

Защита миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения посредством подачи оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при проведении искусственного кровообращения

© Н.О. Каменщиков¹, И.А. Мандель^{2,3}, Ю.К. Подоксенов^{1,5}, С.Л. Михеев⁴, А.С. Семенцов¹, Л.Н. Маслов¹, Б.Н. Козлов^{1,5}, В.М. Шипулин^{1,5}

¹ ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» «Научно-исследовательский институт кардиологии», Томск, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Министерство здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

³ ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Москва, Российская Федерация

⁴ ФГАУ «Лечебно-реабилитационный центр», Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

⁵ ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет», Министерство здравоохранения Российской Федерации, Томск, Российская Федерация

Поступила в редакцию 19 июня 2017 г. Исправлена 9 октября 2017 г. Принята к печати 15 октября 2017 г.

Для корреспонденции: Николай Олегович Каменщиков, nikolajkamenof@mail.ru

Цель

Изучение эффективности подачи оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции для защиты миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения при моделировании острого инфаркта миокарда в условиях нормотермического искусственного кровообращения в эксперименте.

Методы

В условиях сбалансированной анестезии, искусственной вентиляции легких и кровообращения была смоделирована острая ишемия с последующей реперфузией миокарда у кроликов ($n = 20$). Эксперимент включал окклюзию левой коронарной артерии путем пережатия лигатурой на 45 мин с последующей реперфузией в течение 120 мин на фоне искусственного кровообращения. Все животные были разделены на 2 равные группы: 10 кроликам проводилась подача оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 40 ppm (основная группа); 10 кроликов составили контрольную группу, доставка оксида азота им не выполнялась. Определяли отношение зоны инфаркта к области риска, оценивали количество и характер желудочковых аритмий, темп диуреза.

Результаты

Подача оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при искусственном кровообращении оказывает выраженное инфаркт-лимитирующее действие, проявляющееся в снижении отношения зоны инфаркта к области риска на 15%, $p = 0,0002$. В периоды ишемии и реперфузии статистически значимое меньшее количество политопных и полиморфных желудочковых экстрасистол наблюдали в основной группе ($p = 0,003$ и $p = 0,012$). Выявлено статистически значимое снижение веноартериального градиента парциального давления углекислого газа в основной группе. Снижение веноартериального градиента pCO_2 в основной группе было ассоциировано со значимым повышением темпа мочеотделения во время искусственного кровообращения, который составил 1,4 [1,3; 1,5] мл/кг/ч в основной группе и 1,15 [1; 1,3] мл/кг/ч в контрольной группе, $p = 0,013$.

Выводы

Полученные в ходе эксперимента данные свидетельствуют о кардиопротективных свойствах оксида азота при его подаче в контур экстракорпоральной циркуляции при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения миокарда в виде снижения отношения зоны инфаркта к области риска на 15%, меньшего количества аритмий, а также улучшения тканевой перфузии во время искусственного кровообращения. Интраоперационная органопroteкция миокарда оксидом азота у больных, оперированных в условиях искусственного кровообращения, должна стать объектом дальнейших клинических исследований.

Ключевые слова

защита миокарда; прекодиционирование; ишемически-реперфузионное повреждение; оксид азота

Как цитировать: Каменщиков Н.О., Мандель И.А., Подоксенов Ю.К., Михеев С.Л., Семенцов А.С., Маслов Л.Н., Козлов Б.Н., Шипулин В.М. Защита миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения посредством подачи оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при проведении искусственного кровообращения. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2017;21(4):79-86. <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2017-4-79-86>



Введение

Кардиохирургическое вмешательство, выполненное в условиях искусственного кровообращения (ИК), сопровождается разнонаправленными изменениями на всех уровнях нервно-рефлекторной регуляции, гуморальной активности и метаболического статуса [1]. Интраоперационная защита органов и тканей, в частности миокарда, по-прежнему остается одним из нерешенных вопросов кардиоанестезиологии. Частота миокардиальной дисфункции в раннем послеоперационном периоде колеблется от 3 до 30% случаев [3] и обусловлена сложным взаимодействием разнообразных механизмов, включающих особый режим обменных процессов в миокарде, свободно-радикальное повреждение, ионный парадокс и эндотелиальную дисфункцию [4].

Одним из перспективных направлений является реализация клинических эффектов феномена прекондicionирования [5, 6]. Ишемическое и фармакологическое прекондicionирование представляет собой эффективный способ повышения резистентности организма к повреждающим воздействиям [7–11]. Однако у больных кардиологического профиля, ввиду возможного усугубления симптомов и сниженных резервов миокарда для защиты сердца от интраоперационной ишемии и реперфузии, наиболее подходящим и безопасным считается фармакологически индуцированное прекондicionирование [12]. При этом в качестве триггера адаптации сердца к ишемически-реперфузионному повреждению может выступать оксид азота (NO), запускающий инфаркт-лимитирующее действие через активацию cGMP (циклический гуанозинмонофосфат)-зависимой протеинкиназы G и образование свободных радикалов [13–16]. Стимуляция синтеза NO также играет ключевую роль и в опосредовании феномена эндогенной органопротекции, выступая медиатором поздней фазы цитопротективных эффектов [17].

