

На правах рукописи

Филипповская Жанна Станиславовна

**ОКСИДАНТНЫЙ СТРЕСС В КАРДИОХИРУРГИИ:
НОВЫЕ МАРКЕРЫ–ПРЕДИКТОРЫ
РАЗВИТИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ**

14.01.20 — анестезиология и реаниматология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»

Научный руководитель:

Лихванцев Валерий Владимирович, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Кричевский Лев Анатольевич - доктор медицинских наук, заведующий отделением анестезиологии и реанимации № 2 Городской клинической больницы им. С.С. Юдина (ГКБ№7).

Карпун Николай Александрович - доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры анестезиологии и неотложной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.124.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 117997, г Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, <https://www.vishnevskogo.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Сапелкин Сергей Викторович

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы исследования

Сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему являются основной причиной потери трудоспособности, снижения качества жизни и смертности населения. По данным Федеральной службы государственной статистики Российской Федерации заболевания системы кровообращения стали причиной смерти 857980 человек и составили 48,7% в структуре летальности в 2016 г.

Основным способом лечения большинства заболеваний сердца является хирургическая коррекция патологии. Анестезиологическое пособие и интенсивная терапия пациентов, оперированных на сердце и коронарных артериях, представляет значительные трудности. Это связано с тяжелым исходным физическим статусом, с комплексным воздействием периоперационных факторов, а также, в некоторых случаях, с радикальной «перестройкой» внутрисердечной гемодинамики. Все перечисленное предопределяет высокую частоту развития осложнений и относительно высокую летальность в кардиохирургии [Tritapepe L., 2009].

Большинство послеоперационных осложнений в кардиохирургии являются результатом развития системной воспалительной реакции, которая становится причиной возникновения вторичных повреждающих факторов, приводящих к развитию мультиорганной недостаточности [Ball L., 2012, Nashef S., 2012]. Пусковым механизмом развития системной воспалительной реакции является токсическое действие активных форм кислорода – оксидантный (или окислительный) стресс (ОС), развивающийся в результате дисбаланса между количеством синтезируемых активных форм кислорода (АФК) и возможностями функционирования окислительно-восстановительной системы, которая неминуемо повреждается в условиях ишемии/реперфузии.

Активные формы кислорода в избытке продуцируются митохондриями клеток как при неадекватном кровообращении, неизбежно возникающим в ходе кардиохирургических вмешательств независимо от того какая хирургическая техника применялась (с применением искусственного кровообращения (ИК) или без него), так и в результате исходного дефицита кровотока на фоне сердечной недостаточности. Свой вклад в выраженность окислительного стресса вносят и сопутствующие патологии сердечно-сосудистой системы хронические и/или острые воспалительные процессы [Зоров Д.Б., 2005].

Попытки оценить влияние окислительного стресса на течение послеоперационного периода в кардиохирургии связаны с рядом обстоятельств.

Во-первых, доказано, что практически все заболевания сердца, приводящие пациентов на операционный стол (гиперхолестеринемия, атеросклероз, гипертоническая болезнь и т.д.), связаны с окислительным стрессом и воспалением [Потапов А.Л., 2008].

Во-вторых, патология сердца, требующая хирургической коррекции, неминуемо сопровождается дефицитом органного и тканевого кровотока, что приводит к наличию большого количества активных форм кислорода, которые не могут быть инактивированы адекватно как в условиях ишемии, так и после восстановления достаточного кровотока

[Suleiman M.S., 2008]. Анаэробный метаболизм приводит перепроизводству молочной кислоты [Chaudhari N., 2014] и к уменьшению производства энергии в митохондриях. Кардиомиоциты, подвергшиеся ишемии, производят провоспалительные цитокины, которые, в свою очередь, производят дополнительные АФК и различные протеолитические ферменты [Плотников Е.Ю., 2009].

В-третьих, пациенты с патологией сердечно-сосудистой системы, как правило, имеют сопутствующие заболевания, которые также сопровождаются окислительным стрессом той или иной степени выраженности [Pearson T.A., 2003].

Кроме того, хирургическая агрессия вызывает множество процессов, которые влияют, как на клеточный, так и внеклеточный состав крови [Levy J.H., 2003].

Патологическое функционирование окислительно-восстановительной системы имеет разнонаправленный характер, а образующиеся активные формы кислорода – большое количество мишеней. Известно, что первыми подвергаются окислению аминокислотные остатки белков, которые, в результате взаимодействия с активными формами кислорода, карбонируются, утрачивая свою функциональную и структурную состоятельность. Еще одной точкой приложения АФК является оксид азота (NO), который, обладая свободной валентностью, в условиях усиленной генерации радикалов, способен выступать мощным катализатором окислительного каскада с образованием множества активных биомолекул, например, нитротирозина.

Логично полагать, что использование маркеров окислительного повреждения, таких как карбонилированные белки и нитротирозин, может оказать существенную помощь в выявлении групп больных с высоким риском развития мультиорганных дисфункций в раннем послеоперационном периоде. Потребность выявления маркеров – предикторов осложнений в кардиохирургии, послужила основанием для выполнения настоящей работы.

Степень разработанности темы исследования

На сегодняшний день хорошо известен факт развития оксидантного стресса в результате хирургического лечения патологии сердца и сосудов. Однако, связь наличия продуктов патологического функционирования окислительно-восстановительной системы с послеоперационными осложнениями и неблагоприятными исходами в кардиохирургии остается неисследованной и, соответственно, недоказанной.

Цель исследования

Улучшить раннюю диагностику осложнений кардиохирургических операций путем изучения и внедрения в практику новых маркеров окислительного стресса (карбонилированные пептиды, нитротирозин), способных сразу после операции предсказать развитие системной воспалительной реакции, острого почечного повреждения и острой сердечной недостаточности.

Задачи исследования

1. Определить динамику содержания в крови больных маркеров окислительного стресса - карбонилированных пептидов и нитротирозина в периоперационный период кардиохирургических вмешательств.
2. Изучить влияние искусственного кровообращения и вида оперативного вмешательства на сердце и коронарных артериях на особенности периоперационной динамики карбонилированных пептидов и нитротирозина.
3. Исследовать взаимосвязь послеоперационного уровня маркеров окислительного стресса и развития системной воспалительной реакции, острого почечного повреждения и острой сердечной недостаточности, осложняющих кардиохирургические вмешательства.
4. На основании выполненных исследований обосновать и внедрить в клиническую практику маркер окислительного стресса, обеспечивающий раннее прогнозирование риска послеоперационных осложнений кардиохирургических вмешательств.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Доказана связь окислительного стресса с развитием ряда осложнений (системной воспалительной реакции, острого почечного повреждения и острой сердечной недостаточности) в раннем послеоперационном периоде после кардиохирургических операций.

Установлено отсутствие прямой зависимости уровня карбонилированных пептидов и нитротирозина от использования или неиспользования искусственного кровообращения в ходе операции.

Определен и обоснован адекватный предиктор развития системной воспалительной реакции, острого почечного повреждения и острой сердечной недостаточности в раннем послеоперационном периоде в кардиохирургии — динамика содержания карбонилированных пептидов в плазме крови.

