

Определение нитротирозина не позволяет оценить степень выраженности оксидантного стресса и прогнозировать вероятность развития ранних осложнений послеоперационного периода

© О.А. Гребенчиков, Ж.С. Филипповская, Т.С. Забелина, Ю.В. Скрипкин, О.Н. Улиткина, В.В. Лихванцев

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

Поступила в редакцию 26 декабря 2016 г. Принята к печати 4 мая 2017 г.

Для корреспонденции: Татьяна Сергеевна Забелина, tatazabelina@mail.ru

Обоснование

Частота развития осложнений и периоперационная летальность в кардиохирургии все еще превышает аналогичные показатели в общей хирургии. Отчасти это связывается с развитием оксидантного стресса, который рассматривается как избыточное накопление активных форм кислорода и азота. Единичные исследования демонстрируют повышение содержания нитротирозина в плазме крови пациентов во время кардиохирургических операций. Важно отметить, что связь этих изменений с послеоперационными осложнениями и неблагоприятными исходами не изучалась. Все вышеизложенное послужило основанием для выполнения настоящей работы.

Цель

Изучить динамику уровня нитротирозина в плазме крови пациентов в периоперационном периоде кардиохирургических вмешательств и оценить прогностическое значение выявленных изменений в плане развития ранних послеоперационных осложнений.

Методы

Проведено проспективное обсервационное когортное исследование взаимосвязи выраженности оксидантного стресса, оцениваемого по уровню содержания нитротирозина в плазме крови пациентов во время кардиохирургических операций и развития острой сердечной недостаточности, острой почечной недостаточности, системной воспалительной реакции у этих больных. Обследованы 28 взрослых пациентов, госпитализированных в отделение кардиохирургической реанимации ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

Результаты

При изучении содержания нитротирозина в плазме крови пациентов, оперированных на сердце и коронарных сосудах, не было обнаружено значимой динамики этого маркера окислительного стресса на этапах периоперационного периода. Уровень нитротирозина (нитротирозин II) в плазме на момент окончания операции составил 12,1 [9,9; 13,0] нмоль/мг белка, что на 5% ($p > 0,5$) превышает исходный уровень (11,6 [9,3; 12,2] нмоль/мг белка) и возвращается к нему на 1-е сут. послеоперационного периода — 11,5 [10,9; 12,4]. Причем данное утверждение оказалось справедливым и при проведении анализа в подгруппах: аортокоронарного шунтирования с искусственным кровообращением, аортокоронарного шунтирования без искусственного кровообращения и операции на клапанах сердца.

Заключение

Отсутствуют достоверные изменения содержания нитротирозина в плазме крови больных после операций на сердце и коронарных сосудах на выбранных этапах исследования. Также отсутствует корреляция между уровнем нитротирозина и частотой развития послеоперационных осложнений.

Ключевые слова

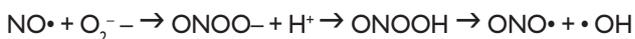
оксидантный стресс; нитротирозин; периоперационный период; активные формы кислорода; послеоперационные осложнения

Как цитировать: Гребенчиков О.А., Забелина Т.С., Филипповская Ж.С., Улиткина О.Н., Скрипкин Ю.В., Лихванцев В.В. Определение нитротирозина не позволяет оценить степень выраженности оксидантного стресса и прогнозировать вероятность развития ранних осложнений послеоперационного периода. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017;21(2):77-84. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2017-2-77-84>

Введение

В настоящее время частота развития осложнений и периоперационная летальность в кардиохирургии все еще превышает аналогичные показатели в общей хирургии [1]. Отчасти это связано с развитием оксидантного стресса (ОС) [2], который рассматривается как избыточное накопление активных форм кислорода и азота. Активные формы кислорода генерируются митохондриями клеток при гипоперфузии (например, у пациентов с сердечной недостаточностью) и реоксигенации (например, при реваскуляризации миокарда в результате аортокоронарного шунтирования, АКШ). Оба эти процесса (ишемия/реперфузия) — неотъемлемые атрибуты оперативных вмешательств в условиях искусственного кровообращения (ИК), хотя операции на сердце без ИК нередко приводят к тому же результату. Данная проблема подробно обсуждалась ранее в нашей обзорной статье [3].

