

Оксид азота и митохондриальное повреждение в ткани почек при моделировании искусственного кровообращения и циркуляторного ареста: экспериментальное исследование

Для корреспонденции: Александр Михайлович Бойко, boiko.cardio@yandex.ru

Поступила в редакцию 11 февраля 2024 г. Исправлена 28 марта 2024 г. Принята к печати 29 марта 2024 г.

Цитировать: Бойко А.М., Каменщиков Н.О., Мирошниченко А.Г., Подоксенов Ю.К., Свирко Ю.С., Луговский В.А., Дьякова М.Л., Кравченко И.В., Мухомедзянов А.В., Маслов Л.Н., Базарбекова Б.А., Петлин К.А., Панфилов Д.С., Козлов Б.Н. Оксид азота и митохондриальное повреждение в ткани почек при моделировании искусственного кровообращения и циркуляторного ареста: экспериментальное исследование. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2024;28(1):41-49. <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2024-1-41-49>

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания «Защита органов оксидом азота в сердечно-сосудистой хирургии: технологическая поддержка (устройства синтеза и доставки), механизмы реализации защитных эффектов и влияние на клинические исходы» (тема № 122123000017-3).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн работы: А.М. Бойко, Н.О. Каменщиков, Ю.К. Подоксенов, Л.Н. Маслов, Б.Н. Козлов

Сбор и анализ данных: А.М. Бойко, Ю.С. Свирко, В.А. Луговский, А.В. Мухомедзянов, Б.А. Базарбекова

Статистическая обработка данных: И.В. Кравченко

Написание статьи: А.М. Бойко

Исправление статьи: Н.О. Каменщиков, А.Г. Мирошниченко, Ю.К. Подоксенов, М.Л. Дьякова, К.А. Петлин, Д.С. Панфилов, Б.Н. Козлов

Утверждение окончательного варианта статьи: все авторы

ORCID

А.М. Бойко, <https://orcid.org/0000-0002-2408-8874>

Н.О. Каменщиков, <https://orcid.org/0000-0003-4289-4439>

А.Г. Мирошниченко, <https://orcid.org/0009-0007-3862-3771>

Ю.К. Подоксенов, <https://orcid.org/0000-0002-8939-2340>

Ю.С. Свирко, <https://orcid.org/0000-0002-2258-3564>

В.А. Луговский, <https://orcid.org/0000-0003-3953-322X>

М.Л. Дьякова, <https://orcid.org/0000-0001-9353-7234>

И.В. Кравченко, <https://orcid.org/0000-0003-0841-4673>

А.В. Мухомедзянов, <https://orcid.org/0000-0003-1808-556X>

Л.Н. Маслов, <https://orcid.org/0000-0002-6020-1598>

Б.А. Базарбекова, <https://orcid.org/0000-0002-7896-4446>

К.А. Петлин, <https://orcid.org/0000-0001-9906-9945>

А.М. Бойко, Н.О. Каменщиков, А.Г. Мирошниченко, Ю.К. Подоксенов, Ю.С. Свирко, В.А. Луговский, М.Л. Дьякова, И.В. Кравченко, А.В. Мухомедзянов, Л.Н. Маслов, Б.А. Базарбекова, К.А. Петлин, Д.С. Панфилов, Б.Н. Козлов

Научно-исследовательский институт кардиологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Оперативные вмешательства в условиях искусственного кровообращения и циркуляторного ареста осложняются нарушением микроциркуляции в тканях, при этом ведущим патогенетическим фактором ишемически-реперфузионного повреждения является митохондриальная дисфункция при гипоксии. В этой связи поиск методов органопротекции крайне актуален, а применение оксида азота ввиду его плюрипотентных свойств выглядит многообещающим.

Цель. Изучить митохондриальное повреждение в биоптатах почек под воздействием искусственного кровообращения и циркуляторного ареста при моделировании кардиохирургической операции и оценить органопротекцию оксидом азота в эксперименте.

Методы. Исследование выполнено на баранах алтайской породы и включало моделирование искусственного кровообращения и циркуляторного ареста. В первой группе (n = 6) проводили интраоперационную донацию оксида азота. Во второй группе (n = 6) не осуществляли донацию оксида азота. Оценивали митохондриальное повреждение в биоптатах почек посредством измерения трансмембранного потенциала и Ca²⁺-связывающей способности митохондрий, а также концентрации аденозинтрифосфата и лактата.

Результаты. Терапия оксидом азота сопровождалась меньшей степенью митохондриальной дисфункции в биоптатах почек по сравнению с контрольной группой.

Заключение. Энергетическое обеспечение тканей в условиях искусственного кровообращения и циркуляторного ареста в эксперименте улучшается на фоне донации оксида азота в концентрации 80 ppm.

