

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения  
Московской области "Московский областной научно-исследовательский  
клинический институт им. М.Ф. Владимирского"

---

*На правах рукописи*

Филипповская Жанна Станиславовна

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

**14.01.20 — анестезиология и реаниматология**

диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук,

профессор Лихванцев В.В.

Москва – 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Степень разработанности темы исследования.....	6
Актуальность проблемы исследования.....	6
Цель работы.....	6
Задачи исследования.....	7
Научная новизна исследования и полученных результатов.....	7
Теоретическая и практическая значимость работы.....	8
Методология и методы исследования.....	8
Основные положения, выносимые на защиту.....	9
Внедрение результатов работы.....	10
Степень достоверности и апробация работы.....	10
Личный вклад автора в получении результатов.....	11
Структура и объем диссертации.....	11
ГЛАВА 1. обзор литературы.....	12
1.1 Окислительный стресс в кардиохирургии.....	15
1.1.1 Окислительный стресс и системная воспалительная реакция.....	20
1.1.2 Окислительный стресс и острая сердечная недостаточность.....	25
1.1.3 Окислительный стресс и острое почечное повреждение.....	27
1.2 Молекулярные механизмы окислительного стресса.....	29
1.2.1 Механизмы клеточной защиты от АФК.....	35
1.2.2 Сигнальная функция АФК.....	37
1.2.3 Карбонилированные белки.....	39
1.2.4 Нитротирозин.....	40
Глава 2. Общая характеристика больных и методы исследования.....	45
2.1 Общая характеристика больных.....	45
2.2 Анестезия и интенсивная терапия.....	47
2.3 Диагностика исследуемых осложнений.....	49
2.4 Методы исследования.....	50

2.5 Статистический анализ.....	52
Глава 3. Результаты исследований и их обсуждение .....	54
3.1. Периоперационная динамика маркеров окислительного стресса у обследованных больных .....	54
3.1.1. Динамика содержания в крови больных карбонилированных белков на этапах исследования.....	54
3.1.2. Динамика содержания нитротирозина в плазме крови пациентов на этапах исследования.....	55
3.2. Периоперационная динамика маркеров окислительного стресса при различных видах кардиохирургических операций.....	56
3.2.1. Динамика содержания в крови больных карбонилированных белков при различных видах оперативных вмешательств .....	56
3.2.2. Динамика содержания в крови больных нитротирозина при различных видах оперативных вмешательств.....	60
3.3. Взаимосвязи маркеров окислительного стресса и послеоперационных осложнений кардиохирургических вмешательств .....	62
3.3.1. Частота и характер послеоперационных осложнений у обследованных больных .....	62
3.3.2. Влияние карбонилированных пептидов на риск развития послеоперационных осложнений .....	63
3.3.3. Влияние нитротирозина на риск послеоперационных осложнений.....	70
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	75
Ограничения исследования .....	78
ВЫВОДЫ .....	81
Практические рекомендации.....	82
Перспективы дальнейшей разработки темы.....	82
Список сокращений .....	83
Список литературных источников .....	84

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность проблемы исследования

Хирургическое лечение заболеваний сердца и сосудов, благодаря стремительному развитию кардиохирургии, стало эффективным способом увеличения продолжительности и улучшения качества жизни пациентов с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Однако, частота осложнений и летальность при оперативном лечении заболеваний сердца до сих пор остается достаточно высокой [39, 134]. Это одинаково справедливо как в отношении вмешательств, выполненных на работающем сердце (off pump), так и отношении операций, выполненных в условиях искусственного кровообращения (on pump).

Большинство послеоперационных осложнений являются результатом развития системной воспалительной реакции организма (СВР), которая зачастую приводит к развитию мультиорганной дисфункции или недостаточности [39, 53, 87, 117, 134, 149].

Операции на сердце сопровождаются системной воспалительной реакцией, в той или иной степени выраженности, у всех пациентов, так как СВР развивается в ответ на действие всех вместе взятых агрессивных факторов. По своей сути, системная воспалительная реакция является приспособительным ответом, способствующим активизации компенсаторных возможностей организма, защите от агрессивного воздействия и нивелированию негативного влияния. Однако, о позитивной роли СВР следует говорить только в случаях контролируемого сбалансированного воспалительного ответа. В случае ее патологической трансформации, системная воспалительная реакция становится причиной возникновения вторичных повреждающих факторов, приводящих к развитию полиорганной недостаточности. Основным звеном патогенеза СВР является поражение эндотелия. Системный эндотелиоз приводит к повреждению

внутренних органов, что, наряду с сердечной недостаточностью, является причиной фатальных исходов [7, 65].