Основная активная форма азота — оксид азота (NO) — является уникальной молекулой, выполняющей ряд чрезвычайно важных функций в организме как в физиологических условиях, так и при патологии. Один неспаренный электрон делает NO весьма реакционно способным свободным радикалом [4], тем не менее большинство исследователей считают, что цитотоксические эффекты, приписываемые NO, принадлежат пероксинитриту (ONOO⁻), который образуется в реакции NO с молекулой супероксида (O₂⁻) [5]. Действительно, пероксинитрит значительно более активен, он интенсивно нитрозирует белки и может являться источником токсичного гидроксил-радикала •OH в реакции:



Пероксинитрит вступает в реакцию с различными биологическими молекулами клетки: аминокислотными остатками белков, липидами, нуклеиновыми кислотами и низкомолекулярными антиоксидантами. Показано, что после ишемии/реперфузии он образуется в миокарде и затем поступает в кровоток [6]. При реакции пероксинитрита с аминокислотным остатком тирозина, входящим в состав разнообразных белков, образуется нитротирозин. Таким образом, нитротирозин является индикатором продукции активных форм азота при различных клинических состояниях.

На сегодняшний день существуют единичные исследования, демонстрирующие повышение содержания нитротирозина в плазме крови пациентов во время кардиохирургических операций [7]. Однако и этот факт

нельзя признать бесспорным, так как ряд исследователей, напротив, описывают снижение уровня нитротирозина во время и сразу после ИК [8]. Важно отметить, что связь этих изменений с послеоперационными осложнениями и неблагоприятными исходами не изучалась.

Цель исследования: изучить динамику уровня нитротирозина в плазме крови пациентов в периоперационном периоде кардиохирургических вмешательств и оценить прогностическое значение выявленных изменений в плане развития ранних послеоперационных осложнений.

Методы

Проведено проспективное обсервационное когортное исследование взаимосвязи выраженности ОС, оцениваемого по уровню нитротирозина в плазме крови, и развития острой сердечной недостаточности, острого почечного повреждения (ОПП) и системной воспалительной реакции (СВР) у кардиохирургических больных. Исследование одобрено локальным этическим комитетом 14.04.2015 на заседании № 4.

Пациентов, n	28
Возраст, лет	60±9
Фракция выброса левого желудочка, %	60±10
Пол (мужской), %	71
Операция на клапанах, n (%)	9 (32)
АКШ с ИК, n (%)	9 (32)
АКШ без ИК, n (%)	10 (36)
Время ИК (клапаны), мин	139±33
Время ИК (АКШ), мин	141±38

Данные представлены средними значениями ± стандартное отклонение. АКШ — аортокоронарное шунтирование, ИК — искусственное кровообращение

Обследованы 28 взрослых пациентов, госпитализированных в отделение кардиохирургической реанимации ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в период с сентября 2015 г. по март 2016 г. Демографические показатели и выполненные операции в исследованной когорте представлены ниже.

Всем пациентам, соответствующим критериям включения/исключения и подписавшим информированное согласие, присваивался порядковый номер, и они автоматически включались в исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения: возраст 45–65 лет; наличие добровольного информированного согласия; виды опе-

ративных вмешательств (протезирование клапанов сердца, АКШ с ИК, АКШ без ИК); отсутствие инфекционных заболеваний за месяц, предшествующий операции.

Критерии исключения: морбидное ожирение с индексом массы тела более 35 кг/м²; инфаркт или инсульт в предшествующие 6 мес.; почечная недостаточность; фракция изгнания левого желудочка менее 30%.

Анестезия и интенсивная терапия

Все пациенты проходили плановое обследование и подготовку к операции. Накануне операции больные прекращали прием гипотензивных и кардиотропных препаратов, антиагрегантов и антикоагулянтов, за исключением бета-блокаторов и аспирина. Премедикация состояла из внутримышечного введения диазепама в дозе 10 мг.

Индукция осуществлялась последовательным введением пропофола в дозе 2,2±0,9 мг/кг и фентанила 4 мкг/кг. Поддержание ингаляционной анестезии в период до и после ИК осуществляли севофлураном в дозе около 1 МАК, контролируя BIS на уровне 40–55, а также введением фентанила в дозе 3,4±1,0 мкг/кг/ч, поддерживая среднее артериальное давление в пределах 80–120% от исходного. В период проведения ИК осуществлялась инфузия пропофола в дозе 4,5±0,5 мг/кг/ч, фентанила — 10 мкг/кг/ч.

