

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Приволжский исследовательский медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

СЕЙФЕТДИНОВ

Ильгиз Ряшидович

КАРДИОПРОТЕКТИВНОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ИНГАЛЯЦИОННОГО
ОКСИДА АЗОТА ПРИ ОПЕРАЦИЯХ НА КЛАПАНАХ СЕРДЦА В
УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

14.01.20 – анестезиология и реаниматология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
д.м.н., профессор Пичугин Владимир Викторович

Нижний Новгород – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ИНГАЛЯЦИОННЫЙ ОКСИД АЗОТА В ПРОФИЛАКТИКЕ ИШЕМИЧЕСКИХ И РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СЕРДЦА ПРИ ОПЕРАЦИЯХ С ИСКУССТВЕННЫМ КРОВООБРАЩЕНИЕМ (обзор литературы)	14
1.1. Внелегочные эффекты ингаляционного оксида азота - экспериментальные и клинические данные	14
1.1.1. Ишемическое и реперфузионное повреждение миокарда	15
1.1.2. Шок	17
1.1.3. Нейропротекторное действие ингаляционного оксида азота	17
1.1.4. Почечные эффекты ингаляционного NO	21
1.2. Влияние оксида азота на коронарное кровообращение и миокард	22
1.3. Фармакологическое прекондиционирование оксидом азота	28
1.4. Клинические исследования применения ингаляционного оксида азота для улучшения миокардиальной протекции а кардиохирургии	33
1.5. Заключение	38
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	40
2.1 Общая характеристика исследования	40
2.1.1 Последовательность событий исследования.....	40
2.1.2 Критерии включения и невключения в исследование.....	41
2.1.3 Алгоритм предоперационного обследования пациентов.....	43
2.1.4. Создание и рандомизация групп сравнения	43
2.2 Общая характеристика пациентов и выполненных оперативных вмешательств	44
2.3. Методики, использованные при обеспечении периоперационного периода операций на клапанах сердца	46
2.3.1. Анестезиологическое обеспечение операций на клапанах сердца ..	46

2.3.2. Методика искусственного кровообращения и кардиоплегии	49
2.3.3. Методика применения ингаляционного оксида азота	51
2.3.4. Интенсивная терапия и мониторинг больных в раннем послеоперационном периоде	54
2.4. Методы оценки эффективности методик применения ингаляционного оксида азота для защиты миокарда	56
2.5. Методы статистической обработки результатов исследования	59
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	60
3.1 Клиническая оценка эффективности фармакологического прекондиционирования миокарда оксидом азота при операциях с искусственным кровообращением.	60
3.1.1. Результаты исследования клинической эффективности фармакологического прекондиционирования миокарда оксидом азота.	61
3.2. Влияние режима интраоперационного применения ингаляционного оксида азота на эффективность миокардиальной защиты.	73
3.2.1. Результаты исследования.	73
3.3. Обсуждение полученных результатов.	84
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	89
ВЫВОДЫ.	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	98
Перспективы дальнейшей разработки темы.	99
Список сокращений.	100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	102

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Ингаляционный оксид азота является селективным легочным вазодилататором, обычно используемым для лечения неонатальной гипоксии и легочной гипертензии (Bloch K.D. et al., 2007). Тем не менее, к настоящему времени описано значительное количество внелегочных эффектов при применении ингаляций NO. Так в экспериментах на животных, вдыхание NO уменьшало ишемические и реперфузионные повреждения сердца (Hataishi R. et al., 2006; Liu X. et al., 2007; Nagasaka Y. et al., 2008; Nagasaka Y. et al., 2011), легких (Пичугин В.В. и соавт., 2017; 2018; Домнин С.Е., 2020) и печени (Siriusawakul A. et al., 2010), увеличивало выживаемость мышей, реанимированных после остановки сердца (Minamishima S. et al., 2011). У людей ингаляционный NO снижал системный воспалительный ответ при плановых операциях на колене, сопровождавшихся перерывом кровообращения и ишемически—реперфузионной травмой нижней конечности (Mathru M. et al., 2007), и уменьшал явления апоптоза гепатоцитов после трансплантации печени (Lang J.D. Jr. et al., 2007). Несмотря, что NO имеет короткий период полураспада в биологических жидкостях, сообщалось о длительных эффектах ингаляционного NO (Yu B. et al., 2008). Это связано с тем, что метаболиты NO имеют значительно более длительный период полураспада, чем сам NO. Было показано, что в эритроцитах период полураспада NO-гема и NOx составляет 40 мин и 180 мин соответственно (Piknova B. et al., 2005). В периферических тканях циркулирующие метаболиты NO могут превращаться обратно в NO, чтобы оказывать местные защитные эффекты (Rassaf T. et al., 2004), что позволяет положительным эффектам NO сохраняться после прекращения ингаляции. Ранее сообщалось, что снижение повреждения сердца при ишемии-

реперфузии у животных коррелирует с повышенными уровнями метаболитов NO в крови и тканях (Nagasaki Y. et al., 2008; 2011). В исследованиях Cohen M.V., Downey J.M. (2011) и Penna C. et al., (2008) было показано, что NO, возможно, действует как пре- или посткондиционирующий агент. Вдыхание NO до ишемии сердца приводило к увеличению метаболитов NO, таких как S-нитрозотиолы (Kohr M.J. et al., 2011), которые сохранялись в течение всего периода ишемии и ранней реперфузии. Данные метаболиты NO могут индуцировать второго мессенджера NO, циклический гуанозинмонофосфат (Burley D.S. et al., 2007; D'Souza S.P. et al., 2003) в сердце, что обеспечивает защиту сердца посредством фармакологического прекондиционирования в течение еще неопределенного периода времени после этого.

Число клинических исследований, посвященных защитному эффекту на сердце ингаляционного оксида азота, в настоящее время крайне ограничено (Checchia P.A. et al., 2013; Gianetti J. et al., 2004; James Ch. et al., 2016; Kamenshchikov N.O. et al., 2018; Каменщикова Н.О. с соавт., 2017). Все проведенные работы подтверждают его дополнительный кардиопротективный эффект. Большинство работ посвящено подаче газообразного оксида азота в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения и не рассматривает другие возможные варианты реализации его защитного механизма.

Все вышеизложенное и определяет актуальность проблемы разработки эффективных методов применения ингаляционного оксида азота для защиты миокарда при выполнении операций на клапанах сердца с искусственным кровообращением.

Степень разработанности темы исследования

Проведенный анализ литературных данных, касающихся применения ингаляционного оксида азота для защиты миокарда, позволил сделать следующие заключения.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению роли оксида азота, как универсального трансмиттера, в развитии различных патологических состояний. NO вызывает расслабление гладких мышц сосудов, участвует в защите от ишемических и реперфузионных повреждений, является нейромедиатором, регулирует программируемую гибель и пролиферацию клеток, играет важную роль в секреторной и репродуктивной системе.

Новые данные указывают на то, что вдыхание оксида азота приводит к образованию новых соединений, которые могут переноситься в виде тиоловых групп, связанных с белком в крови, или действовать косвенно через нитриты и нитраты, метаболиты которых, как было показано, со временем повышаются во время воздействия ингаляционного NO. Данное обстоятельство объясняет внелегочные эффекты ингаляционного оксида азота. Экспериментальные и клинические исследования убедительно показали эффективность ингаляционного оксида азота в профилактике и лечении: ишемического и реперфузионного повреждения органов и тканей, шока, поражения центральной нервной системы и почек.

Для кардиохирургии несомненный интерес представляет эффект фармакологического прекондиционирования миокарда, обусловленный ингаляцией оксида азота. Как именно NO оказывает защитное действие на сердце, в настоящее время неизвестно, но вполне возможно, что прямые cGMP/PKG-опосредованные и cGMP-независимые влияния на миокард с дополнительным расслаблением гладких мышц, ингибирующими влияниями на тромбоциты, антиапоптотическими, противовоспалительными и антиоксидантными эффекторными элементами. Кроме этого NO также может

обеспечивать защиту, модулируя поток электронов в митохондриальной дыхательной цепи, вторичной к S-нитрозированию комплекса I, и препятствует образованию активных форм кислорода.

К сожалению, клинических исследований, посвященных применению ингаляционного оксида азота в до- и периоперационном периоде крайне мало, а большинство работ посвящено подаче газообразного оксида азота в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения и не рассматривают другие возможные варианты реализации его защитного механизма. Нет данных как о значимости проведения прекондиционирования миокарда ингаляционным оксидом азота, так и разработанных эффективных методов предупреждения ишемического и реперфузионного повреждения миокарда, основанных на применении данного препарата. Экспериментальные и клинические исследования интраоперационного применения оксида азота, проведенные к настоящему времени, не дали убедительных доказательств того, что его использование снижает степень повреждения сердца и имеет значимое клиническое преимущество.

Цель исследования

Повысить эффективность защиты миокарда при операциях на клапанах сердца путем проведения ингаляции оксида азота в дооперационном периоде и на всех этапах операции, включая искусственное кровообращение.

Задачи исследования

- 1 Исследовать влияние ингаляции оксида азота с концентрацией 20 ppm в до- и послеперфузионном периоде на динамику изменений биохимического маркера повреждения миокарда (тропонина I),

изменения показателей сократительной функции и при операциях на клапанах сердца.

- 2 Оценить влияние ингаляций оксида азота с концентрацией 20 ppm в течение 3-х дней дооперационного периода в комбинации с до- и послеперфузионным его назначением на клинические, функциональные и биохимические критерии состояния миокарда.
- 3 Разработать технологию защиты миокарда, основанную на применении ингаляционного оксида азота, при операциях на сердце с искусственным кровообращением.

Научная новизна исследования

Впервые проведено исследование влияния ингаляции оксида азота с концентрацией 20 ppm в до- и послеперфузионном периоде на клинические и биохимические маркеры повреждения миокарда при операциях на клапанах сердца.

Впервые проведена оценка влияния ингаляции оксида азота с концентрацией 20 ppm в течение 3-х дней дооперационного периода в комбинации с до- и послеперфузионным его назначением на клинические, функциональные и биохимические критерии состояния миокарда.

Впервые разработана технология защиты миокарда, основанная на применении ингаляционного оксида азота, у пациентов с клапанной патологией.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертационное исследование позволило повысить эффективность защиты миокарда при выполнении операций на сердце с искусственным

кровообращением у пациентов с клапанной патологией, в чем состоит его как теоретическая значимость, так и практическая ценность для кардиоанестезиологии.

В результате исследования нами были получены ответы на ряд вопросов об эффективности применения ингаляций оксида азота в концентрации 20 ppm его влияния на клинические, функциональные и биохимические показатели миокарда у пациентов с клапанными пороками левых отделов сердца, в чем заключается теоретическая значимость работы. Было показано, что ингаляция оксида азота в концентрации 20 ppm до- и после искусственного кровообращения обеспечивала развитие эффекта прекондиционирования миокарда и оказывала умеренное протективное действие на развитие клинико-функциональных изменений. Ингаляция оксида азота с концентрацией 20 ppm в течение 3-х дней дооперационного периода в комбинации с назначением в до- и постперфузионном периоде обеспечивала развитие выраженного эффекта прекондиционирования миокарда и оказывала значимое протективное воздействие на развитие клинических, функциональных изменений и выброс маркеров повреждения миокарда. Методика постоянной ингаляции оксида азота во время операции в комбинации с проведением перфузии легочной артерии и вентиляции легких во время ИК эффективно предупреждала развитие ишемико-реперфузионных повреждений миокарда во время операции и обеспечивала более благоприятное течение послеоперационного периода.

Выполненное исследование значимо и для практической кардиоанестезиологии, ввиду проведенной разработки новой методики защиты миокарда, основанная на применении ингаляционного оксида азота, у пациентов с клапанной патологией, позволившей более эффективно предупреждать развитие миокардиального повреждения, данные были подтверждены как функциональными, биохимическими, так и клиническими критериями течения операционного и раннего послеоперационного периода.

Методология работы и методы исследования

Диссертационная работа является рандомизированным, одноцентровым, проспективным исследованием эффективности ингаляционной терапии оксидом азота в защите миокарда при операциях на клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения, выполненное в ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. академика Б.А. Королева» в период с сентября 2017 по сентябрь 2019 гг. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. академика Б.А. Королева».

В исследование были включены пациенты в возрасте от 30 до 73 лет, которым планировалось выполнение операции по поводу клапанных пороков сердца. Все пациенты подписали информированное согласие о включении в исследование. Необходимым условием было наличие сохранных показателей сократительной функции левого желудочка (ФВ ЛЖ более 50%). После применения критериев включения и невключения окончательный анализ был проведен на материале 120 наблюдений.

Была выполнена рандомизация, и сформированы четыре группы сравнения - контрольная, где были исследованы изменения показателей гемодинамики, сократительной функции миокарда и клинического течения восстановительного и послеоперационного периодов, маркеров повреждения миокарда (тропонина I), и трех основных: во второй - проводили ингаляцию оксида азота (20 ppm) до и после ИК; в третьей –ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили ежедневно в течение трех дней до операции, во время операции – до и после ИК; в четвертой группе - ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили в течении всей операции, включая период ИК, при этом во время ИК проводили перфузию легочной артерии и вентиляцию легких.

Для оценки эффективности исследуемых технологий проводили исследование активности тропонина I в дооперационном и послеоперационном периоде, изучали изменения показателей гемодинамики, сократительной функции миокарда на этапах операции и ближайшего послеоперационного периода; течение восстановительного периода после кардиоплегии, клинические показатели течения послеоперационного периода у больных.

Выполненный статистический анализ включал: во-первых, определение нормальности распределения, во-вторых, проведение сравнения показателей с использованием как параметрических, так и непараметрических методов, в третьих, проведение дисперсионного анализа (ANOVA – test) для сравнения значимости различия между средними величинами в исследуемых группах.

Положения, выносимые на защиту:

1. Оксид азота, применяемый для обеспечения операций на клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения, обладает адьювантым кардиопротекторным действием, что подтверждено результатами проведенного клинического исследования.
2. Периоперационная ингаляция оксида азота может быть включена в комплекс анестезиологического обеспечения операций на клапанах сердца.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

В исследование включено достаточное количество клинических наблюдений (120 пациентов), а сама работа выполнена на высоком

методологическом уровне, что подтверждает достоверность выводов и практических рекомендаций, которые сформулированы в работе.

По теме диссертационного исследования опубликовано 15 работ, из них 3 - научные статьи, изданные в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Результаты работы доложены и обсуждены на:

- научно-образовательной конференции «Актуальные вопросы и инновационные технологии в анестезиологии и реаниматологии» (Санкт-Петербург, 2018);
- 26 Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery (Moscow, 2018);
- XXIV Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2018);
- XX Всероссийской конференции «Жизнеобеспечение при критических состояниях» (Москва, 2018);
- XVII съезде Федерации анестезиологов и реаниматологов России (Санкт-Петербург, 2018).

Предложенная оригинальная технология защиты миокарда, основанная на применении ингаляционного оксида азота при выполнении операций на сердце с искусственным кровообращением у пациентов с клапанными пороками сердца применяется в клинической практике отделений анестезиологии и реанимации ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница имени академика Б.А.Королева» (г.Нижний Новгород). Теоретические и практические результаты, полученные в ходе исследования, используются в учебном процессе кафедры анестезиологии, реаниматологии и трансфузиологии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Работа прошла апробацию на

заседании проблемной комиссии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет».

Личный вклад автора в получении научных результатов

При выполнении диссертационного исследования автором был разработан дизайн работы, проведен отбор пациентов для исследования, их подготовка к оперативному вмешательству, осуществлялось проведение сеансов ингаляционной терапии оксидом азота в до и интраоперационном периоде, проведение анестезии, искусственного кровообращения во время операции на сердце. Было проведено наблюдение за оперированными пациентами в послеоперационном периоде. Диссидентом самостоятельно был выполнен статистический анализ полученных данных исследования, а также интерпретация результатов.

Структура и объем диссертации

Выполненное диссертационное исследование состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, которые изложены на 115 страницах печатного текста и содержит 10 рисунков и 12 таблиц. Указатель литературы включает 117 источников, из которых 13 отечественных и 104 – зарубежных авторов.

**ГЛАВА 1. ИНГАЛЯЦИОННЫЙ ОКСИД АЗОТА В ПРОФИЛАКТИКЕ
ИШЕМИЧЕСКИХ И РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ СЕРДЦА ПРИ
ОПЕРАЦИЯХ С ИСКУССТВЕННЫМ КРОВООБРАЩЕНИЕМ**
(обзор литературы).

Восстановление коронарного кровотока после периода ишемии ткани миокарда парадоксальным образом наносит вред - процесс, известный как реперфузионное повреждение миокарда. В настоящее время не существует эффективной профилактики реперфузионного повреждения миокарда, в связи с чем, имеется постоянный интерес к использованию дополнительных кардиопротективных агентов и процедур, которые следует применять до или во время реперфузии миокарда для ограничения размера инфаркта (Hausenloy D.J. et al., 2017; Prieto-Moure B. et al., 2016; Spath N.B. et al., 2016). Такие защитные мероприятия могут быть особенно полезны в периоде операции для пациентов, оперируемых на открытом сердце с искусственным кровообращением.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению роли оксида азота (NO), как универсального трансмиттера, в развитии различных патологических состояний. NO вызывает расслабление гладких мышц сосудов, участвует в защите от ишемических и реперфузионных повреждений, является нейромедиатором, регулирует программируемую гибель и пролиферацию клеток, играет важную роль в секреторной и репродуктивной системе (Кузнецова В.Л., Соловьева А.Г., 2015). В связи с этим, нами предпринята попытка - обобщить данные литературы для того, чтобы приблизиться к более глубокому пониманию возможностей использования NO в кардиохирургии при выполнении операций на сердце в условиях искусственного кровообращения.

**1.1. Внелегочные эффекты ингаляционного оксида азота -
экспериментальные и клинические данные**

Новые данные указывают на то, что вдыхание оксида азота приводит к образованию новых соединений, которые могут переноситься в виде

тиоловых групп, связанных с белком в крови, или действовать косвенно через нитриты и нитраты, метаболиты которых, как было показано, со временем повышаются во время воздействия ингаляционного NO. Кроме того, было показано, что ингаляционный оксид азота не оказывает гемодинамического воздействия на нормально перфузируемые ткани, но избирательно увеличивает кровоток в ишемической ткани. Он имеет простой способ назначения, профиль безопасности и быстрое действие. Из-за этих свойств ингаляционный оксид азота может служить спасательной терапией при ишемических состояниях, в которых важен коллатеральный кровоток, или до тех пор, пока не произойдет интервенционная или спонтанная реперфузия (Goździk W., Goździk A., 2012).

1.1.1. Ишемическое и реперфузионное повреждение миокарда

Важными вопросами, касающимися применения ингаляционного NO для модуляции ишемически-реперфузионного повреждения (I/R-повреждения), являются: время начала, оптимальная дозировка и продолжительность терапии. Наиболее интересные исследования, определяющие дозировку и механизмы защиты, опосредованной ингаляционным NO, получены в экспериментальных исследованиях на модели I/R повреждения миокарда. Hataishi et al. (2006) исследовали способность ингаляционного NO уменьшать размер инфаркта миокарда (MI) у мышей, подвергнутых 30, 60 и 120 мин ишемии путем перевязки левой передней нисходящей коронарной артерии с последующей реперфузией. Они отметили, что ингаляция NO в течение 20 минут до, и через 24 часа после реперфузии уменьшала размер инфаркта миокарда и улучшала как систолическую, так и диастолическую функцию сердца. Вдыхание как 40 ppm, так и 80 ppm (частей на миллион) NO в равной степени уменьшало I/R повреждение миокарда, при этом, ингаляция 20 ppm была неэффективной. Ингаляция NO снижала аккумуляцию нейтрофилов в миокарде, а снижение накопления лейкоцитов в миокарде оказывало благоприятное влияние на размер инфаркта миокарда. Вдыхание

NO повышало уровни нитритов в артериальной крови, но не изменяло уровни миокардиального 3', 5'- циклического гуанозин - монофосфата (цГМФ). Эти результаты свидетельствуют о том, что концентрации ингаляционного NO, необходимые для проявления системных эффектов, выше, чем концентрации, необходимые для проявления легочных сосудистых эффектов (Hataishi R. et al., 2006).

В другом исследовании у свиней, дышащих NO (80 ppm) непосредственно перед и во время коронарной реперфузии, наблюдалось улучшение эндокардиального и эпикардиального кровотока в зоне инфаркта, было отмечено улучшение микроциркуляции, снижение инфильтрации лейкоцитами, уменьшение размера инфаркта и уменьшение апоптоза кардиомиоцитов в пограничной зоне инфаркта (Liu X. et al., 2007). Nagasaka Y. et al. (2008), используя аналогичную модель I/R для сердца, исследовали судьбу ингалируемого NO (80 ppm) у мышей и количественно оценили образование метаболитов NO в крови и тканях. Было отмечено быстрое нарастание широкого спектра метаболитов NO. Уровни эритроцитарных S-нитрозотиолов, N-нитрозаминов и нитрозил-гемов резко возросли в течение 30 с после начала ингаляции оксида азота. Выявлено заметное повышение уровня легочного S-нитрозотиола (SNO) и N-нитрозамина в печени, а также повышенный уровень метаболитов NO в сердце и мозге. Концентрации каждого метаболита NO, за исключением нитрата, быстро достигали плато и держались на этом уровне в течение 5 - 60 минут ингаляции. Авторы пришли к выводу, что короткие периоды ингаляции NO могут уменьшать размер инфаркта с аналогичной эффективностью, что и более длительные периоды ингаляции NO, предполагая при этом, что концентрации метаболитов NO, достигаемые в ткани-мишени, могут быть более важными для защиты миокарда, чем абсолютное количество поглощенного или доставленного оксида азота (Nagasaka Y. et al., 2008). В недавно опубликованном исследовании та же исследовательская группа продемонстрировала, что при ингаляции необходима растворимая субъединица гуанилатциклазы (sGC α 1),

чтобы оксид азота смог уменьшить размер инфаркта миокарда у мышей, подвергшихся сердечному I/R повреждению.

1.1.2. Шок

Вдыхание оксида азота приводит к быстрому улучшению гемодинамики при назначении пациентам с инфарктом миокарда правого желудочка и кардиогенным шоком. Во время геморрагического шока и сердечно-сосудистого коллапса продукция NO нарушается, главным образом, из-за резкого снижения эндотелиального напряжения сдвига и гипоксии, связанной с разобщением эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS). Nachuraju P. et al. (2012) проанализировал системные и микроваскулярные изменения гемодинамики, связанные с уменьшением доступности NO в ранней фазе экспериментального геморрагического шока у хомяков. Экзогенный NO в форме S-нитрозоглутатиона (GSNO) вводили до начала кровопотери. Предварительная обработка GSNO в этом исследовании уменьшала артериоллярную вазоконстрикцию, увеличивала капиллярную перфузию, венозный возврат и предотвращала ишемию тканей (Nachuraju P. et al., 2012). Результаты экспериментов с различными внутривенными донорами NO при геморрагическом шоке повысили интерес к возможному влиянию ингаляционного NO на нарушения микроциркуляции на ранних стадиях шока (Wang Y. et al., 2011).

1.1.3. Нейропротекторное действие ингаляционного оксида азота

Увеличение экспериментальных и клинических данных свидетельствует о том, что ингаляционный NO может оказывать влияние на развивающуюся центральную нервную систему (ЦНС) и I/R повреждение центральной нервной системы (Terpolilli N.A. et al., 2012). Недоношенные дети, получающие лечение от персистирующей легочной гипертензии новорожденных (PPHN), подвержены высокому риску нарушения развития нервной системы, включая слепоту, церебральный паралич и глобальную когнитивную задержку (Marks J.D., Schreiber M.D., 2008). Взгляды на

клиническое влияние ингаляционного NO на развитие центральной системы в течение многих лет были противоречивыми, главным образом, потому, что NO увеличивает время кровотечения и ингибит агрегацию тромбоцитов (Hogman M. et al., 1933). Это может привести к увеличению частоты внутричерепных кровоизлияний у критически недоношенных новорожденных. Более поздние клинические исследования не подтвердили эти первоначальные опасения. Кроме того, Schreiber M.D. et al. (2003) и Kinsella J.P. et al. (2006) показали кратковременное неврологическое улучшение после лечения ингаляционным NO. Schreiber M.D. et al., (2003) сообщили о 47% -ном снижении тяжести внутрижелудочкового кровоизлияния (IVH) или перивентрикулярной лейкомалляции в группе, получавшей ингаляционный NO. Kinsella J.P. et al. (2006) отметили, что iNO снижает частоту неврологических осложнений на 27%, что особенно заметно у недоношенных новорожденных детей с весом 750–999 г. Двухлетнее последующее развитие исследования Schreiber M.D. продемонстрировало, что дети, получавшие для терапии ингаляционный NO, имели примерно в 2 раза более низкий риск развития аномалий нервной системы, по сравнению с группой, получавшей плацебо. Долгосрочные преимущества ингаляционного NO у недоношенных детей были также продемонстрированы в нескольких недавно опубликованных исследованиях. Patrianakos- Hoobler A.I. et al. (2012) провели оценку отдаленных результатов оценки развития нервной системы и готовности к школе у 135 из 167 (81%) выживших недоношенных детей в возрасте $5,7 \pm 1,0$ года. Ингаляционное лечение NO во время периода новорожденности улучшило состояние здоровья этих детей, снизив частоту тяжелых текущих заболеваний, а также частоту нарушений воспитательных и общественных навыков развития в раннем школьном возрасте (Patrianakos-Hoobler A.I. et al., 2012). В рандомизированном многоцентровом исследовании Walsh M.C. et al. (2010) было продемонстрировано, что ингаляционное лечение с NO, начатое между 7 и 21 днем, проводившееся в течение 24 дней, значительно увеличило выживаемость без бронхолегочной

дисплазии у недоношенных новорожденных с весом менее 1250 г, находящихся на искусственной вентиляции легких. Никаких аномалий развития нервной системы в возрасте до 2 лет отмечено не было (Walsh M.C. et al., 2010). Тем не менее, следует отметить, что представленные выше наблюдения не были подтверждены исследованиями Van Meurs K.P. (2005), посвященными последствиям развития нервной системы у недоношенных детей с тяжелой дыхательной недостаточностью. Влияют ли iNO-опосредованные снижения при хронических заболеваниях легких, IVH и перивентрикулярной лейкомалии на улучшение результатов нейро-развития у этой группы пациентов, или же, если iNO может оказывать независимое нейропротективное действие, еще предстоит выяснить.