Цель исследования: изучить эффективность подачи NO в контур экстракорпоральной циркуляции для защиты миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения при моделировании острого инфаркта миокарда в условиях искусственного кровообращения.

Методы

Перспективное экспериментальное исследование проводили на 20 кроликах-самцах породы «Советская шиншилла» массой 3–3,5 кг. Все животные были разделены на 2 равные группы: 10 кроликам проводилась подача NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 40

ppm на протяжении всего периода ИК (основная группа); 10 кроликов составили контрольную группу. Животных содержали в условиях конвенционального вивария. Все болезненные процедуры и выведение животных из эксперимента осуществляли на наркотизированных животных согласно приказу Минздрава №199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 1 апреля 2016 г., Принципам надлежащей лабораторной практики ГОСТ 33044-2014 и руководству Janet C. Garber, Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition National Research Council, 2011.

Эксперимент начинали с масочной индукции анестезии севофлураном. По достижении целевого уровня анестезии выполняли ретроградную интубацию трахеи по разработанной нами методике эндотрахеальной трубкой № 2,5 (патент № 2611955 от 1 марта 2017 г.), животное фиксировали в положении лежа на спине. Искусственную вентиляцию легких проводили с помощью аппарата искусственной вентиляции легких Puritan Bennett 760 (США) с дыхательным объемом 30–40 мл, частотой дыхательных движений 50–55 в минуту в режиме Controlled Mandatory Ventilation (CMV) с управляемым объемом. Поддержание анестезии обеспечивали севофлураном 1,2–1,5 об% через испаритель Vapor 2000 (Drager, Германия). Использовали стандартный мониторинг анестезии, включавший непрерывный анализ электрокардиографии, инвазивный мониторинг артериального давления, пульсоксиметрию, термометрию с помощью монитора Siemens 7000 (Германия), учет темпа мочеотделения. Для инвазивного измерения артериального давления и забора крови для лабораторного анализа канюлировали бедренную артерию катетером 20G. Для инфузионной терапии канюлировали бедренную вену катетером 20G. Температурный датчик устанавливали в пищевод. Мониторировали показатели сатурации артериальной крови SaO₂, сатурации венозной крови из контура искусственного кровообращения SvO₂, веноартериальный градиент pCO₂, уровень лактата, рассчитывали индекс экстракции кислорода O₂EI, а также контролировали кислотно-щелочное состояние крови. Газовый состав крови определяли на приборе STAT PROFILE Critical Care Xpress (Nova Biomedical, США). Забор крови проводили на этапах: до ИК, начало ИК, 45 мин ишемии миокарда, 45 мин реперфузии миокарда, 90 мин реперфузии, 120 мин реперфузии. Также с помощью данного газоанализатора методом отражающей фотометрии контролировали уровень метгемоглобина. Для проведения ИК использовали роликовый насос НПМ-1, неонаталь-

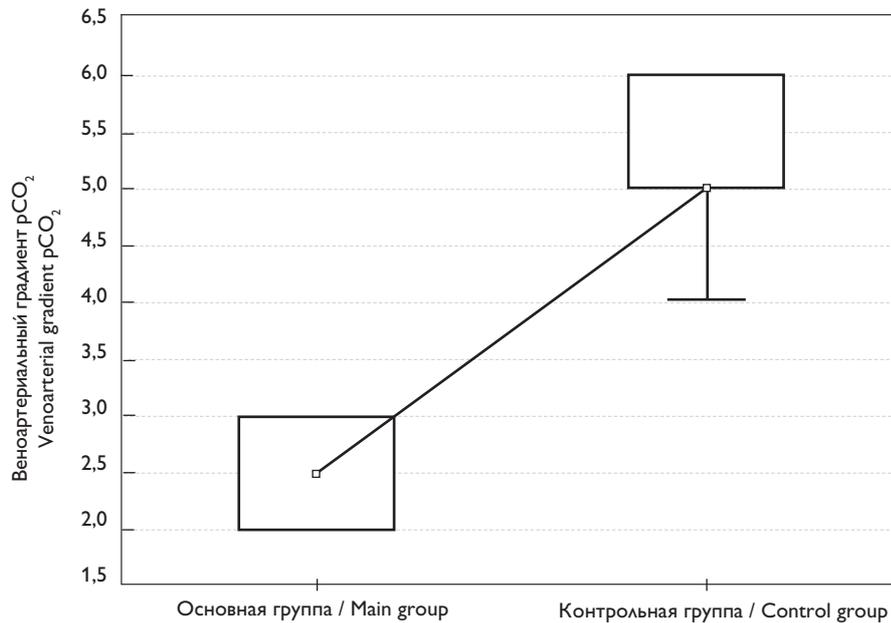


Рис. 1. Веноартериальный градиент pCO_2 , 45 мин ишемии, данные представлены как Me [25; 75]; $p = 0,0001$
Fig. 1. Venoarterial gradient pCO_2 , 45 min ischemia, data are presented as Me [25; 75]; $p = 0.0001$