Всем больным проводили мониторинг жизненно важных функций по стандартам, принятым при проведении кардиохирургических вмешательств [9].

Искусственное кровообращение осуществлялось аппаратом Jostra HL20 с мембранным оксигенатором в режиме умеренной гипотермии (32 °С) и расчетной скоростью перфузии 2,4–2,6 л/мин. Для кардиopleгии использовались растворы Consol или Custodiol. Среднее артериальное давление на протяжении перфузии поддерживалось в пределах 70–90 мм рт. ст. После окончания операции пациентов переводили в палату интенсивной терапии, где продолжали коррекцию жизненно важных параметров и мониторинг наблюдение.

Диагностика исследуемых осложнений

Системная воспалительная реакция определена как наличие 2 и более критериев [10]: температура более 38 или менее 36 °С; частота сердечных сокращений более 90 уд./мин; частота дыхательных движений более 20/мин или рСО₂ менее 32 мм рт. ст.; лейкоцитоз более 12 000 или лейкопения менее 4 000.

Сердечная недостаточность определена как потребность в инфузии инотропных препаратов (адреналин, добутамин) в дозе, эквивалентной 5 мкг/(кг · мин) до-

бутина или более, на протяжении не менее 6 ч после операции.

Шкалу вазопрессорно-инотропной поддержки считали по формуле Inotropic Score (IS): добутамин, мкг/(кг · мин), + допамин мкг/(кг · мин), + 100 × адреналин, мкг/(кг · мин) [11].

Острое почечное повреждение в стадии R-risk по критериям RIFLE [12] определено как увеличение сыровоточного содержания креатинина в 1,5 раза и более, или снижение скорости клубочковой фильтрации на 25% и более, или снижение темпа мочевыделения менее 0,5 мл/кг · ч в течение 6 ч и более.

Уровень нитрозилированных белков определяли:

- 1) после индукции анестезии,
- 2) после окончания операции,
- 3) через 24 ч после окончания операции,
- 4) через 72 ч после окончания операции.

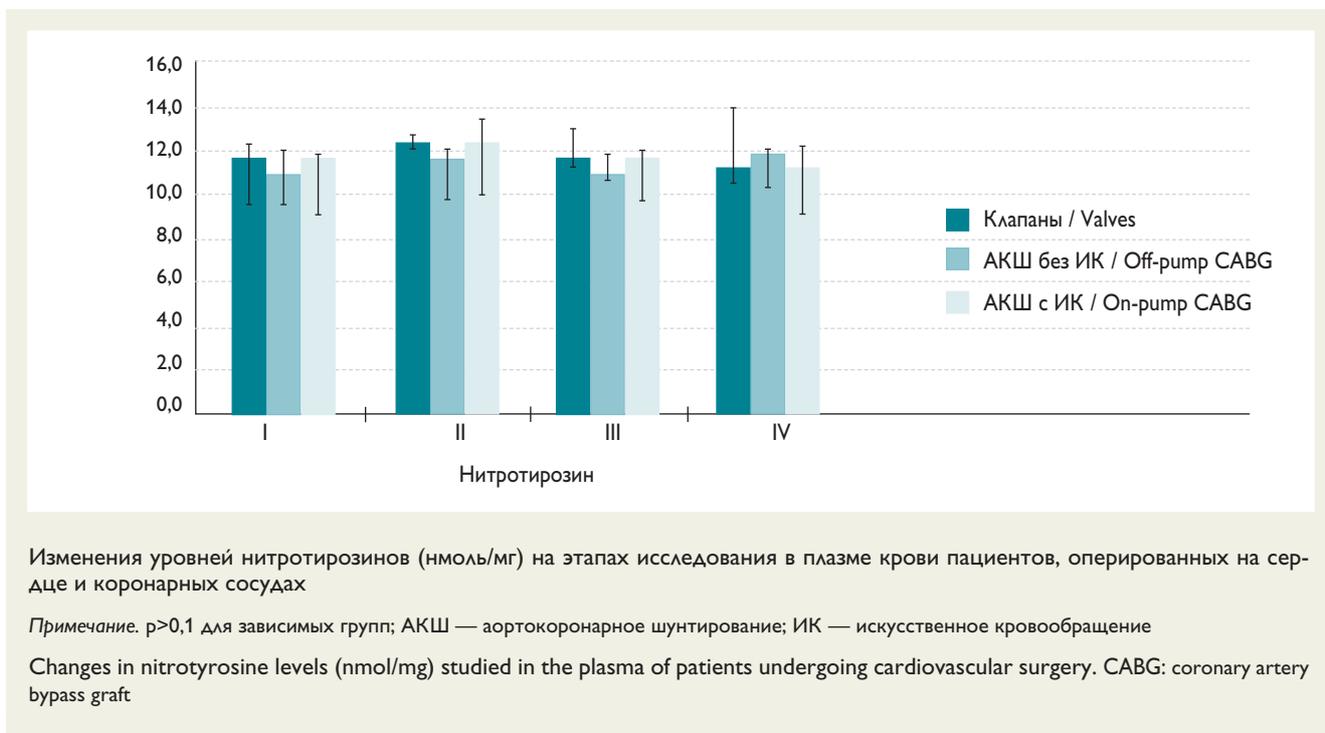
Кровь получена путем пункции локтевой вены и помещена в пробирки, содержащие этилендиаминтетрауксусную кислоту. Непосредственно после перемещения в пробирке пробы центрифугировали со скоростью 3 000 об./мин в течение 20 мин. Плазма сохранялась при температуре –20 °С до проведения анализа.