Д.С. Панфилов, <https://orcid.org/0000-0003-2201-350X>

Б.Н. Козлов, <https://orcid.org/0000-0002-0217-7737>

© Бойко А.М., Каменщиков Н.О., Мирошниченко А.Г., Подоксенов Ю.К., Свирко Ю.С., Луговский В.А., Дьякова М.Л., Кравченко И.В., Мухомедзянов А.В., Маслов Л.Н., Базарбекова Б.А., Петлин К.А., Панфилов Д.С., Козлов Б.Н., 2024



Ключевые слова: искусственное кровообращение; митохондриальное повреждение; оксид азота; органопротекция; почка; циркуляторный арест

Введение

Острое повреждение почек (ОПП) — распространенное, серьезное и зачастую несвоевременно диагностируемое осложнение при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения (ИК) и циркуляторного ареста (ЦА) [1]. Частота ОПП даже после рутинных операций аортокоронарного шунтирования составляет 30–52 % случаев, при этом 1–7 % пациентов из них нуждаются в заместительной почечной терапии [2; 3]. При оперативных вмешательствах на аорте частота ОПП достигает 77,6 % с потребностью в заместительной почечной терапии в 16 % случаев [4–6]. Около 90 % случаев ОПП по степени тяжести относятся к I стадии. Однако даже субклиническое ОПП ассоциировано с осложненным течением послеоперационного периода, увеличением продолжительности лечения и финансовых затрат, а также является независимым предиктором 30-дневной послеоперационной смертности [7–11]. Эпизод ОПП в послеоперационном периоде приводит к удвоению общих затрат на госпитализацию [12]. Пациенты с данной патологией требуют дополнительных финансовых затрат на постгоспитальном этапе, что безусловно подчеркивает значимость проблемы в кардиохирургии.

Почки являются высокоэнергетическим органом. Клетки эпителия проксимальных извитых канальцев почек при реабсорбции потребляют большое количество энергии. Однако при ишемии и реперфузии, развивающейся по причине расстройства микроциркуляции при оперативных вмешательствах в условиях ИК и ЦА, происходят дисфункция электронной транспортной цепи митохондрий, снижение синтеза молекул аденозинтрифосфата (АТФ) и повреждение эпителиальных клеток вплоть до их гибели. Этот процесс можно считать первым звеном органной дисфункции при кардиохирургических операциях в условиях ИК и циркуляторного ареста.

Оптимальной стратегии органопротекции при операциях на дуге аорты с ЦА нет. Многообещающим считается определение фармакологических агентов, служащих медиаторами нефропротекторных механизмов. В этой связи перспективным вы-

глядит применение оксида азота (NO), ввиду его плурипотентных свойств, с целью снижения степени выраженности и частоты острого повреждения почек.

Механизмы ренопротективного действия газобразного NO изучены недостаточно. F. Hofmann предположил, что молекулярный механизм ренопротекторного действия NO аналогичен механизму кардиопротекторного действия доноров NO и включает активацию внутриклеточных сигнальных путей для реализации органопротективного фенотипа [13]. Конечный эффект этих событий — повышение толерантности митохондрий к гипоксии / реоксигенации [14]. Изучение роли митохондриальной дисфункции в развитии ОПП может быть важно для клинической практики и планирования дальнейших исследований для определения потенциальных целевых групп пациентов, отвечающих на лечение.

Цель — изучить митохондриальное повреждение в биоптатах почек из-за воздействия искусственного кровообращения и циркуляторного ареста при моделировании кардиохирургической операции и оценить органопротекцию оксидом азота в эксперименте.

Методы

Исследование проводили в соответствии с международными стандартами гуманного обращения с животными и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, а также согласно приказу Минздрава № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 1 апреля 2016 г., Принципам надлежащей лабораторной практики ГОСТ 33044–2014 и руководству Guide for the Care and Use of Laboratory Animals 2011 г. Исследование одобрил комитет по биомедицинской этике НИИ кардиологии (протокол № 230 от 28 июня 2022 г.).

Провели проспективное рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование на баранах алтайской породы. Для рандомизации использовали метод запечатанных непрозрачных конвертов. Подготовку конвертов