ный оксигенатор Kids D100 (Dideco, Италия). Площадь поверхности тела кролика считали равной 0,25 м². ИК осуществляли в непульсирующем режиме, в условиях нормотермии. Подключение аппарата искусственного кровообращения осуществляли по принятой методике по схеме «аорта – правое предсердие». Перфузионный индекс составлял 1,8 л/мин/м². Вазоактивные препараты в обеих группах не применяли. В исследуемой группе в магистраль подачи газо-воздушной смеси в асептических условиях встраивали дополнительную линию для доставки NO. Коннектор линии доставки NO был максимально приближен к оксигенатору аппарата ИК и имел бактериальный фильтр. После достижения расчетной объемной скорости перфузии осуществляли подачу NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 40 ppm. Дозирование NO осуществляли с помощью анализатора PrinterNOX (CareFusion, США). Затем проводили окклюзию левой коронарной артерии путем пережатия лигатурой на 45 мин с последующей реперфузией в течение 120 мин на фоне ИК. При этом протокол инфузии NO сохраняли без изменений на протяжении всего периода искусственного кровообращения.

В группе контроля подачу NO в контур аппарата ИК не проводили. Эксперимент включал окклюзию левой коронарной артерии в течение 45 мин с последующей

реперфузией в течение 120 мин в условиях искусственного кровообращения.

Нарушения ритма за период коронароокклюзии регистрировали в первые 10 мин (фаза 1) и последующие 35 мин (фаза 2), поскольку механизмы возникновения аритмий в эти периоды различаются. Фаза 3 — первые 45 мин реперфузии. В фазу 1 нарушения ритма возникают по механизму reentry, в фазу ишемии 2 и при реперфузии — как по механизму reentry, так и при участии эктопического автоматизма [2].

Измерение отношения зоны инфаркта (ЗИ) к области риска (ОР) проводили с помощью модифицированного метода, предложенного J. Neekar [18]. Для определения области риска (гипоперфузии) лигатуру повторно затягивали, сердце окрашивали 5% раствором перманганата калия, который вводили через аортальную канюлю. Сердце извлекали из грудной полости, удаляли правый желудочек и готовили срезы толщиной 1 мм, которые делали строго перпендикулярно продольной оси сердца, используя слайсер HSRABBIT002-1 (Zivic Instruments, Pittsburgh, США)). Срезы сканировали с обеих сторон с помощью HP Scanjet G4050 (Hewlett-Packard, Palo Alto, США) с высоким разрешением (2400 dpi). В области гипоперфузии разграничивали зоны, в которых ткани миокарда подверглись некрозу. Величину ЗИ и ОР определяли

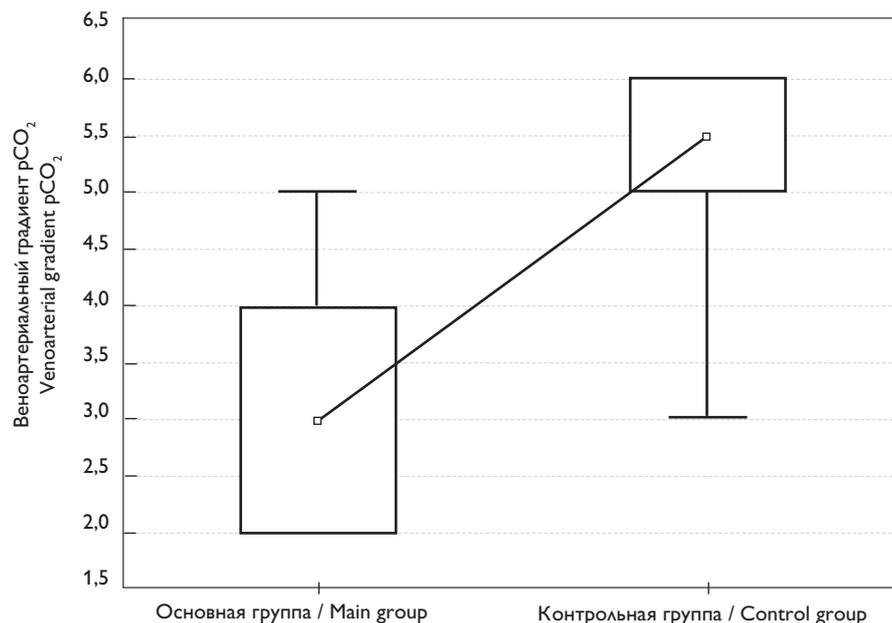


Рис. 2. Веноартериальный градиент $p\text{CO}_2$, 45 мин реперфузии, $p = 0,0016$; данные представлены как Me [25; 75]