Многочисленные экспериментальные исследования продемонстрировали положительный эффект ингаляционного NO и его производных для лечения ишемического инсульта. Возможные механизмы нейропroteкции с помощью ингаляционного NO аналогичны защитным путем в других органах, включая подавление цитокинов, происходящих из легких, и модуляцию циркулирующих нейтрофилов, когда они проходят через легкие. Нейропroteкция также может быть связана с доставкой NO-связанных соединений и метаболитов, таких как SNO, S-нитрозогемоглобин (SNOHb) или нитриты (Marks J.D., Schreiber M.D., 2008). Несколько исследований с использованием моделей гипоксического ишемического повреждения указывают на то, что продуцируемый в избытке эндогенный цитозольный NO, или если клетка находится в прооксидантном состоянии, приводит к гибели нейронов. Хорошо известно, что NO может реагировать с супероксидными анионами, продуцируемыми индуцируемым NOS в условиях воспаления или нейрональной синтазой оксида азота (nNOS), как в случае гипертоксичности, с образованием пероксинитрита, аниона с сильными окислительными свойствами. Экспериментальные данные с использованием изоформ-специфических ингибиторов NOS продемонстрировали различную роль NO в зависимости от типа и

локализации изоформ NOS в мозге. Глобальное ингибирирование всех изоформ NOS приводит к уменьшению размера инфаркта, тогда как селективная блокада eNOS увеличивает размер инфаркта, что указывает на его защитные свойства. В условиях гипоксии eNOS может подавляться, что приводит к нарушению регуляции мозгового кровотока и ухудшению повреждения мозга. Таким образом, ингаляционная обработка NO сосудистой сетью головного мозга может преодолеть пониженную регуляцию eNOS, улучшить мозговой кровоток и уменьшить ишемическое повреждение. Оксид азота обеспечивает нейропroteкцию несколькими механизмами: каспазой 3 S-нитрозилатов оксида азота и субъединицами N-метил-D-аспартатного рецептора (NMDAR). В результате этих реакций приток Ca^{2+} через NMDARs и активность каспазы 3 ингибируются, что приводит к снижению гибели клеток. Посредством стимуляции sGC, путем cGMP-протеинкиназы G NO активирует белок, связывающий циклический-АМР-чувствительный элемент (CREB) и Akt-киназу, два белка, которые в основном участвуют в нейропroteкции. В дополнение к этим путям NO индуцирует активность гемоксигеназы 1 (HO-1), которая генерирует биливердин, предшественник мощной антиоксидантной и антинитрозивной молекулы билирубина (Calabrese V. et al., 2007).

В исследовании Kuebler W.M. et al. (2003) сообщалось о цереброваскулярных сосудорасширяющих эффектах ингаляционного NO с использованием микроскопии *in vivo*. Ингаляция оксида азота проявляет свойства идеального вазодилататора: он не оказывает существенного влияния на гемодинамику в нормально перфузируемой ткани (не влияет на системное кровяное давление или кровоток в нормальном мозге), тогда как кровоток повышен в исключительно гипоксически-ишемической ткани (Minamishima S. et al., 2011). Это свойство ингаляционного NO было недавно показано при экспериментальном инсульте у мышей и овец. Вдыхаемый NO расширял исключительно церебральные артериолы в ишемической зоне, тем самым избирательно увеличивая мозговой кровоток в этой критически

гипоперфузированной области мозга, тогда как кровоток в окружающей нормальной коре не изменялся. В физиологических условиях ингаляционный NO приводил к значительной дилатации мозговых венул, скорее всего, из-за механизма, зависящего от напряжения кислорода. В условиях гипоксии ингаляционный NO также приводил к улучшению артериолярной дилатации и церебральной перфузии. В этом исследовании, ингаляция NO (50 ppm) начиналась через 10 минут и через 1 час после индукции транзиторной церебральной ишемии или через 10 минут после постоянной окклюзии средней мозговой артерии и сохранялась в течение 60 минут, повреждение ишемической ткани было заметно ослаблено, а объем инфаркта уменьшился на 40 % по сравнению с контрольными мышами. Ингаляция NO снижала размер поражения и улучшала мозговой кровоток, церебральный метаболизм и неврологический исход без каких-либо явных побочных эффектов (Kuebler W.M. et al., 2003).

1.1.4. Почечные эффекты ингаляционного NO

Wright W.M., Young J.D. (2001) показали, что добровольцы, подвергшиеся воздействию ингаляционного NO (20 ppm), значительно увеличивали экскрецию натрия. Это согласуется с исследованием, в котором у свиней, подвергшихся воздействию ингаляционного NO (40 ppm), наблюдалась повышенная клубочковая фильтрация в сочетании со незначительным увеличением почечного кровотока (Troncy E. et al., 1997). Другие авторы изучили пролонгированное (до 30 часов) влияние ингаляции NO (40 ppm) у здоровых поросят на функцию почек и смогли подтвердить, что высокая доза ингалируемого NO действительно изначально оказывает натрийуретический эффект на свинью. Однако этот эффект исчезает примерно через 12 часов, и это явление не является серьезной проблемой для здоровых почек. Интересным дополнительным открытием было свидетельство небольшого, но в динамике нарастающего апоптоза канальцев после 30 часов введения ингаляционного NO, что указывает, что такое

воздействие можно считать стрессом для некоторых популяций клеток в этом органе (Gozdzik W. et al., 2009). Кроме того, согласно мета-анализу, недавно представленному Afshari A. et al. (2011), ингаляционный NO, по-видимому, увеличивает риск почечной недостаточности у взрослых и детей с острым респираторным дистресс-синдромом (ARDS) и острым повреждением легких (ALI).

1.2. Влияние оксида азота на коронарное кровообращение и миокард

У млекопитающих, включая людей, оксид азота (оксид азота или моноксид азота) является важной клеточной сигнальной молекулой, участвующей во многих физиологических и патологических процессах (Pacher P. et al., 2007). NO представляет собой газ, который не имеет цвета, запаха или вкуса, с низкой растворимостью в воде при комнатной температуре и при атмосферном давлении. В крови он реагирует преимущественно с молекулами, которые имеют орбитали с неспаренными электронами, и обычно являются другими свободными радикалами (супероксид-ион, гидроксильный ион) или переходными металлами, такими как гемное железо (гемоглобин, миоглобин, цитохромы). Реакции NO различаются в системах *in vitro* и *in vivo*. В системах *in vitro* основным продуктом разложения NO является NO₂ - (нитрит), тогда как *in vivo* основным продуктом является NO₃ - (нитрат) в результате реакции NO с гемоглобином. Эта молекула может стать очень токсичной для тканей при некоторых патологических состояниях (например, ишемии и реперфузии). NO, вступая в реакцию с супероксидом аниона (O₂^{•-}), образует пероксинитрит (ONOO⁻), который является мощным окислителем и, по-видимому, является определяющим фактором в контрастирующей роли NO в физиологии и патологии. Пероксинитрит взаимодействует с липидами, ДНК и белками через прямые окислительные реакции или через косвенные, радикально опосредованные механизмы, которые могут привести клетки к

некрозу или апоптозу. *In vivo* образование пероксинитрита представляет собой важнейший патогенный механизм при таких состояниях, как инсульт, инфаркт миокарда, хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет, циркуляторный шок, хронические воспалительные заболевания, рак и нейродегенеративные нарушения. Регуляция и синтез NO клетками млекопитающих были в центре многих обзоров (Nathan C., Xie Q.W., 1994; Pacher P., 2007), как и многие из его физиологических и патологических действий (Ignarro L.J., 1999; Moncada S. et al., 1991).

В течение столетия нитровазодилататоры широко использовались в клинической практике, при этом механизм их действия оставался неизвестным. Альфред Нобель посетовал на иронию судьбы, что он стал принимать нитроглицерин для лечения стенокардии после того, как изобрел динамит. Поскольку в нескольких исследованиях предполагалось, что характеристики NO и эндотелиального фактора релаксации сосудов (EDRF) схожи, R. Furchtgott предположил, что EDRF, продуцируемый эндотелием, представляет собой NO (Furchtgott R.F., 1984; Furchtgott R.F., 1988), а Ignarro L.J. предоставил дополнительные доказательства, подтверждающие идентификацию (Ignarro L.J., 1986). Moncada et al. (1987) были в состоянии непосредственно измерить NO, продуцируемый *in vivo*. Синтез NO из аргинина катализируется тремя формами NO-синтазы (эндотелиальная NO (eNO) синтаза, нейрональная NO (nNO) синтаза и индуцибельная NO (iNO) синтаза). Мозг оказался богатым источником синтеза NO и позволил клонировать и очистить первую NO-синтазу (Bredt D.S. et al., 1989; 1990). Она называется nNOS или NOS1, так как это была первая синтаза, которая была клонирована. Ген NOS1 имеет наиболее сложную геномную организацию у людей с множеством вариантов сплайсинга (Grasemann H. et al., 1999). Вторая NO-синтаза, которая должна быть клонирована, была выделена из макрофагов и известна как NOS2 или iNOS (индуцибельная NOS), потому что она легко индуцируется во многих тканях провоспалительными цитокинами. Поскольку NOS2 может быть сильно

индуцирован провоспалительными стимулами, он часто вызывает высокую выработку NO.

Первым идентифицированным источником NO был эндотелий, но eНО-синтаза была клонирована последней и известна как eNOS или NOS3. NOS3 связывается с плазматическими мембранами и обычно связана с кавеолином (Cho H.J. et al., 1992). Он активируется поступлением кальция через мембраносвязанные рецепторы, а также регулируется фосфорилированием (Xie Q.W. et al., 1992). NOS3 также обнаружена в нейронах и других тканях в дополнение к эндотелию. NO продуцируется миокардом и участвует в нескольких аспектах физиологической функции миокарда (например, связь возбуждения с сокращением; миокардиальная релаксация; диастолическая функция; реакция Франка-Старлинга; частота сердечных сокращений; β -адренергический инотропный ответ; энергетика миокарда и субстрат метаболизма) (Massion P.B. et al., 2000; Shaha A.M., MacCarthy P.A., 2000). NO является индикатором функции эндотелия сосудов, и измерения, проведенные на контрольных (нормальных) людях, показывают, что активность синтазы eNO составляет 7-8 Ед / мл, а уровни NO (выраженные в виде NO₃) составляют приблизительно 60 мкмоль/л. NO выделяется из эндотелия при нормальных условиях, поскольку эндотелий действует как датчик, который стимулируется изменениями потока, растяжением, различными циркулирующими вазоактивными веществами и медиаторами воспаления. Выделение NO может увеличиваться или уменьшаться у пациентов при определенных патологических состояниях. Высвобождение NO можно фармакологически ингибиовать с использованием аналогов аргинина, таких как метиловый эфир N_ω-нитро-L-аргинина (L-NAME) и L-NG-монометил-ларгинин (L-NMA). Эти ингибиторы использовались в лабораторных экспериментах для изучения вклада NO в регуляцию тонуса сосудов (Andrew P.J., Mayer B., 1999; McDonald K.K. et al., 1997). В целом, NO действует, стимулируя внутриклеточную гуанилатциклазу, и этот фермент превращает GTP в cGMP. Существует два типа гуанилатциклазы:

один представляет собой цельный мембранный белок с внеклеточным доменом и внутриклеточный каталитический домен, который синтезирует цГМФ; другой является цитоплазматическим (растворимая гуанилатциклаза) и является изоформой, активированной NO. В первной системе NO действует непосредственно, открывая циклические нуклеотид-регулируемые каналы, и активирует cGMP-зависимую протеинкиназу (Pacher P. et al., 2007). NO, после его высвобождения эндотелием сосудов, может свободно диффундировать в соседние гладкомышечные клетки сосудистой стенки, и в этих клетках непосредственно активируется растворимая гуанилатциклаза. Этот фермент индуцирует образование цГМФ, который, в свою очередь, активирует цГМФ-специфические протеинкиназы, которые влияют на ионные каналы, гемостаз кальция или фосфатазы, или все это, вызывая расслабление гладкой мускулатуры сосудов (Pacher P. et al., 2007).

Поскольку потеря биодоступности NO указывает на широко дисфункциональный фенотип во многих свойствах эндотелия, оценка его сосудорасширяющих свойств, обусловленных NO и другими молекулами, может предоставить информацию о целостности и функции эндотелия. Интересно, что большинство, если не все, сердечно-сосудистые факторы риска связаны с эндотелиальной дисфункцией, а изменение фактора риска приводит к улучшению сосудистой функции (Bonetti P.O. et al., 2003; Nathan C, Xie Q.W., 1994). За последние 35 лет было разработано много методологических подходов для измерения (патофизиологической) физиологической функции эндотелия у человека (Flammer A.J., Luscher T.F., 2010), но оценка функции эндотелия как клинического инструмента в повседневной практике пока не установлена. С самого начала, эндотелиальная функция рассматривалась как важный фактор регуляции коронарного кровообращения, который может иметь патофизиологическое значение при некоторых заболеваниях коронарных артерий (Beyer A.M., Guterman D.D., 2012; Carty, J.M., Jr., 2008; Drenjancevic I. et al., 2015; Duncker D.J. et al., 2015; Kern M.J. et al., 2006).

Эндотелий-зависимая вазодилатация была обнаружена в коронарных сосудах у собак (Rubanyi G.M. et al., 1986) и человека (Hodgson J.M.C.B. Marshall J.J., 1989). Затем было сообщено, что коронарные сосуды человека *in vitro* высвобождают NO (Chester A.H. et al., 1990), что NO играет значительную роль в модулировании базальной вазомоции и эндотелиально-зависимой дилатации в коронарном кровообращении собак (Chu A. et al., 1991), и что коронарное сосудистое расслабление с помощью NO, а также нитропруссид связан с увеличением цГМФ (Gruetter C.A. et al., 1981). Castrillo G. D. (2016) была проведена серия экспериментов для изучения функциональной роли NO в коронарном кровообращении в нормальных условиях, и они были выполнены с использованием трех лабораторных моделей (анестезированных коз, изолированных, перфузированных сердец от крыс и изолированных коронарных артерий из свиньи). В этих трех моделях авторы обнаружили, что в коронарном кровообращении NO может выделяться при базальных условиях, он создает базальный вазодилататорный тонус, он опосредует расширение сосудов и снижает реакцию на вазоконстрикторы, такие как ET-1. У анестезированных коз LNAME, введенный внутривенно, вызывает снижение коронарного кровотока в покое и повышение системного артериального давления. Эти гемодинамические эффекты L-NAME были частично изменены с помощью L-аргинина, введенного внутривенно (Castrillo G. D., 2016). Авторами также было обнаружено, что во время воздействия L-NAME коронарная вазодилатация ослаблялась, до нитропруссида натрия повышалась, а до диазоксида не изменялась. Постепенно коронарная гиперемическая реакция после 5, 10 или 20 с коронарной окклюзии была увеличена во время лечения L-NAME. Эти результаты предполагают: а) эндогенный NO участвует в регуляции коронарного кровообращения путем создания базального вазодилататорного тонуса; б) ахиндуцированная коронарная вазодилатация опосредована, частично, NO; и с) ингибиование базальной эндогенной продукции NO индуцирует сверхчувствительность коронарных сосудов к

нитровазодилататорам и усиливает гиперемические реакции после коротких периодов ишемии миокарда (García J.L. et al., 1992). Это согласуется с наблюдениями других исследователей коронарного кровообращения и подтверждает идею о том, что тонус сосудорасширяющего средства, опосредованный NO, присутствует в коронарном кровообращении. Эффекты нитропруссида натрия усиливались во время действия L-NAME. Нитропруссид натрия используется в качестве донора экзогенного NO и вызывает вазодилатацию аналогично NO (Ignarro L.J., Kadowitz P.J., 1985).

В отсутствие функционального эндотелия или в присутствии аналогов L-аргинина были обнаружены усиленные вазорелаксантные ответы на нитропруссид натрия и другие закисные соединения, и это было связано с повышенной чувствительностью гуанилатциклазы в сосудистой мускулатуре к экзогенному NO, когда продукция эндогенного NO снижается (Gardiner S.M. et al., 1991; Moncada S. et al., 1991). Следовательно, представляется, что удаление эндогенного NO в сосудистой сети может привести к увеличению чувствительности к вазодилататорам, которые действуют путем стимуляции растворимой гуанилатциклазы. Известно, что после короткой ишемии миокарда возникает реактивная гиперемия в коронарном кровообращении, и были исследованы метаболические и гемодинамические факторы, способствующие гиперемическому ответу. Тем не менее, мало что известно о роли эндотелия в коронарной гиперемической реакции (Ueda M. et al., 1990).

Таким образом, подтверждается, что NO в коронарном кровообращении при нормальных условиях создает базальный вазодилататорный тонус, и предполагается, что NO может быть промежуточным звеном в коронарной вазодилатации в ответ на стимуляцию бета-адренорецептором, и что расширение сосудов, обусловленное аденоzinом, потенцируется при снижении продукции эндогенного NO (Fernández N. et al., 2000).

1.3. Фармакологическое прекондиционирование оксидом азота

Мощные эндогенные процессы защищают сердце (и другие органы) от повреждения при ишемии/реперфузии. Явление ишемического прекондиционирования, при котором повторные короткие коронарные окклюзии, предшествующие более длительной окклюзии, заметно уменьшают размер инфаркта миокарда, впервые было описано у собак Murray et al., в 1986 году (Murry C.E. et al., 1986). В настоящее время наличие данного явления было подтверждено у всех видов животных, включая людей. Несмотря на огромный исследовательский интерес, вызванный этим знаменательным открытием, точные молекулярные механизмы и вовлеченные в данный процесс медиаторы остаются не до конца понятными. Тем не менее, одним из них, по-видимому, является оксид азота (Jones S.P. et al., 1999; Kunst G., Klein A.A., 2015), который вовлечен в процессы анестетического прекондиционирования (Kunst G., Klein A.A., 2015). В соответствии с этим представлением, ишемические и реперфузионные повреждения миокарда усугубляются в отсутствие эндотелиальной синтазы оксида азота (Jones S.P. et al., 1999), тогда как кардиомиоцит-специфическая гиперэкспрессия eNOS ограничивает данное повреждение (Elrod J.W. et al., 2006). Соответственно, NO-доноры и сам NO использовались в качестве индукторов для фармакологического прекондиционирования и продемонстрировали свой кардиопротективный эффект в экспериментах на животных (Arroyo-Martínez E.A. et al., 2016; Bice J.S. et al., 2016; Cohen M.V. et al., 2006; Schulz R. et al., 2004). В настоящее время задача состоит в том, чтобы перевести данные лабораторных исследований в клинические (Kloner R.A., 2013; Ovize M. et al., 2013), где пока отмечены лишь переменные успехи. Причины явных сбоев не всегда очевидны, но могут включать: неэффективную биоактивацию NO-доноров (таких как органические нитраты и нитропруссид натрия) в ткани-мишени; неопределенность в отношении того, какой из эффектов NO способствует миокардиальной защите и как эти эффекты реализуются под влиянием других продуктов метаболизма NO-доноров; и/или нежелательные фармакодинамические эффекты, такие как

снижение системного артериального давления и «синдром коронарного обкрадывания». Некоторые из этих ограничений и неопределенностей могут оказаться несущественными, если для прекондиционирования использовать газообразный экзогенный NO, а не препарат-донор NO.

Ингаляционный оксид азота (iNO) является селективным легочным вазодилататором, обычно используемым для лечения неонатальной гипоксии и легочной гипертензии (Bloch K.D. et al., 2007). Хотя он не влияет на системное артериальное давление, было описано значительное количество внелегочных эффектов при применении ингаляций NO. Так в экспериментах на животных, вдыхание NO уменьшало ишемические и реперфузионные повреждения сердца (Hataishi R. et al., 2006; Liu X. et al., 2007; Nagasaka Y. et al., 2008; Nagasaka Y. et al., 2011), кишечника (Fox-Robichaud A. et al., 1998), легких (Barbotin-Larrieu F. et al., 1996) и печени (Siriussawakul A. et al., 2010), увеличивало выживаемость мышей, реанимированных после остановки сердца (Minamishima S. et al., 2011). У людей iNO снижал системный воспалительный ответ у пациентов при плановых операциях на колене, сопровождавшихся перерывом кровообращения и ишемически—реперфузионной травмой нижней конечности (Mathru M. et al., 2007), и уменьшал явления апоптоза гепатоцитов после трансплантации печени (Lang J.D. Jr. et al., 2007).

Хотя NO имеет короткий период полураспада в биологических жидкостях (Kelm M., 1999), сообщалось о длительных эффектах ингаляционного NO (Yu B. et al., 2008). Например, у мышей и овец предшествующее назначение ингаляционного NO предотвращало системное сужение сосудов, вызванное последующим введением гемоглобин-содержащих переносчиков кислорода. После прекращения вдыхания NO, ингибирирование вазоконстрикции продолжалось в течение 80 минут у мышей и до 5 часов у овец (Yu B. et al., 2008). Свободный NO не может объяснить эти устойчивые эффекты в крови *in vivo*, поскольку он быстро поглощается гемоглобином в эритроцитах (Joshi M.S. et al., 2002). Однако, NO может быть

транспортирован в биоактивной форме в крови (Rassaf T. et al., 2002; Doctor A. et al., 2011). В исследованиях на людях, вдыхание NO увеличивало концентрацию нитрозилгемоглобина (NO-гем) в эритроцитах (Piknova B. et al., 2005) и NOx (сумма концентраций нитритов и нитратов) (Gladwin M.T. et al., 1999). Эти метаболиты NO имеют значительно более длительный период полураспада, чем сам NO. Например, в эритроцитах период полураспада NO-гема и NOx составляет 40 мин (Piknova B. et al., 2005) и 180 мин (Gladwin M.T. et al., 1999) соответственно. В периферических тканях циркулирующие метаболиты NO могут превращаться обратно в NO, чтобы оказывать местные защитные эффекты (Rassaf T. et al., 2004), что позволяет положительным эффектам iNO сохраняться после прекращения ингаляции. Однако судьба этих метаболитов в крови и тканях изучена не достаточно детально. Помимо различий в абсолютных уровнях в одно и тоже время, также неизвестно, насколько хорошо изменения в циркулирующих концентрациях метаболитов NO могут отражать изменения, происходящие в тканях, и различаются ли времена жизни отдельных классов метаболитов NO между органами.

Ранее сообщалось, что вдыхание NO снижает повреждение сердца при ишемии-реперфузии на моделях на животных (Hataishi R. et al., 2006; Liu X. et al., 2007; Nagasaka Y. et al., 2008; Nagasaka Y. et al., 2011), что повышенные уровни метаболитов NO в крови и тканях коррелируют с кардиопротекторным действием iNO (Nagasaka Y. et al., 2008), и что эти эффекты зависят от наличие растворимой гуанилатциклазы (Nagasaka Y. et al., 2011). В этих исследованиях NO вводили во время ишемической фазы и поддерживали на протяжении всей реперфузии; таким образом, NO, возможно, действовал как пре- или посткондиционирующий агент (Cohen M.V., Downey J.M., 2011; Penna C. et al., 2008). В дальнейших исследованиях было предположено, что увеличение содержания метаболитов NO в крови и тканях после вдыхания NO до ишемии может сохраняться достаточно долго, чтобы обеспечить защиту в течение наиболее критического времени для индукции ишемически-реперфузионного повреждения (первые несколько

минут реперфузии) и частично в период восстановления (Piper H.M. et al., 2004). Вдыхание NO до ишемии сердца может привести к увеличению метаболитов NO, таких как S-нитрозотиолы (RSNO) (Kohr M.J. et al., 2011), которые сохраняются в течение всего периода ишемии и ранней реперфузии. Эти метаболиты NO могут индуцировать второго мессенджера NO, циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) (Burley D.S. et al., 2007; D'Souza S.P. et al., 2003) в сердце, что может обеспечить защиту сердца посредством фармакологического прекондиционирования в течение еще неопределенного периода времени после этого.