Теоретическая и практическая значимость работы

Определен молекулярный маркер для прогнозирования риска развития ранних послеоперационных осложнений в кардиохирургии — уровень карбонилированных пептидов в плазме крови пациентов, измеренный в первый час после операции.

Установлено, что предиктор неблагоприятных исходов раннего послеоперационного периода в кардиохирургии позволяет:

1. выявлять пациентов с высоким риском развития осложнений и наиболее обоснованно применять высокотехнологичные и/или дорогостоящие средства лечения;
2. снизить периоперационную летальность за счет увеличения периода расширенного мониторинга для пациентов с высоким риском осложнений.

Методология и методы исследования

Работа выполнена в соответствии с правилами и принципами доказательной медицины с использованием клинических, лабораторных и статистических методов исследования.

Объектом исследования явились пациенты, подвергшиеся операциям, выполненным на клапанном аппарате сердца и коронарных артериях.

Предметом исследования явился анализ результатов лабораторного определения уровня карбонилированных пептидов и нитротирозина в плазме крови, взятой в периоперационный период, у пациентов, находившихся на лечении в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского» в период с сентября 2015 года по март 2016 года.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Частота осложнений в послеоперационном периоде у пациентов после операций на сердце прямо взаимосвязана с содержанием в плазме крови продуктов оксидантного стресса – карбонилированных белков. Динамика уровня нитротирозина не отражает частоту послеоперационных осложнений.
2. Применение искусственного кровообращения в ходе операций на клапанах сердца и коронарных артериях не оказывает влияния на динамику карбонилированных белков и нитротирозина в ранний послеоперационный период.
3. Уровень карбонилированных пептидов в плазме крови кардиохирургических пациентов, определенный непосредственно после операции, обеспечивает раннее прогнозирование таких послеоперационных осложнений, как системная воспалительная реакция, острое почечное повреждение и острая сердечная недостаточность.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность проведенного исследования определяется большим (для осложненных кардиохирургических вмешательств) количеством наблюдений, включенных в исследование (67 пациентов); использованием современных методов контроля показателей жизнедеятельности и лечением в соответствии с действующими стандартами; наличием групп сравнения; обработкой полученных результатов с использованием методов статистического анализа.

Материалы проведенных исследований представлены на 15 съезде Федерации анестезиологов и реаниматологов (Москва, 2016), ЕАСТА – European Association of Cardiothoracic Anaesthesiologists (Берлин, 2017).

Апробация диссертационной работы состоялась 18.01.2018 на совместном заседании секции «Хирургия» Ученого совета ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, сотрудников отделений реаниматологии и анестезиологии, кафедры анестезиологии и

реанимации факультета усовершенствования врачей ГБУЗ МО МОНИКИ им М.Ф. Владимирского.

Личный вклад автора в получение результатов

Диссертантом была определена цель научной работы, осуществлен поиск опубликованных работ, имеющих отношение к изучаемой проблеме, после анализа которых, были сформулированы основные задачи исследования. Автором самостоятельно обследованы пациенты, находившиеся на лечении после кардиохирургических вмешательств в отделении кардиореанимации и интенсивной терапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Полученные результаты были математически обработаны автором, что дало возможность сформулировать заключение и сделать научно-обоснованные выводы.

Внедрение результатов работы

1. Для научных исследований предложен новый маркёр–предиктор развития СВР, ОПН и ОСН. В настоящее время используется в работе отделения реаниматологии (отдел «Наука») ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

2. Теоретические положения, полученные в результате выполнения настоящей работы относительно участия окислительного стресса в развитии ранних осложнений в кардиохирургии, включены в лекционный материал, семинары и практические занятия на циклах повышения квалификации врачей по специальности «Анестезиология и реаниматология» на кафедре анестезиологии и реанимации ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Структура и объем диссертации

Диссертация представляет собой том машинописного текста объемом 103 страницы. Состоит из введения, обзора литературы, двух глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 10 рисунками. Библиографический указатель содержит 194 литературных источников, из которых 30 отечественных и 148 зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Проведено проспективное обсервационное исследование взаимосвязи выраженности ОС, оцениваемого по уровню карбонилированных белков и нитротирозина в плазме крови кардиохирургических пациентов, и развития ОСН, ОПН, СВР в раннем послеоперационном периоде.

Обследованы 67 взрослых пациентов, госпитализированных в отделение кардиохирургической реанимации ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского г. Москвы, в период с сентября 2015 года по март 2016 года (таблицы 1,2,3). Всем пациентам

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

Критерии включения:

1. Возраст 45–65 лет;
2. Наличие добровольного информированного согласия;
3. Виды оперативных вмешательств:
4. протезирование клапанов сердца; АКШ с ИК; АКШ без ИК;
5. Отсутствие инфекционных заболеваний за месяц, предшествующий операции.

Критерии исключения:

1. морбидное ожирение с индексом массы тела более 35 кг/м²;
2. инфаркт или инсульт в предшествующие 6 месяцев;
3. почечная недостаточность;
4. фракция изгнания левого желудочка менее 35%.

Таблица 1. Распределение пациентов по возрасту, полу, оценки физического статуса по ASA и фракции сердечного выброса

Показатель	группа 1 (клапаны сердца) (n=17)	группа 2 (АКШ+ИК) (n=29)	группа 3 (АКШ без ИК) (n=21)	p
возраст, лет	55±10	61±9	62±8	0,36
пол:				
- мужской	9 (53%)	20 (69%)	15 (71%)	0,11
- женский	8 (47%)	9 (31%)	6 (29%)	0,15
ASA III, n	10 (59%)	19 (66%)	16 (76%)	0,46
ASA IV, n	7 (41%)	10 (34%)	5 (24%)	0,72
ФВ, %	60±9	51±9	56±10	0,24

Таблица 2. Распределение пациентов, оперированных на клапанах сердца, по длительности операции и ИК

Показатель	протезирование клапанов сердца (n 9)		пластика клапанов сердца (n 8)	p
	1 клапан (n 5)	2 клапана (n 4)		
длительность операции, мин	189±47	295±35	129±38	0,17
длительность ИК, мин	110±29	139±33	70±41	0,08

Таблица 3. Распределение пациентов, подвергшихся АКШ, по длительности операции и ИК

Показатель	АКШ с ИК (n 29)	АКШ без ИК (n 21)	p
длительность операции, мин	260±35	238±45	0,25
длительность ИК, мин	118±38	—	—

Анализ взаимосвязи ОС и частоты развития СВР, ОПН и ОСН проводили в исследуемой когорте и трех группах, выделенных ретроспективно:

1. Оперированных на клапанах сердца в условиях ИК (n= 17);
2. Пациенты, которым было выполнено АКШ без ИК (n=21);
3. Пациенты, которым АКШ было выполнено в условиях ИК (n=29).

Уровень карбонилированных белков и нитротирозинов определяли в плазме крови на следующих этапах:

- 1 - после индукции анестезии;
- 2 - после окончания операции;
- 3- через 24 часа после окончания операции;
- 4 - через 72 часа после окончания операции.