По современным представлениям, основным патогенетическим фактором развития СВР у больных подвергшихся кардиохирургическому вмешательству, является токсическое действие активных форм кислорода – оксидантный (или окислительный) стресс (ОС), развивающийся в результате нарастающего несоответствия между количеством синтезируемых АФК и возможностями функционирования окислительно-восстановительной системы, которая неминуемо повреждается в условиях ишемии/реперфузии.

Активные формы кислорода (АФК) в избытке продуцируются, 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 [37, 39]. Основным источником активных форм кислорода являются «энергетические станции» клеток – митохондрии [43].

Логично полагать, что продукты деградации клеток, испытывающих избыточный оксидантный стресс, попадают в кровоток и могут являться ранними биомаркерами начинающихся патологических процессов, приводящих к функциональной несостоятельности жизненно важных органов [52, 74].

Патологическое функционирование окислительно-восстановительной системы имеет разнонаправленный характер, а образующиеся активные формы кислорода – большое количество мишеней, – биологических молекул и клеточных органелл. Известно, что первыми подвергаются окислению аминокислотные остатки белков, которые, в результате взаимодействия с активными формами кислорода, карбонилируются, утрачивая свою функциональную и структурную состоятельность. Еще одной точкой приложения АФК является оксид азота (NO)

[31,78], который, обладая свободной валентностью, в условиях усиленной генерации радикалов, способен выступать мощным катализатором окислительного каскада с образованием множества активных биомолекул, например, нитротирозина [78].

Использование биомаркеров 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. Ранняя диагностика осложнений позволит минимизировать их нежелательные последствия. Данное обстоятельство, а также потребность выявления маркеров (или предикторов) осложнений, послужило 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 работы**

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 оксидантного стресса с развитием ряда осложнений (системной воспалительной реакции, острого почечного повреждения, 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. ВЫЯВЛ  
ять пациентов с высоким риском развития осложнений и наиболее обоснованно применять высокотехнологичные и/или дорогостоящие средства лечения;
2. СНИЗИТ  
ь 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.

## **Внедрение результатов работы**

1. Для научных исследований предложен новый маркер – предиктор развития СВР, ОПП и ОСН. В настоящее время используется в работе отделения реаниматологии 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.

## **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 параметров жизнедеятельности и лечения, соответствующего принятым стандартам; наличием групп сравнения; обработкой полученных результатов с использованием методов статистического анализа.

Материалы проведенных исследований представлены на 15 Съезде Федерации анестезиологов и реаниматологов в сентябре 2016 года (Москва), European Association of Cardiothoracic Anaesthesiology (ЕАСТА) – 2017 года (Берлин) [JCVА.2017.Vol.31.S1. Apr 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 диссертационной работы. 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 диссертантом, что дало возможность сформулировать заключение и сделать научно-обоснованные выводы.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация объемом 103 страницы состоит из введения, обзора литературы, двух глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Описаны ограничения исследования и перспективы дальнейшей разработки темы. Результаты работы продемонстрированы с помощью 13 таблиц и 10 рисунков.

При написании работы были использованы 194 зарубежных и отечественных литературных источников, перечисленные в библиографическом указателе.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему являются основной причиной потери трудоспособности, снижения качества жизни и смертности населения. Только в Российской Федерации, как информирует Федеральная служба государственной статистики, в 2017 году, заболевания системы кровообращения стали причиной смерти 857980 человек и составили 48,7% в структуре летальности в 2017 г.

Основным способом лечения большинства заболеваний сердца является хирургическая коррекция патологии. Причем, это касается не только поражения клапанного аппарата сердца. На сегодняшний день самым эффективным методом лечения ишемической болезни сердца (ИБС) стала хирургическая реваскуляризация миокарда, которая направлена на восстановление нормального кровотока в бассейнах всех коронарных артерий [8, 9]. Хирургическая коррекция коронарного кровотока у пациентов с выраженным поражением коронарного русла позволила повысить пятилетнюю выживаемость оперированных больных до 91% [37, 42, 119]. С каждым годом увеличивается количество пациентов, подвергшихся трансплантации сердца [135].

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 (операционный стресс, повреждающие факторы искусственного кровообращения), а также, в некоторых случаях, с радикальной «перестройкой» внутрисердечной гемодинамики. Все перечисленное предопределяет высокую частоту развития осложнений и относительно высокую летальность в кардиохирургии [37, 42, 177, 168].