Результаты недавнего исследования (Nagasaki Y. et al., 2018) свидетельствуют, что ингаляции NO до индукции ишемии увеличивают количество метаболитов NO в крови до уровня, достаточного для снижения ишемически-реперфузионного повреждения миокарда у мышей. Поскольку аналогичное повышение концентрации метаболитов NO наблюдалось и в других тканях, ингаляции экзогенного NO могут также защитить другие органы, кроме сердца, в периоде операции. Данное исследование является своевременным, поскольку были опубликованы результаты NOMI, крупнейшего на сегодняшний день двойного слепого рандомизированного контролируемого исследования ингаляции NO у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (Janssens S.P. et al., 2018). Несмотря на то, что iNO (80 ppm, вводимый до ЧКВ и до 4 ч после реперфузии) оказался безопасным, он не способствовал уменьшению размера инфаркта миокарда. Однако, через 4 месяца улучшенное восстановление функции левого желудочка стало очевидным у пациентов с ингаляциями NO, но комбинация нитроглицерина (перипроцедурное лекарство, которое является частью обычной клинической практики во многих странах) и ингаляционного NO показала тенденцию к ухудшению состояния (Janssens S.P. et al., 2018). Причина этого неблагоприятного эффекта неизвестна, но аналогичные результаты с нитритом в качестве агента для прекондиционирования были получены и в двух других недавних клинических испытаниях (Jones D.A. et

al., 2015; Siddiqi N. et al., 2014). Редакторские комментарии к исследованию NOMI предположили, что, возможно, пришло время принять обратный трансляционный подход и более детально изучить оптимальную дозу и время начала ингаляционной NO-терапии (Lobo M., Ibanez B., 2018). Данное исследование (Nagasaki Y. et al., 2018), по-видимому, является первым, которое внесло вклад в устранение существующего разрыва в знаниях относительно времени жизни метаболитов NO в сердце после ингаляций NO и неоднородности метаболических профилей и времени жизни в других органах. Авторы сообщили, что ингаляции оксида азота (80 ppm NO в течение 1 ч) до ишемии уменьшает ишемически-реперфузионное повреждение миокарда. Так было отмечено уменьшение отношения MI/AAR на 30%. После ингаляции NO метаболиты NO остаются в крови и тканях. Уровни RSNO и NO-гема и нитрата в плазме сердца оставались повышенными в течение 30, 180 и 180 мин соответственно. Каждый из этих метаболитов может быть преобразован обратно в NO и, таким образом, может служить резервуаром NO. Метаболиты NO могут действовать как до, так и после фармакологического кондиционирующего агента, что объясняет кардиозащиту, обеспечиваемую ингаляционным NO.

Таким образом, несмотря на нейтральные и даже отрицательные результаты в более ранних исследованиях с использованием NO-доноров, NO по-прежнему представляет собой чрезвычайно привлекательный препарат для защиты миокарда (Jones S.P. et al., 2006; Schulz R. et al., 2004), не в последнюю очередь потому, что NO обладает способностью благоприятно модулировать множественные клеточные системы (включая тромбоциты, нейтрофилы, кардиомиоциты, фибробласты, эндотелиальные и гладкомышечные клетки) и соответствующие субклеточные мишени, такие как митохондрии одновременно. Как именно NO оказывает защитное действие на орган, в настоящее время неизвестно, но вполне возможно, что прямые cGMP/PKG-опосредованные и cGMP-независимые влияния на миокард с дополнительным расслаблением гладких мышц, ингибирующими

влияниями на тромбоциты, антиапоптотическими, противовоспалительными и антиоксидантными эффекторными элементами. NO также может обеспечивать защиту, модулируя поток электронов в митохондриальной дыхательной цепи, вторичной к S-нитрозированию комплекса I, и препятствует образованию активных форм кислорода (Burwell L.S., Brookes P.S., 2008; Clementi E. et al., 1998; Pell V.R. et al., 2016). Вместе это может привести к снижению потребности миокарда в кислороде и снижению продукции активных форм кислорода, а также улучшению коронарного кровотока, эндотелиальной и микрососудистой функции. Такие эффекты могут оказаться весьма полезными для пациентов, перенесших ортопедическую пересадку сердца или легкого, при операциях на сердце с искусственным кровообращением, особенно в сочетании с дисфункцией правого желудочка и легочной гипертензией (Maxey T.S. et al., 2002; Snow D.J. et al., 1994).

1.4. Клинические исследования применения ингаляционного оксида азота для улучшения миокардиальной протекции в кардиохирургии

Количество клинических исследований по применению оксида азота с целью улучшения интраоперационной защиты миокарда при выполнении операций на сердце в условиях искусственного кровообращения и кардиоплегической остановки сердца в настоящее время крайне немногочисленно.

Первая публикация об успешном клиническом применении ингаляционного оксида при кардиохирургических вмешательствах была сделана Gianetti J. et al. (2004). Авторы исследовали влияние ингаляционного оксида азота (20 ppm), назначаемого в течение 8 часов во время и после искусственного кровообращения. В исследование были включены 29 пациентов, которым выполнены операции протезирования аортального клапана в сочетании с аортокоронарным шунтированием. Больные были рандомизированы на 2 группы: пациенты первой (n=14), получали ингаляции

оксида азота (20 ppm), второй (n=15) – какой-либо ингаляционной терапии не проводилось. Образцы крови для определения общей креатинкиназы, фракции креатинкиназы МВ и тропонина I брались через 4, 12, 24 и 48 часов после операции. Кроме того, авторами брались периоперационные образцы крови для измерения циркулирующих продуктов оксида азота и мозговой натрийуретический пептид. Растворимый Р-селектин анализировали в образцах крови, взятых из коронарного синуса до и после снятия зажима с аорты. Площадь под кривой фракции МВ креатинкиназы ($P \leq 0,03$), общего количества креатинкиназы ($P \leq 0,04$) и уровня тропонина I ($P \leq 0,04$) была достоверно ниже у пациентов, получавших оксид азота. Более того, в той же группе авторы отметили ослабленное высвобождение Р-селектина и мозгового натрийуретического пептида ($P \leq 0,01$ и $P \leq 0,02$ соответственно). Ингаляции оксида азота достоверно повышали уровень метаболитов оксида азота ($P \leq 0,01$). Авторами делается вывод, что оксид азота, ингалируемый с низкой концентрацией, способен снижать высвобождение маркеров повреждения миокарда и противодействовать развитию субклинической левожелудочковой дисфункции во время и сразу после искусственного кровообращения. Выявленная исследователями «улучшенная» защита органа, по их мнению, может быть опосредована, по крайней мере частично, его противовоспалительными свойствами.

В проспективном рандомизированном слепом плацебо-контролируемом исследовании Checchia P.A. et al. (2013) дети, перенесшие операцию радикальной коррекции тетрады Фалло, получали либо газообразный оксид азота, вводимый во время искусственного кровообращения (20 ppm), либо плацебо. Оксид азота вводился непосредственно в мембранный оксигенатор во время искусственного кровообращения. В общей сложности 16 детей были рандомизированы в 2 равные группы после того, как их родители или опекуны дали письменное информированное согласие. Не было отмечено различий по возрасту, времени пережатия аорты, искусственного кровообращения или содержания метгемоглобина между двумя группами.

Группа, получавшая газообразный оксид азота, имела значительно сокращенную продолжительность искусственной вентиляции легких ($8,4 \pm 7,6$ против $16,3 \pm 6,5$ часов; $P < 0,05$) и продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии ($53,8 \pm 19,7$ против $79,4 \pm 37,7$ часов; $P < 0,05$) по сравнению с группой плацебо. Пациенты исследуемой группы имели значительно более низкие уровни тропонина через 12, 24 и 48 часов ($p < 0,05$) и более низкие уровни натрийуретического пептида В-типа через 12 и 24 часа ($p < 0,05$). Была обнаружена тенденция к снижению положительного баланса жидкости при значительно меньшем применении мочегонных средств. Пациенты группы исследования имели более высокий уровень среднего гемоглобина через 48 часов, при отсутствии различий в послеоперационной кровопотере по дренажам, переливании эритроцитарной массы, количестве тромбоцитов или потребностях в переливании крови, переливании свежезамороженной плазмы или протромбинового/частичного тромбопластинового времени в первые 48 часов. Авторами делается вывод, что подача газообразного оксида азота в контур искусственного кровообращения у детей, перенесших операцию на сердце, приводит к «улучшенной» защите миокарда, улучшению баланса жидкости и улучшению курса послеоперационной интенсивной терапии.

Другое большое рандомизированное контролируемое исследование с целью изучения клинических эффектов введения газообразного оксида азота в схему искусственного кровообращения у детей было проведено James Ch. et al. (2016). После письменного информированного согласия дети были рандомизированы на 2 группы: первая (101 пациент) получала 20 ppm оксида азота в линию доставки газа в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения и вторая (контрольная, 97 детей) – применяли стандартный протокол проведения искусственного кровообращения. В результате исследования было показано, что частота развития синдрома низкого сердечного выброса в исследуемой группе была достоверно ниже (15% против 31%, $p = 0,007$). Этот эффект был наиболее выраженным у детей в

возрасте до 6 недель (20% против 52%, $p = 0,012$) и у детей в возрасте от 6 недель до 2 лет (6% против 24%, $p = 0,026$). Кроме этого была отмечена значительно укорочена продолжительность пребывания в отделении интенсивной терапии (43 ч против 84 ч, $p = 0,031$). Синдром низкого сердечного выброса был менее частым после более сложных операций, если вводили оксид азота (17% против 48%, $p = 0,018$). ЭКМО использовалась реже в группе оксида азота (1% против 8%, $p = 0,014$). Авторами делается вывод, что доставка оксида азота в газовый поток оксигенатора во время педиатрического искусственного кровообращения в разной степени снижала частоту возникновения синдрома низкого сердечного выброса в зависимости от возрастной группы и сложности операции.

В России впервые экспериментальное 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 было проведено группой исследователей под руководством Каменщикова Н.О. (2017). В условиях сбалансированной анестезии, искусственных 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. Подача оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при искусственном кровообращении оказывала выраженное инфаркт-лимитирующее действие, проявляющееся в снижении отношения зоны

инфаркта к области риска на 15% ($p = 0,0002$). В периоды ишемии и реперфузии в основной группе наблюдали статистически значимое меньшее количество политопных и полиморфных желудочковых экстрасистол. Выявлено статистически значимое снижение веноартериального градиента парциального давления углекислого газа в основной группе. Снижение веноартериального градиента $p\text{CO}_2$ 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 ($p = 0,013$). Авторами делается вывод, что 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. По мнению авторов, интраоперационная органопротекция миокарда оксидом азота у больных, оперированных в условиях искусственного кровообращения, должна стать объектом дальнейших клинических исследований.

В 2018 году этой же группой (Kamenshchikov N.O. et al., 2018) было проведено пилотное клиническое исследование, целью которого было - выяснить влияние поступления экзогенного оксида азота (NO) в контур экстракорпорального кровообращения для кардиопротекции против ишемически-реперфузионного повреждения миокарда во время операций шунтирования коронарных артерий с искусственным кровообращением. В проспективное рандомизированное исследование было включено 60 пациентов с ишемической болезнью сердца, которым назначено проведение АКШ с ИК. Пациентов распределяли случайным образом в соответствии со стандартным или модифицированным протоколом ИК, где газообразный NO(40 ppm) добавляли в контур искусственного кровообращения во время

операции на сердце. Первичной конечной точкой было измерение сердечного тропонина I (cTnI). Вторичные конечные точки состояли в измерениях креатинкиназы, мышечной/мозговой фракции (СК-МВ) и вазоактивного инотропного числа (VIS). В результате проведенных исследований было показано, что газообразный NO, доставленный в контур искусственного кровообращения, оказывал кардиопротективный эффект. Уровень cTnI был значительно ниже в группе, получавшей NO, по сравнению с контрольной группой через 6 часов после операции: $1,79 \pm 0,39$ нг/мл против $2,41 \pm 0,55$ нг/мл соответственно ($p = 0,001$). Значение СК-МВ было значительно ниже в группе, получавшей NO, по сравнению с контрольной группой через 24 часа после операции: $47,69 \pm 0,08$ Ед/л против $62,25 \pm 9,78$ Ед/л соответственно ($p = 0,001$); и VIS было значительно ниже в группе, получавшей NO, через 6 часов после вмешательства. Авторами делается вывод, что подача газообразного NO в контур искусственного кровообращения во время операций коронарного шунтирования оказывала кардиозащитное действие и была связана с более низкими уровнями VIS и кардиоспецифическими маркерами крови cTnI и СК-МВ.

1.5. Заключение

Проведенный анализ литературных данных, касающихся применения ингаляционного оксида азота для защиты миокарда, позволил сделать следующие заключения.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению роли оксида азота, как универсального трансмиттера, в развитии различных патологических состояний. NO вызывает расслабление гладких мышц сосудов, участвует в защите от ишемических и реперфузионных повреждений, является нейромедиатором, регулирует программируемую гибель и пролиферацию клеток, играет важную роль в секреторной и репродуктивной системе.

Новые данные указывают на то, что вдыхание оксида азота приводит к образованию новых соединений, которые могут переноситься в виде тиоловых групп, связанных с белком в крови, или действовать косвенно через нитриты и нитраты, метаболиты которых, как было показано, со временем повышаются во время воздействия ингаляционного NO. Данное обстоятельство объясняет внелегочные эффекты ингаляционного оксида азота. Экспериментальные и клинические исследования убедительно показали эффективность ингаляционного оксида азота в профилактике и лечении: ишемического и реперфузионного повреждения органов и тканей, шока, поражения центральной нервной системы и почек.

Для кардиохирургии несомненный интерес представляет эффект фармакологического прекондиционирования миокарда, обусловленный ингаляцией оксида азота. Как именно NO оказывает защитное действие на сердце, в настоящее время неизвестно, но вполне возможно, что прямые cGMP/PKG-опосредованные и cGMP-независимые влияния на миокард с дополнительным расслаблением гладких мышц, ингибирующими влияниями на тромбоциты, антиапоптотическими, противовоспалительными и антиоксидантными эффекторными элементами. Кроме этого NO также может обеспечивать защиту, модулируя поток электронов в митохондриальной дыхательной цепи, вторичной к S-нитрозированию комплекса I, и препятствует образованию активных форм кислорода.

Число клинических исследований, посвященных защитному эффекту на сердце ингаляционного оксида азота, в настоящее время крайне ограничено, хотя все проведенные работы подтверждают его дополнительный кардиопротективный эффект. Большинство работ посвящено подаче газообразного оксида азота в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения и не рассматривает другие возможные варианты реализации его защитного механизма.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая характеристика исследования

Настоящее исследование является рандомизированным, одноцентровым, проспективным. Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. академика Б.А. Королева» в период с сентября 2017 по сентябрь 2019 гг. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница им. академика Б.А. Королева».

2.1.1. Последовательность событий исследования

- Идентификация пациента из популяции.
- Обследование больного до операции.
- Оценка пациента в связи с критериями включения и невключения в исследование.
- Регистрация информированного согласия на участие в исследовании.
- Рандомизация.
- Проведение ингаляций оксида азота на протяжении трех суток дооперационного периода согласно группе исследования.
- Проведение анестезиологического обеспечения операции в соответствии с принятым протоколом.
- Проведение ингаляций оксида азота во время анестезии в соответствии с исследуемыми технологиями.
- Выполнение операций на клапанах сердца и сопутствующих процедур при применении ИК согласно принятому в ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница» протоколу.

- Проведение искусственного кровообращения в соответствии с принятому в ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница имени академика Б.А.Королева» протоколом.
- Определение активности тропонина Iу пациентов 1-й (контрольной) группы и больных 3-й группы (ингаляции NOв течение 3-х суток до операции) на следующих этапах: исходный – до проведения ингаляции (за 3-е суток до операции), после проведения каждой ингаляции NO(после 1-й ингаляции, 2-й ингаляции и 3-й ингаляции соответственно).
- Регистрация и оценка показателей сократительной функции миокарда с применением эхокардиографии на этапах: 1 – после интубации трахеи и перевода больного со спонтанного дыхания на ИВЛ; 2- перед началом искусственного кровообращения; 3 - после окончания ИК; 4 - в конце операции перед переводом больного в ОРИТ; 5, 6, 7 - через 12, 24 и 48 часов после операции соответственно.
- Оценка течения восстановительного периода после кардиоплегии: клинико-функциональные показатели (характер восстановления сердечной деятельности после ишемии, динамика инотропного числа – VIS (vasoactive-inotropic score), длительность ИВЛ, степень дисфункции левого желудочка, продолжительность пребывания в палате реанимации и интенсивной терапии, продолжительность нахождения в стационаре, летальность).
- Определение активности тропонина I на следующих этапах: 1 - по окончании операции, 2, 3, 4 - через 12, 24 и 48 часов после операции соответственно.
- Учет показателей клинического течения на протяжении тридцати послеоперационных суток.

2.1.2. Критерии включения и невключения в исследование

Изначально в исследование намечалось включить всех пациентов, которые были в клинике и ожидали проведения как изолированных операций на клапанах сердца, так и сочетанных оперативных вмешательств при использовании искусственного кровообращения. Далее, для получения

объективных, лишенных влияния второстепенных факторов, данных об эффективности миокардиальной защиты при использовании ингаляционного оксида азота, нами были разработаны следующие критерии включения в исследование.

1 Подписанное пациентом информированное согласие на участие в исследовании.

2 Возраст пациента от 30 до 75 лет.

3 Наличие клапанного порока левых отделов сердца.

4 Сохраные показатели сократительной функции левого желудочка сердца ($\text{ФВ ЛЖ} > 50\%$).

5 Хирургическое вмешательство на клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения.

Созданный нами дизайн исследования характеризовался высокой чувствительностью к определению эффективности используемых технологий применения ингаляционного оксида азота у данного контингента больных и был подготовлен в соответствии с определённой целью работы. Для выполнения вышеуказанного подхода были определены следующие критерии невключения:

1 Больные, отнесенные к I и II функциональному классу NYHA. Данные пациенты хорошо компенсированы, и не имеют значимых нарушений кровообращения.

2 Фракция выброса левого желудочка менее 50%. При проведении ингаляционной терапии оксидом азота у пациентов с низкой сократительной функцией левого желудочка возможно развитие перегрузки объемом левого желудочка.

3 Инфекционные процессы в активной фазе.

4 Прием глюкокортикоидов.

Третий и четвертый критерии должны были предупредить включение пациентов с исходно измененным системным воспалительным ответом.

5 Нарушения мозгового кровообращения в анамнезе.

Пятый критерий невключения был направлен на повышение качества оценки защитных эффектов исследуемых технологий и показателей клинического течения раннего послеоперационного периода.

2.1.3. Алгоритм предоперационного обследования пациентов

Обследования, которые проводились до операции состояли из использования общеклинических методов обследования (сбор данных анамнеза, данные физикального обследования), использование методов функционального обследования (рентгенография, электрокардиография, холтеровское мониторирование, селективная коронарография, эхокардиография, эхокардиография с анализом сегментарной сократимости миокарда) и использование данных лабораторного исследования (группа крови и резус фактор, общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови). Кроме этого, у пациентов проводилось определение активности тропонина I: у пациентов 1-й (контрольной) группы и больных 3-й группы (ингаляции NO в течение 3-х суток до операции) на следующих этапах: исходный – до проведения ингаляции (за 3-е суток до операции), после проведения каждой ингаляции NO (после 1-й ингаляции, 2-й ингаляции и 3-й ингаляции соответственно).

2.1.4. Создание и рандомизация групп сравнения

После использования критериев включения и невключения в исследование были включены 120 пациентов. Для рандомизации использовался метод конвертов. В каждом конверте находился один из четырех кодов - «Контроль», «Ингаляция оксидом азота до и после искусственного кровообращения», «Ингаляция оксидом азота в течение трех дней до операции, а также до и после ИК» и «Вентиляция/перфузия+ингаляция оксидом азота». При поступлении пациента в клинику, открывали случайно отобранный конверт, что и обуславливало набор пациента в одну из исследуемых групп. После проведения рандомизации исследования (метод конвертов) были созданы четыре группы пациентов:

1. Первая группа (контроль), использовали стандартный протокол анестезиологического обеспечения операции и искусственного кровообращения;
2. Вторая группа, проводили ингаляцию оксида азота (20 ppm) до и после ИК;
3. Третья группа, ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили ежедневно в течение трех дней до операции, во время операции – до и после ИК.
4. Четвертая группа, ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили в течении всей операции, включая период ИК, при этом во время ИК проводили перфузию легочной артерии и вентиляцию легких.

2.2 Общая характеристика пациентов и выполненных оперативных вмешательств

Распределение больных по группам представлено в таблице 2.1.

Таблица 2.1- Клиническая характеристика больных

Показатель	Группа больных			
	1 группа (n=30)	2 группа (n=30)	3 группа (n=30)	4 группа (n=30)
Пол: мужской женский	12(40,0%) 18(60,0%)	13(43,4%) 17(56,6%)	16(53,3%) 14(46,7%)	13 (43,4%) 17 (56,6%)
Возраст (лет)	54,1±1,4	57,9±1,0	57,8±1,3	58,6±1,4
Функциональный класс (NYHA): III IV	28(93,3%) 2(6,6%)	29(96,6%) 1(3,3%)	27(90,0%) 3(10,0%)	27 (90,0%) 3 (10,0%)
Недостаточность кровообращения: II А II Б III	27(90,0%) 3(10,0%) 0	27(90,0%) 3(10,0%) 0	25(83,3%) 4(13,3%) 1(3,3%)	23 (76,6%) 6 (20,0%) 1 (3,3%)
ФВ ЛЖ(%)	56±1,5	58,3±1,2	51,7±1,1	53,4±1,4

Данные по полу, функциональному классу и стадии недостаточности кровообращения пациентов различных групп, которые представлены как число больных, %, были сравнены по критерию Chi-Squaretest, не имели достоверных различий между группами. Данные по возрасту пациентов, фракции выброса левого желудочка, которые представлены как среднее арифметическое \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$), были сравнены по критерию Newman-Keuls (ANOVA), между группами не выявлено статистически значимых различий.

Все пациенты прошли предоперационную подготовку, после чего всем им были выполнены разные оперативные вмешательства, в зависимости от характера поражения клапанов сердца и сочетанные вмешательства в условиях нормотермического искусственного кровообращения и кристаллоидной фармакохолодовой кардиоплегии («Кустадиол», Германия). Характер выполненных операций представлен в таблице 2.2.

Таблица 2.2 - Характер выполненных операций

	Вид операции	Группа больных			
		1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
1	Одноклапанная коррекция	11(36,6%)	8(26,6%)	12(40,0%)	5 (16,6%)
2	Двухклапанная коррекция	10(33,3%)	10(33,3%)	15(50,0%)	16 (53,3%)
3	Трёхклапанная коррекция	2(6,6%)	5(16,6%)	1(3,3%)	2 (6,6%)
4	Сочетанные операции	6(20,0%)	6(20,0%)	2(6,6%)	7 (23,3%)
5	Прочие операции	1(3,3%)	1(3,3%)	0	0

Сравнение проведено между пациентами 1-й, 2-й, 3-й и 4-й группы по критерию Chi-Squaretest, который не выявил достоверных различий между группами. Хирургическая коррекция одного клапана (пластика или

протезирование) были выполнены 36 (30%) пациентам, двух-клапанная коррекция (пластика или протезирование) были выполнены 51 (42,5%) больным, трёх- клапанная коррекция (пластика или протезирование) выполнены 10 (8,3%) пациентам, операция Бенталла де Бено была выполнена 2(1,7%) пациенту, сочетанные операции на коронарных артериях и клапанах сердца были сделаны 21(17,5%) пациентам.

Основные показатели операционного периода у больных трех групп представлены в таблице 2.3.

Таблица 2.3 - Основные показатели операционного периода

Показатель	Группа больных			
	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
Время ИК (мин)	100,3±5,5	105,6±4,9	94,8±5,0	104,8±33,2
Время пережатия аорты (мин)	75,6±4,2	81,4±5,0	69,2±4,7	80,3±27,9

Сравнение проведено между пациентами 1-й, 2-й, 3-й и 4-й групп по критерию Newman-Keuls (ANOVA), по показателям время ИК и время пережатия аорты, который не выявил статистических различий между группами.

2.3. Методики, использованные при обеспечении периоперационного периода операций на клапанах сердца

2.3.1. Анестезиологическое обеспечение операций на клапанах сердца

Всем пациентам было проведено анестезиологическое обеспечение, которое соответствовало протоколу, принятому в ГБУЗ НО «Специализированной кардиохирургической клинической больницы имени академика Б.А.Королева».

Перед операцией всем пациентом проводилась премедикация, которая состояла из внутримышечной инъекции димедрола (0,15 мг/кг) и диазепама (0,1 мг/кг) за полчаса до начала оперативного вмешательства.

При поступлении в операционную всем больным проводилась катетеризация периферической вены, налаживалась система мониторинга, и проводился вводный наркоз. Затем проводилась катетеризация лучевой артерии катетером «Arteriofix» диаметром 18-20G (B|Braun, Германия) для измерения инвазивного артериального давления и для забора крови для анализов артериальной крови. Всем больным по методике Сельдингера проводилась катетеризация внутренней ярёной вены или подключичной вены трёхпросветным катетером «Certofix» диаметром 14G (B|Braun, Германия). Центральные венозные катетеры предназначались для взятия проб венозной крови пациента, инфузионной терапии и измерения центрального венозного давления.