Fig. 2. Venoarterial gradient $p\text{CO}_2$, 45 min reperfusion, $p = 0.0016$; data are presented as Me [25; 75]

компьютеризированным планиметрическим методом, используя оригинальное программное обеспечение. Метод компьютерной планиметрии применяли для измерения общей площади срезов, суммарной площади зоны инфаркта и области риска для каждого сердца в отдельности. Измерение осуществляли с помощью программного обеспечения для анализа изображений ImageJ2 [19]. Величину очага инфаркта выражали в виде процентного соотношения зоны инфаркта к размеру области риска (ЗИ/ОР).

Статистический анализ

Статистический анализ полученных данных был проведен в программе Statistica 10.0 (StatSoft). Количественные значения выражали как медиану 25-го и 75-го перцентилей (Me [25; 75]). Сравнение количественных характеристик проводили с помощью U-критерия Манна – Уитни (для независимых переменных) и T-критерия Уилкоксона (для зависимых переменных). Различия между группами в частоте возникновения желудочковых аритмий оценивали с помощью критерия хи-квадрат. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

У животных обеих групп в течение эксперимента были стабильные показатели метаболизма, кислотно-основной состав крови и ионнограмма: pH, уровни бу-

ферных оснований, концентрация лактата, глюкозы, ионов натрия, калия и кальция — находились в пределах референтных значений. При анализе межгрупповых различий отмечено значимое снижение веноартериального градиента $p\text{CO}_2$ на этапе 45 мин ишемии (рис. 1), $p = 0,0001$, и на этапе 45 мин реперфузии, $p = 0,0016$ (рис. 2).

Снижение веноартериального градиента $p\text{CO}_2$ в основной группе было ассоциировано со значимым повышением темпа мочеотделения во время ИК, который составил 1,4 [1,3; 1,5] мл/кг/ч в основной группе и 1,15 [1; 1,3] мл/кг/ч в контрольной, $p = 0,013$ (рис. 3).

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

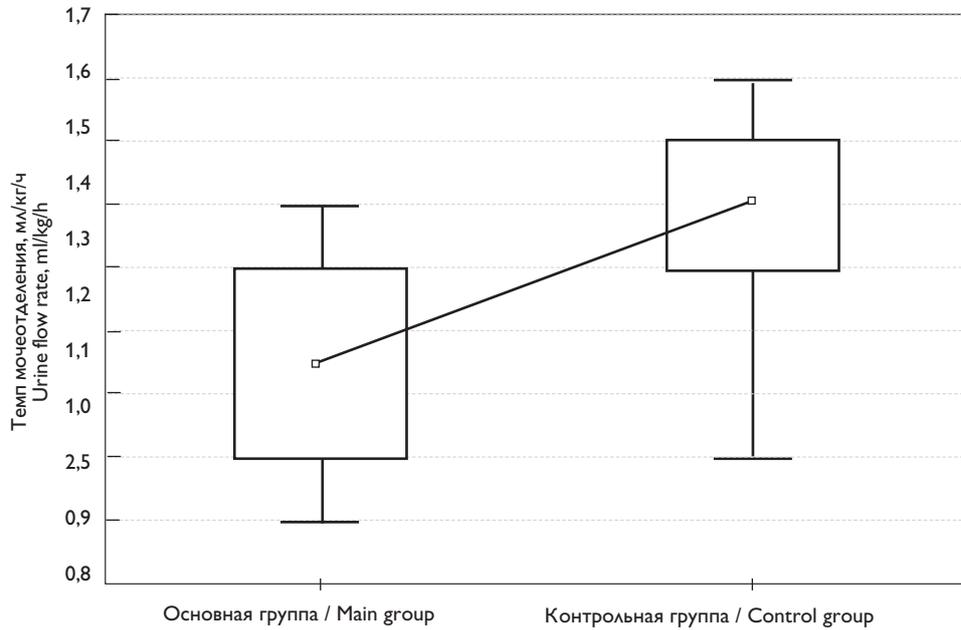


Рис. 3. Темп мочеотделения, мл/кг/ч; $p = 0,013$

Fig. 3. Urine flow rate, ml/kg/h; $p = 0.013$

ной группе фибрилляция желудочков не зарегистрирована, $p = 0,04$ (таблица).