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

Всем больным осуществляли мониторинг безопасности в объеме Гарвардского стандарта, дополненный репульмональной термодилюцией и контролем давления в полостях сердца с помощью плавающего катетера типа Свана-Ганца, анализом состава газонаркотической смеси (FiO_2 , EtCO_2).

Искусственное кровообращение осуществлялось аппаратом Jostra HL20 с мембранным оксигенатором в режиме умеренной гипотермии (32°C) и расчетной скоростью перфузии 2,4–2,6 л/мин. Для кардиopleгии использовались растворы Consol или Custodiол. Среднее артериальное давление на протяжении перфузии поддерживалось в пределах 70–90 мм рт. ст., при необходимости, за счет постоянной инфузии норэпинефрина, доза которого значимо между группами не различалась.

Алгоритм назначения добутамина

Добутамин в стартовой дозе 5 мкг/кг/мин назначали в случае снижения сердечного индекса (СИ) менее $2,4 \text{ л/мин/м}^2$ на фоне адекватной анестезии и отрицательном результате пробы с нагрузкой объемом. В зависимости от изменения сердечного индекса увеличивали или уменьшали дозу добутамина с шагом в 1 мкг/кг/мин каждые 15 мин для поддержания СИ в пределах $2,5 - 3,0 \text{ л/мин/м}^2$.

Алгоритм назначения норэпинефрина

При снижении среднего АД до 65 мм рт. ст. и ниже на фоне нормоволемии и адекватной инотропной поддержки (нормальном значении СИ) начинали инфузию норэпинефрина в стартовой дозе с 0,02 мкг/кг/мин и шагом 0,02 мкг/кг/мин каждые 15 мин достигали целевого уровня среднего АД (больше 65 мм рт. ст.).

После окончания операции пациентов переводили в отделение кардиореанимации, где продолжали мониторинг и коррекцию жизненно важных параметров, сохраняя тот же алгоритм назначения добутамина и норэпинефрина.

Диагностика исследуемых осложнений

Системная воспалительная реакция определялась по критериям, предложенным American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (для постановки диагноза необходимо наличие как минимум 2 критериев из разделов «общие и гемодинамические показатели»).

Критерием острой сердечной недостаточности считался сердечный индекс (СИ) менее 2,2 л/мин/м² при давлении заклинивания (ДЗЛА) не менее 16 мм рт. ст. и сатурации смешанной венозной крови менее 60%.

Острое почечное повреждение (ОПП) диагностировали по критериям RIFLE, учитывая степень выраженности почечной дисфункции.

Статистический анализ

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

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

Для анализа динамики показателей с ненормальным распределением применялся ранговый дисперсионный анализ по Фридману с апостериорным анализом с использованием непараметрического теста Вилкоксона. Средние значения нормально распределенных количественных параметров представлены средним арифметическим со стандартным отклонением ($M \pm \sigma$), а ненормально распределенных — медианой с межквартильным интервалом (Me 25–75%).

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

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Периоперационная динамика маркеров окислительного стресса у обследованных больных

Динамика содержания в крови больных карбонилированных белков на этапах исследования

Динамика уровня карбонилированных пептидов позволила предполагать, что операции на сердце и коронарных сосудах сопровождаются выраженным окислительным стрессом. Количественные показатели карбонилированных белков во всей исследуемой выборке пациентов на всех этапах представлены в таблице 4.

Таблица 4. Уровень карбонилированных пептидов на этапах периоперационного периода в исследованной когорте

Показатель	Значение, нмоль/мг
Карбонилы после индукции	0,69 [0,52–0,77]
Карбонилы в первый час после операции	0,87 [0,71–0,98]*
Карбонилы через 24 ч после операции	0,81 [0,68–0,93]*
Карбонилы через 72 ч после операции	0,76 [0,62–0,88]*

Примечание: данные представлены медианой и [межквартильным интервалом];

* - значимые отличия по отношению к исходу.

Динамика содержания нитротирозина в плазме крови пациентов на этапах исследования

Вторым изучаемым в данном исследовании продуктом патологического функционирования окислительно-восстановительной системы был нитротирозин.

Забор крови для определения его содержания в плазме крови кардиохирургических пациентов осуществлялся одновременно с забором крови для определения уровня карбонилированных пептидов.

При изучении содержания нитротирозина в плазме крови пациентов, оперированных на клапанном аппарате сердца и коронарных сосудах, мы не обнаружили значимой динамики этого продукта оксидантного стресса на всех этапах периоперационного периода.

Уровень нитротирозина в плазме крови через час после окончания операции (Нитротирозин II) составлял 12,1 [9,9–13,0] нмоль/мг, что всего лишь на 5% ($p > 0,5$) превышало исходный уровень (11,6 [9,3–12,2] нмоль/мг) и возвращался к дооперационным показателям уже через 24 часа после окончания хирургического вмешательства независимо от степени тяжести течения послеоперационного периода (11,5 [10,9 - 12,4] нмоль/мг). То есть, после кардиохирургических вмешательств не обнаружено статистически значимых изменений уровня нитротирозина. В таблице 5 представлены результаты определения уровня нитротирозина в плазме крови пациентов, перенесших любые из исследуемых кардиохирургических вмешательств.

Таблица 5. Уровень нитротирозинов на этапах периоперационного периода в исследованной когорте

Показатель	Значение в нмоль/мг
Нитротирозины I (после индукции)	11,6 [9,3 - 12,2]
Нитротирозины II (через час после операции)	12,1 [9,9 - 13,0]
Нитротирозины III (через 24 часа после операции)	11,5 [10,9 - 12,4]
Нитротирозины IV (через 72 часа после операции)	11,4 [10,1 - 12,7]

Примечание: данные представлены медианой и [межквартильным интервалом];

Периоперационная динамика маркеров окислительного стресса при различных видах кардиохирургических операций

Динамика содержания в крови больных карбонилированных белков при различных видах оперативных вмешательств

Операции на сердце и коронарных сосудах как с применением искусственного кровообращения, так и без его применения сопровождаются значимым изменением уровня карбонилированных пептидов (рисунок 1). Результаты определения карбонилированных белков представлены в таблице 6.