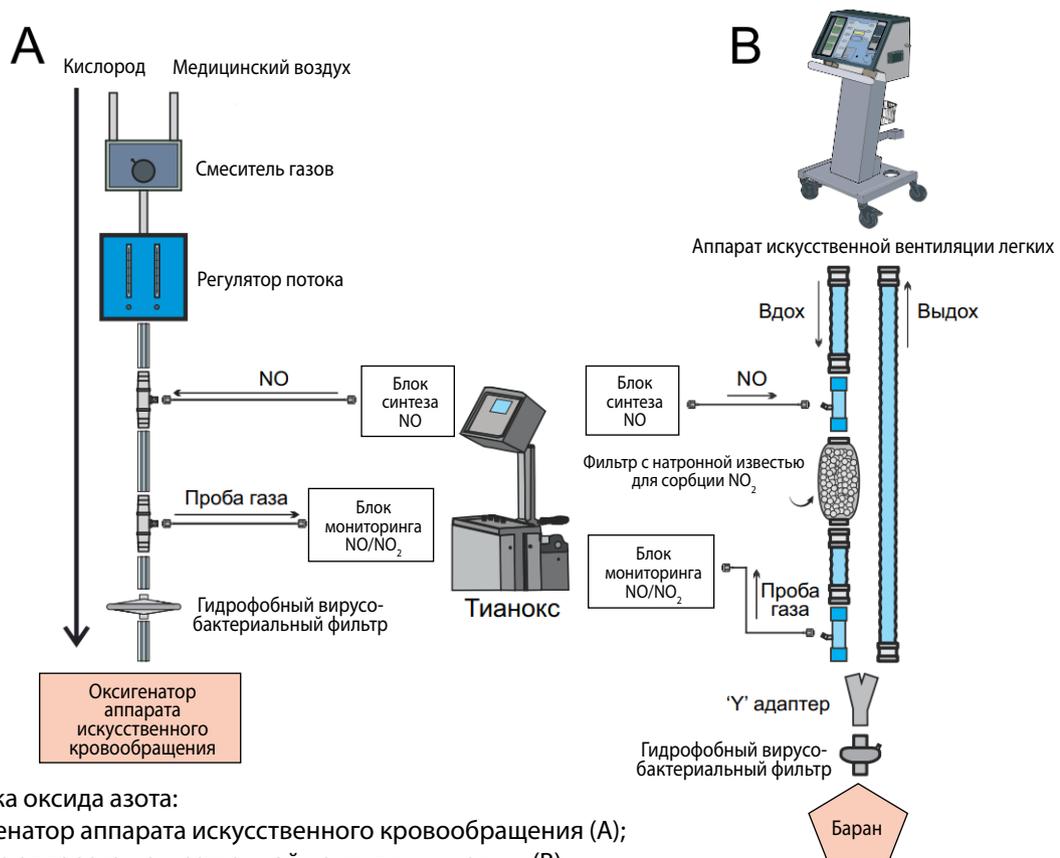
осуществляли до набора животных в исследование. В каждом конверте находилось 1 кодовое слово: NO либо контроль. Непосредственно перед началом эксперимента открывали 1 конверт, содержимое не разглашали. Животных разделяли на 2 равные группы: 6 баранам проводили донацию NO в концентрации 80 ppm (ИК + ЦА + NO); 6 баранов — контрольная группа (ИК + ЦА).

Начинали эксперимент с премедикации и вводной анестезии, после чего выполняли прямую ларингоскопию с последующей оротрахеальной интубацией. Использовали стандартный мониторинг при анестезии с помощью мониторинговой системы BSM-4104A (Nihon Kohden, Токио, Япония), включавший электрокардиографию, инвазивный мониторинг артериального давления, пульсоксиметрию, термометрию, а также осуществляли учет диуреза. С целью инвазивного мониторинга артериального давления и забора образцов для лабораторного анализа газового состава крови катетеризировали общую сонную артерию, катетер 7F. Внутреннюю яремную вену катетеризировали для инфузионной терапии, катетер 7F.

Электролитный баланс и кислотно-основное состояние артериальной крови определяли на приборе STAT PROFILE Critical Care Xpress (Nova Biomedical, Уолтем, США).

Проводили ИК с использованием аппарата Maquet Jostra HL20 и неонатального оксигенатора Kids D100 (Didaco, Милан, Италия). Площадь поверхности тела барана приняли за 1,1 м². Осуществляли ИК в непульсирующем режиме. Подключали аппарат ИК по принятой методике по схеме аорта – полые вены. Перфузионный индекс — 2 л/мин/м². В обеих группах не применяли вазоактивные препараты. Продолжительность ИК была одинаковой у всех животных и составила 90 мин.

В первой группе (ИК + ЦА + NO) проводили интраоперационную донацию NO в концентрации 80 ppm. Непосредственно после интубации трахеи и перевода животных на искусственную вентиляцию легких инициировали донацию NO, для чего в дыхательный контур в асептических условиях встраивали коннектор с переходником Люера, через который проводили донацию NO. Далее для очистки от диоксида азота (NO₂) газовоздушная



Доставка оксида азота:
в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения (А);
в контур аппарата искусственной вентиляции легких (В)

смесь проходила через поглотитель, содержащий гидроксид кальция. Для мониторинга фракционной концентрации NO/NO_2 во вдыхаемой смеси забор осуществляли из линии вдоха газов (рисунк).

В контур экстракорпоральной циркуляции осуществляли донацию NO после начала ИК и достижения расчетной объемной скорости перфузии. Для донации NO в магистраль подачи газовой смеси в асептических условиях встраивали дополнительную линию. Коннектор линии доставки NO максимально приближали к оксигенатору аппарата ИК (рисунк).

Для доставки и мониторинга NO и NO_2 использовали аппарат для терапии оксидом азота «Тианокс» (ФГУП «РФЯЦ-ВНИИЭФ», Саров, Россия). Проводили ЦА после достижения умеренной гипотермии (30–32 °С) путем пережатия нисходящей аорты в течение 15 мин с последующей реперфузией и согреванием до 37 °С. Во время гипотермического ЦА не проводили донацию NO . Доставку NO продолжали после перевода на самостоятельное кровообращение через контур искусственной вентиляции легких до вывода животных из эксперимента (через 1 ч после окончания ИК).

В группе контроля донацию NO не проводили. Эксперимент включал гипотермический ЦА (30–32 °С) в течение 15 мин с последующей реперфузией и согреванием до 37 °С.