Соотношение ЗИ/ОР в основной группе составило 55,6 [50; 61] %, что меньше на 15%, чем у животных контрольной группы — 69,9 [68; 73] %, $p = 0,0002$ (рис. 4).

Обсуждение

Известно, что NO участвует в реализации различных защитных эффектов адаптации через изменение функционального состояния митохондрий. Возможные механизмы органопротективного действия включают

каскады внутриклеточных трансммиттеров с активацией K_{ATP} -каналов и ингибированием митохондриальных проводящих пор как конечных эффекторов preconditionирования и снижения повреждения митохондрий при гипоксии/аноксии. Опосредованное NO-угнетение адренергической стимуляции и сократимости с сохранением эндотелий-зависимой вазодилатации и снижением кальциевой перегрузки клеток ведет к уменьшению феномена no-reflow. В исследовании у грызунов установлено, что ингаляция оксида азота приводит к быстрому накоплению метаболитов NO в крови и тканях, способс-

Влияние доставки NO в контур искусственного кровообращения на частоту возникновения аритмий на этапах ишемии и реперфузии

Фаза	Вид нарушения сердечного ритма	Основная группа, n (%)	Контрольная группа, n (%)	P
10 мин ишемии	нет аритмий либо редкие монотопные ЖЭС	5 (50)	6 (60)	0,5
10 мин ишемии	политопные и полиморфные ЖЭС	2 (20)	9 (90)	0,003
10 мин ишемии	фибрилляция желудочков	0	1 (10)	0,5
35 мин ишемии	нет аритмий либо редкие монотопные ЖЭС	5 (50)	6 (60)	0,5
35 мин ишемии	политопные и полиморфные ЖЭС	1 (10)	7 (70)	0,001
35 мин ишемии	фибрилляция желудочков	1 (10)	1 (10)	1
45 мин реперфузии	нет аритмий либо редкие монотопные ЖЭС	5 (50)	4 (40)	0,5
45 мин реперфузии	политопные и полиморфные ЖЭС	2 (20)	8 (80)	0,012
45 мин реперфузии	фибрилляция желудочков	0	4 (40)	0,04

Примечание. ЖЭС — желудочковые экстрасистолы, применен критерий χ^2 Пирсона

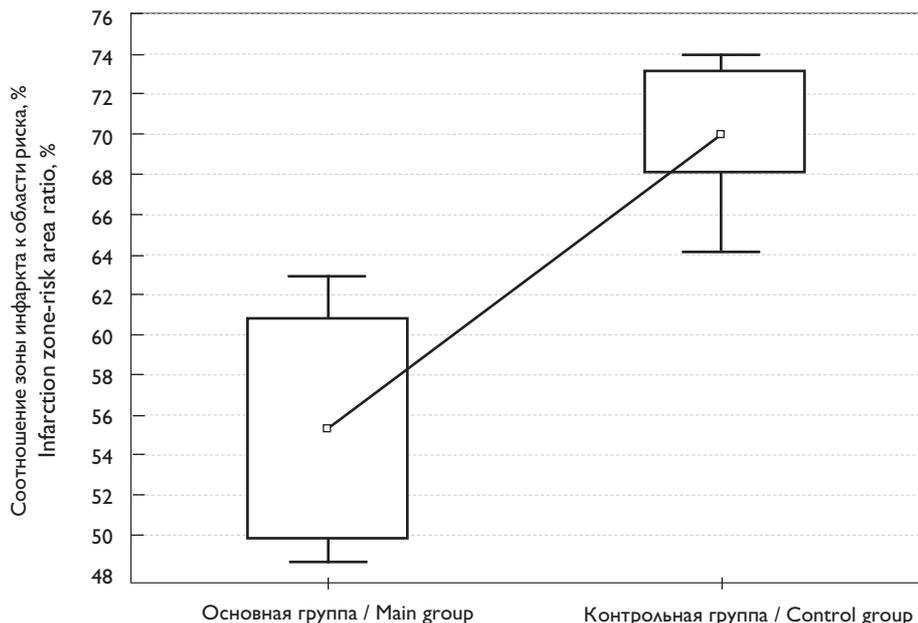


Рис. 4. Соотношение зоны инфаркта к области риска, данные представлены в % как Me [25; 75], использован критерий Манна – Уитни; $p = 0,0002$

Fig. 4. Infarction zone-risk area ratio, the data are presented in % as Me [25; 75], Mann – Whitney test was used; $p = 0.0002$

твоя кардиопротекции при ишемически-реперфузионном повреждении и уменьшению ЗИ/ОР на 31% [20, 21].

Полученные нами данные также свидетельствуют о кардиопротективных свойствах NO при его подаче в контур экстракорпоральной циркуляции при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения миокарда. Выявлен инфаркт-лимитирующий эффект со снижением ЗИ/ОР на 15% по сравнению с контрольной группой, а также антиаритмическое действие.