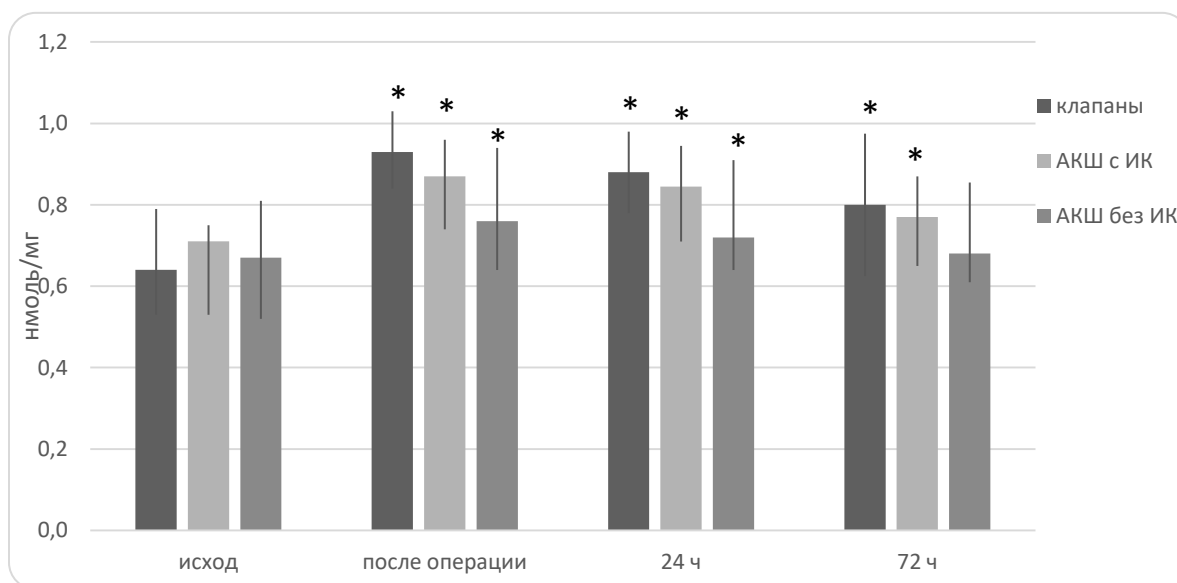


Рисунок 1. Изменения уровней карбонилированных пептидов (нмоль/мг) на этапах исследования в плазме крови пациентов, оперированных на сердце и коронарных сосудах

Таблица 6. Уровень карбониллов на этапах периоперационного периода в подгруппах с различными операциями

Показатель	Значение, нмоль/мг		
	клапаны	АКШ без ИК	АКШ с ИК
Карбонилы после индукции	0,64 [0,53 - 0,79]	0,67 [0,52 - 0,81]	0,71 [0,53 - 0,75]
Карбонилы через час после операции	0,93 [0,84 - 1,03]*	0,76 [0,64 - 0,94]*	0,87 [0,78-0,94]*
Карбонилы через 24 часа после операции	0,88 [0,78 - 0,98]*	0,72 [0,64 - 0,91]*	0,84 [0,74-0,91]*
Карбонилы через 72 часа после операции	0,78 [0,68 - 0,94]*	0,68 [0,61 - 0,83]	0,78 [0,65-0,87]*

Примечание: данные представлены медианой и [межквартильным интервалом];
* - значимые отличия по отношению к исходу.

Наиболее выраженный ОС наблюдался при операциях на клапанах сердца: уровень карбониллов в плазме крови на момент окончания операции составил 0,93 [0,83 – 1,03] нмоль/мг, что значимо ($p < 0,01$) превышает исходный (0,64 [0,53 – 0,79] нмоль/мг) уровень. Тенденция к снижению обсуждаемого показателя намечалась уже к концу первых суток после операции (уровень карбониллов составил 0,88 [0,78 – 0,98] нмоль/мг ($p < 0,01$ по отношению к исходу)). Однако даже через 72 часа после окончания хирургического вмешательства, уровень карбонилированных пептидов все еще оставался значимо выше исходного (0,8 [0,63 – 0,97] нмоль/мг ($p=0,014$)) (таблица 4).

Исходный уровень карбонилированных пептидов в группе пациентов, подвергшихся операции аорто-коронарного шунтирования с применением искусственного кровообращения, составил 0,71 [0,53 – 0,75] нмоль/мг. На момент окончания операции обсуждаемый показатель вырос до 0,87 [0,74 – 0,96] нмоль/мг ($p=0,25$ по отношению к группе больных с протезированием клапанов сердца и $p < 0,01$, по отношению к исходу в собственной группе). В отличие от уровня карбониллов в группе пациентов, оперированных на клапанном аппарате, в данном случае (операции АКШ с ИК), нормализация исследуемого показателя происходит к окончанию 3-х суток послеоперационного периода: 0,77 [0,65 – 0,87] нмоль/мг (таблица 4).

Более высокий уровень карбонилированных пептидов в группе пациентов после операций на клапанах сердца, в сравнении с пациентами, перенесшими аорто-коронарное шунтирование с использованием ИК, нельзя объяснить более длительным искусственным кровообращением: период ИК составил 139 ± 33 мин в группе больных с протезированием клапанов и 141 ± 38 мин в группе «АКШ с ИК» ($p > 0,05$).

Уровень карбонилированных пептидов после индукции, у пациентов, перенесших операцию аорто-коронарного шунтирования без применения искусственного кровообращения, составил 0,67 [0,52 – 0,81] нмоль/мг. К моменту окончания операции, обсуждаемый показатель увеличился до 0,76 [0,64 – 0,94] нмоль/мг и оставался значимо выше исходного уровня все время наблюдения (таблица 4).

Пиковое значение карбонилированных белков, определенных через час после операции (Карбонилы II), после протезирования клапанов сердца было несколько выше, чем у пациентов после АКШ без ИК: $p=0,04$. Однако это отличие не было выраженным и к следующему этапу исследования нивелировалось. Вместе с тем, этот показатель в подгруппах «АКШ без ИК» и «АКШ с ИК» не отличался ($p=0,3$). На остальных этапах исследования межгрупповых отличий не было. Нормализация

уровня карбонилированных пептидов у пациентов после операций АКШ без ИК также происходило к окончанию 3-х суток послеоперационного периода (0,68 [0,61 – 0,85] нмоль/мг белка ($p > 0,05$)).

Таким образом, можно было отметить, что вид оперативного вмешательства и применение искусственного кровообращения не оказывали выраженного влияния на послеоперационную динамику карбонилированных пептидов.

Динамика содержания в крови больных нитротирозина при различных видах оперативных вмешательств

Отсутствие значимой динамики этого изученного показателя отмечено при всех видах хирургического вмешательства (АКШ с применением ИК и без его применения, операции на клапанах сердца) (рисунок 2).

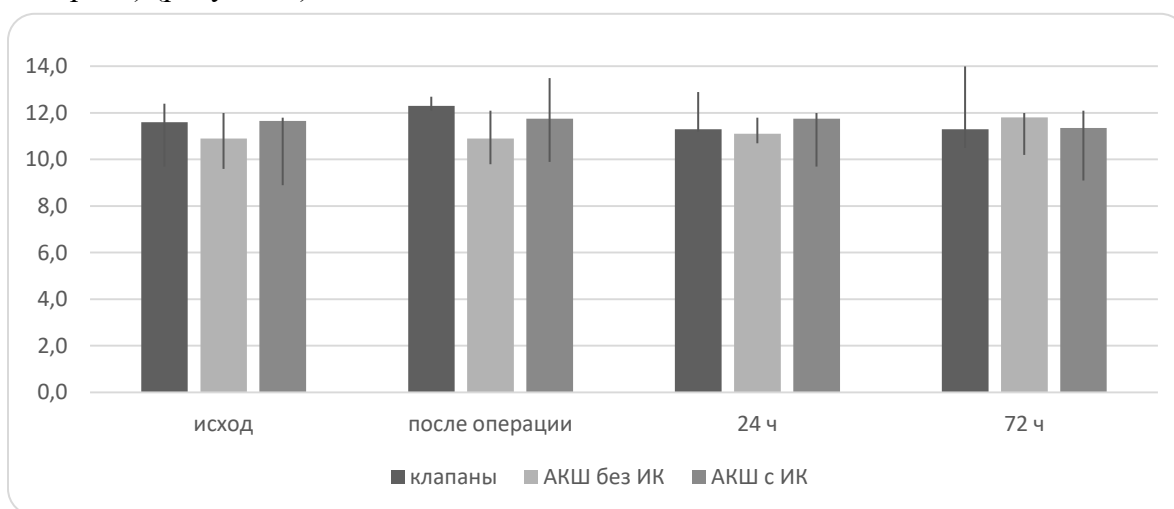


Рисунок 2. Изменения уровней нитротирозинов (нмоль/мг) в плазме крови пациентов, оперированных на сердце и коронарных сосудах, на всех этапах исследования

Далее (таблица 7) показаны уровни содержания нитротирозина в плазме крови пациентов на всех исследуемых этапах во всех изучаемых группах (операции на клапанах сердца, аорто-коронарное шунтирование с применением искусственного кровообращения и без его применения).