Индукцию в анестезию проводили внутривенной болюсной инъекцией диазепама (0,1-0,2 мг/кг) в комбинации с пропофолом (1,5-2,0 мг/кг). После введения сукцинилхолина (дитилина 2,0-3,0 мг/кг) проводили оротрахеальную интубацию трахеи и переводили пациента на искусственную вентиляцию легких. Для поддержания анестезии использовали комбинацию севофлурана (0,8-1,1 МАК) и фентанила (3,0-5,0 мкг/кг/ч). Севофлуран был использован как главный компонент анестезии у всех групп пациентов: для поддержания анестезии до искусственного кровообращения, во время искусственного кровообращения и для поддержания анестезии в период после искусственного кровообращения, до конца операции. Ингаляционная анестезия и искусственная вентиляция лёгких проводилась с использованием наркозно-дыхательного аппарата «Primus» («Drager», Германия). ИВЛ проводили в режиме вентиляции по объему у всех пациентов воздушно-кислородной смесью с $\text{FiO}_2 = 0,5$, с дыхательным объемом от 8 до 10 мл/кг идеальной массы тела, с частотой дыхания – 10-12 в минуту. Использовали сниженные дозировки фентанила, которые в среднем составляли $3,1 \pm 0,2$

мкг/кг/ч. Осуществляли тотальную миоплегию внутривенным введением пипекуриона бромида (0,15 мг/кг).

Поддержание анестезии в период искусственного кровообращения осуществлялось подачей севофлурана в оксигенатор при помощи прямоточного испарителя (Sevorane, ABBOT). Испаритель встроен в магистраль, в которой подаётся кислородно-воздушная смесь к оксигенатору. Таким способом ингаляционный анестетик попадает в кислородно-воздушную смесь в нужной концентрации, для обеспечения адекватной анестезии. Полноценный газообмен происходил в оксигенаторе при помощи полупроницаемой мембранны. Углекислый газ, который образуется в результате газообмена в оксигенаторе и остаточное количество севофлурана выводились через выходной газовый порт оксигенатора, после чего эвакуировались вентиляционной системой операционной.

После искусственного кровообращения поддержание анестезии осуществляли севофлураном в концентрации 0,9-1,0 МАК (1,5-2,5 об%) и фентанилом ($3,1 \pm 0,2$ мкг/кг/ч). Подачу ингаляционного анестетика завершали за 10-15 мин до окончания операции.

Для профилактики инфекционных осложнений в послеоперационном периоде, применяли цефалоспорины III поколения. Первое введение антибиотика происходило за 5 минут до начала операции. После операции в ОРИТ антибиотик вводился каждые 12 часов, в течении двух суток.

У всех больных проводился стандартный интраоперационный мониторинг при помощи системы Infinity Delta («Draeger», Германия), который состоял из пульсоксиметрии, регистрации 6-канальной ЭКГ с анализом изменения сегмента ST, температуры. Показатели гемодинамики контролировались при помощи инвазивного измерения АД, измерения центрального венозного давления. Учитывали почасовой диурез, измеряли температуру в носоглотке и прямой кишке. Параллельно с этим у пациентов осуществлялся мониторинг газового состава вдыхаемой и выдыхаемой смеси, который состоял из определения концентрации O_2 , CO_2 и подаваемого

ингаляционного анестетика. Мониторинг механики дыхания проводился при помощи дыхательного монитора наркозно-дыхательного аппарата «Primus» («Dräger», Германия), который производил измерения значений статического лёгочного комплайнса.

Всем пациентам проводилась интраоперационное транспищеводное эхокардиографическое исследование, при помощи ультразвуковой системы PHILIPS CX50 с датчиком X7-2t. Эхокардиографическое исследование включало измерение среднего давления в лёгочной артерии по времени ускорения потока (АТ) в выводном отделе правого желудочка ($P=90-0,62 \times AT$, формула Kitabatake, 1983), определение систолической функции левого желудочка, измерение конечно-диастолического, конечно-систолического объемов левого желудочка, определение фракции выброса левого желудочка по модифицированному методу Симпсона. Вышеуказанные измерения проводились три раза, брался средний результат.

2.3.2. Методика искусственного кровообращения и кардиоплегии

Всем пациентам было проведено перфузионное обеспечение и кардиоплегия в соответствии с протоколом, принятым в ГБУЗ НО «Специализированная кардиохирургическая клиническая больница имени академика Б.А.Королева».

Перед искусственным кровообращением проводилась тотальная гепаринизация с расчётной дозировкой гепарина 300 Ед\кг массы тела. Мониторинг показателей гипокоагуляции проводился при помощи аппарата «Medtronic ACT Plus» (Medtronic, США). После окончания искусственного кровообращения действие гепарина нейтрализовали введением протамина сульфата в расчётной дозировке 1мг на 100 ЕД гепарина. Для проведения искусственного кровообращения использовали аппараты «Stockert -3» (Германия) и оксигенаторы «Medtronic» (США). Все перфузии проводились в условиях нормотермии, с сохранением центральной температуры $36,00,5\pm^0C$.

При этом скорость объемная скорость перфузии составляла 4,4-4,5 л/мин, а перфузионный индекс - 2,5-2,7 л/мин/м². Во время искусственного кровообращения всем пациентам применялась ультрафильтрация при помощи гемоконцентратора фирмы «Medtronic» (США). В среднем объем фильтрата был около 1,5-2,0 л. Адекватность перфузии определялась по значениям кислотно-основного состояния (КОС), газового состава крови (ГСК), показателям центральной гемодинамики таких как среднего артериального давления (60-80 мм.рт.ст.) и центрального венозного давления (8-10 мм.рт.ст.). Также учитывалось отсутствие или наличие температурных градиентов.

Хирургический доступ для подключения аппарата искусственного кровообращения (АИК) осуществлялся через срединную стернотомию. После тотальной гепаринизации, при значениях АВС не менее 450 сек, хирургами выполнялась канюляция восходящего отдела аорты, канюляция либо одной, либо двух полых вен (в зависимости от вида операции), при помощи канюль. Аорта пережималась выше места отхождения коронарных артерий. Канюлю для введения кардиоплегического раствора устанавливали проксимальнее места пережатия аорты либо в коронарные артерии, при этом специальными катетерами дренировали левые отделы сердца. После момента пережатия аорты начинали проведение антеградной кристаллоидной кардиоплегии раствором «Custadiol» (Германия). Введение кардиоплегического раствора осуществлялась через кардиоплегическую систему при помощи дополнительного перфузионного насоса АИК. Адекватность введения оценивалась давлением в кардиоплегической системе (75-100 мм.рт.ст) и временем введения 7-10 мин. Объем первично вводимого кардиоплегического раствора составлял 1500-2000 л. Если время пережатия аорты составляло более 90 минут, то кардиоплегический раствор вводили повторно в объеме 500-1000 мл. В случаях выраженной аортальной недостаточности введение кардиоплегии осуществлялось непосредственно в устья коронарных артерий.

2.3.3. Методика применения ингаляционного оксида азота. У больных второй, третьей и четвертой группы проводилась ингаляция оксида азота. Для проведения ингаляционной терапии во всех случаях использовался отечественный аппарат «Тианокс» (рисунок 2.1).



Рисунок 2.1- Аппарат ингаляционной терапии ТИАНОКС

Аппарат обеспечивает синтез оксида азота из воздуха непосредственно во время проведения терапии, подачу NO в дыхательный контур пациента, регулировку и непрерывный мониторинг концентрации NO в дыхательной смеси (Буранов С.Н. и соавт., 2013; 2016; 2018).

Ингаляционная подача оксида азота у больных 2-й, 3-й и 4-й групп на этапах до и после ИК проводилась в инспираторную часть дыхательного контура. Для ингаляционной терапии использовался специальный дыхательный контур фирмы «Intersurgical». Величина газотока ингалируемого NO составляла 300- 400 мл/мин с концентрацией $23,7 \pm 0,62$ ppm в потоке свежего кислорода, общее время ингаляции составляло от 2 до 4,5 часов. Проводили контроль подаваемой ингаляционной смеси с помощью электрохимического NO-NO₂-анализатора. Средняя концентрация NO₂ составляла 0,4-1,5 ($0,9 \pm 0,07$) ppm.

У пациентов третьей группы дополнительно проводили ингаляции NO (20-25 ppm) в течение 3-х суток до операции. Ингаляция оксида азота проводилась через лицевую маску в потоке увлажненного кислорода (5 л/мин), при этом поток оксида азота составлял 300-400 мл/мин, время ингаляции составляло 20 мин (рисунок 2.2).



Рисунок 2.2 - Ингаляции оксида азота в дооперационном периоде
(картинка с <https://www.oxyhealth.ru/oxygen-poduchki/algoritm-podachi/>)

У пациентов четвертой группы ингаляционную терапию оксидом азота проводили на протяжении всей операции, а во время ИК – комбинировали с проведением перфузии легочной артерии и проведением ИВЛ. Параметры вентиляции легких и ингаляции NO во время ИК: поток свежего 100% кислорода – 1,5 л/мин; количество оксида азота, генерируемого аппаратом и подаваемого в дыхательный контур пациенту составляла 300- 400 мл/мин.; концентрация подаваемого оксида азота – 20-25 ppm; параметры вентиляции - уменьшение дыхательного объема и частоты дыхания до 50% от исходного и уменьшение производительности работы генератора NO в связи со снижением минутной вентиляции приблизительно на 50% до концентрации NO - 20-25 ppm. Технология перфузии легочной артерии и вентиляции легких во время ИК описана нами ранее (Пичугин В.В. и соавт., 2017).

Средняя дозировка ингаляционного NO до и после ИК составляла 20-25 ($23,7 \pm 0,62$) ppm. Средняя концентрация NO_2 составляла 0,4-1,5 ($0,9 \pm 0,07$) ppm. Концентрация ингаляционного NO во время ИК у пациентов четвертой группы составляла 15-20 ($17,6 \pm 0,71$) ppm. Содержание метгемоглобина у всех больных на этапах операции не превышало 1,5%. Схематичное изображение ингаляционной терапии NO представлено на рисунке 2.3.

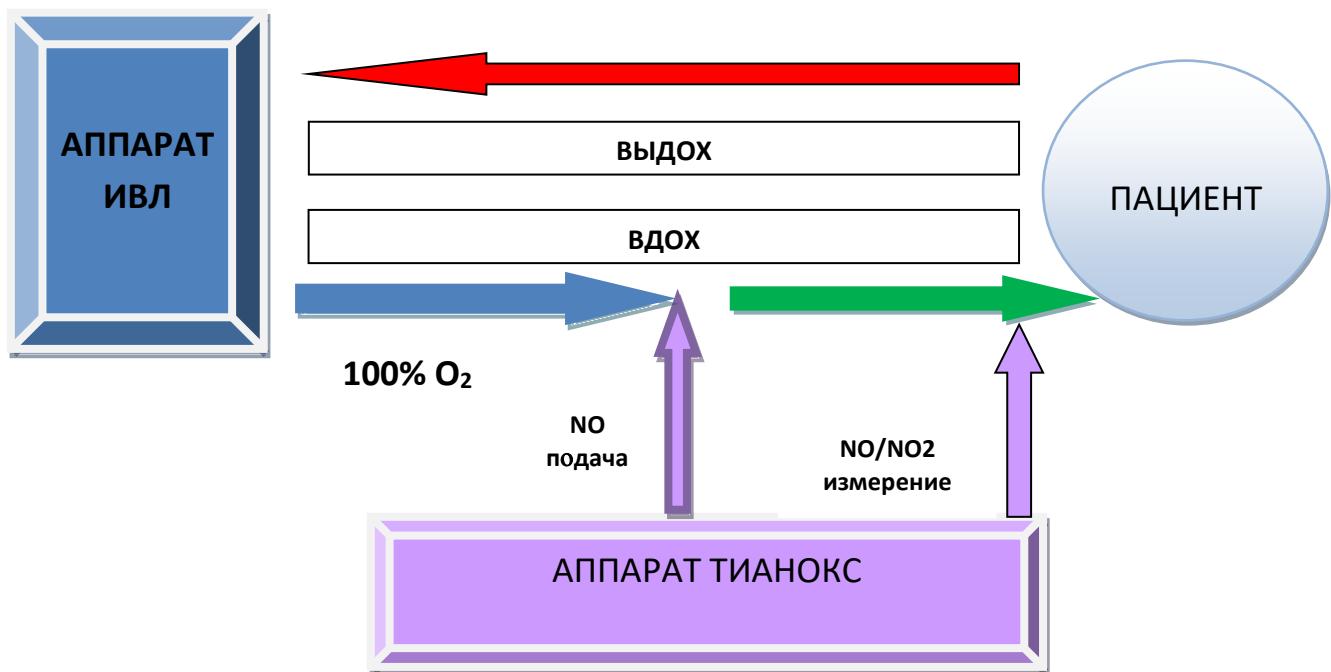


Рисунок 2.3 - Схема подключения аппарата для проведения NO терапии

У пациентов четвертой группы одновременно с ингаляцией NO, во время ИК осуществляли перфузию лёгочной артерии оксигенированной кровью и искусственную вентиляцию лёгких сниженными объемами во время ИК. Для перфузии лёгочной артерии устанавливали канюлю ниже клапана лёгочной артерии сразу после начала ИК. При проведении данной перфузии использовали дополнительный насос АИК, который забирал кровь из оксигенатора. Лёгочная перфузия начиналась после пережатия полых вен. Перфузия лёгочной артерии осуществлялась с объёмной скоростью 250-300 мл/мин. При увеличении скорости перфузии увеличивался возврат крови в левые отделы сердца, что сильно осложняло работу хирургов во время

выполнения основного этапа операции. В момент начала лёгочной перфузии меняли параметры искусственной вентиляции лёгких, а именно уменьшали дыхательный объём в 2 раза от исходного, но не более 5 мл/кг идеальной массы тела, уменьшали частоту дыхания до 5-6 в минуту с увеличением PEEP +5 см вод.ст.

2.3.4. Интенсивная терапия и мониторинг больных в раннем послеоперационном периоде

После окончания операций всех больных транспортировали в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) для дальнейшего лечения и наблюдения. В условиях ОРИТ осуществлялся мониторинг, который состоял из пульсоксиметрии, регистрации 6-канального ЭКГ с анализом изменения сегмента ST, инвазивного измерения АД и ЦВД. измерения центрального венозного давления. Для регистрации вышеуказанных показателей использовали систему Infinity Delta («Drager», Германия). Осуществлялся контроль температуры в прямой кишке и на стопе. Параллельно с этим проводился контроль почасового диуреза и дренажных потерь. Трансторакальное эхокардиографическое исследование и рентгенологическое исследование грудной клетки проводилось сразу после перевода больного в ОРИТ, после один раз в сутки нахождения в ОРИТ, а также при наличии показаний.

Проводились исследования КОС, ГСК, электролитов в крови, уровня гемоглобина в артериальной и венозной крови. Первое лабораторное исследование проводилось сразу после поступления больного в ОРИТ, а после каждые четыре часа нахождения пациента больного в отделении реанимации и при необходимости. Коагулограмму пациентов определяли сразу после поступления больного из операционной, затем - каждые 12 часов и в случае необходимости. Один раз в сутки делался развернутый биохимический и общий анализ крови.

Искусственная вентиляция лёгких осуществлялась при помощи аппаратов «Drager Savina» и «Drager Evita XL» (Drager, Германия). В ОРИТ использовались такие режимы вентиляции как SIMV (synchronized intermittent mandatory ventilation) с параметрами вентиляции: FiO_2 - 0,5; ЧД-12 в мин, ДО-8 -10 мл/кг, положительное давление конца выдоха (ПДКВ) - 5 см.вод.ст., соотношение вдоха к выдоху - I:E 1:2 или BiPAP (biphasic positive airway pressure) с параметрами вентиляции FiO_2 - 0,5; ЧД-12 в мин, Pinsp -17-19 см.вод.ст., ПДКВ – 5 см.вод.ст., I:E 1:2. При появлении признаков спонтанного дыхания параметры выше указанных режимов вентиляции корректировались, учитывая показатели газового состава крови. При признаках адекватного пробуждения пациентов и восстановления мышечного тонуса проводилась тренировка спонтанного дыхания. При полном восстановлении сознания и мышечного тонуса больных переводили на вспомогательный режим вентиляции CPAP(continuous positive airway pressure). Этот режим вспомогательной вентиляции подготавливал пациентов к экстубации. Экстубация больных проводилась при наличии нормального газового состава крови в артериальной и венозной крови, адекватного сознания, адекватных попытках спонтанного дыхания. После экстубации проводилась ингаляция увлажненным кислородом через кислородную маску или носовые катетеры с потоком 3-5 л/мин.

Обеспечение нормальной гемодинамики проводилось на фоне контроля показателей сократительной функции миокарда. Если у пациентов обнаруживали снижение преднагрузки левого желудочка, то назначалась активная инфузационная терапия коллоидными и кристалloidными растворами. Когда у пациентов наблюдалась артериальная гипотензия (АДср менее 65 мм.рт.ст.) и параллельно с этим отмечали снижение темпа диуреза и снижение минутного объема кровообращения (МОК), назначалась инфузия дофамина в дозировке 3-10 мкг/кг/мин, добутамина в дозировке дозе 3–10 мкг/кг/мин. Если вышеуказанная инотропная поддержка оказывалась не эффективной назначалась инфузия адреналина в дозировке 0,03–0,07

мкг/кг/мин. Пациенты у которых наблюдалась артериальная гипотензия связанная с вазоплегией назначали инфузию норадреналина в дозировке 0,05–0,1 мкг/кг/мин.

При условии нормального, стабильного клинического течения пациента в ОРИТ в течении 8 часов, при наличии у пациента ясного сознания, спонтанного дыхания и при стабильной гемодинамики без инотропной поддержки, больной переводился в профильное отделение для дальнейшего лечения.

2.4. Методы оценки эффективности методик применения ингаляционного оксида азота для защиты миокарда

С целью оценки эффективности методик применения ингаляционного оксида азота для защиты миокарда у пациентов с пороками левых камер сердца, проводили исследование активности тропонина Iв дооперационном и послеоперационном периоде, изучали изменения показателей гемодинамики, сократительной функции миокарда на этапах операции и ближайшего послеоперационного периода; течение восстановительного периода после кардиоплегии, клинические показатели течения послеоперационного периода у больных.

С целью исследования эффективности фармакологического прекондиционирования оксидом азота на дооперационном этапе проводили определение уровня тропонина I (cTn I) ежедневно на протяжении 3-х суток предоперационного периода после проведения ингаляции NO у пациентов 3-й группы и в те же временные интервалы у пациентов 1-й группы (контроль).

Исследование высокочувствительного тропонина I в плазме проводилась с помощью тест-системы PATHFAST cTnI (рисунок 2.4.), предназначеннай для диагностики на анализаторе PATHFAST (Mitsubishi Chemical Medience Corp., Japan). Процедура проведения анализа основана на методе хемилюминесцентного иммуноферментного анализа с использованием технологии MAGTRATION®. Моноклональные антитела к cTnI, связанные

со щелочной фосфатазой и моноклональные антитела к сTnI на магнитных частицах смешивались с образцами гепаринизированной крови или плазмы. сTnI образца связывается с антителами к сTnI, образуя иммунокомплекс с меченными ферментом антителами и антителами на магнитных частицах. После удаления несвязавшегося материала к иммунному комплексу добавляли хемилюминесцентный субстрат. После короткой инкубации под воздействием ферментной реакции в смеси начиналась люминесценция, интенсивность которой зависела от концентрации сTnI в образце. Расчет результата проводится по стандартной калибровочной кривой.



Рисунок 2.4 - Анализатор PATHFAST
(картинка с сайта <https://gkvector.com/pathfast-idealnaya-sistema-analiza-v-laboratornoj-diagnostike/>)

Для оценки эффективности фармакологического прекондиционирования оксидом азота в интра- и послеоперационном периоде использовали клинико-функциональные показатели (характер восстановления сердечной деятельности после ишемии, динамику инотропного числа – VIS (vasoactive-inotropic score), VIS (vasoactive-inotropic

score) рассчитывался по формуле: $VIS = \text{доза допамина (мкг/кг/мин)} + \text{доза добутамина (мкг/кг/мин)} + 100 \times \text{доза адреналина (мкг/кг/мин)} + 100 \times \text{доза норадреналина (мкг/кг/мин)}$ длительность ИВЛ, степень дисфункции левого желудочка, продолжительность пребывания в палате реанимации и интенсивной терапии, продолжительность нахождения в стационаре, летальность) и уровень маркера повреждения миокарда (тропонина I) на этапах послеоперационного периода: 1 – при поступлении пациента в операционную (исходно); 2 – через 12 ч после операции; 3 – через 24 ч после операции; 4 – через 48 ч после операции.

Учитывали следующие изменения показателей системной гемодинамики: ЧСС, АД сис, АД ср, АД диаст, ЦВД. Исследовали динамику изменения показателей сократительной функции миокарда левого желудочка: конечно-диастолического объема, конечно-систолического объема, ударного объема, фракции выброса.

Исследование указанных функциональных показателей сердца осуществляли на следующих этапах: 1 – исходный, после интубации трахеи и начала ИВЛ; 2 – перед началом ИК; 3 – после окончания ИК; 4 – по окончании операции, перед переводом в ОРИТ, 5 - через 12 ч после операции, 6 – через 24 ч после операции, 7 – через 48 ч после операции.

К биохимическим исследованиям относились ГСК, КОС крови, определение электролитов в крови, гемоглобина и сатурация кислорода. Вышеуказанные исследования проводились с помощью модульного анализатора «COBAS B121» (Roche, Швейцария). Исследования выполнены на этапах указанных выше.

Для оценки клинического течения послеоперационного периода изучали:

- частоту развития послеоперационной острой сердечной недостаточности;
- продолжительность респираторной поддержки с момента поступления пациента в ОРИТ;

- продолжительность пребывания пациента в ОРИТ;
- наличие других послеоперационных осложнений (ОДН; СПОН, ОНМК, кровотечение);
- госпитальную летальность.

2.5. Методы статистической обработки результатов исследования

Статистический анализ проведен при помощи программ Microsoft Excel 2003, Биостатистика (Vers. 4.03) и «Statistica-6. Результаты исследования были обработаны в соответствии с правилами вариационной статистики. Характер распределения данных оценивали с помощью тестов Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Для данных, соответствующих закону о нормальном распределении, вычисляли среднее арифметическое (M) и ошибку средней арифметической (»m).

Для проверки достоверности отличий между средними величинами в исследуемых группах проводили дисперсионный анализ (ANOVA – Analysis of Variation) с помощью сравнения дисперсий этих групп (Algina, J., Olejnik, S., 2003). При проведении методов множественного сравнения применяли параметрический критерий – критерий Стьюдента для множественных сравнений. Для внутригрупповых сравнений с исходными показателями использовали непараметрический статистический тест - критерий Вилкоксона. Результаты всех тестов считали достоверными при значении выше критического т.е. $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1. Клиническая оценка эффективности фармакологического прекондиционирования миокарда оксидом азота при операциях с искусственным кровообращением

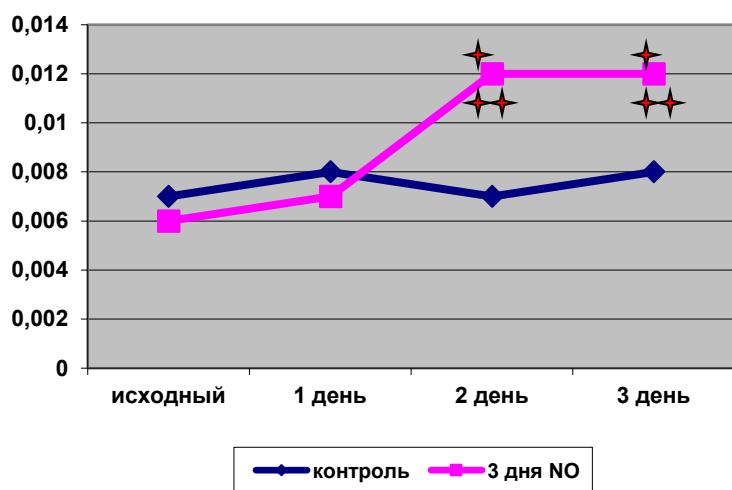
Вдыхание NO до ишемии сердца может привести к увеличению метаболитов NO, таких как S-нитрозотиолы (Kohr M.J. et al., 2011), которые сохраняются в течение всего периода ишемии и ранней реперфузии. Эти метаболиты NO могут индуцировать второго мессенджера NO, циклический гуанозинмонофосфат (Burley D.S. et al., 2007; D'Souza S.P. et al., 2003) в сердце, что может обеспечить защиту сердца посредством фармакологического прекондиционирования в течение еще неопределенного периода времени после этого. Результаты недавнего исследования (Nagasaki Y. et al., 2018) свидетельствуют, что ингаляции NO до индукции ишемии увеличивают количество метаболитов NO в крови до уровня, достаточного для снижения ишемически-реперфузионного повреждения миокарда у мышей. В настоящее время задача состоит в том, чтобы перевести данные лабораторных исследований в клинические (Kloner R.A., 2013; Ovize M. et al., 2013), где пока отмечены лишь переменные успехи. В связи с вышеизложенным, нами было выполнено исследование эффективности фармакологического прекондиционирования миокарда ингаляционным оксидом азота в клинических условиях при выполнении операций с искусственным кровообращением.

Для реализации поставленной задачи нами были проведены комплексные исследования у пациентов 1-й, 2-й и 3-й групп. У первой

группы (контроль), - использовали стандартный протокол анестезиологического обеспечения операции и искусственного кровообращения; у второй группы (однократная ингаляция), проводили ингаляцию оксида азота (20 ppm) до и после ИК; у третьей группы (многократные ингаляции), ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили ежедневно в течение трех дней до операции, во время операции – до и после ИК.

3.1.1. Результаты исследования клинической эффективности фармакологического прекондиционирования миокарда оксидом азота

Сравнительная динамика уровня тропонина I (сTn I) на протяжении 3-х суток предоперационного периода у пациентов 1-й и 3-й групп приведена на рисунке 3.1.