Кардиохирургические пациенты имеют повышенный риск острого повреждения почек и желудочно-кишечного тракта, особенно при необходимости сочетанной операции [22]. Развитие гемолиза вследствие длительного ИК и применения компонентов донорской крови, а также ограничение NO-биодоступности приводят к расстройствам микроциркуляции и системным абберациям органного кровотока [23].

В исследованиях последних лет доказана безопасность применения оксида азота в течение 24 ч, а также нефропротективное действие оксида азота, примененного во время ИК и в течение 24 ч после ИК в виде ингаляции, которое проявлялось в снижении развития острого почечного повреждения после кардиохирургических операций в условиях длительного перфузионного периода [24].

По нашим данным, снижение веноартериального градиента pCO_2 в основной группе было ассоциировано со

значимым повышением темпа мочеотделения во время ИК, что указывает на более выгодный режим кровообращения в органах спланхического бассейна, в том числе почек во время ИК. Определение оптимального режима дозирования требует дальнейшего изучения.

Выводы

Полученные в ходе эксперимента данные свидетельствуют о кардиопротективных свойствах оксида азота при его подаче в контур экстракорпоральной циркуляции при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения миокарда в виде снижения ЗИ/ОР на 15%, меньшего количества аритмий. Доставка оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции также приводит к улучшению тканевой перфузии во время искусственного кровообращения. Интраоперационная органопротекция миокарда оксидом азота у больных, оперированных в условиях ИК, должна стать объектом дальнейших клинических исследований.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Все авторы соответствуют четырем критериям авторства ICMJE и одинаково участвовали на всех этапах исследования.

Благодарности

Авторы выражают благодарность Екатерине Сергеевне Токаревой и Александре Александровне Ненаховой за помощь в подготовке статьи.