Всех животных отлучали от аппарата ИК и в течение 1 ч наблюдали обе группы на фоне самостоятельного кровообращения, далее осуществляли забор биоптатов почек и выполняли вывод животных из эксперимента. После извлечения сразу помещали фрагмент ткани почки в охлажденный до 2–4 °С буфер (70 ммоль/л сахарозы, 210 ммоль/л маннитола, 6 ммоль/л этиленгликольтетрауксусной кислоты, 10 ммоль/л хепеса и 5 мг/мл бычьего сывороточного альбумина, pH 7,4) для выделения митохондрий, которое осуществляли по описанному в литературе методу [15].

Для оценки митохондриального повреждения в биоптатах почки определяли трансмембранный потенциал митохондрий, а также их кальций-связывающую способность. Трансмембранный потенциал митохондрий измеряли с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5301-PC (Shimadzu Corporation, Киото, Япония) с использованием катионного флуоресцентного зонда этилового эфира тетраметилродамина (Molecular Probes, Юджин, США). Длина волны возбуждения — 550 нм, длина волны излучения — 575 нм. О величине трансмембранного потенциала судили по падению интенсивности

флуоресценции после добавления 100 нмоль/л карбонилцианид-4-(трифторметокси)фенилгидразона (FCCP, Sigma-Aldrich, Сент-Луис, США). Величина трансмембранного потенциала митохондрий представлена как разница интенсивности флуоресценции до и после добавления FCCP в пересчете на единицу массы белка в суспензии митохондрий.

Кальций-связывающую способность (КСС) митохондрий оценивали с использованием Ca^{2+} -чувствительного флуоресцентного красителя CalciumGreen-5N (Molecular Probes) с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-5301-PC (Shimadzu Corporation). Длина волны возбуждения — 555 нм; длина волны излучения — 577 нм. КСС митохондрий вычислялась по максимальному количеству аккумулированного митохондриями Ca^{2+} в расчете на 1 мг белка.

Определение АТФ проводили с использованием биолюминесцентного набора ATP Bioluminescent Assay Kit (Sigma-Aldrich) на хемилюминометре Lucy-2 (Anthos Labtec Instruments, Зальцбург, Австрия).

Определение лактата проводили иммуноферментным методом с использованием набора L-Lactate Assay Kit (Sigma-Aldrich) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Меннедорф, Швейцария).

Статистический анализ

Статистический анализ выполняли в пакетах Statistica 10.0 (StatSoft, США). Нормальность распределения количественных показателей проверяли по критерию Шапиро – Уилка и описывали средним значением и стандартным отклонением. Различия количественных показателей в группах анализировали с помощью критерия Стьюдента для независимых групп. В тех случаях, когда статистика частот (p-значение) не позволяла отвергнуть нулевую гипотезу о равенстве средних в сравниваемых группах, применяли фактор Байеса. Пороговый уровень значимости при проверке гипотез составлял $p = 0,05$.

Результаты

Показатели гемодинамики, кислотно-основной и газовый состав крови, а также ионограмма в течение эксперимента у животных в обеих группах были стабильные и статистически значимо не различались.

Показатели митохондриального повреждения в биоптатах почек представлены в *таблице*.

Митохондриальное повреждение в биоптатах почек через 1 ч после отлучения от искусственного кровообращения

Показатель, M ± SD	Первая группа (ИК + ЦА + NO)	Вторая группа (ИК + ЦА)	p
Митохондриальный трансмембранный потенциал, ед./мг	123,33 ± 18,61	108,33 ± 23,16	0,245
Кальций-связывающая способность, нмоль CaCl ₂ /мг белка	516,66 ± 147,19	366,66 ± 163,29	0,205
Концентрация аденозинтрифосфата, нмоль/г	3,63 ± 0,72	3,95 ± 0,64	0,394
Концентрация лактата, нмоль/г	12,18 ± 4,02	15,36 ± 2,60	0,135

Примечание. ИК — искусственное кровообращение, ЦА — циркуляторный арест, NO — оксид азота.

Митохондриальный трансмембранный потенциал в биоптатах почек через 1 ч после отлучения от ИК составил 123,33 ± 18,61 и 108,33 ± 23,16 ед./мг белка в первой и второй группах соответственно. Митохондриальный трансмембранный потенциал в среднем был несколько выше в первой группе, чем во второй, $p = 0,245$. Однако более чувствительный фактор Байеса $\log_{10}K = 0,628 > 0,5$ и $p = 0,245$, соответствующие 2 битам информации против нулевой гипотезы, подтверждают существование небольших различий между средними значениями митохондриального трансмембранного потенциала в исследуемых группах.

КСС в биоптатах почек через 1 ч после отлучения от ИК составил 516,66 ± 147,19 и 366,66 ± 163,29 нмоль CaCl₂/мг белка в первой и второй группах соответственно. В первой группе КСС в среднем была больше, чем во второй, причем различия не были статистически значимыми, $p = 0,205$. При этом коэффициент Байеса $\log_{10}K = 0,833 > 0,5$ и $p = 0,205$, соответствующие 2 битам информации против нулевой гипотезы, подтверждают существование небольших различий между средними значениями КСС в исследуемых группах.

Концентрация АТФ в биоптатах почек через 1 ч после отлучения от ИК составила 3,63 ± 0,72 и 3,95 ± 0,64 нмоль/г в первой и второй группах соответственно. Статистически значимых различий в концентрации АТФ между исследуемыми группами нет, $p = 0,394$. Это значение p дает мало информации как для принятия, так и отклонения нулевой гипотезы.

