ИК + ЦА + NO» концентрация АТФ незначимо отличалась от таковой в группе «ИК + ЦА», что, видимо, связано с более агрессивными условиями и малым количеством экспериментальных животных.

Безопасность эксперимента подтверждена показателями NO₂ и MetHb, которые оценивались во время проведения NO-терапии. Полученные результаты не превышали допустимых значений, так же как клиничко-инструментальные и лабораторные данные во время моделирования ИК и ЦА.

Заключение

Экзогенный NO оказывает протективное влияние на кишечник во время моделирования операции с ИК и гипотермическим ЦА. Увеличение темпа дефекации в группах «ИК + NO», «ИК + ЦА + NO» по сравнению с группами «ИК» и «ИК + ЦА» свидетельствует о лучшем функциональном состоянии кишечника во время моделирования ИК и ЦА. Увеличение концентрации АТФ в биоптатах кишечника в группе «ИК + NO» через 1 ч после отлучения от ИК свидетельствует о нормальной работе митохондрий в клетках во время экстремальных условий для ткани кишечника. Снижение концентрации маркера i-FABP в группах «ИК + NO» и «ИК + ЦА + NO» в сравнении с группами «ИК» и «ИК + ЦА» на этапе после ИК свидетельствует о меньшем повреждении ткани кишечника во время ИК и ЦА в условиях доставки экзогенного NO.

Литература

1. Плотников Г.П., Шукевич Д.Л., Григорьев Е.В. Абдоминальные осложнения при операциях на сердце с искусственным кровообращением. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2014; (1): 75–86. Доступно на: <https://cyberleninka.ru/article/n/abdominalnye-oslozhneniya-pri-operatsiyah-na-serdtse-s-iskusstvennym-krovoobrascheniem>
2. Ярустовский М.Б., Абрамян М.В., Назаров Н.С. и др. Абдоминальные осложнения после операций на сердце в условиях искусственного кровообращения. *Вестник Бакулевского центра сердечно-сосудистых заболеваний*. 2018; 19 (3): 318–326. DOI: 10.24022/1810-0694-2018-19-3-318-326.
3. Stanek A., Gadowska-Cicha A., Gawron K. et al. Role of nitric oxide in physiology and pathology of the gastrointestinal tract. *Mini Rev. Med. Chem.* 2008; 8 (14): 1549–1560. DOI: 10.2174/138955708786786462.
4. Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; (4): 462. Доступно на: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21037>
5. Подоксенов Ю.К., Каменщиков Н.О., Мандель И.А. Применение оксида азота для защиты миокарда при ишемической болезни сердца. *Анестезиология и реаниматология*. 2019; (2): 34–47. DOI: 10.17116/anaesthesiology201902134.
6. Hu J., Spina S., Zadek F. et al. 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. *Ann. Intensive Care*. 2019; 9 (1): 129. DOI: 10.1186/s13613-019-0605-9.
7. Chida J., Yamane K., Takei T. et al. An efficient extraction method for quantitation of adenosine triphosphate in mammalian tissues and cells. *Anal. Chim. Acta*. 2012; 727: 8–12. DOI: 10.1016/j.aca.2012.03.022.
 8. Kamenshchikov N.O., Anfinogenova Y.J., Kozlov B.N. et al. Nitric oxide delivery during cardiopulmonary bypass reduces acute kidney injury: a randomized trial. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2022; 163 (4): 1393–1403.e9. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2020.03.182.
 9. Ватулин Н.Т., Колесников В.С., Тараторина А.А. Механизмы периоперационного повреждения миокарда при операциях с искусственным кровообращением и пути его устранения. *Вестник неотложной и восстановительной хирургии*. 2018; 3 (4): 303–310.
 10. Неймарк М.И. Синдром ишемии-реперфузии. *Хирургия. Журнал имени Н.И. Пирогова*. 2021; (9): 71–76. DOI: 10.17116/hirurgia202109171.
 11. Vermeulen Windsant I.C., Hellenenthal F.A., Derikx J.P. et al. Circulating intestinal fatty acid-binding protein as an early marker of intestinal necrosis after aortic surgery: a prospective observational cohort study. *Ann. Surg.* 2012; 255 (4): 796–803. DOI: 10.1097/SLA.0b013e31824b1e16.
 12. Stanek A., Gadowska-Cicha A., Gawron K. et al. Role of nitric oxide in physiology and pathology of the gastrointestinal tract. *Mini Rev. Med. Chem.* 2008; 8 (14): 1549–1560. DOI: 10.2174/138955708786786462.
 13. Kuznetsova V.L., Soloveva A.G. [Nitric oxide: properties, biological role, mechanisms of action]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; (4): 462. Available at: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21037> (in Russian).
 14. Podoksenov Yu.K., Kamenshchikov N.O., Mandel I.A. [Nitric oxide application for myocardial protection in coronary artery disease]. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2019; (2): 34–47. DOI: 10.17116/anaesthesiology201902134 (in Russian).
 15. Hu J., Spina S., Zadek F. et al. 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. *Ann. Intensive Care*. 2019; 9 (1): 129. DOI: 10.1186/s13613-019-0605-9.
 16. Chida J., Yamane K., Takei T. et al. An efficient extraction method for quantitation of adenosine triphosphate in mammalian tissues and cells. *Anal. Chim. Acta*. 2012; 727: 8–12. DOI: 10.1016/j.aca.2012.03.022.
 17. Kamenshchikov N.O., Anfinogenova Y.J., Kozlov B.N. et al. Nitric oxide delivery during cardiopulmonary bypass reduces acute kidney injury: a randomized trial. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2022; 163 (4): 1393–1403.e9. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2020.03.182.
 18. Vatin N.T., Kolesnikov V.S., Taratorina A.A. [Mechanisms of perioperative myocardial damage in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass and Ways it's correction]. *Vestnik neotlozhnoy i vosstanovitel'noy khirurgii*. 2018; 3 (4): 303–310 (in Russian).
 19. Neimark M.I. [Ischemia-reperfusion syndrome]. *Zhurnal imeni N.I. Pirogova*. 2021; (9): 71–76. DOI: 10.17116/hirurgia202109171 (in Russian).
 20. Vermeulen Windsant I.C., Hellenenthal F.A., Derikx J.P. et al. Circulating intestinal fatty acid-binding protein as an early marker of intestinal necrosis after aortic surgery: a prospective observational cohort study. *Ann. Surg.* 2012; 255 (4): 796–803. DOI: 10.1097/SLA.0b013e31824b1e16.