- ◆ - статистически значимые изменения по сравнению с исходным;
- ◆◆ - статистически значимые изменения по сравнению с контролем

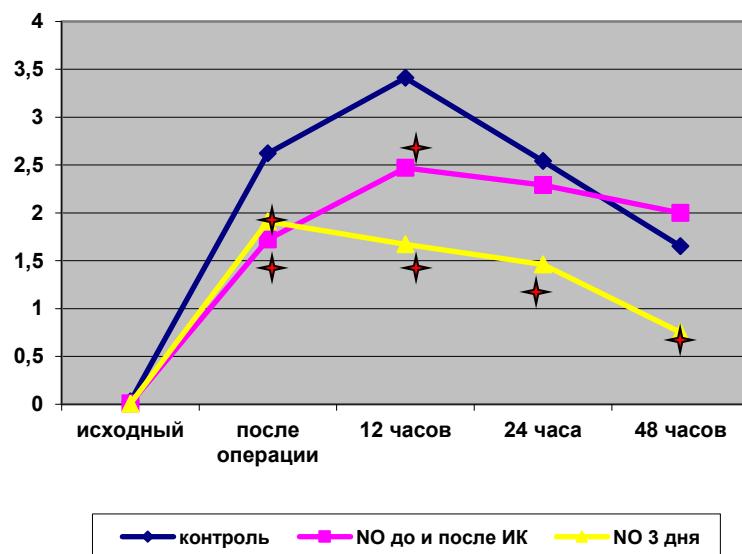
Рисунок 3.1 - Динамика содержания тропонина I при дооперационной ингаляции оксида азота

Исходные уровни тропонина I не имели достоверных отличий у пациентов исследуемых групп. После проведения первой ингаляции также не отмечено статистически значимого изменения уровня сTn I как по сравнению с исходными значениями (в 3-й группе), так и по сравнению с контрольной группой пациентов. После проведения второй ингаляции NO, отмечено

статистически значимое возрастание уровня сTn I на 71,4% от исходного в 3-й группе при отсутствии подобных изменений в контрольной группе больных. Статистически значимый более высокий уровень сTn I (на 71,4% от исходного) сохранялся и после проведения третьей ингаляции NO. Изменения сTn I после третьей ингаляции у пациентов контрольной группы отсутствовали.

Таким образом, проведение 3-х дневного курса ингаляций оксида азота в дозе 20 ppm, приводило к статистически значимому повышению уровня тропонина I (на 71,4%) после второй ингаляции, которое, однако, находилось в пределах референсных значений.

Изменения уровня сTn I на этапах послеоперационного периода у пациентов 1-й, 2-й и 3-й групп представлены на рисунке 3.2.



★ - статистически значимые изменения по сравнению с 1-й группой

Рисунок 3.2 - Динамика содержания тропонина I в послеоперационном периоде

Исходные уровни сTn I не выявили статистически значимых различий у пациентов всех исследуемых групп. После окончания операции отмечено статистически значимое возрастание его уровня во всех группах больных: до $2,62 \pm 0,20$ ng/ml – в первой группе, до $1,72 \pm 0,23$ ng/ml – во второй группе, и до $1,92 \pm 0,30$ – в третьей группе. При этом необходимо отметить, что уровень

cTn I статистически значимо ниже у больных 2-й и 3-й групп по сравнению с 1-й группой, разницы между больными 2-й и 3-й группами не выявлено.

Через 12 часов после операции у пациентов 1-й и 2-й групп отмечено статистически значимое возрастание уровня cTn I по сравнению с предыдущим этапом: до $3,41 \pm 0,40$ ng/ml – в первой группе, и до $2,47 \pm 0,21$ – во второй группе, при этом уровень cTn I у пациентов 2-й группы статистически ниже, чем у больных 1-й группы. У больных 3-й группы отмечено статистически незначимое снижение уровня cTn I до $1,68 \pm 0,33$ ng/ml, при этом данный показатель статистически значимо ниже по сравнению с пациентами 1-й и 2-й групп.

Через 24 часа после операции происходило снижение уровня cTn I во всех группах пациентов: до $2,54 \pm 0,26$ ng/ml – в первой группе, до $2,29 \pm 0,19$ ng/ml – во второй группе, и до $1,46 \pm 0,34$ ng/ml – в третьей группе. На данном этапе исследования уровень cTn I статистически значимо ниже у пациентов 3-й группы по сравнению с 1-й и 2-й группами. Не выявлено статистически значимой разницы по данному показателю между пациентами 1-й и 2-й групп.

Через 48 часов после операции происходило дальнейшее снижение уровня cTn I во всех группах больных: до $1,65 \pm 0,15$ ng/ml – в первой группе, до $2,00 \pm 0,33$ ng/ml – во второй группе, и до $0,74 \pm 0,18$ ng/ml – в третьей группе. На данном этапе исследования уровень cTn I также статистически значимо ниже у пациентов 3-й группы по сравнению с 1-й и 2-й группами. Не выявлено статистически значимой разницы по данному показателю между пациентами 1-й и 2-й групп.

Таким образом, исследуя уровень тропонина I в послеоперационном периоде у пациентов 3-х групп, мы выявили статистически значимое увеличение его содержания во всех группах больных. При этом необходимо отметить, что уровень cTn I статистически значимо ниже у больных 2-й и 3-й групп по сравнению с 1-й группой на этапе окончания операции и через 12

часов, и на этапе через 12 и 24 часа у пациентов 3-й группы по сравнению с 1-й и 2-й группами.

Характер восстановления сердечной деятельности после кардиоплегии представлен на рисунке 3.3.

Проведенный анализ не выявил статистически значимых различий между группами по характеру восстановления сердечной деятельности, так самостоятельное восстановление или после однократной ЭДС отмечалось у подавляющего большинства пациентов: у 76,6% - в первой группе, 80,0% - во второй группе, и у 83,3% - в третьей группе.

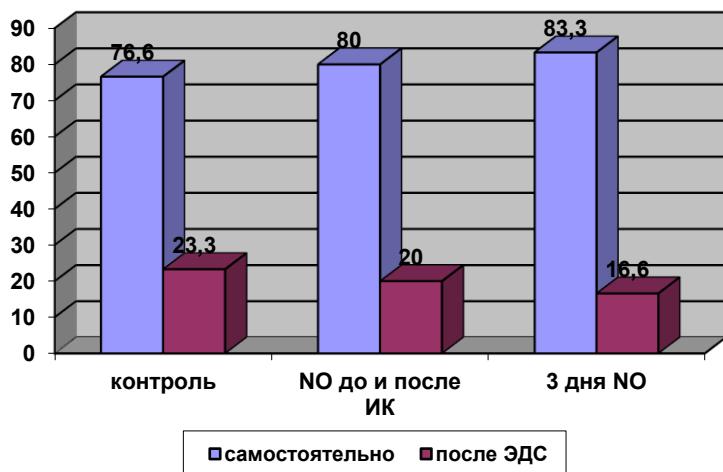
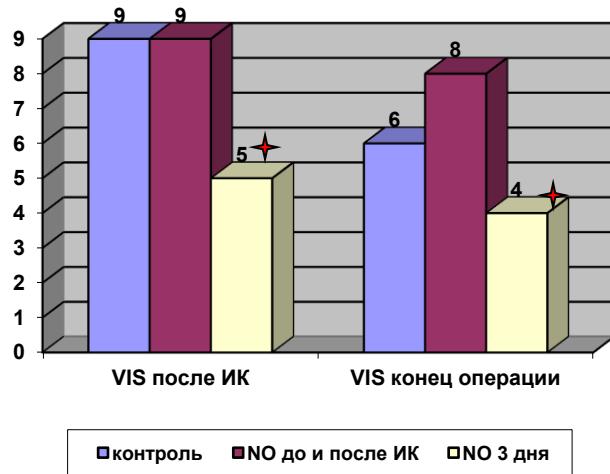


Рисунок 3.3 - Характер восстановления сердечной деятельности

Влияние ингаляционного оксида азота на степень тяжести контрактильной дисфункции миокарда проводилась нами по динамике зависимости пациентов от инотропной и вазопрессорной терапии и степени выраженности кардиотонической поддержки, которая представлена на рисунке 3.4.



★ - статистически значимые изменения по сравнению с 1-й и 2-й группой

Рисунок 3.4 - Динамика VIS показателя в постперфузионном периоде

После окончания ИК отмечен статистически более низкий показатель VIS у пациентов 3-й группы по сравнению с пациентами 1-й и 2-й групп. Не выявлено статистически достоверной разницы между больными 1-й и 2-й групп. В конце операции также отмечен статистически более низкий показатель VIS у пациентов 3-й группы по сравнению с пациентами 1-й и 2-й групп. Не выявлено статистически достоверной разницы между больными 1-й и 2-й групп.

Таким образом, проведенный анализ характера восстановления сердечной деятельности после кардиоплегии не выявил статистически значимых различий между исследуемыми группами больных. Показатель динамики VIS в постперфузионном периоде выявил статистически значимое снижение данного показателя у пациентов 3-й группы.

Исследование показателей центральной гемодинамики и сократительной функции миокарда. Изменения показателей центральной гемодинамики на этапах операции представлены в табл. 3.1. Данные об изменении показателей сократительной функции миокарда представлены в табл. 3.2.

Динамика исследуемых показателей у **пациентов первой группы** выявила, что перед началом искусственного кровообращения отмечено статистически значимое снижение систолического АД (на 12,9% от

Таблица 3.1 - Показатели центральной гемодинамики у больных исследуемых групп

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Исходные данные	Перед ИК	После ИК	Конец операции
АД сист (мм рт ст)	1 группа	127,5±2,4	111,1±2,5*	95,3±3,9*	105,4±2,0*
	2 группа	125,1± 2,1	110,1±2,8*	93,1±4,5*	109,9±1,9*
	3 группа	130,6±3,1	115,6±3,3*	96,6±4,1*	108,9±2,5*
АД среднее (мм рт ст)	1 группа	94,7±2,1	79,5±2,3*	62,2±3,7*	74,3±2,2*
	2 группа	94,6±2,1	78,5±2,4*	61,9±4,1*	76,7±2,3*
	3 группа	95,3±2,5	80,5±3,2*	65,1±5,0*	77,9±2,5*
АД диаст (мм рт ст)	1 группа	78,7±2,5	70,5±1,9*	68,2±3,7*	70,7±2,3*
	2 группа	77,2±1,9	70,8±2,5*	68,7±4,0*	71,7±2,6*
	3 группа	77,3±2,9	72,5±2,6*	70,1±3,1*	70,2±2,4*
ЧСС (в мин)	1 группа	87,1±2,1	84,0±3,9	90,1±4,4	85,3±2,1
	2 группа	86,0±2,2	80,6 ±3,9	89,2±4,0	80,4±1,9
	3 группа	82,0±2,8	81,5±4,4	88,1±3,9	80,9±2,5
ЦВД (мм рт ст)	1 группа	12,1±0,4	11,5±0,5	15,1±0,7*	14,9±0,4*
	2 группа	11,9±0,5	11,8±0,4	14,9±0,6*	14,7±0,4*
	3 группа	11,8±0,5	11,4±0,3	15,2±0,5*	15,0±0,5*

* - достоверность изменений ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом

исходного), среднего АД (на 16,1%), диастолического АД (на 10,4%). Значения ЧСС, ЦВД, КДО, КСО, ФВ и среднего давления в ЛА достоверно не изменились. После окончания ИК отмечено статистически достоверное снижение АД сист (на 25,3% от исходного), среднего АД (на 34,3% от исходного), уменьшение КДО (на 20,9% от исходного), КСО (на 16,3% от

исходного), ФВ (на 9,6% от исходного), среднего давления в ЛА (на 17,8% от исходного), возрастание ЦВД (на 24,8% от исходного).

К концу операции было отмечено статистически значимое снижение значений систолического АД (на 17,2% от исходного), среднего АД (на 21,5% от исходного), КДО (на 21,1% от исходного), КСО (на 17,0% от исходного) и среднего давления в легочной артерии (на 16,5% от исходного), возрастание ЦВД (на 23,1% от исходного). При этом не было отмечено статистически значимых изменений ЧСС, ФВ.

Таблица 3.2 - Показатели сократительной функции миокарда на этапах операции

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Исходные данные	Перед ИК	После ИК	Конец операции
КДО (мл)	1 группа	167,2±13,5	169,5±12,9	132,2±11,6*	131,9±12,1*
	2 группа	170,7±14,1	173,9±13,5	130,5±10,1*	130,6±12,3*
	3 группа	165,3±13,7	170,5±14,5	131,1±12,2*	128,9±10,0*
КСО (мл)	1 группа	84,2±6,3	82,5±6,5	70,5±6,1*	69,9±6,1*
	2 группа	83,7 ±5,3	81,1±6,9	65,5±5,9*	62,9±6,2*
	3 группа	85,4±6,2	83,8±6,8	62,3±6,1*	63,1±6,8*
ФВ ЛЖ (%)	1 группа	52,1±1,2	51,2±1,1	47,1±1,1*	49,1±1,3
	2 группа	51,7±1,1	51,1±1,4	50,2±1,2	52,1 ±1,1
	3 группа	51,9±1,2	51,8±1,2	51,8±1,1	51,2±1,0
Давление в ЛА среднее (мм рт ст)	1 группа	44,9±1,1	44,5±1,1	36,9±1,0*	37,5±1,2*
	2 группа	45,4±1,3	33,7±1,1*	32,5±1,2*	32,4±1,1*
	3 группа	45,0±1,1	34,0±0,8*	33,0±1,0*	33,8±0,9*

* - достоверность изменений ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом

Динамика исследуемых показателей у пациентов второй группы выявила, что на этапе до искусственного кровообращения отмечено статистически значимое снижение систолического АД (на 12,0% от исходного), среднего АД (на 17,0% от исходного), диастолического АД (на 8,3% от исходного), среднего давления в ЛА (на 25,8% от исходного). Значения ЧСС, ЦВД, КДО, КСО, ФВ статистически значимо не изменялись. После искусственного кровообращения статистически значимо по сравнению с исходными данными снижались АД систолическое (на 25,6%), АД диастолическое (на 11,0%), АД среднее (на 34,6%), КДО (на 23,4%), КСО (на 21,7%), среднее давление в ЛА (на 28,4%), возрастало ЦВД (на 25,2%). Показатели ЧСС и ФВ статистически значимо не изменялись. К концу операции было отмечено статистически значимое снижение значений систолического АД (на 12,2% от исходного), среднего АД (на 18,9% от исходного), КДО (на 23,5% от исходного), КСО (на 24,9% от исходного) и среднего давления в легочной артерии (на 28,6% от исходного), возрастание ЦВД (на 24,9% от исходного). При этом не было отмечено статистически значимых изменений ЧСС, ФВ.

Динамика исследуемых показателей у пациентов третьей группы выявила, что на этапе до искусственного кровообращения отмечено статистически значимое снижение систолического АД (на 11,5% от исходного), среднего АД (на 15,5% от исходного), диастолического АД (на 6,2% от исходного), среднего давления в ЛА (на 24,4% от исходного). Значения ЧСС, ЦВД, КДО, КСО, ФВ статистически значимо не изменялись. После искусственного кровообращения статистически значимо по сравнению с исходными данными снижались АД систолическое (на 26,0%), АД диастолическое (на 9,3%), АД среднее (на 31,6%), КДО (на 20,7%), КСО (на 27,0%), среднее давление в ЛА (на 26,7%), возрастало ЦВД (на 28,8%). Показатели ЧСС и ФВ статистически значимо не изменялись. К концу операции было отмечено статистически значимое снижение значений систолического АД (на 16,6% от исходного), среднего АД (на 18,3% от

исходного), КДО (на 22,0% от исходного), КСО (на 26,1% от исходного) и среднего давления в легочной артерии (на 24,9% от исходного), возрастание ЦВД (на 27,1% от исходного). При этом не было отмечено статистически значимых изменений ЧСС, ФВ.

Изменения показателей сократительной функции миокарда на этапах ближайшего послеоперационного периода представлены в табл. 3.3

Таблица 3.3 - Показатели сократительной функции миокарда на этапах ближайшего послеоперационного периода

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Поступление в ОРИТ	Через 12 часов	Через 24 часа	Через 48 часов
КДО (мл)	1 группа	131,9±12,1	172,4±11,9*	180,6±11,1*	160,9±12,7*
	2 группа	130,6±12,3	160,0±11,3*	158,9±12,3*	142,6±11,5
	3 группа	128,9±10,0	138,0±11,5**	147,5±11,5**	139,9±11,0
КСО (мл)	1 группа	69,9±6,1	94,7±5,8*	84,4±6,3	76,9±6,6
	2 группа	62,9±6,2	81,7±6,1*	75,1±5,9*	67,9±6,2
	3 группа	63,1±6,8	68,1±6,3**	70,8±5,4**	65,1±5,8
ФВ ЛЖ (%)	1 группа	49,1±1,3	46,0±1,0*	45,2±1,1*	50,0±1,0
	2 группа	52,1 ±1,1	50,1±0,9**	50,7±1,0**	52,1 ±1,1
	3 группа	51,2±1,0	53,3±0,9**	54,3±1,1**	53,8±1,0**
Давление в ЛА среднее (мм рт ст)	1 группа	37,5±1,2	42,1±1,1*	40,5±1,3	37,5±1,1
	2 группа	32,4±1,1	39,2±1,0*	38,1±1,1*	35,4±1,2
	3 группа	33,8±0,9	38,2±1,2*	38,0±0,8*	35,8±0,8

* - достоверность изменений ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом

** - статистически достоверные изменения ($p \leq 0,05$) по сравнению с 1-й группой на аналогичном этапе

Динамика исследуемых показателей сократительной функции миокарда в ближайшем послеоперационном периоде у **пациентов первой группы**

выявила: через 12 часов после окончания операции отмечено статистически значимое возрастание КДО (на 30,7%), КСО (на 35,5%), среднего давления в ЛА (на 12,3%) и снижение ФВ (на 6,3%) по сравнению с этапом поступления в ОРИТ. Через 24 часа все указанные изменения прогрессировали и приводили: к статистически значимому возрастанию КДО (на 36,9% от исходного), КСО (на 20,7% от исходного), снижению ФВ (на 8,0% от исходного), при отсутствии статистически значимых изменений в цифрах среднего давления в ЛА. Через 48 часов указанные патологические изменения частично регрессировали и приводили к восстановлению сократительной функции миокарда, так КДО снижался на 10,9% по сравнению с предыдущим этапом, КСО – на 8,9%, ФВ статистически значимо возрастала (на 10,6%), достигая нормальных значений.

Динамика исследуемых показателей у **пациентов второй группы** выявила через 12 часов после окончания операции отмечено статистически значимое возрастание КДО (на 22,5%), КСО (на 29,9%), среднего давления в ЛА (на 21,0%) и отсутствие статистически значимых изменений ФВ по сравнению с этапом поступления в ОРИТ. Через 24 часа зарегистрирован умеренный регресс указанных изменений, тем не менее, отмечалось статистически значимое возрастание КДО (на 21,7% от исходного), КСО (на 19,4% от исходного), среднего давления в ЛА (на 12,4% от исходного), при отсутствии статистически значимых изменений в значении ФВ. Через 48 часов все указанные патологические изменения регрессировали и не было статистически значимой разницы по сравнению с исходными данными. Необходимо отметить, что значения ФВ на этапах через 12 и 24 часа статистически значимо выше аналогичного показателя пациентов 1-й группы.

Динамика исследуемых показателей у **пациентов третьей группы** выявила статистически значимое возрастание среднего давления в ЛА через 12, 24 часа после операции. Статистически значимых изменений показателей КДО, КСО, ФВ на исследуемых этапах зарегистрировано не было, а

показатели КДО, КСО, ФВ на этапах через 12 и 24 часа имеют статистически значимую разницу по сравнению с 1-й группой. Статистически значимых отличий по сравнению со 2-й группой не выявлено.

Таким образом, проведённое интраоперационное исследование показателей центральной гемодинамики и сократительной функции миокарда выявило, что течение доперфузионного периода во всех группах больных сопровождалось развитием умеренной артериальной гипотензии (снижение среднего АД на 15,5-17,0% от исходного уровня), у пациентов 2-й и 3-й групп - снижением уровня среднего давления в ЛА (на 24,4-25,8% от исходного уровня), что мы связываем с ингаляцией оксида азота, при отсутствии изменений показателей сократительной функции миокарда. Постперфузионный период характеризовался статистически значимым уменьшением КДО и КСО, среднего давления в ЛА во всех группах, и статистически значимым снижением ФВ после ИК у пациентов 1-й группы. Течение ближайшего послеоперационного периода характеризовалось увеличением объемов полостей сердца (КДО, КСО) у пациентов 1-й и 2-й группы, со снижением ФВ (на 8,0%) – у пациентов 1-й группы и отсутствием статистически значимых изменений показателей сократительной функции миокарда у пациентов 3-й группы.

Клинические исходы. Все включенные и проанализированные в исследовании пациенты были выписаны из клинических отделений больницы в удовлетворительном состоянии с клиническим улучшением по основной патологии. Характеристики послеоперационного периода представлены в таблице 3.4. Не было выявлено статистически значимых различий между группами по продолжительности ИВЛ, частоте развития ОДН, СПОН, срокам пребывания в стационаре. Отмечена достоверно более низкая продолжительность пребывания в ОРИТ и частота ОССН у пациентов 3-й группы по сравнению с 1-й и 2-й группами. Отмечена статистически значимая разница по частоте ОССН между пациентами 2-й и 1-й групп.

Таблица 3.4 - Основные характеристики послеоперационного периода

Характеристики	Группы больных		
	1 группа	2 группа	3 группа
Продолжительность ИВЛ (ч)	8,0±2,1	7,5±1,7	6,5±2,1
Периоперационный ОИМ	-	-	-
ОНМК	-	-	-
ОССН (n/%)	4 (13,3%)	2 (6,7%)	1 (3,3%)
ОДН (n/%)	3 (10,0%)	1 (3,3%)	1 (3,3%)
СПОН (n/%)	2 (6,7%)	1 (3,3%)	0 (0%)
Продолжительность пребывания в ОРИТ (ч)	40,0±2,3	38,0±2,4	31,1±1,7
Летальность	-	-	-
Сроки пребывания в стационаре (дней)	11,0±2,7	10,5±2,9	9,9±1,9

Заключая настоящую часть проведенного исследования, хотелось бы резюмировать следующее. Клиническая эффективность протективного воздействия на миокард ингаляционного оксида азота была подтверждена исследованиями центральной гемодинамики, сократительной функции миокарда во время операции и ближайшего послеоперационного периода, исследованием уровня маркера повреждения миокарда – тропонина I и клинического течения послеоперационного периода. Полученные результаты выявили эффект прекондиционирования миокарда при предоперационном назначении ингаляционного оксида азота, наиболее выраженного при 3-х дневном курсе ингаляций. Косвенным подтверждением данного эффекта на предоперационном этапе может служить статистически значимое возрастание уровня сТп I на 71,4% после второй ингаляции, которое сохранялось и после проведения третьей ингаляции NO. Кроме этого нами отмечено статистически значимые низкие уровни тропонина I, менее

продолжительное пребывание в ОРИТ и частоты развития послеоперационной ОССН у пациентов 3-й группы.

3.2. Влияние режима интраоперационного применения ингаляционного оксида азота на эффективность миокардиальной защиты

В предыдущем исследовании мы определили как влияет кратность кратковременных (20-40 мин) ингаляций оксида азота на защитный эффект в отношении миокарда. Следующим этапом нашего исследования являлось определение оптимальной продолжительности ингаляционного воздействия оксида азота. В связи с этим, мы провели сравнительную оценку эффективности протективного воздействия на миокард в следующих группах больных: **у первой группы (контроль),** - использовали стандартный протокол анестезиологического обеспечения операции и искусственного кровообращения; **у второй группы (однократная прерывистая ингаляция, общей продолжительностью 60-90 мин),** проводили ингаляцию оксида азота (20 ppm) до и после ИК; **у четвертой группы (однократная непрерывная ингаляция, общей продолжительностью 180-240 мин),** ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили в течение всей операции, подавая оксид азота в инспираторную часть аппарата ИВЛ: во время ИК - продолжали ИВЛ и, учитывая отсутствие легочного кровообращения, проводили перфузию легочной артерии оксигенированной кровью.

3.2.1. Результаты исследования.

Изменение уровня сTn I на этапах послеоперационного периода у пациентов исследуемых групп представлено в таблице 3.5.

Исходные предоперационные уровни тропонина I (сTn I) не имели статистически значимых различий у пациентов всех исследуемых групп. После окончания операции уровень сTn I статистически значимо возрастал во всех группах пациентов: до $2,62 \pm 0,20$ ng/ml – в первой группе, до

$1,92 \pm 0,30$ ng/ml – во второй группе, и до $1,93 \pm 0,10$ ng/ml – в четвертой группе.