Концентрация лактата в биоптатах почек через 1 ч после отлучения от ИК составила 12,18 ± 4,02 и 15,36 ± 2,60 нмоль/г в первой и второй группах соответственно. В первой группе концентрация лактата была ниже, чем во второй, но статистически значимых различий не было, $p = 0,135$. При этом фактор

Байеса $\log_{10}K = 0,893 > 0,5$ и $p = 0,135$, соответствующие 3 битам информации против нулевой гипотезы, подтверждают существование небольшого снижения между средними концентрациями лактата в первой группе по сравнению со второй.

Обсуждение

В данном экспериментальном исследовании изучили потенциальный нефропротективный эффект доставки NO посредством оценки выраженности митохондриального повреждения при моделировании кардиохирургической операции в условиях ИК и циркуляторного ареста.

Плюрипотентные свойства NO могут быть реализованы за счет эффектов фармакологического preconditionирования [16], прямого антиоксидантного и противовоспалительного действий, а также опосредованного снижения оксидативного повреждения почечных канальцев при конверсии свободного оксигемоглобина в метгемоглобине [17; 18]. За счет связывания с активными центрами цитохром с-оксидазы аэробной дыхательной цепи переноса электронов на внутренней мембране митохондрий и модуляции потребления O₂ в базальных и стимулированных условиях NO способен оказывать воздействие на энергетический баланс митохондрий [19]. Обратимое конкурентное ингибирование клеточного дыхания в этом случае носит адаптационный характер, что позволяет снизить кислородный запрос митохондрий за счет постепенного восстановления электронного транспорта и протонного градиента при ишемии и реперфузии, а также оптимизировать биоэнергетику и ограничить митохондриальную дисфункцию, опосредованную активными формами кислорода [20–22]. А. Kumar и соавт. обнаружили, что митохондрии при ишемии и реперфузии в присутствии донаторов NO значительно

в меньшей степени подвержены окислительному повреждению за счет модуляции активности комплекса I дыхательной цепи [23]. NO-опосредованная гипертония митохондрий в условиях высокого уровня окислительного стресса, обусловленного ИК, может предотвращать взрывную генерацию активных форм кислорода и свободнорадикальное повреждение мембранных структур, что подтверждает высокий протонный градиент мембран митохондрий и снижение интрамитохондриально-го кальциевого инфлюкса [24].

Адекватное энергетическое обеспечение тканей осуществляется при нормальном функционировании митохондрий. По тканевой концентрации АТФ и лактата в биоптатах почек можно судить о функциональном состоянии митохондрий после воздействия ишемии, а также эффективности любых нефропротекторных стратегий [25]. Величина трансмембранного потенциала митохондрий определяет эффективность синтеза АТФ. Ca^{2+} -связывающая способность митохондрий определяет выживаемость клеток после воздействия стрессовых факторов.

В исследовании мы не получили статистически значимых различий в концентрации АТФ в биоптатах почек между группами, что можно объяснить адекватным уровнем перфузии во время ИК и непродолжительным ЦА при гипотермии, в связи с чем не происходило перехода метаболизма почечной паренхимы на анаэробный гликолиз. Наши результаты не согласуются с данными S. Shiva и соавт., согласно которым митохондрии после воздействия ишемии и реперфузии в группе, получавшей донаторы NO, восстановили синтез АТФ на $78 \pm 2\%$, в то время как в контрольной группе этот показатель составил $52 \pm 4\%$ [20]. Мы отметили устойчивое улучшение энергетического обеспечения тканей, о чем свидетельствуют повышение трансмембранного потенциала митохондрий и Ca^{2+} -связывающей способности митохондрий и снижение концентрации лактата через 60 мин после отлучения от ИК в биоптатах почек в группе терапии оксидом азота.

Заключение

В условиях искусственного кровообращения и циркуляторного ареста в эксперименте на фоне доставки NO в концентрации 80 ppm оптимизация энергетического обеспечения тканей подтверждает снижение митохондриального повреждения и возможности органопротекции NO. Необходим дальнейший поиск стратегии применения ингаляционного оксида азота.