Таблица 7. Уровень нитротирозинов на этапах периоперационного периода в подгруппах с различными операциями

Показатель нмоль/мг	Группы		
	клапаны	АКШ без ИК	АКШ с ИК
Нитротирозины I (после индукции),	11,6 [9,7 - 12,4]	10,9 [9,6 - 12,0]	11,7 [8,90 - 11,8]
Нитротирозины II (через 1 час после операции)	12,3 [12,1 - 12,7]	10,9 [9,8 - 12,1]	11,8 [9,90 - 13,5]
Нитротирозины III (через 24 часа после операции)	11,3 [11,2 - 12,9]	11,1 [10,7 - 11,8]	11,8 [9,70 - 2,0]
Нитротирозины IV (через 72 часа после операции)	11,3 [10,5 - 14,0]	11,8 [10,2 - 12,0]	11,4 [9,10 - 12,1]

Примечание: данные представлены медианой и [межквартильным интервалом];

Взаимосвязи маркеров окислительного стресса и послеоперационных осложнений кардиохирургических вмешательств

Учитывая, что вид оперативного вмешательства и применение искусственного кровообращения не оказывали влияния на особенности динамики изученных маркеров окислительного стресса, анализ взаимосвязей этих маркеров с развившимися осложнениями, а также развернутое изучение предикторной значимости исследуемых показателей, предприняли в общей группе больных.

Частота и характер послеоперационных осложнений у обследованных больных

При выполнении настоящего раздела исследований анализировали частоту развития системной воспалительной реакции, острого почечного повреждения и острую сердечную недостаточность.

Системная воспалительная реакция в раннем послеоперационном периоде развилась у 71% пациентов после операций на клапанах сердца, у 48% пациентов после аорто-коронарного шунтирования без применения искусственного кровообращения, и у 45% пациентов после аорто-коронарного шунтирования с ИК. Расчеты показали, что разница статистически не значима ($p > 0,1$). Среднее частота развития системной воспалительной реакции в выборке составила 52%.

Острое почечное повреждение развилось у 47% пациентов после операций на клапанах сердца, у 24% пациентов после аорто-коронарного шунтирования без искусственного кровообращения и у 32% пациентов после аорто-коронарного шунтирования с ИК. Разница статистически не значима ($p > 0,1$). Среднее частота развития острого почечного повреждения во всей выборке составила 33%.

И, наконец, сердечная недостаточность была обнаружена у 65%; 24% и 52% пациентов, соответственно. Разница статистически значима ($p > 0,05$). Среднее частота развития СН в когорте – 46%.

Общая частота осложнений - композитный исход (СВР и/или ОПП и/или ОСН) среди обследованных больных составила 78%.

Влияние карбонилированных пептидов на риск развития послеоперационных осложнений

Прослежено влияние пикового значения карбонилированного пептида, измеренного через час после окончания операции (Карбонил II), на частоту развития осложнений раннего послеоперационного периода у кардиохирургических больных. Отмечена положительная корреляция уровня карбонилированных пептидов, измеренных через час после окончания операции, с композитным исходом (развитие системной воспалительной реакции, острого почечного повреждения, острой сердечной недостаточности): коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r) = 0,6; $p < 0,0001$) (рисунок 3).

Результаты ROC-анализа (рисунок 4 и таблица 8) убедительно продемонстрировали, что именно значения карбонилированного пептида на этапе «через час после окончания

операции», по сравнению с остальными значениями показателя, являются наилучшим предиктором развития какого-либо осложнения.

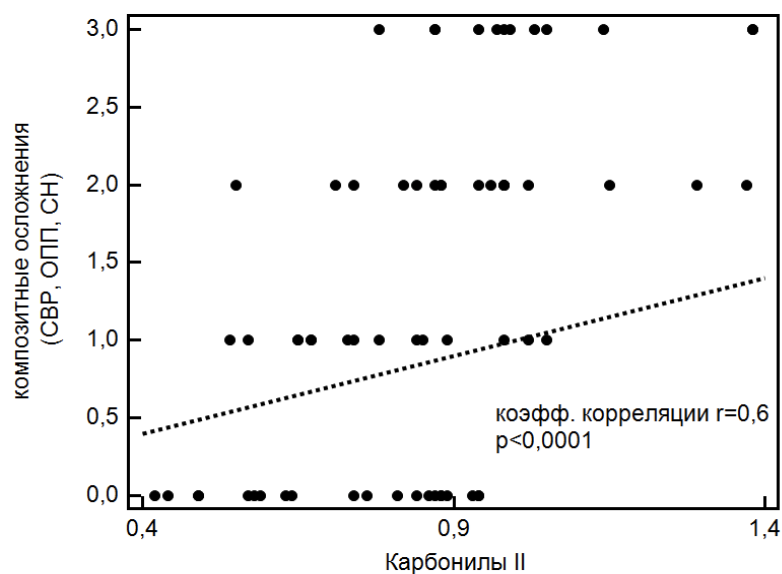


Рисунок 3. Графическое представление корреляционной зависимости композитного исхода оперативного лечения в кардиохирургии от степени выраженности окислительного стресса

На рисунке 4 представлен ROC-анализ всех послеоперационных осложнений (любое осложнение).

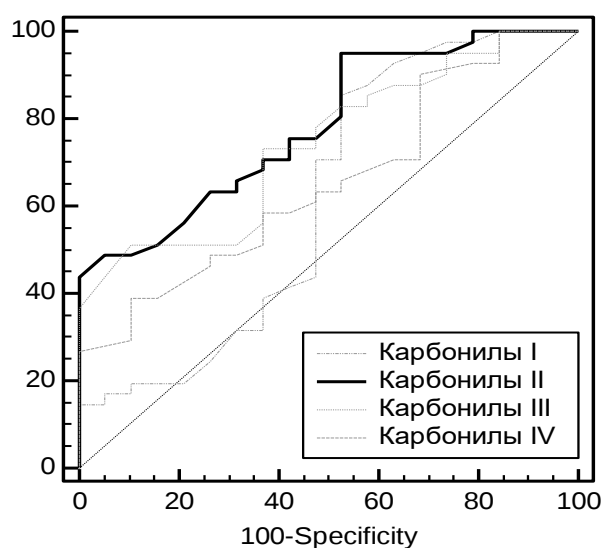


Рисунок 4. ROC-кривые для всех исследуемых осложнений

Таблица 8. Данные ROC-анализа уровня карбонилированных пептидов и послеоперационных осложнений

Осложнение	AUC	Точка Cut Off, нмоль/мг белка	Чувствительность, %	Специфичность, %
Любое осложнение	0,75	0,85	61	62

Вместе с тем, значение AUC для композитного исхода соответствовало «модели хорошего качества» и не давало возможности максимально надежного прогнозирования общего риска осложнений, поэтому на следующем этапе исследования выполнили оценку разделительной способности карбонилированных пептидов в отношении риска отдельных видов осложнений.