Таблица 3.5 - Динамика содержания тропонина I в послеоперационном периоде

Группа	Время				
	исходный	после операции	12 часов	24 часа	48 часов
Первая (контроль)	$0,03 \pm 0,03$	$2,62 \pm 0,87^a$	$3,41 \pm 1,73^a$	$2,54 \pm 1,11^a$	$1,65 \pm 0,63^a$
Вторая (NO до и после ИК)	$0,01 \pm 0,00$	$1,72 \pm 0,95^{a,b}$	$2,47 \pm 0,88^{a,b}$	$2,29 \pm 0,81^a$	$2,01 \pm 1,40^a$
Четвертая (NO в течение всей операции)	$0,02 \pm 0,01$	$1,87 \pm 0,61^{a,b}$	$1,71 \pm 0,56^{a,b}$	$1,75 \pm 0,77^a$	$0,80 \pm 0,40^{a,b,c}$

^a – статистически значимые различия по сравнению с исходным этапом исследования;

^b - статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой на аналогичном этапе;

^c - статистически значимые различия по сравнению со второй группой на аналогичном этапе

При этом, необходимо отметить, что уровень сTn I статистически значимо ниже у больных 2-й и 4-й групп по сравнению с 1-й группой, разницы между больными 2-й и 4-й группами не выявлено.

Через 12 часов после операции у всех пациентов отмечено статистически значимое возрастание уровня сTn I по сравнению с предыдущим этапом: до $3,41 \pm 0,40$ ng/ml – в первой группе, до $2,47 \pm 0,21$ ng/ml – во второй группе, и до $2,45 \pm 0,37$ ng/ml – в четвертой группе. При этом уровень сTn I у пациентов 2-й и 4-й групп статистически значимо ниже, чем у больных 1-й группы.

Через 24 часа после операции происходило снижение уровня сTn I во всех группах пациентов: до $2,54 \pm 0,26$ ng/ml – в первой группе, до $2,29 \pm 0,19$ ng/ml – во второй группе, и до $2,15 \pm 0,34$ ng/ml – в четвертой группе. На

данном этапе исследования статистически значимых различий между больными исследуемых групп не выявлено.

Через 48 часов после операции происходило дальнейшее снижение уровня сTn I во всех группах больных: до $1,95 \pm 0,14$ ng/ml – в первой группе, до $2,00 \pm 0,33$ ng/ml – во второй группе, и до $1,37 \pm 0,29$ ng/ml – в четвертой группе. На данном этапе исследования уровень сTn I статистически значимо ниже у пациентов 4-й группы по сравнению с 1-й и 2-й группами. Не выявлено статистически значимой разницы по данному показателю между пациентами 1-й и 2-й групп.

Таким образом, проведенное клиническое исследование, подтвердило наличие защитного эффекта ингаляционного оксида азота на миокард, которое проявилось в более низких уровнях послеоперационного сTn I у пациентов 2-й и 4-й групп. При сравнительной оценке эффективности технологии применения ингаляционного оксида азота выявлено преимущество методики его постоянного применения (у пациентов 4-й группы) при сочетании с проведением перфузии легочной артерии и вентиляции легких во время ИК.

Характер восстановления сердечной деятельности после кардиоплегии представлен на рисунке 3.5.

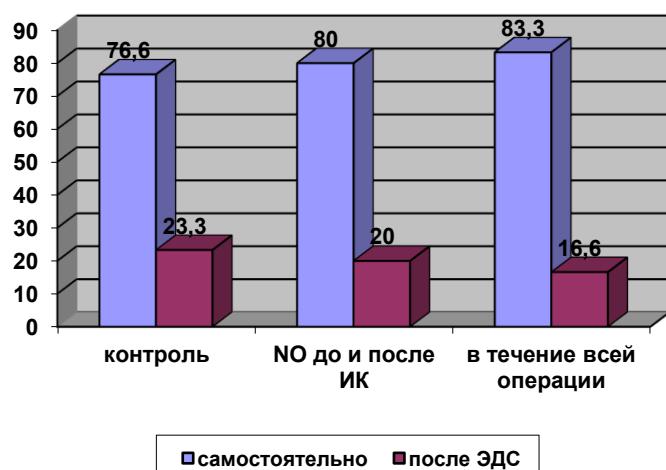
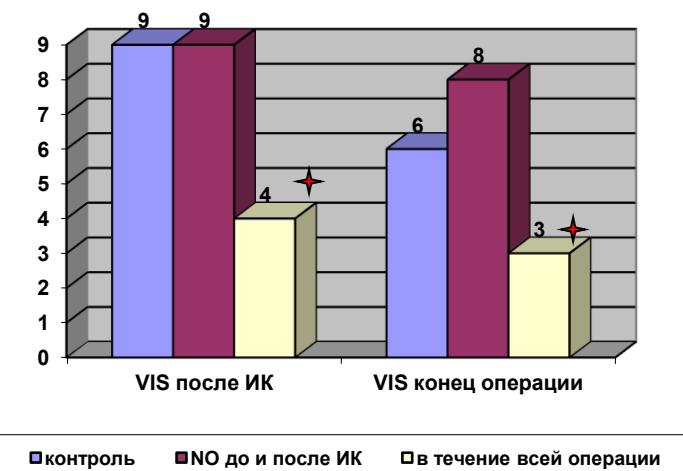


Рисунок 3.5 - Характер восстановления сердечной деятельности

Проведенный анализ не выявил статистически значимых различий между группами по характеру восстановления сердечной деятельности, так самостоятельное восстановление или после однократной ЭДС отмечалось у подавляющего большинства пациентов: у 76,6% - в первой группе, 80,0% - во второй группе, и у 83,3% - в четвертой группе.

Влияние ингаляционного оксида азота на степень тяжести контрактильной дисфункции миокарда проводилась нами по динамике зависимости пациентов от инотропной и вазопрессорной терапии и степени выраженности кардиотонической поддержки, которая представлена на рисунке 3.6.



★ - статистически значимые изменения по сравнению с 1-й и 2-й группами

Рисунок 3.6 - Динамика VIS показателя в постперфузионном периоде

После окончания ИК отмечен статистически более низкий показатель VIS у пациентов 4-й группы по сравнению с пациентами 1-й и 2-й групп. Не выявлено статистически достоверной разницы между больными 1-й и 2-й групп. В конце операции также отмечен статистически более низкий показатель VIS у пациентов 4-й группы по сравнению с пациентами 1-й и 2-й групп. Не выявлено статистически достоверной разницы между больными 1-й и 2-й групп.

Таким образом, проведенный анализ характера восстановления сердечной деятельности после кардиоплегии не выявил статистически значимых различий между исследуемыми группами больных. Показатель динамики VIS в постперфузионном периоде выявил статистически значимое снижение данного показателя у пациентов 4-й группы.

Исследование показателей центральной гемодинамики и сократительной функции миокарда. Изменения показателей центральной гемодинамики на этапах операции представлены в таблице 3.6. Данные об изменении показателей сократительной функции миокарда представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.6 - Показатели центральной гемодинамики у больных исследуемых групп

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Исходные данные	Перед ИК	После ИК	Конец операции
АД сист (мм рт ст)	1 группа	127,5±2,4	111,1±2,5*	95,3±3,9*	105,4±2,0*
	2 группа	125,1± 2,1	110,1±2,8*	93,1±4,5*	109,9±1,9*
	4 группа	128,4±2,1	109,4±2,3*	94,3±4,0*	109,0±2,0*
АД среднее (мм рт ст)	1 группа	94,7±2,1	79,5±2,3*	62,2±3,7*	74,3±2,2*
	2 группа	94,6±2,1	78,5±2,4*	61,9±4,1*	76,7±2,3*
	4 группа	94,8±2,2	79,4±2,2*	63,1±4,0*	75,3±2,1*
АД диаст (мм рт ст)	1 группа	78,7±2,5	70,5±1,9*	68,2±3,7*	70,7±2,3*
	2 группа	77,2±1,9	70,8±2,5*	68,7±4,0*	71,7±2,6*
	4 группа	76,3±2,4	71,5±2,0*	69,1±3,3*	70,8±2,2*
ЧСС (в мин)	1 группа	87,1±2,1	84,0±3,9	90,1±4,4	85,3±2,1
	2 группа	86,0±2,2	80,6 ±3,9	89,2±4,0	80,4±1,9
	4 группа	85,0±2,4	82,3±3,4	89,2 ±3,9	81,7±2,2
ЦВД (мм рт ст)	1 группа	12,1±0,4	11,5±0,5	15,1±0,7*	14,9±0,4*
	2 группа	11,9±0,5	11,8±0,4	14,9±0,6*	14,7±0,4*
	4 группа	11,6±0,4	11,5±0,4	15,4±0,5*	15,1±0,5*

* - достоверность изменений ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом

Динамика исследуемых показателей у пациентов первой группы выявила, что перед началом искусственного кровообращения отмечено статистически значимое снижение систолического АД (на 12,9% от исходного), среднего АД (на 16,1%), диастолического АД (на 10,4%). Значения ЧСС, ЦВД, КДО, КСО, ФВ и среднего давления в ЛА достоверно не изменились. После окончания ИК отмечено статистически достоверное снижение АД сист (на 25,3% от исходного), среднего АД (на 34,3% от исходного), уменьшение КДО (на 20,9% от исходного), КСО (на 16,3% от исходного), ФВ (на 9,6% от исходного), среднего давления в ЛА (на 17,8% от исходного), возрастание ЦВД (на 24,8% от исходного).

Таблица 3.7 - Показатели сократительной функции миокарда на этапах операции

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Исходные данные	Перед ИК	После ИК	Конец операции
КДО (мл)	1 группа	167,2±13,5	169,5±12,9	132,2±11,6*	131,9±12,1*
	2 группа	170,7±14,1	173,9±13,5	130,5±10,1*	130,6±12,3*
	4 группа	168,1±13,1	169,4±13,5	130,1±11,2*	129,8±11,0*
КСО (мл)	1 группа	84,2±6,3	82,5±6,5	70,5±6,1*	69,9±6,1*
	2 группа	83,7 ±5,3	81,1±6,9	65,5±5,9*	62,9±6,2*
	4 группа	84,3±6,0	83,8±6,1	63,3±5,2*	63,1±5,8*
ФВ ЛЖ (%)	1 группа	52,1±1,2	51,2±1,1	47,1±1,1*	49,1±1,3
	2 группа	51,7±1,1	51,1±1,4	50,2±1,2	52,1 ±1,1
	4 группа	51,5±1,1	51,5±1,1	51,6±1,1	51,9±1,0
Давление в ЛА среднее (мм рт ст)	1 группа	44,9±1,1	44,5±1,1	36,9±1,0*	37,5±1,2*
	2 группа	45,4±1,3	33,7±1,1*	32,5±1,2*	32,4±1,1*
	4 группа	44,0±1,1	34,1±0,9*	34,0±1,1*	32,8±0,9*

* - достоверность изменений ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом

К концу операции было отмечено статистически значимое снижение значений систолического АД (на 17,2% от исходного), среднего АД (на 21,5% от исходного), КДО (на 21,1% от исходного), КСО (на 17,0% от исходного) и среднего давления в легочной артерии (на 16,5% от исходного), возрастание ЦВД (на 23,1% от исходного). При этом не было отмечено статистически значимых изменений ЧСС, ФВ.

Динамика исследуемых показателей у **пациентов второй группы** выявила, что на этапе до искусственного кровообращения отмечено статистически значимое снижение систолического АД (на 12,0% от исходного), среднего АД (на 17,0% от исходного), диастолического АД (на 8,3% от исходного), среднего давления в ЛА (на 25,8% от исходного). Значения ЧСС, ЦВД, КДО, КСО, ФВ статистически значимо не изменились. После искусственного кровообращения статистически значимо по сравнению с исходными данными снижались АД систолическое (на 25,6%), АД диастолическое (на 11,0%), АД среднее (на 34,6%), КДО (на 23,4%), КСО (на 21,7%), среднее давление в ЛА (на 28,4%), возрастало ЦВД (на 25,2%). Показатели ЧСС и ФВ статистически значимо не изменились. К концу операции было отмечено статистически значимое снижение значений систолического АД (на 12,2% от исходного), среднего АД (на 18,9% от исходного), КДО (на 23,5% от исходного), КСО (на 24,9% от исходного) и среднего давления в легочной артерии (на 28,6% от исходного), возрастание ЦВД (на 24,9% от исходного). При этом не было отмечено статистически значимых изменений ЧСС, ФВ.

Динамика исследуемых показателей у **пациентов четвертой группы** выявила, что на этапе до искусственного кровообращения отмечено статистически значимое снижение систолического АД (на 14,8% от исходного), среднего АД (на 16,2% от исходного), диастолического АД (на 6,3% от исходного), среднего давления в ЛА (на 22,5% от исходного). Значения ЧСС, ЦВД, КДО, КСО, ФВ статистически значимо не изменились. После искусственного кровообращения статистически значимо по сравнению

с исходными данными снижались АД систолическое (на 26,5%), АД диастолическое (на 9,4%), АД среднее (на 33,5%), КДО (на 22,6%), КСО (на 24,9%), среднее давление в ЛА (на 22,7%), возрастало ЦВД (на 32,8%). Показатели ЧСС и ФВ статистически значимо не изменялись. К концу операции было отмечено статистически значимое снижение значений систолического АД (на 15,1% от исходного), среднего АД (на 20,6% от исходного), КДО (на 22,8% от исходного), КСО (на 25,1% от исходного) и среднего давления в легочной артерии (на 25,4% от исходного), возрастание ЦВД (на 25,4% от исходного). При этом не было отмечено статистически значимых изменений ЧСС, ФВ.

Таблица 3.8 - Показатели сократительной функции миокарда на этапах ближайшего послеоперационного периода

Показатель	Группа больных	Этап исследования			
		Поступление в ОРИТ	Через 12 часов	Через 24 часа	Через 48 часов
КДО (мл)	1 группа	131,9±12,1	172,4±11,9*	180,6±11,1*	160,9±12,7*
	2 группа	130,6±12,3	160,0±11,3*	158,9±12,3*	142,6±11,5
	4 группа	129,8±11,0	140,0±10,5**	148,3±10,5**	138,8±10,0**
КСО (мл)	1 группа	69,9±6,1	94,7±5,8*	84,4±6,3	76,9±6,6
	2 группа	62,9±6,2	81,7±6,1*	75,1±5,9*	67,9±6,2
	4 группа	63,1±5,8	69,1±6,1**	70,1±5,1**	66,1±5,2
ФВ ЛЖ (%)	1 группа	49,1±1,3	46,0±1,0*	45,2±1,1*	50,0±1,0
	2 группа	52,1 ±1,1	50,1±0,9**	50,7±1,0**	52,1 ±1,1
	4 группа	51,9±1,0	52,8±0,9**	53,3±1,0**	52,8±1,0
Давление в ЛА среднее (мм рт ст)	1 группа	37,5±1,2	42,1±1,1*	40,5±1,3	37,5±1,1
	2 группа	32,4±1,1	39,2±1,0*	38,1±1,1*	35,4±1,2
	4 группа	32,8±0,9	39,2±1,1*	38,5±0,9*	34,7±0,9

* - достоверность изменений ($p \leq 0,05$) по сравнению с исходным этапом

** - статистически достоверные изменения ($p \leq 0,05$) по сравнению с 1-й группой на аналогичном этапе

Изменения показателей сократительной функции миокарда на этапах ближайшего послеоперационного периода представлены в таблице 3.8.

Динамика исследуемых показателей сократительной функции миокарда в ближайшем послеоперационном периоде у **пациентов первой группы** выявила: через 12 часов после окончания операции отмечено статистически значимое возрастание КДО (на 30,7%), КСО (на 35,5%), среднего давления в ЛА (на 12,3%) и снижение ФВ (на 6,3%) по сравнению с этапом поступления в ОРИТ. Через 24 часа все указанные изменения прогрессировали и приводили: к статистически значимому возрастанию КДО (на 36,9% от исходного), КСО (на 20,7% от исходного), снижению ФВ (на 8,0% от исходного), при отсутствии статистически значимых изменений в цифрах среднего давления в ЛА. Через 48 часов указанные патологические изменения частично регрессировали и приводили к восстановлению сократительной функции миокарда, так КДО снижался на 10,9% по сравнению с предыдущим этапом, КСО – на 8,9%, ФВ статистически значимо возрастала (на 10,6%), достигая нормальных значений.

Динамика исследуемых показателей у **пациентов второй группы** выявила через 12 часов после окончания операции отмечено статистически значимое возрастание КДО (на 22,5%), КСО (на 29,9%), среднего давления в ЛА (на 21,0%) и отсутствие статистически значимых изменений ФВ по сравнению с этапом поступления в ОРИТ. Через 24 часа зарегистрирован умеренный регресс указанных изменений, тем не менее, отмечалось статистически значимое возрастание КДО (на 21,7% от исходного), КСО (на 19,4% от исходного), среднего давления в ЛА (на 12,4% от исходного), при отсутствии статистически значимых изменений в значении ФВ. Через 48 часов все указанные патологические изменения регрессировали и не было статистически значимой разницы по сравнению с исходными данными. Необходимо отметить, что значения ФВ на этапах через 12 и 24 часа

статистически значимо выше аналогичного показателя пациентов 1-й группы.

Динамика исследуемых показателей у **пациентов четвертой группы** выявила статистически значимое возрастание среднего давления в ЛА через 12, 24 часа после операции. Статистически значимых изменений показателей КДО, КСО, ФВ на исследуемых этапах зарегистрировано не было, а показатели КДО, КСО, ФВ на этапах через 12 и 24 часа имеют статистически значимую разницу по сравнению с 1-й группой. Статистически значимых отличий по сравнению со 2-й группой не выявлено.

Таким образом, проведённое интраоперационное исследование показателей центральной гемодинамики и сократительной функции миокарда выявило, что течение доперфузионного периода во всех группах больных сопровождалось развитием умеренной артериальной гипотензии (снижение среднего АД на 16,1-17,0% от исходного уровня), у пациентов 2-й и 4-й групп - снижением уровня среднего давления в ЛА (на 22,5-25,8% от исходного уровня), что мы связываем с ингаляцией оксида азота, при отсутствии изменений показателей сократительной функции миокарда. Постперфузионный период характеризовался статистически значимым уменьшением КДО и КСО, среднего давления в ЛА во всех группах, и статистически значимым снижением ФВ после ИК у пациентов 1-й группы. Течение ближайшего послеоперационного периода характеризовалось увеличением объемов полостей сердца (КДО, КСО) у пациентов 1-й и 2-й группы, со снижением ФВ (на 8,0%) – у пациентов 1-й группы и отсутствием статистически значимых изменений показателей сократительной функции миокарда у пациентов 4-й группы.

Клинические исходы. Все включенные и проанализированные в исследовании пациенты были выписаны из клинических отделений больницы в удовлетворительном состоянии с клиническим улучшением по основной патологии. Характеристики послеоперационного периода представлены в таблице 3.9.

Сравнительная оценка сроков активизации больных трех групп проводилась по критерию Chi-Square test где ($p \leq 0,05$), продемонстрировала достоверно более раннюю активизацию у больных четвертой группы по сравнению с пациентами первой и второй групп.

Сравнительная оценка частоты развития послеоперационных осложнений у больных первой, второй и четвертой групп (сравнение проводилось по критерию Chi-Square test где ($p \leq 0,05$)), выявило более

Таблица 3.9 - Основные характеристики послеоперационного периода

Характеристики	Группы больных		
	1 группа	2 группа	4 группа
Продолжительность ИВЛ (ч)	8,0±2,1	7,5±1,7	4,5±1,0*;**
Периоперационный ОИМ	-	-	-
ОНМК	-	-	-
ОССН (n/%)	4 (13,3%)	2 (6,7%)	0 (0%)*
ОДН (n/%)	3 (10,0%)	1 (3,3%)	0 (0%)*
СПОН (n/%)	2 (6,7%)	1 (3,3%)	0 (0%)*
Продолжительность пребывания в ОРИТ (ч)	40,0±2,3	38,0±2,4*	30,1±1,0*;**
Летальность	-	-	-
Сроки пребывания в стационаре (дней)	11,0±2,7	10,5±2,9	9,0±2,0

* - статистически достоверная значимость по сравнению с 1-й группой

** - статистически достоверная значимость по сравнению со 2-й группой

низкую статистическую значимость частоты развития осложнений у пациентов четвертой группы по сравнению с пациентами первой и второй групп. При этом не было выявлено статистически значимых различий в частоте развитии осложнений у пациентов второй группы по сравнению с

первой. Частота развития послеоперационных осложнений в первой группе составила 30,0% где ОССН развилась в 13,3% случаев, ОДН - в 10,0% и СПОН - в 6,7% случаев. У пациентов второй группы осложнения развились в 13,3% случаев: ОССН – в 6,7%, ОДН – в 3,3%, СПОН - в 3,3%. У пациентов четвертой группы развитие послеоперационного осложнения (коагулопатического кровотечения) отмечено только в одном случае (3,3%), не было выявлено связи в его развитии с применяемыми технологиями. Развития таких осложнений как ОССН, ОДН, СПОН зарегистрировано не было.

Таким образом, проведение ингаляционной терапии оксидом азота во время операций на клапанах сердца оказывало выраженный положительный эффект на течение раннего послеоперационного периода, что проявилось в снижении как частоты развития острой сердечной недостаточности, уменьшении времени активизации больных после операции.

Заключая настоящую часть проведенного исследования, хотелось бы резюмировать следующее. Была доказана более высокая клиническая эффективность протективного воздействия на миокард ингаляционного оксида азота при его применении в течение всего операционного периода, в том числе во время ИК, при продолжении ИВЛ и проведения перфузии легочной артерии. Данное положение было подтверждено исследованиями центральной гемодинамики, сократительной функции миокарда во время операции и ближайшего послеоперационного периода, исследованием уровня маркера повреждения миокарда – тропонина I и клинического течения послеоперационного периода.

3.3. Обсуждение полученных результатов

Количество клинических исследований по применению оксида азота с целью улучшения интраоперационной защиты миокарда при выполнении операций на сердце в условиях искусственного кровообращения и

кардиоплегической остановки сердца в настоящее время крайне немногочисленно. Первая публикация об успешном клиническом применении ингаляционного оксида при кардиохирургических вмешательствах была сделана Gianetti J. et al. (2004). Авторы исследовали влияние ингаляционного оксида азота (20 ppm), назначаемого в течение 8 часов во время и после искусственного кровообращения и сделали вывод, что оксид азота, ингалируемый с низкой концентрацией, способен снижать высвобождение маркеров повреждения миокарда и противодействовать развитию субклинической левожелудочковой дисфункции во время и сразу после искусственного кровообращения. Все последующие исследования (Checchia P.A. et al., 2013; James Ch. et al., 2016; Kamenshchikov N.O. et al., 2019) также включали введение газообразного оксида азота в контур искусственного кровообращения и подтвердили кардиозащитное действие оксида азота, которое было связано с более низкими уровнями VIS и кардиоспецифическими маркерами крови сTnI и СК-МВ. Клинических исследований, посвященных предоперационному применению ингаляционного оксида азота и его влиянию на эффективность защиты миокарда при кардиохирургических вмешательствах, в доступной литературе мы не нашли.

В настоящее время считается, что защитный эффект на сердце ингаляций оксида азота связан с увеличением количества метаболитов NO в крови до уровня, достаточного для снижения ишемически-реперфузионного повреждения миокарда. В связи с накоплением максимально возможного уровня метаболитов NO рекомендуют применять ингаляции NO в высоких концентрациях (до 80 ppm), что позволяет повысить уровни RSNO и NO-гема, нитрата в плазме и сердце в течение 30, 180 и 180 мин соответственно (Nagasaka Y. et al., 2018). Каждый из этих метаболитов может быть преобразован обратно в NO и, таким образом, может служить резервуаром NO. Метаболиты NO могут действовать как до, так и после

фармакологического кондиционирующего агента, что объясняет кардиозащиту, обеспечиваемую ингаляционным NO.

Однако клиническое применение столь высоких концентраций оксида азота может быть небезопасным, поэтому мы пошли по пути накопления метаболитов NO путем ежедневных ингаляций на протяжении 3-х дней.

Полученные клинические данные подтвердили правильность выбранной нами стратегии. Мы не имели возможности определения метаболитов NO в крови, в связи с этим нами было использовано изменение уровня тропонина I, косвенно отражающего наличие эффекта прекондиционирования миокарда. Известно, что фармакологический агент, способный вызвать данный эффект, имитирует ишемическую атаку или ряд атак, которые в последующем повышают устойчивость миокарда к эпизоду длительной ишемии. Как любая ишемическая атака, она приводит к выбросу в кровь внутриклеточных кардиоспецифических энзимов, одним из наиболее чувствительных является тропонин I. Повышение уровня данного маркера, зарегистрированное нами после 2-й ингаляции NO (на 71,4% от исходного), сохранялось и после 3-й ингаляции. Необходимо отметить отсутствие данной реакции у пациентов группы контроля. Мы описываем этот эффект впервые и склонны его расценивать как объективный тест на наличие эффекта прекондиционирования миокарда в клинической практике.

Дальнейшие клинические исследования подтвердили нашу гипотезу, так однократная ингаляция NO в дозе 20 ppm (2 группа, ингаляция до и после ИК), по видимому, не создавала адекватного пула метаболитов NO, в связи с чем, и выраженность эффекта фармакологического прекондиционирования была значимо ниже, что проявилось лишь в статистически значимом более низком уровне тропонина I по окончании и через 12 ч после операции, по сравнению с группой контроля.

В то же время, курс из 3-х предоперационных ингаляций оксида азота оказывал выраженный кардиозащитный эффект, который клинически подтвержден статистически более низкими уровнями тропонина I,

достоверно более низкой продолжительностью пребывания в ОРИТ и частоты развития ОССН у пациентов 3-й группы в послеоперационном периоде.

Таким образом, во-первых, ингаляционный оксид азота оказывает клинически выраженный эффект фармакологического прекондиционирования миокарда; во-вторых, эффективность клинического прекондиционирования миокарда оксидом азота зависит от длительности его ингаляционного назначения и наиболее выражена после курса из трех процедур; в третьих, в качестве предоперационного маркера эффективности фармакологического прекондиционирования может быть использована динамика изменения уровня тропонина I.