Поступила: 26.08.23
Принята к печати: 24.04.24

References

1. Plotnikov G.P., Shukevich D.L., Grigoryev E.V. [Abdominal complication after cardiac surgical procedures with extracorporeal circulation]. *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy*. 2014; (1): 75–86. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/abdominalnye-oslozhneniya-pri-operatsiyah-na-serdtse-s-iskusstvennym-krovoobrascheniem> (in Russian).
2. Yaroustovsky M.B., Abramyan M.V., Nazarov N.S. et al. [Abdominal complications after heart surgery with cardiopulmonary bypass]. *Vestnik Bakulevskogo tsentra serdechno-sosudistykh zabolevaniy*. 2018; 19 (3): 318–326. DOI: 10.24022/1810-0694-2018-19-3-318-326 (in Russian).

Received: August 26, 2023
Accepted for publication: April 24, 2024

Информация об авторах / Authors Information

Подоксенов Юрий Кириллович — д. м. н., ведущий научный сотрудник отделения сердечно-сосудистой хирургии, ведущий научный сотрудник лаборатории медицины критических состояний Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (905) 990-46-34; e-mail: uk@cardio-tomsk.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8939-2340>)
Yuriy K. Podoksenov, Doctor of Medicine, Leading Researcher, Department of Cardiovascular Surgery, Leading Researcher, Laboratory of Critical Condition Medicine, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences"; tel.: (905) 990-46-34; e-mail: uk@cardio-tomsk.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8939-2340>)

Чурилина Елена Александровна — младший научный сотрудник лаборатории медицины критических состояний Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (953) 919-97-90; e-mail: lena.semenova.96@inbox.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3562-9979>)
Elena A. Churilina, Junior Researcher, Laboratory of Critical Condition Medicine, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences"; tel.: (953) 919-97-90; e-mail: lena.semenova.96@inbox.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3562-9979>)

Каменщиков Николай Олегович — к. м. н., заведующий лабораторией медицины критических состояний Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (913) 818-36-57; e-mail: nikolajkamenof@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4289-4439>)

Nikolay O. Kamenshchikov, Candidate of Medicine, Head of the Laboratory of Critical Condition Medicine, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences"; tel.: (913) 818-36-57; e-mail: nikolajkamenof@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4289-4439>)

Дымбрылова Очирма Насаковна — к. м. н., младший научный сотрудник отделения клинической лабораторной диагностики Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (923) 413-27-63; e-mail: o.nasanova@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3330-660X>)

Ochirma N. Dymbrylova, Candidate of Medicine, Junior Researcher of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences"; tel.: (923) 413-27-63; e-mail: o.nasanova@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3330-660X>)

Козлов Борис Николаевич — д. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории медицины критических состояний, руководитель отделения сердечно-сосудистой хирургии Научно-исследовательского института кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; тел.: (906) 947-92-46; e-mail: bnkozlov@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0217-7737>)

Boris N. Kozlov, Doctor of Medicine, Leading researcher Laboratory of Critical Condition Medicine, Head of the Department of Cardiovascular Surgery, Research Institute of Cardiology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences"; tel.: (906) 947-92-46; e-mail: bnkozlov@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0217-7737>)

Участие авторов

Подоксенов Ю.К. — анализ и интерпретация полученных данных, написание и редактирование текста (30 %)

Чурилина Е.А. — проведение исследования, сбор и обработка материала, написание и редактирование текста (35 %)

Каменщиков Н.О. — сбор материала, редактирование текста (20 %)

Дымбрылова О.Н. — проведение лабораторных исследований (10 %)

Козлов Б.Н. — координация, прочтение и коррекция (5 %)

Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Authors Contribution

Podoksenov Yu.K. — analysis and interpretation of the collected data, writing and editing text (30%)

Churilina E.A. — conducting the research, collecting and processing of the materials, writing and editing the text (35%)

Kamenshchikov N.O. — collecting the material, editing the text (20%)

Dymbrylova O.N. — conducting the laboratory research (10%)

Kozlov B.N. — coordination, review, and correction (5%)

All authors made a significant contribution to the search and analytical work and preparation of the article, read and approved the final version before publication.