Список литературы / References

1. Караськов А.М., Ломиворотов В.В. Биохимическая адаптация организма после кардиохирургических вмешательств. Новосибирск: Академическое издательство «Гео», 2004. 288 с. [Karaskov A.M., Lomivorotov V.V. *Biokhimičeskaya adaptatsiya organizma posle kardiokhirurgičeskikh vmeshatelstv*. Novosibirsk: Geo Publ.; 2004. 288 p. (In Russ.)]
2. Маслов Л.Н., Лышманов Ю.Б., Крылатов А.В., Семенцов А.С., Портниченко А.Г., Подоксёнов Ю.К., Халиулин И.Г. Сравнительный анализ кардиопротекторной и антиаритмической эффективности раннего и позднего гипоксического preconditionирования. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2013;156(12):705-708. Режим доступа: <http://www.iramn.ru/journal/bebm/2013/bbm1312.htm> [Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Krylatov A.V., Sementsov A.S., Portnichenko A.G., Podoksenov Yu.K., Khaliulin I.G. Comparative analysis of early and delayed cardioprotective and antiarrhythmic efficacy of hypoxic preconditioning. *Bull Exp Biol Med*. 2014;156(6):746-9. PMID: 24824686. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2439-7>].
3. Yau J.M., Alexander J.H., Hafley G., Mahaffey K.W., Mack M.J., Kouchoukos N., Goyal A., Peterson E.D., Gibson C.M., Califf R.M., Harrington R.A., Ferguson T.B.; PREVENT IV Investigators. Impact of perioperative myocardial infarction on angiographic and clinical outcomes following coronary artery bypass grafting (from PProject of Ex-vivo Vein graft ENGINEERING via Transfection [PREVENT] IV). *Am J Cardiol*. 2008;102(5):546-51. PMID: 18721510. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.04.069>
4. Carden D.L., Granger D.N. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 2000;190(3):255-66. PMID: 10685060. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(200002\)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(200002)190:3<255::AID-PATH526>3.0.CO;2-6)
5. Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36. PMID: 3769170. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.74.5.1124>
6. Лихванцев В.В., Мороз В.В., Гребеников О.А., Гороховатский Ю.И., Заржетский Ю.В., Тимошин С.С., Левиков Д.И., Шайбакова В.Л. Ишемическое и фармакологическое preconditionирование. *Общая реаниматология*. 2011;7(6):59. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-6-59>. [Likhvantsev V.V., Moroz V.V., Grebenchikov O.A., Gorokhovatsky Y.I., Zarzhetsky Y.V., Timoshin S.S., Levikov D.I., Shaibakova V.L. Ischemic and pharmacological preconditioning. *Obshhaja reanimatologija = General Reanimatology*. 2011;7(6):59. (In Russ.) <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-6-59>]
7. Jenkins D.P., Pugsley W.B., Alkhulaifi A.M. Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart*. 1997;77(4):314-8. PMID: 9155608. <http://dx.doi.org/10.1136/hrt.77.4.314>
8. Wu Z.K., Iivainen T., Pehkonen E., Laurikka J., Tarkka M.R. Ischemic preconditioning suppresses ventricular tachyarrhythmias after myocardial revascularization. *Circulation*. 2002;106(24):3091-6. PMID: 12473557. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000041430.32233.5B>
9. Julier K.L., da Silva R., Garcia C., Bestmann L., Frascarolo P., Zollinger A., Chassot P.G., Schmid E.R., Turina M.L., von Segesser L.K., Pasch T., Spahn D.R., Zaugg M. Preconditioning by sevoflurane decreases biochemical markers for myocardial and renal dysfunction in coronary artery bypass graft surgery: a double-blinded placebo-controlled, multicenter study. *Anesthesiology*. 2003;98(6):1315-27. PMID: 12766638
10. Gross E.R., Gross G.J. Ligand triggers of classical preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Research*. 2006;70(2):212-21. PMID: 16448635. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2005.12.019>
11. Wall T.M., Sheehy R., Hartman J.C. Role of bradykinin in myocardial preconditioning. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;270(2):681-9. PMID: 8071859
12. Ломиворотов В.В., Караськов А.М. Preconditionирование в кардиохирургии. Новосибирск: Академическое издательство «Гео», 2010. 127 с. [Lomivorotov V.V., Karaskov A.M. *Prekonditsionirovaniye v kardiokhirurgii*. Novosibirsk, Geo Publ.; 2010. 127 p. (In Russ.)]
13. Cuong D.V., Kim N., Youm J.B., Joo H., Warda M., Lee J.W., Park W.S., Kim T., Kang S., Kim H., Han J. Nitric oxide-cGMP-protein kinase G signaling pathway induces anoxic preconditioning through activation of ATP-sensitive K⁺ channels in rat hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;290(5):H1808-17. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00772.2005>
14. Lebuffe G.L., Schumacker P.T., Shao Z.H., Anderson T., Iwase H., Vanden Hoek T.L. ROS and NO trigger early preconditioning: relationship to mitochondrial KATP channel. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;284(1):H299-308. PMID: 12388274. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00706.2002>
15. Xu Z., Ji X., Boysen P.G. Exogenous nitric oxide generates ROS and induces cardioprotection: involvement of PKG, mitochondrial KATP channels, and ERK. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286(4):1433-40. PMID: 14656708. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00882.2003>
16. Bolli R., Dawn B., Tang X. L., Qiu Y., Ping P., Xuan Y.T., Jones W.K., Takano H., Guo Y., Zhang J. The nitric oxide hypothesis of late preconditioning. *Basic Res Cardiology*. 1998;93(5):325-38. PMID: 9833145. <https://doi.org/10.1007/s003950050101>
17. Kodani E., Xuan Y. T., Takano H., Shinmura K., Tang X. L., Bolli R. Role of cyclic guanosine monophosphate in late preconditioning in conscious rabbits. *Circulation*. 2002;105(25):3046-52. PMID: 12082001. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000019408.67709.B5>
18. Neckár J., Papoušek F., Nováková O., Ostádal B., Kolár F. Cardioprotective effects of chronic hypoxia and ischaemic preconditioning are not additive. *Basic Res Cardiology*. 2002;97(2):5161-7. PMID: 12002264. <https://doi.org/10.1007/s003950200007>
19. Schindelin J., Rueden C.T., Hiner M.C., Eliceiri K.W. The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis. *Mol Reprod Dev*. 2015;82(7-8):518-29. PMID 26153368. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>
20. Мандель И.А., Подоксёнов А.Ю., Суходоло И.В., Подоксёнов Ю.К., Свирко Ю.С., Каменщиков Н.О., Михеев С.Л., Семенцов А.С., Ан Д.А., Шипулин В.М., Маслов Л.Н. Защита миокарда от ишемических и реперфузионных повреждений (экспериментальное исследование). *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017;164(7):29-34. Режим доступа: <http://www.iramn.ru/journal/bebm/2017/bbm1707.htm> [Mandel I.A., Podoksenov A.Yu., Suhodolo I.V., Podoxenov Yu.K., Svirko Yu.S., Kamenschikov N.O., Mikheev S.L., Sementsov A.S., An D.A.,