Среди прочих, осложнения со стороны сердечно – сосудистой системы ожидаемо занимают лидирующие позиции. Так, например, частота развития острой сердечной недостаточности (ОСН) составляет около 20% [166]; острого

инфаркта миокарда (ОИМ) — 2–10% [111], жизнеугрожающих аритмий — 10–50% [152, 142].

Системный воспалительный ответ (сепсис, в том числе) является еще одним грозным осложнением раннего послеоперационного периода и регистрируется у 2,5% –20% больных [42, 142, 133].

Синдром полиорганной недостаточности, сопровождающий СВР, зачастую включает в себя острое почечное повреждение, которое не только приводит к удлинению сроков госпитализации, но и, в ряде случаев, к инвалидизации пациентов. Частота развития ОПН достигает 2–40% случаев [39, 42, 49].

Предупреждение, лечение и минимизация последствий перечисленных осложнений является основной задачей анестезиологов-реаниматологов.

Считается, что важную роль в патогенезе послеоперационных осложнений и неблагоприятных исходов, в том числе в кардиохирургии, играет оксидантный или, как его еще называют, окислительный стресс (ОС) – токсическое действие активных форм кислорода, которые в избытке продуцируются митохондриями при ишемии и последующей реперфузии.

В физиологических условиях деструктивное действие АФК сдерживается многоуровневой системой антиоксидантов. Нарушение баланса в системе "АФК – антиоксиданты" приводит к повреждению структур ДНК, белков, мембранных структур органелл и клеток, то есть к развитию ОС [9, 59].

Изучение патологического влияния активных метаболитов кислорода продолжается со второй половины двадцатого столетия. Однако, тот факт, что АФК образуются не только в клетках со сниженным количеством кислорода, но и во всех аэробных клетках, не позволял напрямую связывать избыток высокореакционных форм кислорода с развитием патологических процессов.

Лучше других изучался процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) – сложный многостадийный процесс окисления липидных субстратов (липопротеинов плазмы и фосфолипидов мембран). Было показано, что продукты перекисного окисления липидов, помимо пагубного влияния на функциональную и структурную целостность клеток, используются организмом для синтеза ряда

биологически активных веществ, таких как, например, простагландины, тромбоксан, гормоны и т.д. Интенсивность ПОЛ также взаимосвязана с процессами обновления мембран и содержания липидов плазмы [9, 74, 77].

Полученные данные указывали на окисление липопротеинов плазмы, но не подтверждали патологического окисления фосфолипидов клеточных мембран. То есть, показать прямую зависимость ПОЛ с развитием деструктивных процессов не удалось.

Итак, несмотря на обилие работ по оксидантному стрессу, в доступной нам литературе, не встретились доказательства взаимосвязи степени выраженности ОС и частоты развития послеоперационных осложнений.

Известно, что белки одними из первых подвергаются повреждению в результате свободнорадикального окисления. Их аминокислотные остатки карбонируются, т.е. в них появляются альдегидные или кетонные группы [80, 123]. Данный процесс приводит к функциональному и структурному повреждению белков. Причем, умеренно карбонилированные белки могут подвергаться биодegradации протеазами и восстанавливать свою функцию, тогда как значительно карбонилированные протеины образуют нерастворимые агрегаты, разрушающие клетки и ткани [71, 81]. Таким образом, определение уровня карбонилированных пептидов в плазме крови может дать представление о выраженности ОС [74, 177, 133]. На сегодняшний день известно, что операции на сердце повышают уровень карбонилированных белков [65, 74], однако, связь этих изменений с послеоперационными осложнениями и неблагоприятными исходами остается неисследованной и, соответственно, недоказанной [119, 133].

Еще один активный радикал, вносящий свой пагубный вклад в разрушение или функциональную несостоятельность клеточных структур, — оксид азота (NO), хорошо известный клиницистам, как активный регулятор работы сердечно – сосудистой системы. В патогенезе системной воспалительной реакции, обусловленной патологическим метаболизмом NO, основная роль принадлежит окисленным формам NO, образующимся в присутствии избыточного количества активных форм кислорода. В процессе патологического окисления оксида азота

образуется нитротирозин, который не только сам по себе оказывает повреждающее действие на ряд биологических молекул, но и порождает дополнительные каскады синтеза активных радикалов, усугубляя окислительный стресс. Как отмечает в своих работах исследователь окислительного повреждения клеток Плотников Е.Ю. – «NO способен проникать через мембраны клеток, распространяясь от источника активации на расстояния, в несколько раз превышающие размеры клетки и достигать там свои мишени», что значительно увеличивает его повреждающую способность [24].