Определение уровня нитрозилированных белков

Уровень нитротирозина определялся методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA (англ. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) [13].

Анализ проводили в 96-луночных пластинках, покрытых нитро-БСА иммобилизованным антигеном. Строилась стандартная кривая при инкубации исследуемого материала в лунках с последовательным разбавлением нитро-БСА в течение 2 ч при 37 °С с последующей промывкой. Инкубации проводились с биотинилированным анти-IgG кролика. После дальнейшей промывки развитие цвета инициировали добавлением специального субстрата и через 30 мин останавливали добавлением 4 мл серной кислоты. Антитела связывания определяли оптическую плотность при 490 нм. Концентрации ингибирующих нитрированных белки анти-IgG были оценены по стандартной кривой как нитро-БСА эквиваленты. Данные для стандартных кривых рассчитывались с использованием программного обеспечения «Эльзевир» (Кембридж, Великобритания).

Анализ частоты развития СВР, острой почечной недостаточности и острой сердечной недостаточности



проводили в исследуемой когорте и трех группах, выделенных ретроспективно:

- 1) пациентов, оперированных на клапанах сердца в условиях ИК (n = 9);
- 2) пациентов, которым было выполнено АКШ в условиях off pump (n = 10);
- 3) пациентов, которым АКШ было выполнено в условиях ИК (n = 9).

Статистический анализ

Количественные параметры предварительно анализировались на нормальность распределения тестами Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Для сравнения количественных величин, не имеющих нормального распределения, применялся U-критерий Уитни – Манна.

Для оценки качества предикторов клинических исходов операции использовались логистическая регрессия и ROC-анализ. В логистической регрессии использовали статистику хи-квадрат (разность между функциями правдоподобия нулевой и полной моделей, свидетельствующая о том, насколько значимо независимые переменные модели влияют на зависимую). При ROC-анализе оценивался параметр AUC и определялась точка отсечения по соотношению чувствительности и специфичности критериев:

- требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели (индекс Юдена), то есть Cut off = max (Se + Sp);

Таблица 1 Площадь под ROC-кривой (AUC) уровня нитротирозина и риска развития острого почечного повреждения

Нитротирозин	AUC	CO	95% ДИ	Значимость (p) по отношению к AUC = 0,5
I	0,56	0,20	0,31–0,81	0,701
II	0,53	0,20	0,27–0,78	0,885
III	0,50	0,20	0,25–0,76	0,876
IV	0,53	0,20	0,27–0,77	0,910

Примечание. CO — стандартная ошибка; ДИ — доверительный интервал

Таблица 2 Площадь под ROC-кривой (AUC) уровня нитротирозиноз и риска развития острой сердечной недостаточности

Нитротирозин	AUC	CO	95% ДИ	Значимость (p) по отношению к AUC = 0,5
I	0,56	0,16	0,30–0,80	0,708
II	0,66	0,16	0,39–0,87	0,281
III	0,66	0,18	0,39–0,87	0,431
IV	0,64	0,16	0,37–0,86	0,395

Примечание. CO — стандартная ошибка; ДИ — доверительный интервал

- требование баланса между чувствительностью и специфичностью, то есть $Se \sim Sp$: Cut off = min |Se – Sp| (Cut off — пороговое значение, Se — чувствительность, Sp — специфичность).