Для определения оптимальной продолжительности ингаляционного воздействия оксида азота мы провели сравнительную оценку эффективности протективного воздействия на миокард двух альтернативных технологий: **однократной прерывистой ингаляции** оксида азота (20 ppm), общей продолжительностью **60-90 мин** (до и после ИК, 2 группа больных); и **однократной непрерывной ингаляции** оксида азота (20 ppm), общей продолжительностью **180-240 мин** (в течение всей операции) подавая оксид азота в инспираторную часть аппарата ИВЛ: во время ИК - продолжали ИВЛ и, учитывая отсутствие легочного кровообращения, проводили перфузию легочной артерии оксигенированной кровью.

При обеих технологиях препарат поступал в кровь ингаляционным путем через альвеолярную мембрану легких и исключался его контакт с синтетической мембраной оксигенатора, взаимодействие с которой до настоящего времени не изучено. Таким образом, неоспоримым преимуществом предлагаемых нами технологий является физиологический ингаляционный путь подачи газообразного агента. Кроме этого, время подачи оксида азота в оксигенатор АИК ограничено только временем искусственного кровообращения, тогда как при использованной нами технологии постоянной подачи препарата на протяжении всей операции это

время значимо пролонгируется за счет до- и послеперфузионного периода. Данное обстоятельство позволяет увеличить количество метаболитов оксида азота, тем самым, повысить его кардиопротективный эффект. Известно, что защитный эффект на сердце ингаляций оксида азота связан с увеличением количества метаболитов NO в крови до уровня, достаточного для снижения ишемически-реперфузионного повреждения миокарда (Nagasaki Y. et al., 2018). В связи с этим, можно объяснить факт более высокого защитного эффекта на миокард у пациентов 4-й группы, когда оксид азота использовался в течение более длительного времени (на протяжении всей операции, 180-240 мин) по сравнению с технологией его применения только до и после ИК (на протяжении 60-90 мин).

Таким образом, можно сделать заключение, что эффективность защитного действия технологий клинического применения оксида азота, зависит от длительности его назначения и наиболее выражена при его использовании во время всей операции, включая период ИК (при комбинации с вентиляцией/перфузией легких).

Заключая настоящую главу, хотелось бы подчеркнуть следующее. Проведенные нами клинические исследования убедительно показали наличие кардиопротективного эффекта ингаляционного оксида азота, который проявился в статистически значимых более низких уровнях тропонина I после операции, статистически значимых более высоких уровнях показателей сократительной функции миокарда в послеоперационном периоде, более ранней активизации пациентов после операции с ИК и снижении числа послеоперационных осложнений. Эффективность защитного воздействия на миокард оксида азота зависит от длительности его ингаляционного назначения и наиболее выражена после курса из трех дооперационных процедур либо при его применении на протяжении всего операционного периода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема интраоперационной защиты миокарда до сих пор не теряет своей актуальности, несмотря на разработку множества технологий, среди которых и различные варианты кардиоплегии, управляемой реперфузии, выполнение операций в условиях постоянной коронарной перфузии и «бьющегося сердца», разработки различных вариантов адьювантной кардиопротекции (Баутин А.Е. и соавт., 2017; Пичугин В.В. и соавт., 2014). Данное обстоятельство обусловлено сохраняющимся достаточно высоким уровнем послеоперационных осложнений и летальности, особенно среди пациентов, отнесенных к группе «высокого риска» с исходно низким функциональным резервом миокарда при длительных сроках пережатия аорты и искусственного кровообращения.

Проведенный анализ литературных данных о применении ингаляционного оксида азота для защиты миокарда, позволил считать данный препарат перспективным для использования в клинических условиях. Известна роль оксида азота, как универсального трансмиттера, в развитии различных патологических состояний. Так NO вызывает расслабление гладких мышц сосудов, участвует в защите от ишемических и реперфузионных повреждений, является нейромедиатором, регулирует программируемую гибель и пролиферацию клеток, играет важную роль в секреторной и репродуктивной системе. Полученные недавно новые данные указывают на то, что вдыхание оксида азота приводит к образованию новых соединений, которые могут переноситься в виде тиоловых групп, связанных с белком в крови, или действовать косвенно через нитриты и нитраты, метаболиты которых, как было показано, со временем повышаются во время воздействия ингаляционного NO. Данное обстоятельство объясняет внелегочные эффекты ингаляционного оксида азота. Экспериментальные и клинические исследования убедительно показали эффективность ингаляционного оксида азота в профилактике и лечении: ишемического и

реперфузионного повреждения органов и тканей, шока, поражения центральной нервной системы и почек.

Для кардиохирургии несомненный интерес представляет эффект фармакологического прекондиционирования миокарда, обусловленный ингаляцией оксида азота. Как именно NO оказывает защитное действие на сердце, в настоящее время неизвестно, но вполне возможно, что прямые cGMP/PKG-опосредованные и cGMP-независимые влияния на миокард с дополнительным расслаблением гладких мышц, ингибирующими влияниями на тромбоциты, антиапоптотическими, противовоспалительными и антиоксидантными эффекторными элементами. Кроме этого NO также может обеспечивать защиту, модулируя поток электронов в митохондриальной дыхательной цепи, вторичной к S-нитрозированию комплекса I, и препятствует образованию активных форм кислорода.

К сожалению, клинических исследований, посвященных применению ингаляционного оксида азота в до- и периоперационном периоде крайне мало, а большинство работ посвящено подаче газообразного оксида азота в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения и не рассматривают другие возможные варианты реализации его защитного механизма. Нет данных как о значимости проведения прекондиционирования миокарда ингаляционным оксидом азота, так и разработанных эффективных методов предупреждения ишемического и реперфузионного повреждения миокарда, основанных на применении данного препарата. Экспериментальные и клинические исследования интраоперационного применения оксида азота, проведенные к настоящему времени, не дали убедительных доказательств того, что его использование снижает степень повреждения сердца и имеет значимое клиническое преимущество.

В связи с вышеизложенным, поиск новых путей повышения эффективности защиты миокарда при операциях на клапанах сердца, в частности путем проведения ингаляции оксида азота в дооперационном периоде и на всех этапах операции, включая искусственное кровообращение,

является актуальной и злободневной проблемой, требующей разработки конкретных технологий и последующим клиническим внедрением.

Ранее проведенное физиологическое обоснование и экспериментальное подтверждение роли ингаляционного оксида азота в предупреждении развития ишемически-реперфузионных повреждений миокарда позволило нам перейти к клиническому использованию различных вариантов до- и интраоперационной ингаляционной терапии оксидом азота.

Нами было проведено комплексное клиническое исследование эффективности ингаляционного оксида азота в профилактике ишемических и реперфузионных повреждений миокарда при операциях на клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения. Исследование предусматривало решение трех основных задач: во-первых, оценить наличие или отсутствие дополнительного защитного эффекта на миокард ингаляционного оксида азота; во-вторых, исследовать различные варианты (однократная прерывистая интраоперационная ингаляция и курса дооперационных 3-х дневных ингаляций) ингаляционной терапии оксидом азота; в третьих, определить эффективность различных режимов (однократная прерывистая интраоперационная ингаляция и однократная непрерывная ингаляция в течение всей операции) ингаляционной терапии оксидом азота.

Исследование было выполнено на 120 пациентах, которым проведены операции на клапанах сердца и сопутствующие процедуры в условиях искусственного кровообращения и кристаллоидной фармакохолодовой кардиоплегии (раствором «Кустодиол»). Необходимо подчеркнуть, что пациенты, участвовавшие в исследовании, несмотря на наличие клапанного порока сердца имели сохранные показатели сократимости левого желудочка (ФВ ЛЖ более 50%). Была выполнена рандомизация (метод конвертов), и сформированы четыре группы сравнения - контрольная, где были исследованы изменения показателей гемодинамики, сократительной функции миокарда и клинического течения восстановительного и послеоперационного периодов, маркеров повреждения миокарда (тропонина I), и трех основных:

во второй - проводили ингаляцию оксида азота (20 ppm) до и после ИК; в третьей –ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили ежедневно в течение трех дней до операции, во время операции – до и после ИК; в четвертой группе - ингаляцию оксида азота (20 ppm) проводили в течении всей операции, включая период ИК, при этом во время ИК проводили перфузию легочной артерии и вентиляцию легких. Для оценки эффективности исследуемых технологий проводили исследование активности тропонина I в дооперационном и послеоперационном периоде, изучали изменения показателей гемодинамики, сократительной функции миокарда на этапах операции и ближайшего послеоперационного периода; течение восстановительного периода после кардиоплегии, клинические показатели течения послеоперационного периода у больных.

Проведённое исследование выявило, что все используемые технологии применения ингаляционного оксида азота (20 ppm) оказывают дополнительное защитное воздействие на миокард. Кардиопротективный эффект был выражен в различной степени у исследуемых технологий, но при всех вариантах он включал: статистически значимых более низких уровнях тропонина I после операции, статистически значимых более высоких уровнях показателей сократительной функции миокарда в послеоперационном периоде, более ранней активизации пациентов после операции с ИК и снижении числа послеоперационных осложнений.

В настоящее время считается, что защитный эффект на сердце ингаляций оксида азота связан с увеличением количества метаболитов NO в крови до уровня, достаточного для снижения ишемически-реперфузионного повреждения миокарда. В связи с накоплением максимально возможного уровня метаболитов NO рекомендуют применять ингаляции NO в высоких концентрациях (до 80 ppm), что позволяет повысить уровни RSNO и NO-гема, нитрата в плазме и сердце в течение 30, 180 и 180 мин соответственно (Nagasaka Y. et al., 2018). Каждый из этих метаболитов может быть преобразован обратно в NO и, таким образом, может служить резервуаром

NO. Метаболиты NO могут действовать как до, так и после фармакологического кондиционирующего агента, что объясняет кардиозащиту, обеспечиваемую ингаляционным NO. Однако клиническое применение столь высоких концентраций оксида азота может быть небезопасным, поэтому мы пошли по пути накопления метаболитов NO путем ежедневных ингаляций на протяжении 3-х дней.

Полученные клинические данные подтвердили правильность выбранной нами стратегии. Мы не имели возможности определения метаболитов NO в крови, в связи с этим нами было использовано изменение уровня тропонина I, косвенно отражающего наличие эффекта прекондиционирования миокарда. Известно, что фармакологический агент, способный вызвать данный эффект, имитирует ишемическую атаку или ряд атак, которые в последующем повышают устойчивость миокарда к эпизоду длительной ишемии. Как любая ишемическая атака, она приводит к выбросу в кровь внутриклеточных кардиоспецифических энзимов, одним из наиболее чувствительных является тропонин I. Повышение уровня данного маркера, зарегистрированное нами после 2-й ингаляции NO (на 71,4% от исходного), сохранялось и после 3-й ингаляции. Необходимо отметить отсутствие данной реакции у пациентов группы контроля. Мы описываем этот эффект впервые и склонны его расценивать как объективный тест на наличие эффекта прекондиционирования миокарда в клинической практике.

Дальнейшие клинические исследования подтвердили нашу гипотезу, так однократная ингаляция NO в дозе 20 ppm (2 группа, ингаляция до и после ИК), по видимому, не создавала адекватного пула метаболитов NO, в связи с чем, и выраженность эффекта фармакологического прекондиционирования была значимо ниже, что проявилось лишь в статистически значимом более низком уровне тропонина I по окончании и через 12 ч после операции, по сравнению с группой контроля.

В то же время, курс из 3-х предоперационных ингаляций оксида азота оказывал выраженный кардиозащитный эффект, который клинически

подтвержден статистически более низкими уровнями тропонина I, достоверно более низкой продолжительностью пребывания в ОРИТ и частоты развития ОССН у пациентов 3-й группы в послеоперационном периоде. Было сделано заключение, что ингаляционный оксид азота оказывает клинически выраженный эффект фармакологического прекондиционирования миокарда; эффективность клинического прекондиционирования миокарда оксидом азота зависит от длительности его ингаляционного назначения и наиболее выражена после курса из трех процедур; в качестве предоперационного маркера эффективности фармакологического прекондиционирования может быть использована динамика изменения уровня тропонина I.

Для определения оптимальной продолжительности ингаляционного воздействия оксида азота мы провели сравнительную оценку эффективности протективного воздействия на миокард двух альтернативных технологий: однократной прерывистой ингаляции оксида азота (20 ppm), общей продолжительностью 60-90 мин (до и после ИК, 2 группа больных); и однократной непрерывной ингаляции оксида азота (20 ppm), общей продолжительностью 180-240 мин (в течение всей операции) подавая оксид азота в инспираторную часть аппарата ИВЛ: во время ИК - продолжали ИВЛ и, учитывая отсутствие легочного кровообращения, проводили перфузию легочной артерии оксигенированной кровью. При обеих технологиях препарат поступал в кровь ингаляционным путем через альвеолярную мембрану легких и исключался его контакт с синтетической мембраной оксигенатора, взаимодействие с которой до настоящего времени не изучено. Таким образом, неоспоримым преимуществом предлагаемых нами технологий является физиологический ингаляционный путь подачи газообразного агента. Кроме этого, время подачи оксида азота в оксигенатор АИК ограничено только временем искусственного кровообращения, тогда как при использованной нами технологии постоянной подачи препарата на протяжении всей операции это время значимо пролонгируется за счет до- и

последерфузионного периода. Данное обстоятельство позволяет увеличить количество метаболитов оксида азота, тем самым, повысить его кардиопротективный эффект. Известно, что защитный эффект на сердце ингаляций оксида азота связан с увеличением количества метаболитов NO в крови до уровня, достаточного для снижения ишемически-реперфузионного повреждения миокарда (Nagasaka Y. et al., 2018). В связи с этим, можно объяснить факт более высокого защитного эффекта на миокард у пациентов 4-й группы, когда оксид азота использовался в течение более длительного времени (на протяжении всей операции, 180-240 мин) по сравнению с технологией его применения только до и после ИК (на протяжении 60-90 мин). На основании полученных данных было сделано заключение, что эффективность защитного действия технологий клинического применения оксида азота, зависит от длительности его назначения и наиболее выражена при его использовании во время всей операции, включая период ИК (при комбинации с вентиляцией/перфузией легких).

Необходимо отметить, что применение разработанных технологий ингаляционной терапии оксидом азота у пациентов с клапанными пороками сердца не сопровождается существенным увеличением финансовых затрат. Для проведения терапии целесообразно применение аппарата «Тианокс», позволяющего синтезировать и доставлять оксид азота пациенту, непосредственно на месте проведения процедуры. Для проведения перфузии легочной артерии может использоваться модифицированный контур доставки кардиоплегического раствора.

Полученные позитивные результаты применения, даже при операциях у крайне тяжелых пациентов, сформировали устойчивое положительное отношение хирургической бригады к данной технологии. Тем не менее, осталось достаточно количество нерешенных вопросов. Не была определена максимально эффективная и безопасная доза ингалируемого оксида азота. Возможно, эффект прекондиционирования сердца был бы более выраженным при более высоком содержании NO (40-80 ppm) в ингалируемой смеси.

Также не была проведена оценка эффективности технологии 3-х дневных дооперационных ингаляций в комбинации с постоянным ингаляционным воздействием во время операции. Нам представляется целесообразным при проведении дальнейших исследований использовать не только клинико-функциональные критерии и маркеры повреждения миокарда, но и определять содержание метаболитов оксида азота в крови. Кроме этого, целесообразно провести сравнительную оценку эффективности ингаляционной подачи оксида азота в легкие и в экстракорпоральный контур АИК.

Таким образом, проведенные нами клинические исследования ингаляционной терапии оксидом азота во время операций на клапанах сердца позволили разработать и внедрить в клиническую практику новую технологию защиты миокарда, основанную на применении ингаляционного оксида азота. Основными компонентами данной технологии являются:

1. проведение ингаляций оксида азота в дозе 20 ppm в течение 3-х дней до операции;
2. проведение ингаляций оксида азота в дозе 20 ppm постоянно в течение всей операции, обеспечивая его подачу в инспираторную часть дыхательного контура аппарата ИВЛ;
3. проведение перфузии легочной артерии и вентиляции легких во время искусственного кровообращения; при вентиляции легких во время ИК продолжать ингаляцию оксида азота в дозе 20 ppm.

ВЫВОДЫ

1. Ингаляция оксида азота с концентрацией 20 ppm в до- и послеперфузионном периоде у больных с клапанными пороками сердца приводила к статистически значимому снижению уровня тропонина I на этапе окончания операции (на 34,4%) и через 12 часов после операции (на 27,6%), при отсутствии статистически значимых изменений показателей сократительной функции миокарда как на этапах операции, так и послеоперационного периода.
2. Проведение ингаляций оксида азота с концентрацией 20 ppm в течение 3-х дней дооперационного периода в комбинации с до- и послеперфузионным его назначением приводило к статистически значимому снижению продолжительности пребывания в ОРИТ (на 18,8%), частоты острой сердечной недостаточности (до 3,3%); к сохранности показателей сократительной функции миокарда; статистически значимому снижению уровня тропонина I на этапе окончания операции (на 26,7%), через 12 (на 49,3%), 24 (на 42,5%) и 48 (на 55,1%) часов после операции.
3. Разработанная технология защиты миокарда, включающая ингаляцию оксида азота с концентрацией 20 ppm в течение всей операции в комбинации с проведением перфузии легочной артерии и искусственной вентиляцией легких во время искусственного кровообращения, обеспечившая наиболее эффективную защиту миокарда при проведении операций на клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1 Для повышения эффективности мероприятий по защите миокарда рекомендуется проведение ингаляционной терапии оксидом азота при проведении операций на клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения и фармакохолодовой кардиоплегии.
- 2 Проведение ингаляционной терапии оксидом азота может быть рекомендовано в следующих режимах: до и после искусственного кровообращения; в течение 3-х дней до операции и до и после искусственного кровообращения; и постоянно в ходе всей операции.
- 3 В дооперационном периоде ингаляции оксида азота целесообразно проводить с концентрацией 20 ppm в течение трех дней непосредственно перед операцией.
- 4 Во время операции рекомендуется проведение ингаляционной терапии оксидом азота с концентрацией 20 ppm, осуществляя его доставку в инспираторную часть дыхательного контура аппарата ИВЛ.
- 5 Для более эффективного предупреждения ишемических и реперфузионных повреждений миокарда у данной группы больных целесообразно проводить постоянную ингаляцию оксида азота в концентрации 20 ppm в течение всей операции, а во время искусственного кровообращения проводить перфузию легочной артерии и ИВЛ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.

Подтвержденная нами эффективность разработанной технологии в предупреждении развития ишемических и реперфузионных повреждений миокарда при операциях на клапанах сердца в условиях искусственного кровообращения и фармакохолодовой кардиоплегии путем применения ингаляции NO (в до- и интраоперационном периоде) позволяет предположить пути дальнейшего исследования этой методики. Так, нам представляется рациональным определение оптимального курса ингаляций оксида азота и подаваемой концентрации препарата с целью формирования максимально эффективного уровня метаболитов оксида азота – нитритов и нитратов, через которые и реализуется механизм его защитного действия. Определение корреляции между уровнем нитритов/нитратов и эффективностью кардиопротекторного эффекта оксида азота позволит выработать научно обоснованные рекомендации для практического применения. Кроме этого, с целью увеличения уровня пула нитритов/нитратов, предполагается исследование эффективности подачи оксида азота в экстракорпоральный контур циркуляции при проведении искусственного кровообращения. Введение оксида азота непосредственно в кровоток может быть полезным для реализации других его внелегочных защитных эффектов, в частности на мозг, печень и почки. Реализация кардиопротекторного эффекта оксида азота может быть полезной и эффективной при лечении больных с тяжелой острой сердечной недостаточностью, а также при его подаче в контур экстракорпоральной мембранный оксигенации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД	– артериальное давление
АДср	– среднее артериальное давление
АДдиаст	– диастолическое артериальное давление
АДсист	– систолическое артериальное давление
АИК	– аппарат искусственного кровообращения
АКШ	– аортокоронарное шунтирование
ГСК	- газовый состав крови
ДЛАср.	– среднее давление в легочной артерии
ДО	– дыхательный объем
ИБС	– ишемическая болезнь сердца
ИВЛ	– искусственная вентиляция легких
ИК	– искусственное кровообращение
КДО	- конечно-диастолический объем
КОС	- кислотно-основное состояние
КСО	- конечно-систолический объем
ЛА	– легочная артерия
ЛЖ	– левый желудочек
МАК	- минимальная альвеолярная концентрация
МОК	– минутный объем кровообращения
ОДН	- острая дыхательная недостаточность
ОРИТ	– отделение реанимации и интенсивной терапии
ОССН	– острая сердечно-сосудистая недостаточность
ПДКВ	– положительное давление конца выдоха
СПОН	- синдром полиорганной недостаточности
ФВ	– фракция выброса
ФГБУ	– Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение
ФК	– функциональный класс
ХСН	– хроническая сердечная недостаточность

ЦВД	– центральное венозное давление
ЧД	– частота дыханий
ЧСС	- частота сердечных сокращений
ЭКГ	– электрокардиография
ЭхоКГ	– эхокардиография
BiPAP	– biphasic positive airway pressure (двухфазное положительное давление в дыхательных путях)
CO ₂	– углекислый газ
CPAP	– continuous positive airway pressure (постоянное положительное давление в дыхательных путях)
FiO ₂	– фракция кислорода во вдыхаемом воздухе
NO	- оксид азота
NO ₂	- диоксид азота
NYHA	– Нью-Йоркская Ассоциация Сердца
O ₂	– кислород
PaO ₂	– парциальное давление O ₂ в артериальной крови
PS	– pressure support (поддержка давлением)
SaO ₂	– насыщение кислородом гемоглобина артериальной крови
SIMV	– synchronized intermittent mandatory ventilation (синхронизированная перемежающаяся принудительная вентиляция)
SpO ₂	– насыщение кислородом гемоглобина артериальной крови, измеренное методом пульсоксиметрии

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адьювантная кардиопротекция у кардиохирургических больных / А.Е. Баутин, А.А. Еременко, Т.В. Клыпа [и др.] // Коллективная научная монография под ред. И.А. Козлова и А.Г. Яворовского. — М.: РИА Фарм Этика, 2017. — 226 с.
2. Плазмохимическая установка для НО терапии / С.Н. Буранов, В.И. Карелин, О.А. Пименов [и др.] // Медиаль. — 2013. — Т.9, №4. — С. 46.
3. Аппарат для ингаляционной НО терапии / С.Н. Буранов, А.Б. Буянов, С.В. Воеводин [и др.] //Биорадикалы и Антиоксиданты. — 2016. — Т. 3, № 3. — С. 225.
4. Аппарат ингаляционной терапии оксидом азота «Тианокс» и первый опыт его клинического применения в кардиохирургии/ С.Н. Буранов, В.И. Карелин, В.Д. Селемир [и др.] // Актуальные вопросы и инновационные технологии в анестезиологии и реаниматологии: материалы научно-образовательной конференции. — СПб, 2018. —С.4—9.
5. Защита миокарда от ишемически-реперфузионного повреждения посредством подачи оксида азота в контур экстракорпоральной циркуляции при проведении искусственного кровообращения / Н.О. Каменщикова, И.А. Мандель, Ю.К. Подоксенов [и др.] // Патология кровообращения и кардиохирургия. — 2017. — Т. 4, № 21. — С. 79–86.
6. Кузнецова, В.Л. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия [Электронный ресурс] / В.Л. Кузнецова, А.Г. Соловьева // Современные проблемы науки и образования. — 2015. — № 4. — Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21037>.
7. Параллели между гемодинамическим профилем и активностью биомаркёров при различных формах острой сердечной недостаточности

- в раннем периоде после коронарного шунтирования / Д.А. Лалетин, А.Е. Баутин, В.Е. Рубинчик [и др.] // Вестник анестезиологии и реаниматологии. — 2015. — Т. 2, № 12. — С. 27–33.
8. Защита сердца и легких при анестезиолого-перфузационном обеспечении операций на клапанах сердца / В.В. Пичугин, Н.Ю. Мельников, Е.В. Сандалкин [и др.] // Клиническая физиология кровообращения. — 2014. — № 4. — С. 50–59.
 9. Эффективность методов защиты легких у пациентов с высокой легочной гипертензией при коррекции клапанных пороков сердца / В.В. Пичугин, В.В. Бобер, С.Е. Домнин [и др.] // Медицинский альманах. — 2017. — Т. 48, № 3. — С. 130–136.
 10. Интраоперационная NO-терапия у пациентов с высокой легочной гипертензией при коррекции клапанных пороков сердца / В.В. Пичугин, С.Е. Домнин, М.Л. Калинина [и др.] // Медицинский альманах. — 2017. — Т. 48, № 3. — С. 144–149.
 11. Первый опыт клинического применения нового аппарата для ингаляционной NO терапии в кардиохирургии / В.В. Пичугин, К. Вайдхас, С.Е. Домнин [и др.] // Медицинский альманах. — 2018. — № 4. — С. 169–174.
 12. Домнин, С.Е. Ингаляционная терапия оксидом азота в профилактике повреждений лёгких у больных с лёгочной гипертензией при операциях на клапанах сердца: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.20/ Доминин Степан Евгеньевич. — Санкт Петербург, 2020. — 122 с.
 13. Шляхто, Е.В. Пре- и посткондиционирование как способы кардиоцитопротекции: патофизиологические и клинические аспекты / Е.В. Шляхто, Е.М. Нифонтов, М.М. Галагудза // Журнал сердечная недостаточность. — 2008. — Т. 1, № 9. — С. 4–10.
 14. Inhaled nitric oxide for acute respiratory distress syndrome and acute lung injury in adults and children: a systematic review with meta-analysis and trial

- sequential analysis / A. Afshari, J. Brok, A.M. Møller, J. Wetterslev // Anesth Analg. — 2011; 112. — P. 1411–1421.
15. Andrew, P.J. Enzymatic function of nitric oxide synthases / P.J. Andrew, B. Mayer // Cardiovasc Res. — 1999. — № 3. — P. 521–531.
 16. Is local nitric oxide availability responsible for myocardial salvage after remote preconditioning? / E.A. Arroyo-Martínez, A. Meaney, G. Gutiérrez-Salmeán [et al.] // Arq. Bras. Cardiol. — T. 2, № 107. — 2016. — P. 154–162.
 17. Beyer, A.M. Regulation of coronary microcirculation / A.M. Beyer, D.D. Guterman // J. Moll Cell Cardiol. — 2012. — T. 4, № 52. — P. 814–821.
 18. Nitric oxide treatments as adjuncts to reperfusion in acute myocardial infarction: a systematic review of experimental and clinical studies / J.S. Bice, B.R. Jones, G.R. Chamberlain, G.F. Baxter // Basic Res. Cardiol. — VOL. 2, № 111. — 2016. — P. 23.
 19. Inhaled NO as a therapeutic agent / K.D. Bloch, F. Ichinose, J.D. Roberts Jr., W.M. Zapol // Cardiovasc. Res. — 2007. — № 75. — P. 339–348.
 20. Bonetti, P.O. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk / P.O. Bonetti, L.O. Lerman, A. Lerman // Arterioscler Thromb Vasc Biol. — 2003. — № 23 — P. 168–175.
 21. Bredt, D.S. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide / D.S. Bredt, P.M. Hwang, S.H. Snyder // Nature. — 1990. — № 347. — P. 768–770.
 22. Bredt, D.S. Nitric oxide mediates glutamate-linked enhancement of cGMP levels in the cerebellum / D.S. Bredt, S.H. Snyder // Proc Natl Acad Sci USA. — 1989. — № 86. — P. 9030–9033.
 23. Burley, D.S. Cyclic GMP and protein kinase-G in myocardial ischaemia-reperfusion: opportunities and obstacles for survival signaling / D.S. Burley, P. Ferdinand, G.F. Baxter // Br. J. Pharmacol. — 2007. — № 152. — P 855–869.