Таким образом, есть достаточно оснований полагать, что оксидантный стресс может определять развитие послеоперационных проблем, но нет ни одного критерия, позволяющего судить о предполагаемой степени его выраженности. Все вышеизложенное послужило основанием для целесообразности выполнения настоящей работы – изучению зависимости уровня карбонилированных пептидов и нитротирозина и частоты развития послеоперационных осложнений у кардиохирургических пациентов

## **1.1 Окислительный стресс в кардиохирургии**

Попытки оценить влияние окислительного стресса на течение раннего послеоперационного периода в кардиохирургии предпринимались неоднократно. Это связано с рядом обстоятельств:

Во-первых, как уже упоминалось, доказано, что практически все заболевания сердца, приводящие пациентов на операционный стол (гиперхолестеринемия [139], атеросклероз [53], гипертоническая болезнь [104], сердечная недостаточность [120]) связаны с окислительным стрессом и воспалением [53];

Во-вторых, какой бы не была патология сердца, требующая хирургической коррекции, она неминуемо сопровождается дефицитом органного и тканевого

кровотока, то есть, кровоснабжение тканей кислородом находится, в лучшем случае, на субоптимальном уровне, что приводит к ненормальному состоянию окислительно – восстановительной системы и наличию большого количества АФК, которые не могут быть инактивированы адекватно как в условиях ишемии, так и после восстановления достаточного кровотока, что значительно увеличивает их повреждающую способность [175].

Кроме того, анаэробный метаболизм (метаболизм в условиях ишемии) приводит к перепроизводству молочной кислоты и изменению клеточного гомеостаза с потерей градиента ионов через мембраны клеток [78]. Ишемия приводит к уменьшению производства энергии в митохондриях из-за недостатка кислорода и питательных веществ. В результате падает уровень АТФ, снижается внутриклеточный рН, растут концентрации внутриклеточного натрия и кальция [176]. Кардиомиоциты, подвергшиеся ишемии, производят провоспалительные цитокины, вызывающие адгезию лейкоцитов и приводящие к накоплению нейтрофилов в миокарде, которые, в свою очередь, производят дополнительные АФК и различные протеолитические ферменты.

В-третьих, пациенты с патологией сердечно – сосудистой системы, как правило, имеют сопутствующие заболевания (например, сахарный диабет, почечные и легочные дисфункции), которые также сопровождаются окислительным стрессом той или иной степени выраженности [147, 149].

Кроме того, хирургическая агрессия, особенно в сочетании с искусственным кровообращением, вызывает множество процессов, которые влияют как на клеточный, так и внеклеточный состав крови. Неоднократное прохождение крови через экстракорпоральный контур выступает триггером активации полиморфно-ядерных лейкоцитов (в основном нейтрофилов), которые, как полагают, являются одним из главных источников АФК. Активация нейтрофилов характеризуется потерей целостности их мембран и усилением активности белков – интегринов, ответственных за контакт с эндотелием, интактным в норме [101, 117].

Аппарат ИК из-за контакта крови с чужеродным контуром повреждает эритроциты (делает их более ригидными и хрупкими) и вызывает изменения функционирования ионных насосов мембраны эритроцитов, нарушает структуру клеточной поверхности и приводит к аномальному накоплению внутриклеточных катионов [156]. Кроме того, эритроциты становятся уязвимыми к атаке мембранного комплекса, образующегося вследствие активации комплемента, что приводит к утечке гемоглобина. Как следствие, существенно повышается концентрация свободного Нв, который, в присутствии  $H_2O_2$ , может выступать в качестве пероксидазы.

Неизбежная в кардиохирургии периоперационная трансфузия крови также вносит свой печальный вклад в усугубление окислительного стресса. Это связано со сниженными антиоксидантными свойствами консервированной крови. Как известно, хранение крови приводит к изменениям в эритроцитах, которые включают истощение аденозинтрифосфата и усиление перекисного окисления липидов [99, 156]. Мембраны эритроцитов при хранении теряют эластичность, становятся хрупкими с повышенной склонностью к гемолизу, ведущему к накоплению в плазме крови свободного гемоглобина и железа, которые обладают выраженной прооксидантной активностью, как уже упоминалось ранее.