- Shipulin V.M., Maslov L.N. Protection of myocardial from ischemic and reperfusion damage (experimental study). *Bull Exp Biol Med.* 2017;164(7):29-34 (In Russ.) Available from: <http://www.iramn.ru/journal/bebm/2017/bbm1707.htm>
21. Nagasaka Y., Fernandez B.O., Garcia-Saura M.F., Petersen B., Ichinose F., Bloch K.D., Feelisch M., Zapol W.M. Brief periods of nitric oxide inhalation protect against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology.* 2008;109(4):675-82. PMID: 18813047. <https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318186316e>
22. O'Neal J.B., Shaw A.D., Billings F.T. IV. Acute kidney injury following cardiac surgery: current understanding and future directions. *Crit Care.* 2016;20:187. PMID: 25249983. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1352-z>
23. Vermeulen Windsant I.C., de Wit N.C., Sertorio J.T., van Bijnen A.A., Ganushchak Y.M., Heijmans J.H., Tanus-Santos J.E., Jacobs M.J., Maessen J.G., Buurman W.A. Hemolysis during cardiac surgery is associated with increased intravascular nitric oxide consumption and perioperative kidney and intestinal tissue damage. *Front Physiol.* 2014;5:340. PMID: 25249983. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00340>
24. Ignarro L.J., Freeman B. *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology, Third Edition.* Academic Press; 2017. 434 p.

Myocardium protection against ischemic-reperfusion injury by nitric oxide supplied to the extracorporeal circulation line during cardiopulmonary bypass (experimental study)

Nikolay O. Kamenshchikov¹, Irina A. Mandel^{2,3}, Yuri K. Podoksenov^{1,5}, Sergey L. Mikheev⁴, Andrey S. Sementsov¹, Leonid N. Maslov¹, Boris N. Kozlov^{1,5}, Vladimir M. Shipulin^{1,5}

¹ Research Institute of Cardiology, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

³ Federal Research Clinical Center, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation

⁴ Treatment and Rehabilitation Center, Ministry of Health of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

⁵ Siberian State Medical University, Ministry of Health of Russian Federation, Tomsk, Russian Federation

Corresponding author: Nikolay O. Kamenshchikov, nikolajkamenof@mail.ru

Aim. The study was designed to assess the efficiency of exogenous nitric oxide supply to the extracorporeal circulation line for myocardial protection against ischemic-reperfusion injury in acute myocardial infarction simulation during cardiopulmonary bypass (CPB) in the experiment.

Methods. Acute ischemia was simulated in rabbits (n = 20) with subsequent myocardial reperfusion. All animals were anesthetized and mechanically ventilated through a nasotracheal tube. The experiment included occlusion of the left coronary artery by its clamping with a ligature for 45 min with subsequent reperfusion for 120 min during CPB. All animals were divided into 2 equal groups: 10 rabbits received nitric oxide supply to the extracorporeal circulation line in a dose of 40 ppm throughout the entire CPB period (the main group); 10 rabbits made up the control group. The ratio of the infarction area to the risk area was determined, and the quantity and nature of ventricular arrhythmias were accessed.

Results. It was established that nitric oxide supply through the extracorporeal circulation line during CPB had a pronounced infarct-limiting effect, the infarct area to the risk area ratio decreased by 15% as compared to the control group, p = 0.0002. There was also a significant antiarrhythmic effect. A lesser quantity of polytopic and polymorphic ventricular extrasystoles were observed in the main group during periods of ischemia and reperfusion (p = 0.003 and p = 0.012). A statistically significant decrease in the venoarterial gradient of the partial pressure of carbon dioxide in the main group was associated with an increase in the urine flow rate amounting to 1.4 [1.3; 1.5] ml/kg/h in the main group and 1.15 [1; 1.3] ml/kg/h in the control group, p = 0.013.

Conclusion. The data obtained during the experiment demonstrate the presence of cardioprotective properties of nitric oxide delivered to the extracorporeal circulation line when simulating myocardial ischemic-reperfusion injury. These properties manifest themselves as a 15% decrease of the infarction zone-risk area ratio, a fewer number of arrhythmias and improvement of tissue perfusion during CPB. Intraoperative myocardial protection by nitric oxide in patients operated with CPB should be the object of further clinical research.

Key words: myocardium protection; preconditioning; ischemic-reperfusion injury; nitric oxide

Received 19 June 2017. Revised 9 October 2017. Accepted 15 October 2017.

Funding: The study did not have sponsorship.

Conflict of interest: Authors declare no conflict of interest.

Author contributions: All the authors comply with 4 ICMJE authorship criteria and contributed equally at every stage of the study.

Acknowledgement: The authors express their gratitude to Ekaterina S. Tokareva and Aleksandra A. Nenakhova for support in preparation of the article.

Copyright: © 2017 Kamenshchikov 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: Kamenshchikov N.O., Mandel I.A., Podoksenov Y.K., Mikheev S.L., Sementsov A.S., Maslov L.N., Kozlov B.N., Shipulin V.M. Myocardium protection against ischemic-reperfusion injury by nitric oxide supplied to the extracorporeal circulation line during cardiopulmonary bypass (experimental study). *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery.* 2017;21(4):79-86. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2017-34-79-86>