В таблице 8 представлены результаты ROC – анализа, определившего прогностическую значимость карбонилированных пептидов, для всех изученных ранних послеоперационных осложнений с указанием площади под кривой (AUC).

Кроме того, по результатам проведенного ROC-анализа удалось установить, что уровень карбонилированных пептидов через час после операции (Карбонилы II), является наиболее значимым предиктором развития какого-либо из описанных осложнений в целом и каждого по отдельности (разница AUC значима по отношению к исходу, $p < 0,05$).

Площадь под ROC-кривой для риска развития системного воспалительного ответа составляет 0,68 нмоль/мг ($p < 0,01$), что оценивает предложенную модель, как «модель среднего качества».

Установлено, что площадь под ROC-кривой для риска развития острого почечного повреждения и сердечной недостаточности составляет 0,81 нмоль/мг и 0,83 нмоль/мг соответственно. В обоих случаях $p < 0,0001$, что дает возможность оценить изученную модель, как «модель очень хорошего качества».

Диагностически значимый уровень карбонилированных пептидов для всех изученных послеоперационных осложнений (системная воспалительная реакция, острое почечное повреждение и острая сердечная недостаточность) был определен по балансу между чувствительностью и специфичностью, т.е. когда они приблизительно равны (около 61%), что составило 0,85 - 0,87 нмоль/мг (таблица 9).

Таблица 9. Площадь под ROC-кривыми карбонилов для оценки риска развития ряда осложнений послеоперационного периода

Этапы исследования	AUC					
	СВР	р	ОПП	р	СН	Р
Карбонилы_I	0,591	0,8	0,519	0,4	0,549	0,9
Карбонилы_II	0,682	<0,01	0,810	<0,0001	0,826	<0,0001
Карбонилы_III	0,655	0,04	0,791	<0,0001	0,775	<0,0001
Карбонилы_IV	0,612	0,06	0,745	<0,01	0,706	<0,01

Примечание: р – значимость по отношению к AUC = 0,5

Карбонилированные пептиды и системная воспалительная реакция.

Изучена прогностическая значимость карбонилированных белков в отношении их возможности выступать в роли раннего предиктора системной воспалительной реакции, диагностируемой по критериям SIRS.

Прогностические возможности показали Карбонилы II (площадь под кривой 0,682) в отношении развития СВР. При определении диагностически значимого уровня карбонилов, оказалось, уровень карбонилов 0,85 нмоль/мг белка с чувствительностью 59,28 % и

специфичностью 58,6% предсказывает развитие системной воспалительной реакции в раннем послеоперационном периоде (рисунок 5).

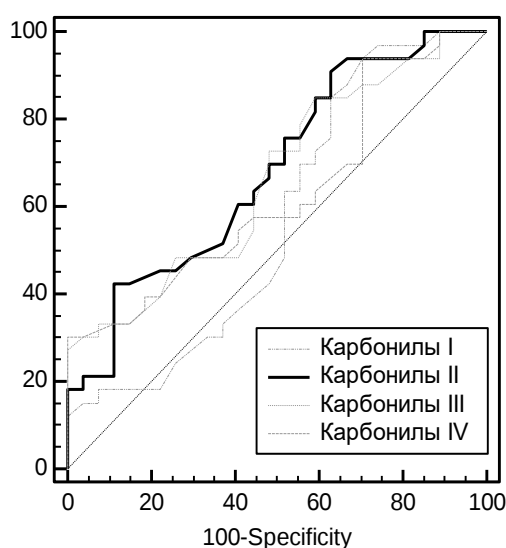


Рисунок 5. ROC - анализ прогностической значимости карбонилированных пептидов в развитии CBP (SIRS)

Карбонилированные пептиды и острое почечное повреждение.

Также была изучена прогностическая значимость маркера окислительного стресса – карбонилированных белков в отношении их возможности выступать в роли раннего предиктора острого почечного повреждения в стадии R (по критериям RIFLE).

Хорошие прогностические возможности показали карбонилы, измеренные сразу после операции (Карбонилы_II) (площадь под кривой 0,810) в отношении риска развития ОПП. При определении точки cut-off, оказалось, что уровень карбонилированных пептидов 0,86 нмоль/мг с чувствительностью 81,8% и специфичностью 62,8% (индекс Юдена) предсказывает риск острого почечного повреждения по критериям RIFLE (рисунок 6).

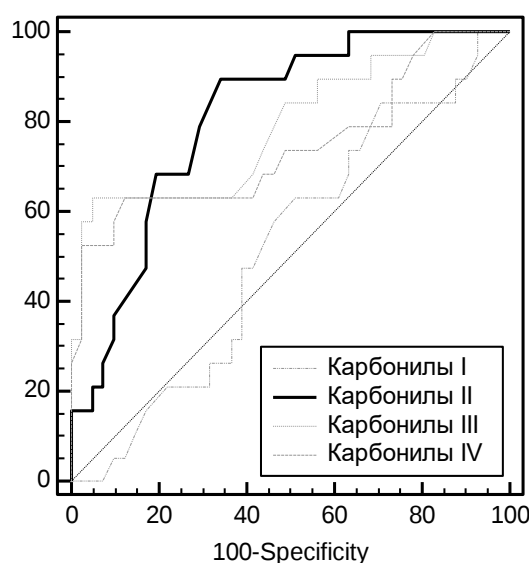


Рисунок 6. ROC – анализ прогностической значимости карбонилированных пептидов для острого почечного повреждения

Карбонилированные пептиды и сердечная недостаточность.

На рисунке 7 представлен ROC анализ прогностической значимости изученного маркера окислительного стресса в роли предиктора развития ОН в раннем послеоперационном периоде.

Хорошие прогностические возможности показали карбонилированные белки, измеренные через час после операции (Карбонилы II). Площадь под ROC - кривой составила 0,826 в отношении риска развития ОН. При определении точки cut-off оказалось, что уровень карбониллов 0,93 нмоль/мг белка с чувствительностью 62,07% и специфичностью 86,11% предсказывает риск развития острой сердечной недостаточности по определенным критериям в раннем послеоперационном периоде (рисунок 7).