24. Burwell, L.S. Mitochondria as a target for the cardioprotective effects of nitric oxide in ischemia-reperfusion injury / L.S. Burwell, P.S. Brookes // *Antioxidants Redox Signal.* — 2008. — № 10. — P. 579–599.
25. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity / V. Calabrese, C. Mancuso, M. Calvani [et al.] // *Nat Rev Neurosci.* — 2007. — № 8. — P. 766–775.
26. Duncker, D.J. Coronary blood flow and myocardial ischemia / D.J. Duncker, J.M. Carty Jr. // *Braunwald's Heart Disease, a text for cardiovascular medicine* / D.P. Zipes, P. Libby, R.O. Bonow [et al.], eds. — 11th ed. — Philadelphia: Saunders-Elsevier, 2019. — P. 1169–1194.
27. *Cardiovascular Disease Statistics*, British Heart Foundation, 2017 [Электронный ресурс] — Режим доступа: <https://www.bhf.org.uk/research/heart-statistics/heart-statistics-publications/cardiovascular-disease-statistics-2017>.
28. Castrillo, G.D. Coronary ischemia-reperfusion: role of nitric oxide and endothelin-1. A Review / G.D. Castrillo // *An Real Acad Farm.* — 2016. — Vol. 1, № 82. — P. 14–50.
29. Nitric oxide delivery during cardiopulmonary bypass reduces postoperative morbidity in children —a randomized trial / P.A. Checchia, R.A. Bronicki, J.T. Muenzer [et al.] // *J Thorac Cardiovasc Surg.* — 2013. — № 146. — P. 530–536.
30. The role of nitric oxide in mediating endothelium dependent relaxations in the human epicardial coronary artery / A.H. Chester, G.S. Neil, S. Tadjkarimi, [et al.] // *Int. J. Cardiol.* — 1990. — № 29. — P. 305–309.
31. Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages / H.J. Cho, Q.W. Xie, J. Calaycay [et al.] // *J Exp Med.* — 1992. — № 176. — P. 599–604.
32. Effects of inhibition of nitric oxide formation on basal vasomotion and endotheliumdependent responses of the coronary arteries in awake dogs /

- A. Chu, D.E. Chambers, C.C. Lin [et al.] // *J. Clin. Invest.* — 1991. — № 87. — P. 1964–1968.
33. Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione / E. Clementi, G.C. Brown, M. Feelisch, S. Moncada // *Proc. Natl. Acad. Sci.* — 1998. — № 95. — P. 7631–7636.
34. Cohen, M.V. Nitric oxide is a preconditioning mimetic and cardioprotectant and is the basis of many available infarct-sparing strategies / M.V. Cohen, X.M. Yang, J.M. Downey // *Cardiovasc. Res.* — Vol. 2, № 70. — 2006. — P. 231–239.
35. Cohen, M.V. Ischemic postconditioning: from receptor to end-effector / M.V. Cohen, J.M. Downey // *Antioxidants Redox Signal.* — 2011. — № 14. — P. 821–831.
36. Doctor, A. Nitric oxide transport in blood: a third gas in the respiratory cycle / A. Doctor, J.S. Stamler // *Comp. Physiol.* — 2011. — № 1. — P. 541–568.
37. Assessment of Coronary Hemodynamics and Vascular Function / I. Drenjancevic, A. Kolle, K. Selthofer-Relatic [et al.] // *Prog. Cardiovasc. Dis.* — 2015. — Vol. 5, № 57. — P. 423–430.
38. B-type natriuretic peptide limits infarct size in rat isolated hearts via KATP channel opening / D'Souza S.P., D.M. Yellon, C. Martin [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 2003. — № 284. — P. H1592–H1600.
39. Regulation of Coronary Blood Flow in Health and Ischemic Heart Disease / D.J. Duncker, A. Koller, D. Merkus, J.M. Cantly Jr. // *Prog Cardiovasc Dis.* — 2015. — Vol. 5, № 57. — P. 409–422.
40. Lefer Cardiomyocyte-specific overexpression of NO synthase-3 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury / J.W. Elrod, J.J. Greer, N.S. Bryan [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — Vol. 7, № 26. — 2006. — P. 1517–1523.
41. Role of nitric oxide in vascular tone and in reactivity to isoproterenol and adenosine in the goat coronary circulation / N. Fernández, M.A. Sánchez,

- M.A. Martínez [et al.] // *Eur J Pharmacol.* — 2000. — Vol. 1, № 387. — P. 93–99.
42. Flammer, A.J. Three decades of endothelium research: from the detection of nitric oxide to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases / A.J. Flammer, T.F. Luscher // *Swiss Med Wkly.* — 2010. — № 140. — P. w13122.
43. Comparison of endothelium-dependent relaxation by acetylcholine and endothelium-independent relaxation by light in the rabbit aorta / R.F. Furchtgott, W. Martin, D. Jothianandan, G.M. Villani // *Proceedings of the IUPHAR 9th International Congress of Pharmacology* / W.D. Paton, J. Mitchell, P. Turner, eds. — London: Macmillan Press; 1984. — P. 149–157.
44. Furchtgott, R.F. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite. The basis for the proposal that the acid activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide / R.F. Furchtgott // *Vasodilatation: Vascular Smooth Muscle, Peptides, and Endothelium* / P.M. Vanhoutte, ed. — New York: Raven Press, 1988. — P. 401–414.
45. Effects of nitric oxide synthesis inhibition on the goat coronary circulation under basal conditions and after vasodilator stimulation / J.L. García, N. Fernández, A.L. García-Villalón [et al.] // *Br J Pharmacol.* — 1992. — Vol. 3, № 106. — P. 563–567.
46. Gardiner, S.M. Effects of N⁰-nitroL-arginine methyl ester on vasodilator responses to acetylcholine, 5-N-ethylcarboxamidoadenosine or salbutamol in conscious rats / S.M. Gardiner, P.A. Kemp, T. Bennett // *Br. J. Pharmacol.* — 1991. — № 103. — P. 1725–1732.
47. Supplemental nitric oxide and its effect on myocardial injury and function in patients undergoing cardiac surgery with extracorporeal circulation / J. Gianetti, Del P. Sarto, S. Bevilacqua [et al.] // *J Thorac Cardiovasc Surg.* — 2004. — № 127. — P. 44–50.

48. Prolonged exposure to inhaled nitric oxide transiently modifies tubular function in healthy piglets and promotes tubular apoptosis / W. Gozdzik, J. Albert, P. Harbut [et al.] // *Acta Physiol.* — 2009. — № 195. — P. 495–502.
49. Goździk, W. Inhaled nitric oxide effects outside the lungs – experimental and clinical evidence / W. Goździk, A. Goździk // *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska.* — 2012. — Vol. 4, № 9. — P. 456–462.
50. Simple tandem repeat polymorphisms in the neuronal nitric oxide synthase gene in different ethnic populations / H. Grasemann, J.M. Drazen, A. Deykin [et al.] // *Hum Hered.* — 1999. — № 49. — P. 139–141.
51. Relationship between cyclic guanosine 3':5'-monophosphate formation and relaxation of coronary arterial smooth muscle by glycetyl trinitrate, nitroprusside, nitrite and nitric oxide: effects of methylene blue and methemoglobin / C.A. Gruetter, D.Y. Gruetter, J.E. Lyon [et al.] // *JPET.* — 1981. — Vol. 1, № 219. — P. 181–186.
52. Inhaled nitric oxide decreases infarction size and improves left ventricular function in a murine model of myocardial ischemia-reperfusion injury / R. Hataishi, A.C. Rodrigues, T.G. Neilan [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 2006. — № 291. — P. H379–H384.
53. Targeting reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: trials and tribulations / D.J. Hausenloy, H.E. Botker, T. Engstrom [et al.] // *Eur.J. Heart* — 2017. — Vol. 13, № 38. — № 935–941.
54. Hodgson, J.M. Direct vasoconstriction and endothelium-dependent vasodilation. Mechanisms of acetylcholine effects on coronary flow and arterial diameter in patients with nonstenotic coronary arteries / J.M. Hodgson, J.J. Marshall // *Circulation.* — 1989. — № 79. — P. 1043–1051.
55. Bleeding time prolongation and NO inhalation / M. Hogman, C. Frostell, H. Arnberg, G. Hedenstierna // *Lancet.* — 1933. — № 341. — P. 1664–1665.

56. Activation of purified soluble guanylate cyclase by endothelium-derived relaxing factor from intrapulmonary artery and vein: stimulation by acetylcholine, bradykinin and arachidonic acid / L.J. Ignarro, R.G. Harbison, K.S. Wood, P.J. Kadowitz // *J Pharmacol Exp Ther.* — 1986. — № 237. — P. 893–900.
57. Ignarro, L.J. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation / L.J. Ignarro, P.J. Kadowitz // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* — 1985. — № 25. — P. 171–191.
58. Ignarro, L.J. Heme-dependent activation of soluble guanylate cyclase by nitric oxide: regulation of enzyme activity by porphyrins and metalloporphyrins / L.J. Ignarro // *Semin Hematol.* — 1989. — № 26. — P. 63–76.
59. Ignarro, L.J. Nitric oxide: a unique endogenous signaling molecule in vascular biology / L.J. Ignarro // *Biosci Rep.* — 1999. — № 19. — P. 51–71.
60. Nitric oxide administration during paediatric cardiopulmonary bypass: a randomised controlled trial / C. James, J.C. Millar, S. Horton, C.P. Brizard // *Intensive Care Medicine.* — 2016. — Vol. 42, N 11. — P. 1744–1752.
61. NOMI investigators. Nitric oxide for inhalation in ST-elevation myocardial infarction (NOMI): a multi-centre, double-blind, randomized controlled trial / S.P. Janssens, J. Bogaert, J. Zalewski [et al.] // *Eur.J. Heart* — 2018. — Vol. 39, № 29. — P. 2717–2725.
62. A Randomized phase 2 trial of intracoronary nitrite during acute myocardial infarction / D.A. Jones, C. Pellaton, S. Velmurugan [et al.] // *Circ. Res.* — 2015. — Vol. 3, № 116. — P. 437–447.
63. Myocardial ischemia-reperfusion injury is exacerbated in absence of endothelial cell nitric oxide synthase / S.P. Jones, W.G. Girod, A.J. Palazzo [et al.] // *Am. J. Physiol.* — 1999. — № 276. — P. H1567–H1573.
64. Jones, S.P. The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection / S.P. Jones, R. Bolli // *J. Mol.Cell. Cardiol.* — 2006. — Vol. 1, № 40. — P. 16–23.

65. Nitric oxide is consumed, rather than conserved, by reaction with oxyhemoglobin under physiological conditions / M.S. Joshi, T.B. Ferguson Jr., T.H. Han [et al.] // Proc. Natl. Acad. — 2002. — Vol.16, № 99. — P. 10341–10346.
66. Nitric oxide provides myocardial protection when added to the cardiopulmonary bypass circuit during cardiac surgery: Randomized trial / N.O. Kamenshchikov, I.A. Mandel, Yu.K. Podoksenov [et al.] // The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. — 2019. — Vol. 157, Iss.6. — P. 2328–2336.
67. Physiological Assessment of Coronary Artery Disease in the Cardiac Catheterization Laboratory / M.J. Kern, A. Lerman, J.W. Bech [et al.] // Circulation. — 2006. — № 114. — P. 1321–1341.
68. Abman Early Inhaled Nitric Oxide Therapy in Premature Newborns with Respiratory Failure / J.P. Kinsella, G.R. Cutter, W.F. Walsh [et al.] // N Engl J Med. — 2006. — № 355. — P. 354–364.
69. Kloner, R.A. Current state of clinical translation of cardioprotective agents for acute myocardial infarction / R.A. Kloner // Circ. Res. —2013. — Vol. 4, № 113. — P. 451–463.
70. Simultaneous measurement of protein oxidation and S-nitrosylation during preconditioning and ischemia/reperfusion injury with resin-assisted capture /M.J. Kohr, J. Sun, A. Aponte [et al.] // Circ. Res. —Vol. 108. — 2011. — P. 418–426.
71. Inhaled nitric oxide induces cerebrovascular effects in anesthetized pigs / W.M. Kuebler, H. Kisch-Wedel, G.I. Kemming [et al.] // Neurosci Lett. — 2003. — № 348. — P. 85–88.
72. Kunst, G. Peri-operative anaesthetic myocardial preconditioning and protection — cellular mechanisms and clinical relevance in cardiac anaesthesia / Kunst G., A.A. Klein // Anaesthesia. — 2015. — Vol. 4, № 70. — P. 467–482.

73. Inhaled NO accelerates restoration of liver function in adults following orthotopic liver transplantation / J.D. Lang Jr., X. Teng, P. Chumley [et al.] // J. Clin. Invest. — 2007. — Vol. 117. — P. 2583–2591.
74. Nitric oxide inhalation improves microvascular flow and decreases infarction size after myocardial ischemia and reperfusion / X. Liu, Y. Huang, P. Pokreisz [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. — Vol. 50. — 2007. — P. 808–817.
75. Lobo, M. Take a deep (nitric oxide) breath and follow the reverse translational research pathway / M. Lobo, B. Ibanez // Eur.J. Heart. — 2018. — Vol. 29, № 39. — P. 2726–2729.
76. Marks, J.D. Inhaled nitric oxide and neuroprotection in preterm infants / J.D. Marks, M.D. Schreiber // Clin Perinat. — 2008. — Vol. 35. — P. 793–807.
77. Massion P.B., O.F.C. Dassy, J.L. Balligand Nitric Oxide and Cardiac Function-Ten Years After, and Continuing, Circul Res. — 2003. — № 93. — P. 388–98.
78. Inhaled nitric oxide attenuates reperfusion inflammatory responses in humans / M. Mathru, R. Huda, D.R. Solanki [et al.] // Anesthesiology- Vol. 106. —2007. — P. 275–282.
79. Beneficial effects of inhaled nitric oxide in adult cardiac surgical patients / T.S. Maxey, C.D. Smith, J.A. Kern [et al.] // Ann.Thorac. Surg. — Vol. 73, № 2. — 2002. — P. 529–532.
80. Inhibition of endothelial cell amino acid transport System y+ by arginine analogs that inhibit nitric oxide synthase / K.K. McDonald, R. Rouhanib, M.E. Handlogtena[et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. — 1997. — Vol. 1324, № 1. — P. 133–114.
81. Inhaled nitric oxide improves outcomes after successful cardiopulmonary resuscitation in mice / S. Minamishima, K. Kida, K. Tokuda[et al.] // Circulation. — Vol. 124, № 15. — 2011. — P. 1645–1653.

82. Moncada, S. Endothelium-derived relaxing factor is identified as nitric oxide / S. Moncada, A.G. Herman, P.M. Vanhoutte // Trends Pharmacol Sci. — 1987. — № 8. — P. 365–368.
83. Moncada, S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, pharmacology / S. Moncada, R.M. Palmer J., E.A. Higgs // Pharmacol Rev. — 1991. — Vol. 43. — P. 109–142.
84. Development and mechanism of a specific supersensitivity to nitrovasodilators after inhibition of vascular nitric oxide synthesis in vivo / S. Moncada, D.D. Rees, R. Schulz, R.M. Palmer J. // Proc. Nati. Acad. Sci. U. S. A. — 1991. — Vol. 88. — P. 2166–70.
85. Murry, C.E. Reimer Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry, R.B. Jennings, K.A. Reimer // Circulation. — Vol. 74, № 5. — 1986. — P. 1124–1136.
86. Exogenous nitric oxide prevents cardiovascular collapse during hemorrhagic shock / P. Nachuraju, A.J. Friedman, J.M. Friedman, P. Cabrales // Resuscitation. — 2012. — Vol. 82. — P. 607–613.
87. Brief periods of nitric oxide inhalation protect against myocardial ischemia-reperfusion injury / Y. Nagasaka, B.O. Fernandez, M.F. Garcia-Saura [et al.] // Anesthesiology. — 109. — 2008. — P. 675–682.
88. Soluble guanylate cyclase-alpha 1 is required for the cardioprotective effects of inhaled nitric oxide / Y. Nagasaka, E.S. Buys, E. Spagnolli [et al.] // Am. J. Physiol. — 2011. — Vol. 300. — P. H1477–H1483.
89. Nitric oxide pharmacological preconditioning with inhaled nitric oxide (NO): Organ-specific differences in the lifetime of blood and tissue NO metabolites / Y. Nagasaka, B.O. Fernandez, A.U. Steinbicker [et al.] // Nitric Oxide. — Vol. 80. — 2018. — P. 52–60.
90. Nathan, C. Regulation of biosynthesis of nitric oxide / C. Nathan, Q.W. Xie // J Biol Chem. — 1994. — Vol. 269. — P. 13725–13728.

91. Ovize, M. Myocardial conditioning: opportunities for clinical translation / M. Ovize, H. Thibault, K. Przyklenk // *Circ. Res.* — Vol. 113, № 4. — 2013. — P. 439–450.
92. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease / P. Pacher, J.S. Beckman, L. Liaudet // *Physiol Rev.* — 2007. — Vol. 87, № 1. — P. 315–424.
93. Safety and efficacy of inhaled nitric oxide treatment for premature infants with respiratory distress syndrome: follow-up evaluation at early school age / A.I. Patrianakos-Hoobler, J.D. Marks, M.E. Msall [et al.] // *Acta Paediatr.* — 2012. — Vol. 100. — P. 524–528.
94. Moving forwards by blocking back-flow: the Yin and Yang of MI therapy / V.R. Pell, E.T. Chouchani, M.P. Murphy [et al.] // *Circ. Res.* — Vol. 118. — 2016. — P. 898–906.
95. The paradigm of postconditioning to protect the heart / C. Penna, D. Mancardi, S. Raimondo [et al.] // *J. Cell Mol. Med.* — 2008. — Vol. 12. — P. 435–458.
96. Electron paramagnetic resonance analysis of nitrosylhemoglobin in humans during NO inhalation / B. Piknova, M.T. Gladwin, A.N. Schechter, N. Hogg // *J. Biol. Chem.* — 2005. — Vol. 280. — P. 40583–40588.
97. Piper, H.M. The first minutes of reperfusion: a window of opportunity for cardioprotection / H.M. Piper, Y. Abdallah, C. Schafer // *Cardiovasc. Res.* — 2004. — Vol. 61. — P. 365–371.
98. Pharmacology of ischemia-reperfusion / B. Prieto-Moure, J.M. Lloris-Carsí, C. Barrios-Pitarque [et al.] // *Transl. Res. Considerations J. Invest. Surg.* — 2016. — Vol. 29, № 4. — P. 234–249.
99. Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma / T. Rassaf, M. Preik, P. Kleinbongard [et al.] // *J. Clin. Invest.* — 2002. — Vol. 109, № 9. — P. 1241–1248.

100. Rassaf, T. Circulating NO pool: assessment of nitrite and nitroso species in blood and tissues / T. Rassaf, M. Feelisch, M. Kelm // Free Radic. Biol. Med. — 2004. — Vol. 36. — P. 413–422.
101. Rubanyi, G.M. Flowinduced release of endothelium-derived relaxing factor / G.M. Rubanyi, J.C. Romero, P.M. Vanhoutte // Am J Physiol. — 1986. — Vol. 250. — P. H1145–H1149.
102. Srisuparp Inhaled nitric oxide in premature infants with the respiratory distress syndrome / M.D. Schreiber, K. Gin-Mestan, J.D. Marks [et al.] // N Engl J Med. — 2003. — Vol. 349. — P. 2099–2107.
103. Schulz, R. Nitric oxide in myocardial ischemia /reperfusion injury / R. Schulz, M. Kelm, G. Heusch // Cardiovasc. Res. — 2004. — Vol. 61, № 3. — P. 402–413.
104. Shaha, A.M. Paracrine and autocrine effects of nitric oxide on myocardial function / A.M. Shaha, P.A. MacCarthy // Pharmacology & Therapeutics. — 2000. — Vol. 86, № 1. — P. 49–86.
105. NIAMI investigators, Intravenous sodium nitrite in acute ST-elevation myocardial infarction: a randomized controlled trial (NIAMI) / N. Siddiqi, C. Neil, M. Bruce [et al.] // Eur. J. Heart. — 2014. — Vol. 35, № 19. — P. 1255–1262.
106. Siriussawakul, A. Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion injury / A. Siriussawakul, A. Zaky, J.D. Lang // J. World Gastroenterol. — Vol. 16. — 2010. — P. 6079–6086.
107. Inhaled nitric oxide in patients with normal and increased pulmonary vascular resistance after cardiac surgery / D.J. Snow, S.J. Gray, S. Ghosh [et al.] // Br. J. Anaesth. — 1994. — Vol. 72, № 2. — P. 185–189.
108. Spath, N.B. Novel cardioprotective and regenerative therapies in acute myocardial infarction: a review of recent and ongoing clinical trials / N.B. Spath, N.L. Mills, N.L. Cruden // Future Cardiol. — 2016. — Vol. 12, № 6. — P. 655–672.

109. Inhalation of nitric oxide prevents ischemic brain damage in experimental stroke by selective dilatation of collateral arterioles / N.A. Terpolilli, S.W. Kim, S.C. Thal [et al.] // Circ Res. —2012. — Vol. 110. — P. 727–738.
110. Extra-pulmonary effects of inhaled nitric oxide in swine with and without phenylephrine / E. Troncy, M. Francoeur, I. Salazkin [et al.] // Br J Anaesth. — 1997. — Vol. 79. — P. 631–640.
111. Ueeda, M. Role of nitric oxide (NO) in coronary reactive hyperemia (RH) and the active hyperemic response to pacing (AG) / M. Ueeda, I.H. Arroyo, R.A. Olsson // The Physiologist. — 1990. — Vol. 33. — P. A-78.
112. Preemie Inhaled Nitric Oxide Study. Inhaled nitric oxide for premature infants with severe respiratory failure / Van K.P. Meurs, L.L. Wright, R.A. Ehrenkranz [et al.] // N Engl J Med. — 2005. — Vol. 353. — P. 13–22.
113. NO CLD Study Group. Two-year neurodevelopmental outcomes of ventilated preterm infants treated with inhaled nitric oxide / M.C. Walsh, A.M. Hibbs, C.R. Martin [et al.] // J Pediatr. — 2010. — Vol. 156. — P. 556–561.
114. Nitric oxide inhalation, a proposed strategy for early treatment of hemorrhagic shock / Y. Wang, G. You, X. Kan [et al.] // Med Hypotheses. — 2011. — Vol. 77. — P. 182–184.
115. Wright, W.M. Renal effects of inhaled nitric oxide in humans / W.M. Wright, J.D. Young // Br J Anaesth. — 2001. — Vol. 86. — P. 267–269.
116. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages / Q.W. Xie, H.J. Cho, J. Calaycay [et al.] // Science. — 1992. — Vol. 256. — P. 225–228.
117. Inhaled nitric oxide enables artificial blood transfusion without hypertension / B. Yu, M.J. Raher, G.P. Volpato [et al.] // Circulation. — Vol. 117. — 2008. — P. 1982–1990.