Предпочтение отдавалось второму из приведенных критериев.

Для анализа динамики показателей с ненормальным распределением применялся ранговый дисперсионный анализ по Фридману с апостериорным анализом с использованием непараметрического теста Уилкоксона.

Средние значения нормально распределенных количественных параметров представлены средним арифметическим со стандартным отклонением ($M \pm \sigma$), а ненормально распределенных — медианой с межквартильным интервалом ($Me [25–75\%]$).

Различия принимали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для расчетов использовали программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и MedCalc 12.5.0.0 (MedCalc Software bvba).

Результаты

Системная воспалительная реакция в раннем послеоперационном периоде развилась у 67% пациентов после операций на клапанах сердца, у 40% пациентов после АКШ без ИК и у 44% пациентов после АКШ с ИК, разница статистически не значима; $p > 0,1$. Средняя частота развития СВР в когорте — 50%.

Острое почечное повреждение развилось у 44% пациентов после операций на клапанах сердца, у 20% па-

циентов после АКШ без ИК и у 33% пациентов после АКШ с ИК, разница не значима; $p > 0,1$. Средняя частота развития ОПП в когорте — 32%.

И, наконец, СН обнаружена у 67, 20 и 56% пациентов соответственно, $p > 0,05$. Средняя частота развития СН в когорте — 46%.

Нитротирозины

При изучении содержания нитротирозина в плазме крови пациентов, оперированных на сердце и коронарных сосудах, мы не обнаружили значимой динамики этого маркера окислительного стресса на этапах периоперационного периода, $p > 0,1$ (рисунки). Данное утверждение оказалось справедливым и при проведении анализа в подгруппах: АКШ с ИК, АКШ без ИК и операции на клапанах сердца.

В соответствии с поставленной целью изучена прогностическая значимость нитротирозина в отношении его возможности выступать в роли раннего предиктора обозначенных осложнений.

В табл. 1 представлен ROC-анализ прогностической значимости исследования содержания нитротирозина в плазме крови больных как предикторов развития ОПП в раннем послеоперационном периоде.

Ожидаемо не получено статистически значимых результатов: площадь под кривой составила 0,53, $p > 0,1$. Сходные результаты получены для острой сердечной недостаточности и системной воспалительной реакции (табл. 2, 3).

Таблица 3 Площадь под ROC-кривой (AUC) уровня нитротирозиноз и риска развития системной воспалительной реакции

Нитротирозин	AUC	CO	95% ДИ	Значимость (p) по отношению к AUC = 0,5
I	0,64	0,15	0,36–0,86	0,425
II	0,70	0,15	0,42–0,90	0,215
III	0,67	0,15	0,39–0,88	0,320
IV	0,68	0,15	0,40–0,88	0,492

Примечание. CO — стандартная ошибка; ДИ — доверительный интервал

Обсуждение

Операции на сердце сопровождаются выраженным ОС, который характеризуется повышенным уровнем карбонилированных белков и конечных продуктов липидной перекисидации (малонового диальдегида, диеновых конъюгатов) [7, 14, 15].

В отношении активных форм азота на сегодняшний день данные более противоречивые. Так В.М. Matata и соавт. [7] показали более чем двукратное повышение уровня нитротирозина после индукции анестезии, данные изменения сохранялись не более одного часа, и уровень нитротирозина возвращался к исходному уровню ко второму часу от начала ИК. Исследование выполнено на небольшой когорте пациентов (20 человек) при операциях АКШ с ИК и без него. Существенно, что в исследование вошли пациенты с неосложненным течением ишемической болезни сердца, которым выполнено АКШ с использованием 1-2 шунтов. Длительность ишемии миокарда после пережатия аорты не превышала 35 мин, длительность ИК не более 70 мин. Учитывая указанные, крайне короткие временные интервалы, авторы предположили, что в данном случае источником нитрозилов являются неактивированные нейтрофилы, эндотелиоциты — второй по значимости (помимо нейтрофилов) источник оксида азота. Возможно, процесс инициируется экзогенно-вводимым гепарином, который, как показали J.M. Li и соавт. [16], может выступать индуктором синтеза NO.