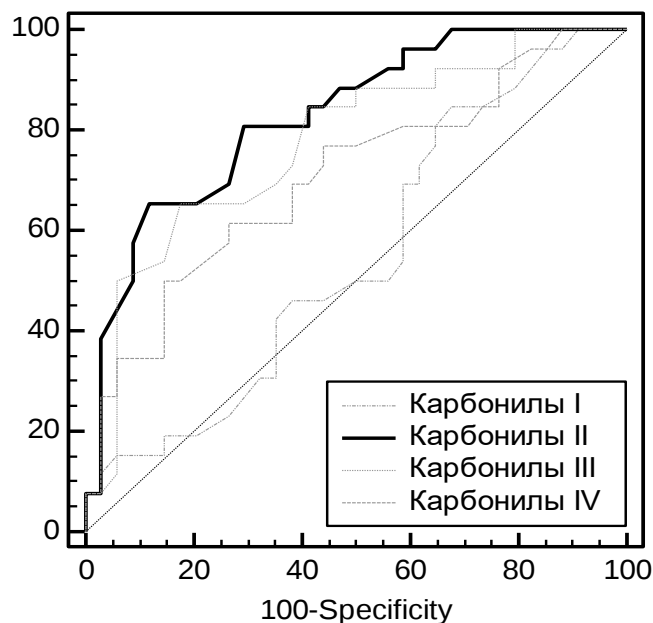


Рисунок 7. ROC анализ прогностической значимости карбонилированных пептидов в качестве предикторов развития ОН

Влияние нитротирозина на риск послеоперационных осложнений

Нитротирозин и системная воспалительная реакция.

Прогностическая значимость нитротирозина в роли раннего предиктора СВР представлена на рисунке 8 в виде ROC-кривой и таблице 10 в виде цифровых значений выполненного анализа. Прогностическая возможность маркера в отношении риска развития системной воспалительной реакции оказалась неудовлетворительной и статистически незначимой на всех этапах (площадь под кривой до 0,63; $p > 0,1$).

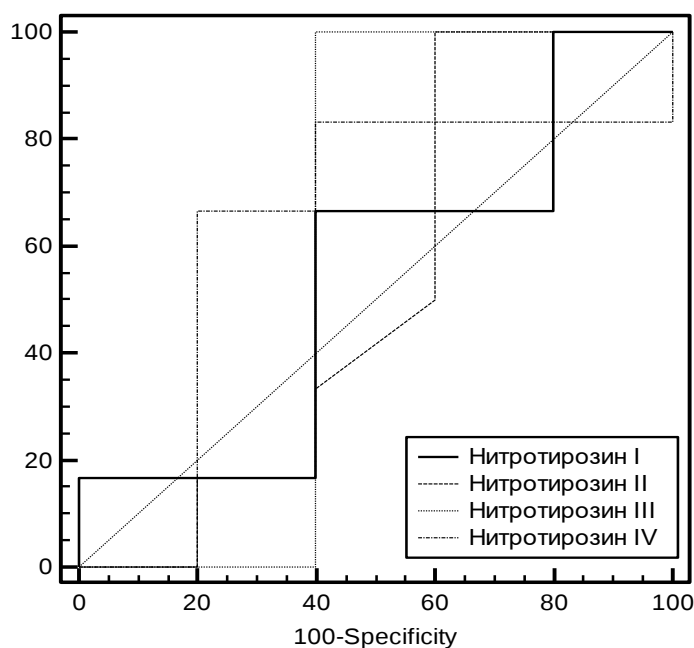


Рисунок 8. Прогностическая значимость нитротирозина в роли раннего предиктора системной воспалительной реакции

Таблица 10. Прогностическая значимость нитротирозина в качестве предиктора СВР на всех этапах исследования

Показатель	AUC	CO	95% ДИ	P
Нитротирозин I (после индукции)	0,53	0,20	0,22–0,82	0,6
Нитротирозин II (через час после операции)	0,52	0,22	0,21–0,81	0,8
Нитротирозин III (через 24 часа после операции)	0,60	0,25	0,28–0,87	0,7
Нитротирозин IV (через 72 часа после операции)	0,63	0,21	0,31–0,89	0,3

Примечание: CO – стандартная ошибка; ДИ – доверительный интервал; p – значимость по отношению к AUC = 0,5.

Нитротирозин и острое почечное повреждение.

Прогностическая значимость нитротирозина в роли раннего предиктора ОПП в стадии R (по критериям RIFLE) представлена на рисунке 9 в виде ROC-кривой и таблице 11, демонстрирующей количественное значение результатов анализа. Прогностические возможности маркера в отношении риска развития острого почечного повреждения оказались неудовлетворительными (площадь под кривой 0,53).

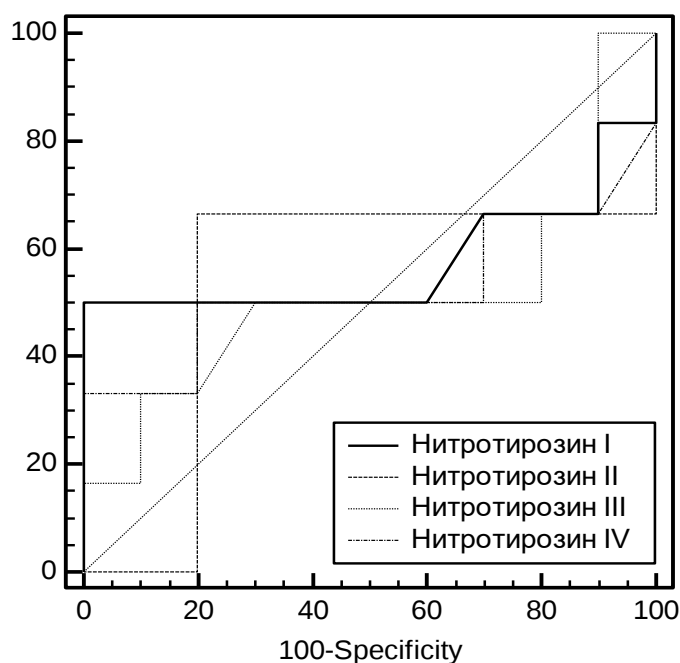


Рисунок 9. Прогностическая значимость нитротирозина в роли раннего предиктора острого почечного повреждения

Таблица 11. Прогностическая значимость нитротирозина в качестве предиктора ОПП на всех этапах исследования

Показатель	AUC	CO	95% ДИ	P
Нитротирозин II (после индукции)	0,58	0,20	0,310-0,812	0,7
Нитротирозин II (через час после операции)	0,53	0,19	0,274-0,780	0,9
Нитротирозин III (через 24 часа после операции)	0,51	0,19	0,253-0,760	0,9
Нитротирозин IV (через 72 часа после операции)	0,53	0,19	0,267-0,773	0,9

Примечание: CO – стандартная ошибка; ДИ – доверительный интервал; p – значимость по отношению к AUC = 0,5

Нитротирозин и острая сердечная недостаточность.

Прогностическая значимость нитротирозина в роли раннего предиктора ОСН представлена на рисунке 10 в виде ROC-кривой и таблице 12 в виде цифровых значений проведенного анализа. Прогностическая возможность маркера в отношении риска развития ОСН оказалась неудовлетворительной (площадь под кривой до 0,66; $p > 0,2$).