Список литературы / References

1. Каменщиков Н.О., Подоксенев Ю.К., Дьякова М.Л., Бойко А.М., Козлов Б.Н. Острое повреждение почек в кардиохирургии: определение, эпидемиология, исходы и социально-экономическая значимость. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2020;24(4):11-21. <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2020-4-11-21>
2. Kamenshchikov N.O., Podoksenov Y.K., Diakova M.L., Boyko A.M., Kozlov B.N. Acute kidney injury in cardiac surgery: definition, epidemiology, outcomes and socioeconomic significance. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2020;24(4):11-21. (In Russ.) <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2020-4-11-21>
3. Scherner M., Weber C., Schmidt H., Kuhr K., Hamacher S., Sabashnikov A., Eghbalzadeh K., Mader N., Wahlers T., Wippermann J. Impact of urgent coronary artery bypass grafting on acute kidney injury: a matched cohort study. *Med Klin Intensivmed Notfmed*. 2022;117(2):152-158. PMID: 33471151. <https://doi.org/10.1007/s00063-020-00769-x>
4. Harky A., Joshi M., Gupta S., Teoh W.Y., Gatta F., Snosi M. Acute kidney injury associated with cardiac surgery: a comprehensive literature review. *Braz J Cardiovasc Surg*. 2020;35(2):211-224. PMID: 32369303; PMCID: PMC7199993. <https://doi.org/10.21470/1678-9741-2019-0122>
5. Amano K., Takami Y., Ishikawa H., Ishida M., Tochii M., Akita K., Sakurai Y., Noda M., Takagi Y. Lower body ischaemic time is a risk factor for acute kidney injury after surgery for type A acute aortic dissection. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2020;30(1):107-112. PMID: 31501854. <https://doi.org/10.1093/icvts/ivz220>
6. Ghincea C.V., Reece T.B., Eldeiry M., Roda G.F., Bronsert M.R., Jarrett M.J., Pal J.D., Cleveland J.C. Jr., Fullerton D.A., Aftab M. Predictors of acute kidney injury following aortic arch surgery. *J Surg Res*. 2019;242:40-46. PMID: 31063910. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2019.03.055>
7. Lei C., Berra L., Rezoagli E., Yu B., Dong H., Yu S., Hou L., Chen M., Chen W., Wang H., Zheng Q., Shen J., Jin Z., Chen T., Zhao R., Christie E., Sabbisetti V.S., Nordio F., Bonventre J.V., Xiong L., Zapol W.M. Nitric oxide decreases acute kidney injury and stage 3 chronic kidney disease after cardiac surgery. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;198(10):1279-1287. PMID: 29932345; PMCID: PMC6290943. <https://doi.org/10.1164/rccm.201710-2150OC>
8. Kamenshchikov N.O., Duong N., Berra L. Nitric oxide in cardiac surgery: a review article. *Biomedicines*. 2023;11(4):1085. PMID: 37189703; PMCID: PMC10135597. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11041085>
9. Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clin Pract*. 2012;120(4):c179-c184. PMID: 22890468. <https://doi.org/10.1159/000339789>
10. Kork F., Balzer F., Spies C.D., Wernecke K.D., Ginde A.A., Jankowski J., Eltzschig H.K. Minor postoperative increases of creatinine are associated with higher mortality and longer hospital length of stay in surgical patients. *Anesthesiology*. 2015;123(6):1301-1311. PMID: 26492475; PMCID: PMC4679549. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000891>
11. Haase M., Devarajan P., Haase-Fielitz A., Bellomo R., Cruz D.N., Wagener G., Krawczeski C.D., Koyner J.L., Murray P., Zappitelli M., Goldstein S.L., Makris K., Ronco C.,