В этой связи представляются важными данные об ингибировании индуцибельной синтазой оксида азота (i-NOS) митохондриальной цитохромоксидазы, что приводит к генерации избыточного количества активных форм кислорода в дыхательной цепи митохондрий, падению производства АТФ, окислению кардиолипина внутренней ее мембраны и прогрессированию ОС [17]. Таким образом, даже относительно кратковременное повышение уровня NO может быть триггером ОС. Возможно, что подобная ситуация имела место и в настоящем исследовании: NO, наряду с иными механизмами, запустил ОС и исчез до того, как мы предприняли попытку обнаружить его на этапе окончания операции. Таким образом, полученные результаты не опровергают важную роль NO в развитии ОС, но исключают нитротирозины из числа претендентов на роль предиктора органной дисфункции в раннем послеоперационном периоде.

В отличие от нитротирозина хорошие прогностические возможности показали карбонилированные белки.

В исследовании [18] на бóльшей когорте (67 пациентов) отмечена положительная корреляция уровня карбонилированных пептидов, измеренного сразу после окончания операции, с композитным исходом хирургического лечения (СВР + СН + ОПП): коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r = 0,6$, $p < 0,0001$.

Кроме того, по результатам ROC-анализа уровень карбониллов, измеренный сразу после окончания операции оказался значимым предиктором развития послеоперационных осложнений.

Ограничения исследования

В настоящей работе получен отрицательный результат: отсутствуют достоверные изменения содержания нитротирозина в плазме крови больных с АКШ на выбранных послеоперационных этапах исследования. Также отсутствует корреляция между уровнем нитротирозина и частотой развития послеоперационных осложнений. Возможно, подобный результат связан с крайне кратковременным подъемом уровня нитротирозина, только запускающим процесс ОС, а не сопровождающим его на всем протяжении.

Учитывая пилотный характер исследования предварительный расчет мощности не производился. Возможно, выбраны недостаточно показательные временные точки.

Малый размер выборки снижает ценность настоящего исследования, однако с учетом отсутствия тенденции к различиям можно предположить, что определение нитротирозина для оценки выраженности ОС не найдет применения в клинике.

Заключение

Полученные результаты не подвергают сомнению роль пероксинитрита, который в клинике мы оцениваем по уровню нитротирозина, в патогенезе ОС [5]. По литературным данным, именно пероксинитрит приводит к генерации самого токсичного для клеток гидроксил-радикала, повреждает митохондриальную цитохромоксидазу и, возможно, в дальнейшем вызывает взрывообразный рост содержания активных форм кислорода. Последствия данного процесса можно оценить по уровню карбонилированных белков, показавших в клинике положительные диагностические возможности [18].

Финансирование

Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского

по теме научно-исследовательской работы 1.6 «Оксидантный стресс в кардиохирургии: новые маркеры — предикторы развития осложнений и патогенетически обоснованная терапия».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн: В.В. Лихванцев.

Сбор и анализ данных: Т.С. Забелина, О.Н. Улиткина, Ю.В. Скрипкин.

Написание статьи: О.А. Гребенчиков, Ж.С. Филипповская.

Исправление статьи: О.А. Гребенчиков.

Утверждение окончательной версии для публикации: В.В. Лихванцев.