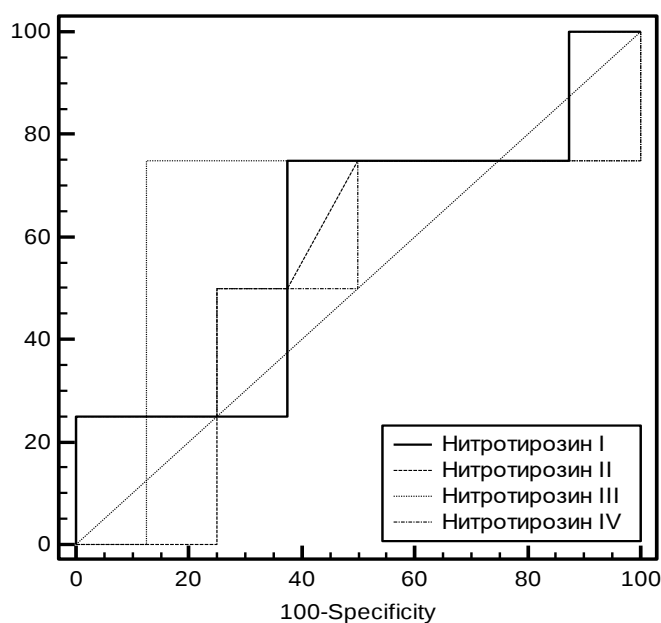


Рисунок 10. Прогностическая значимость нитротирозина в роли раннего предиктора острой сердечной недостаточности

Таблица 12. Прогностическая значимость нитротирозина в качестве предиктора ОСН на всех этапах исследования

Показатель	AUC	CO	95% ДИ	P
Нитротирозин I (после индукции)	0,56	0,23	0,26–0,84	0,6
Нитротирозин II (после операции)	0,60	0,13	0,50–0,98	0,6
Нитротирозин III (через 24 часа после операции)	0,73	0,18	0,41–0,94	0,2
Нитротирозин IV (через 72 часа после операции)	0,66	0,18	0,34–0,89	0,2

Примечание: CO – стандартная ошибка; ДИ – доверительный интервал; p – значимость по отношению к AUC = 0,5.

Выводы

1. Непосредственно после вмешательств на сердце и коронарных артериях в плазме крови больных увеличивается содержание карбонилированных пептидов с 0,69 [0,52–0,77] до 0,87 [0,71–0,98] нмоль/мг белка ($p < 0,01$); содержание в крови нитротирозина в периоперационный период различных кардиохирургических вмешательств не изменяется.
2. Вариант вмешательства с искусственным кровообращением (протезирование клапанов сердца или шунтирование коронарных артерий) не оказывает влияния на степень повышения содержания в крови больных карбонилированных пептидов, также не отличается послеоперационный уровень последних после реваскуляризации миокарда в условиях искусственного и естественного кровообращения: 0,87 [0,78–0,94] и 0,76 [0,64–0,94] нмоль/мг белка ($p > 0,05$).

3. Содержание в крови больных карбонилированных пептидов непосредственно после окончания кардиохирургических вмешательств прямо взаимосвязано с общей частотой послеоперационных осложнений ($r = 0,6$; $p < 0,0001$); наиболее выражено влияние указанного маркера на риск острой сердечной недостаточности (площадь под ROC-кривой 0,83; $p < 0,0001$) и острого почечного повреждения (площадь под ROC-кривой 0,81; $p < 0,0001$). Уровень нитротирозина в послеоперационный период не связан с частотой осложнений.
4. Уровень маркера окислительного стресса – карбонилированных пептидов, – в плазме крови больных обеспечивает раннее прогнозирование послеоперационных осложнений: повышение показателя до 0,85 нмоль/мг белка непосредственно после кардиохирургического вмешательства указывает на риск острой сердечной недостаточности с чувствительностью 63% и специфичностью 87%; риск острого почечного повреждения с чувствительностью 82% и специфичностью 62% и риск тяжелой системной воспалительной реакции с чувствительностью 41% и специфичностью 93%.

Практические рекомендации

1. В периоперационный лабораторный мониторинг при кардиохирургических операциях целесообразно включать определение содержания в крови больных нового маркера окислительного стресса – карбонилированных пептидов.

2. Содержание в крови больных карбонилированных пептидов целесообразно определять в течение первого часа после окончания операции, что укажет на риск осложнений в максимально ранние сроки.

3. Новый лабораторный маркер можно использовать после различных кардиохирургических операций: протезирования клапанов сердца и/или реваскуляризации миокарда в условиях общей экстракорпоральной перфузии или естественного кровообращения.

4. Определяя карбонилированные пептиды в крови больных, следует учитывать, что повышение уровня маркера до 0,85 нмоль/мг белка в течение первого часа после операции является ранним высоко - чувствительным предиктором острой сердечной недостаточности и острого почечного повреждения. Чувствительность маркера в отношении риска тяжелой системной воспалительной реакции несколько хуже. Вместе с тем, послеоперационное повышение карбонилированных пептидов прямо указывает на повышенный риск общей частоты осложнений.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Гребенчиков, О.А. Молекулярные механизмы окислительного стресса / Т.С. Забелина, Ж.С. Филипповская, О.Н. Герасименко, Е.Ю. Плотников, В.В. Лихванцев // Вестник интенсивной терапии. – 2016. - №3. – С.13 – 21.
2. **Гребенчиков, О.А. Окислительный стресс в кардиохирургии/ Т.С. Забелина, О.Н. Герасименко, А.М. Овезов, В.В. Лихванцев. // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – Том 13, № 4, 2016. С. 53 – 59.**
3. Филипповская, Ж.С. Оксидантный стресс и ранние осложнения послеоперационного периода в кардиохирургии / О.Н. Герасименко, О.А. Гребенчиков, Р.Н. Ларьков, О.Н. Улиткина, Ю.В. Скрипкин, В.В. Лихванцев // Вестник интенсивной терапии. – 2016. - № 6. – С. 13-21.
4. Likhvantsev, V. Oxidative stress and early complications after cardiac surgery / Zh. Fillipovskaya, O. Grebenchikov, Y. Skripkin, O. Gerasimenko, O. Ulitkina, A. Ovezov, R. Zinovkin // J Cardiothorac Surg. 2017 Apr; 31S1.
5. **Гребенчиков, О.А. Определение нитротирозина не позволяет оценить степень выраженности оксидантного стресса и прогнозировать вероятность развития ранних осложнений послеоперационного периода / Ж.С. Филипповская, Т.С. Забелина, Ю.В. Скрипкин, О.Н. Улиткина, В.В. Лихванцев // Патология кровообращения в кардиохирургии. – 2017; 21(2): С. 77 – 84**

Список сокращений и условных обозначений

- АД – артериальное давление;
- АКШ – аорто-коронарное шунтирование;
- АФК – активные формы кислорода;
- ДИ – доверительный интервал;
- ИК – искусственное кровообращение;
- ОПП – острое почечное повреждение;
- ОС – оксидантный стресс;
- ОСН – острая сердечная недостаточность;
- СВР – системная воспалительная реакция;
- СО – стандартная ошибка;
- СИ – сердечный индекс;
- AUC – area under the curve;
- ROC – Receiver Operating Characteristic.