- Martensson J., Martling C.R., Venge P., Siew E., Ware L.B., Izkizler T.A., Mertens P.R. The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(17):1752-1761. PMID: 21511111; PMCID: PMC4866647. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2010.11.051>
11. Schurle A., Koyner J.L. CSA-AKI: incidence, epidemiology, clinical outcomes, and economic impact. *J Clin Med*. 2021;10(24):5746. PMID: 34945041; PMCID: PMC8706363. <https://doi.org/10.3390/jcm10245746>
 12. Brown J.K., Shaw A.D., Mythen M.G., Guzzi L., Reddy V.S., Crisafi C., Engelman D.T.; PeriOperative Quality Initiative and the Enhanced Recovery After Surgery Cardiac Workgroup. Adult cardiac surgery-associated acute kidney injury: joint consensus report. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2023;37(9):1579-1590. PMID: 37355415. <https://doi.org/10.1053/j.jvca.2023.05.032>
 13. Hofmann F. A concise discussion of the regulatory role of cGMP kinase I in cardiac physiology and pathology. *Basic Res Cardiol*. 2018;113(4):1-11. PMID: 29934662. <https://doi.org/10.1007/s00395-018-0690-1>
 14. Lukowski R., Cruz Santos M., Kuret A., Ruth P. cGMP and mitochondrial K⁺ channels—Compartmentalized but closely connected in cardioprotection. *Br J Pharmacol*. 2022;179(11):2344-2360. PMID: 33991427. <https://doi.org/10.1111/bph.15536>
 15. Prokudina E.S., Naryzhnaya N.V., Mukhomedzyanov A.V., Gorbunov A.S., Zhang Y., Yaggi A.S., Tsubulnikov S.Y., Nesterov E.A., Lishmanov Y.B., Suleiman M.S., Oeltgen P.R., Maslov L.N. Effect of chronic continuous normobaric hypoxia on functional state of cardiac mitochondria and tolerance of isolated rat heart to ischemia and reperfusion: role of μ and delta2 opioid receptors. *Physiol Res*. 2019;68(6):909-920. PMID: 31647288. <https://doi.org/10.33549/physiolres.933945>
 16. Бойко А.М., Каменщиков Н.О., Мирошниченко А.Г., Подоксенов Ю.К., Серебрякова О.Н., Дзюман А.Н., Свирко Ю.С., Дымбрылова О.Н., Луговский В.А., Дьякова М.Л., Панфилов Д.С., Козлов Б.Н. Влияние доставки оксида азота на повреждение почек при моделировании искусственного кровообращения с циркуляторным арестом в эксперименте. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2023;8(3):18-25. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-3-18-25>
Boyko A.M., Kamenshchikov N.O., Miroshnichenko A.G., Podoksenov Yu.K., Serebryakova O.N., Dzyuman A.N., Svirko Yu.S., Dymbrylova O.N., Lugovskiy V.A., Diakova M.L., Panfilov D.S., Kozlov B.N. Influence of nitric oxide delivery on kidney damage in experimental model of cardiopulmonary bypass with circulatory arrest. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2023;8(3):18-25. (In Russ.) <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-3-18-25>
 17. Nagasaka Y., Fernandez B.O., Steinbicker A.U., Spagnolli E., Malhotra R., Bloch D.B., Bloch K.D., Zapal W.M., Feelisch M. Pharmacological preconditioning with inhaled nitric oxide (NO): organ-specific differences in the lifetime of blood and tissue NO metabolites. *Nitric Oxide*. 2018;80:52-60. PMID: 30114529; PMCID: PMC6198794. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2018.08.006>
 18. Signori D., Magliocca A., Hayashida K., Graw J.A., Malhotra R., Bellani G., Berra L., Rezoagli E. Inhaled nitric oxide: role in the pathophysiology of cardio-cerebrovascular and respiratory diseases. *Intensive Care Med*. 2022;10(1):28. PMID: 35754072; PMCID: PMC9234017. <https://doi.org/10.1186/s40635-022-00455-6>
 19. Poderoso J.J., Helfenberger K., Poderoso C. The effect of nitric oxide on mitochondrial respiration. *Nitric Oxide*. 2019;88:61-72. PMID: 30999001. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2019.04.005>
 20. Shiva S., Sack M.N., Greer J.J., Duranski M., Ringwood L.A., Burwell L., Wang X., MacArthur P.H., Shoja A., Raghavachari N., Calvert J.W., Brookes P.S., Lefer D.J., Gladwin M.T. Nitrite augments tolerance to ischemia/reperfusion injury via the modulation of mitochondrial electron transfer. *J Exp Med*. 2007;204(9):2089-102. PMID: 17682069; PMCID: PMC2118713. <https://doi.org/10.1084/jem.20070198>
 21. Тё М.А., Каменщиков Н.О., Подоксенов Ю.К., Мухомедзянов А.В., Маслов Л.Н., Козлов Б.Н. Влияние доставки оксида азота на энергетическое обеспечение почечной ткани при проведении искусственного кровообращения: экспериментальное исследование. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2024;39(1):163-170. <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2022-592>
Тю М.А., Камешников Н.О., Подоксенов Ю.К., Mukhomedzyanov A.V., Maslov L.N., Kozlov B.N. Effect of nitric oxide delivery on energy supply of renal tissue in cardiopulmonary bypass: an experimental study. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2024;39(1):163-170. (In Russ.) <https://doi.org/10.29001/2073-8552-2022-592>
 22. Тё М.А., Каменщиков Н.О., Подоксенов Ю.К., Мухомедзянов А.В., Маслов Л.Н., Козлов Б.Н. Влияние донации оксида азота на выраженность митохондриальной дисфункции почечной ткани при моделировании искусственного кровообращения: экспериментальное исследование. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2023;(4):176-184. <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2023-4-176-184>
Тю М.А., Камешников Н.О., Подоксенов Ю.К., Mukhomedzyanov A.V., Maslov L.N., Kozlov B.N. The effect of nitric oxide donation on the severity of mitochondrial dysfunction to the renal tissue in cardiopulmonary bypass simulation: an experimental study. *Annals of Critical Care*. 2023;(4):176-184. (In Russ.) <https://doi.org/10.21320/1818-474X-2023-4-176-184>
 23. Kumar A., Noda K., Philips B., Velayutham M., Stolz D.B., Gladwin M.T., Shiva S., D'Cunha J. Nitrite attenuates mitochondrial impairment and vascular permeability induced by ischemia-reperfusion injury in the lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2020;318(4):L580-L591. PMID: 32073901; PMCID: PMC7191477. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00367.2018>
 24. Jiang M., Bai M., Lei J., Xie Y., Xu S., Jia Z., Zhang A. Mitochondrial dysfunction and the AKI-to-CKD transition. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2020;319(6):F1105-F1116. PMID: 33073587. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00285.2020>
 25. Фрелих Г.А., Поломеева Н.Ю., Васильев А.С., Удут В.В. Современные методы оценки функционального состояния митохондрий. *Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины*. 2013;28(3):7-13.
Frelikh G.A., Polomeeva N.U., Vasilev A.S., Uдут V.V. State-of-the-art methods of evaluation of mitochondrial function. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2013;28(3):7-13. (In Russ.)