Список литературы / References

1. Nashef S.A., Roques F., Sharples L.D., Nilsson J., Smith C., Goldstone A.R., Lockowandt U. EuroSCORE II. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2012;41(4):734-45. <http://dx.doi.org/10.1093/ejcts/ezs043>
2. Гребенчиков О.А., Забелина Т.С., Филипповская Ж.С., Герасименко О.Н., Овезов А.М., Плотников Е.Ю., Лихванцев В.В. Окислительный стресс в кардиохирургии. *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2016;13(4):53-61. <http://dx.doi.org/10.21292/2078-5658-2016-13-4-53-60> [Grebentchikov O.A., Zabelina T.S., Filippovskaya Zh.S., Gerasimenko O.N., Ovezov A.M., Plotnikov E.Yu., Likhvantsev V.V. Oxidative stress in cardiac surgery. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii = Messenger of Anesthesiology and Resuscitation.* 2016;13(4):53-61. <http://dx.doi.org/10.21292/2078-5658-2016-13-4-53-60> (In Russ)]
3. Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В., Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Певзнер И.Б., Зорова Л.Д., Зоров Д.Б. Молекулярные механизмы развития и адресная терапия синдрома ишемии-реперфузии. *Анестезиология и реаниматология.* 2014;3:59-67. [Grebentchikov O.A., Likhvantsev V.V., Plotnikov E.Yu., Silachev D.N., Pevzner I.B., Zorova L.D., Zorov D.B. Molecular mechanisms of ischemic-reperfusion syndrome and its therapy. *Anesteziologija i reanimatologija = Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology.* 2014;3:59-67. (In Russ)]
4. Barzegar Amiri Olia M., Schiesser C.H., Taylor M.K. New reagents for detecting free radicals and oxidative stress. *Organic & Biomolecular Chemistry.* 2014;45(40):6758-67. <http://dx.doi.org/10.1039/c4ob01172d>
5. Zhang Y.H., Jin C.Z., Jang J.H., Wang Y. Molecular mechanisms of neuronal nitric oxide synthase in cardiac function and pathophysiology. *The Journal of Physiology.* 2014;592(15):3189-200. <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2013.270306>
6. Hayashi Y., Sawa Y., Fukuyama N., Miyamoto Y., Takahashi T., Nakazawa H., Matsuda H. Leukocyte-depleted terminal blood cardioplegia provides superior myocardial protective effects in association with myocardium-derived nitric oxide and peroxynitrite production for patients undergoing prolonged aortic crossclamping for more than 120 minutes. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003;126(3):1813-21. <http://dx.doi.org/10.1016/S0022>
7. Matata B.M., Sosnowski A.W., Galinanes M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg.* 2000;69(3):785-91.
8. Gonenc A., Hacisevki A., Griffiths H.R., Torun M., Bakkaloglu B., Simsek B. Free radical reaction products and antioxidant capacity in beating heart coronary artery surgery compared to conventional bypass. *Biochemistry Moscow.* 2011;76:677-68. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297911060083>
9. Бунятян А.А., Трекова А.Н., Еременко А.А. *Руководство по кардиоанестезиологии и интенсивной терапии.* М.: МИА, 2015. 718 с. [Bunyatjan A.A., Trekova A.N., Eremenko A.A. *Manual on cardioanesthesiology and intensive care.* Moscow: MIA Publ.; 2015. 718 p. (In Russ)]
10. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med.* 1992;20(6):864-74.
11. Bellinger D.C., Wypij D., Kuban K.C.K., Rappaport L.A., Hickey P.R., Wernovsky G., Jonas R.A., Newburger J.W. Developmental and neurological status of children at 4 years of age after heart surgery with hypothermic circulatory arrest or low-flow cardiopulmonary bypass. *Circulation.* 1999;100:526-532. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.100.5.526>
12. Bellomo R., Ronco C., Kellum J., Mehta R., Palevsky P. Acute Dialysis Quality Initiative. (2004). 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. *Crit Care.* 2004;8(4):204-12. <http://dx.doi.org/10.1186/cc2872>
13. Khan J., Brennan D.M., Bradley N., Gao B., Bruckdorfer R., Jacobs M. 3-nitrotyrosine in the proteins of human plasma determined by an ELISA method. *Biochem J.* 1998;300(Pt 2):795-801.
14. Bayram H., Erer D., Iriz E. Comparison of the effects of pulsatile cardiopulmonary bypass, non-pulsatile cardiopulmonary bypass and off-pump coronary artery bypass grafting on the respiratory system and serum carbonyl. *Perfusion.* 2012;27(5):378-88. <https://doi.org/10.1177/0267659112449036>
15. Pantke U., Volk T., Schmutzler M., Kox W. J., Sitte N., Grune T. Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery. *Free Radic Biol Med.* 1999;27(9-10):1080-86. [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00144-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00144-6)
16. Li J.M., Hajarizadeh H., La Rosa C.A., Rohrer M.J., Vander Salm T.J., Cutler B.S. Heparin and protamine stimulate production of nitric oxide. *J Cardiovasc Surg.* 1996;37(5):445-52.
17. Kadenbach B. Intrinsic and extrinsic uncoupling of oxidative phosphorylation. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1604(2):77-94.
18. Филипповская Ж.С., Герасименко О.Н., Гребенчиков О.А., Зиновкин Р.А., Ларьков Р.Н., Улиткина О.Н., Скрипкин Ю.В., Лихванцев В.В. Оксидантный стресс и ранние осложнения послеоперационного периода в кардиохирургии. *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2016;13(6):13-21. <http://dx.doi.org/10.21292/2078-5658-2016-13-6-13-21> [Filippovskaya Zh.S., Gerasimenko O.N., Grebentchikov O.A., Zinovkin R.A., Larkov R.N., Ulitkina O.N., Skripkin Yu.V., Likhvantsev V.V. Oxidative stress and early post-operative complications in cardiac surgery. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii = Messenger of Anesthesiology and Resuscitation.* 2016;13(6):13-21. (In Russ.) <http://dx.doi.org/10.21292/2078-5658-2016-13-6-13-21>]