Nitric oxide and mitochondria injuries in kidney tissue upon a simulation of cardiopulmonary bypass and circulatory arrest: an experimental study

Alexandr M. Boyko, Nikolay O. Kamenshchikov, Andrey G. Miroshnichenko, Yuriy K. Podoksenov, Yulia S. Svirko, Vladimir A. Lugovskiy, Mariia L. Diakova, Igor V. Kravchenko, Alexander V. Mukhomedzyanov, Leonid N. Maslov, Botazhan A. Bazarbekova, Konstantin A. Petlin, Dmitriy S. Panfilov, Boris N. Kozlov

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,
Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

Corresponding author: Alexandr M. Boyko, boiko.cardio@yandex.ru

Abstract

Introduction: Surgical interventions under cardiopulmonary bypass and circulatory arrest are complicated by impaired microcirculation in tissues; during hypoxic period the mitochondria dysfunction becomes the leading pathogenetic factor of ischemia-reperfusion injuries. In this regard, the search for methods of organ protection seems to be an extremely urgent task. The using of nitric oxide can be a promising technique given its pluripotent properties.

Objective: The study was aimed to examining of mitochondria injuries in kidney biopsies stipulated by cardiopulmonary bypass and circulatory arrest when simulating cardiac surgery, as well as to assessing the potentials of organ protection with nitric oxide in the experiment.

Methods: The study was carried out on Altai breed sheep and included simulating of cardiopulmonary bypass and circulatory arrest. The first group (n = 6) was provided with intraoperative nitric oxide donation. The second group (n = 6) served as a control (without nitric oxide donation). Mitochondria injuries were assessed in kidney biopsies by measuring transmembrane potential and Ca²⁺-binding capacity of organelles, as well as by determining ATP and lactate concentrations.

Results: Nitric oxide therapy was associated with less mitochondria dysfunction in kidney biopsies compared with the control group. There was a steady trend to the amelioration of the energy maintenance in the renal parenchyma in the nitric oxide donation group.

Conclusion: A steady trend towards optimizing the energy supply of tissues under cardiopulmonary bypass and circulatory arrest was revealed in an experiment against the background of NO donation at a concentration of 80 ppm.

Keywords: Adenosine Triphosphate; Animals; Cardiopulmonary Bypass; Kidney; Mitochondrial Diseases; Nitric Oxide; Reperfusion Injury

Received 11 February 2024. Revised 28 March 2024. Accepted 29 March 2024.

Funding: The study was carried out within the framework of the state assignment "Protection of organs by nitric oxide in cardiovascular surgery: technological support (synthesis and delivery devices), mechanisms for implementing protective effects and impact on clinical outcomes" (topic No. 12212300017-3).

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

Contribution of the authors

Conception and study design: A.M. Boyko, N.O. Kamenshchikov, Yu.K. Podoksenov, L.N. Maslov, B.N. Kozlov

Data collection and analysis: A.M. Boyko, Yu.S. Svirko, V.A. Lugovskiy, A.V. Mukhomedzyanov, B.A. Bazarbekova

Statistical analysis: I.V. Kravchenko

Drafting the article: A.M. Boyko

Critical revision of the article: N.O. Kamenshchikov, A.G. Miroshnichenko, Yu.K. Podoksenov, M.L. Diakova, K.A. Petlin, D.S. Panfilov, B.N. Kozlov

Final approval of the version to be published: A.M. Boyko, N.O. Kamenshchikov, A.G. Miroshnichenko, Yu.K. Podoksenov, Yu.S. Svirko, V.A. Lugovskiy, M.L. Diakova, I.V. Kravchenko, A.V. Mukhomedzyanov, L.N. Maslov, B.A. Bazarbekova, K.A. Petlin, D.S. Panfilov, B.N. Kozlov

ORCID

A.M. Boyko, <https://orcid.org/0000-0002-2408-8874>
N.O. Kamenshchikov, <https://orcid.org/0000-0003-4289-4439>
A.G. Miroshnichenko, <https://orcid.org/0009-0007-3862-3771>
Yu.K. Podoksenov, <https://orcid.org/0000-0002-8939-2340>
Yu.S. Svirko, <https://orcid.org/0000-0002-2258-3564>
V.A. Lugovskiy, <https://orcid.org/0000-0003-3955-322X>
M.L. Diakova, <https://orcid.org/0000-0001-9353-7234>
I.V. Kravchenko, <https://orcid.org/0000-0003-0841-4673>
A.V. Mukhomedzyanov, <https://orcid.org/0000-0003-1808-556X>
L.N. Maslov, <https://orcid.org/0000-0002-6020-1598>
B.A. Bazarbekova, <https://orcid.org/0000-0002-7896-4446>
K.A. Petlin, <https://orcid.org/0000-0001-9906-9945>
D.S. Panfilov, <https://orcid.org/0000-0003-2201-350X>
B.N. Kozlov, <https://orcid.org/0000-0002-0217-7737>

Copyright: © 2024 Boyko et al.

How to cite: Boyko A.M., Kamenshchikov N.O., Miroshnichenko A.G., Podoksenov Yu.K., Svirko Yu.S., Lugovskiy V.A., Diakova M.L., Kravchenko I.V., Mukhomedzyanov A.V., Maslov L.N., Bazarbekova B.A., Petlin K.A., Panfilov D.S., Kozlov B.N. Nitric oxide and mitochondria injuries in kidney tissue upon a simulation of cardiopulmonary bypass and circulatory arrest: an experimental study. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2024;28(1):41-49. (In Russ.) <https://doi.org/10.21688/1681-3472-2024-1-41-49>