Nitrotyrosine and its role in assessing the severity of oxidative stress and predicting the incidence of early postoperative complications

Oleg A. Grebenchikov, Zhanna S. Philippovskaya, Tatyana S. Zabelina, Yuri V. Skripkin, Olga N. Ulitkina, Valery V. Likhvantsev
Moscow Regional Research and Clinical Institute, 129110 Moscow, Russian Federation

Corresponding author. Tatyana S. Zabelina, tatazabelina@mail.ru

Background. Currently, the incidence of complications and perioperative mortality in cardiac surgery is still higher than in general surgery. This is partly associated with the development of oxidative stress, which is regarded as excessive accumulation of reactive oxygen species and nitrogen species. There are nowadays few studies demonstrating an increase of nitrotyrosine plasma level in patients during cardiac surgery. The relationship of these changes with postoperative complications and adverse outcomes has not been studied yet.

Aim. Investigation the dynamics of the nitrotyrosine plasma level in patients after cardiac surgery and the assessment of its prognostic significance in terms of the development of early postoperative complications.

Methods. The prospective observational cohort study involved 28 adult patients admitted at the cardiac intensive care unit of Moscow Regional Research and Clinical Institute (Moscow, Russian Federation). The relationship of the oxidative stress severity measured by intraoperative nitrotyrosine plasma levels and the development of acute kidney injury, cardiac failure and systemic inflammatory response syndrome was studied.

Results. There was no significant perioperative dynamics of nitrotyrosine plasma levels when studying this oxidative stress marker in patients undergoing cardiac surgery. The level of nitrotyrosine plasma by the end of surgery was 12.1 [9.9; 13.0] nmol/mg of protein, which was 5% higher ($p>0.5$) than the initial level of 11.6 [9.3; 12.2] nmol/mg of protein, and returned to 11.5 [10.9; 12.4] after the 1st postoperative day. The same perioperative dynamics occurred in the subgroups with different surgery techniques: valve surgery, coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass and off-pump coronary artery bypass grafting.

Conclusion. The negative result achieved in the given study might suggest that there are no significant changes of the perioperative nitrotyrosine plasma level in patients undergoing cardiac surgery, as well as that there is no significant correlation between the nitrotyrosine plasma level of and the incidence of postoperative complications.

Keywords: oxidative stress; nitrotyrosine; perioperative period; cardiopulmonary bypass; postoperative complications; reactive oxygen species

Received 26 December 2016. Accepted 4 May 2017.

Funding: The study was carried out within the state-funded research project "Oxidant stress in cardiac surgery: new markers-predictors of complication development and pathogenetically substantiated therapy" granted to Moscow Regional Research and Clinical Institute.

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

Author contributions

Conception and study design: V.V. Likhvantsev.

Data collection and analysis: T.S. Zabelina, Yu.V. Skripkin, O.N. Ulitkina.

Drafting the article: O.A. Grebenchikov, Zh.S. Philippovskaya.

Critical revision of the article: O.A. Grebenchikov.

Final approval of the version to be published: V.V. Likhvantsev.

Copyright: © 2017 Grebenchikov et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

How to cite: Grebenchikov O.A., Philippovskaya Zh.S., Zabelina T.S., Skripkin Yu.V., Ulitkina O.N., Likhvantsev V.V. Nitrotyrosine and its role in assessing the severity of oxidative stress and predicting the incidence of early postoperative complications. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2017;21(2):77-84. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2017-2-77-84>