Дефицит кровотока, каким бы ни был его генез, сопровождается кризисом макро- и/или микроциркуляции, то есть ишемией органов и тканей, с последующим восстановлением кровотока, так называемой реперфузией [60]. Проведенные ранее многочисленные исследования сделали очевидным факт, что пусковым механизмом, приводящим к развитию окислительного стресса, является не ишемия (дизоксия), а сменяющее ее восстановление адекватной перфузии, которое и запускает необратимый деструктивный процесс, ведущий к страданию или гибели реоксигенированных клеток и функциональной несостоятельности органов [145]. Таким образом, с одной стороны, восстановление адекватного кровотока является необходимым условием для сохранения жизни пациента, в то же время, с другой стороны, и врачи интенсивной терапии регулярно сталкиваются с этим на практике, оно дает старт мультиорганной

дисфункции/недостаточности, которая может привести к необратимым последствиям. Чем более глубоко ишемизирован орган, и чем более распространен дефицит кровотока, тем тяжелее протекает реперфузионный период [45].

Реперфузия играет ключевую роль в окислительном стрессе, инициируя ряд биохимических событий, которые приводят к генерации избыточного количества АФК. Гипероксия, возникающая вследствие реперфузии, обуславливает продукцию активных радикалов. Токсичность радикалов определяется их способностью принимать электроны от широкого спектра молекул, что приводит к образованию «новых» радикалов и вызывает цепную реакцию появления все большего количества активных форм кислорода [174]. АФК «атакуют» целый ряд различных молекулярных мишеней. Они могут изменять активность сигнальных белков благодаря их нитрозилированию, карбонилированию, формированию дисульфидных связей и глутатионилированию, вызывая активацию провоспалительных и проапоптотических сигнальных путей [100].

Кроме того, АФК могут выступать в качестве токсичных субстанций, которые влияют на клеточные функции факторов роста, цитокинов, и других молекул [58, 186, 187].

Активные формы кислорода способны повреждать и клеточные органеллы, например, митохондрии, стимулируя открытие митохондриальной поры неспецифической проницаемости (МПНП), приводящей к проникновению содержимого цитозоля через внешнюю и внутреннюю мембраны в матрикс митохондрий, что приводит к дальнейшему росту производства АФК и формированию петли положительной обратной связи, приводящей к еще большему открытию МПНП [85, 190]. Открытие МПНП способствует набуханию митохондрий, повреждению митохондриальной мембраны и гибели клеток через апоптоз или некроз [89].

Недавние исследования показали связь ОС и такого серьезного осложнения периоперационного периода, как фибрилляции предсердий (ФП). Повышенная продукция АФК в митохондриях кардиомиоцитов ушка предсердий

ассоциирована с более высоким риском ФП [105, 126]. Кроме того, в ткани миокарда предсердий, взятых у пациентов с мерцательной аритмией, обнаружено повышение активности митохондриальных ферментов и усиление чувствительности к открытию митохондриальной поры неспецифической проницаемости [138].

Учитывая предполагаемую связь выраженности ОС с органной недостаточностью в периоперационном периоде и исходами кардиальных операций, представляет интерес недавняя работа, в которой была оценена роль конечных продуктов окисления белков (ПОБ), как ранних маркеров послеоперационного острого почечного повреждения (исследование Du в 2015 году). Данное исследование показало, что сывороточная концентрация конечных продуктов окисления белков (ПОБ) увеличивалась сразу после окончания оперативного вмешательства, а у пациентов с острым почечным повреждением их прирост был еще более значимым [67]. Исследование было проведено у 162 пациентов после кардиохирургических операций с ИК. Было показано, что уровень ПОБ 69,9 ммоль/л, измеренный через 1 час после операции, с чувствительностью 74% и специфичностью 63%, предсказывает ОПП после кардиохирургических операций с применением ИК. Площадь под ROC кривой составила 0,714.

Итак, исследования последнего десятилетия показали четкую взаимосвязь оксидантного стресса и системного воспалительного ответа, дальнейшие исследования которой, могут помочь в понимании основных патогенетических механизмов развития послеоперационных осложнений в кардиохирургии; поиске путей подавление избыточной генерации АФК, уменьшения степени воздействия повреждающих факторов, а также указать направление поиска фармакологических препаратов, способных прервать патологическую активность свободных радикалов и, как следствие, окислительного стресса.

### 1.1.1 Окислительный стресс и системная воспалительная реакция

Под системной воспалительной реакцией (systemic inflammatory response syndrome (*SIRS*)) подразумевают общую воспалительную реакцию организма, развивающуюся в ответ на воздействие тяжелого повреждающего фактора (медицинский термин введен в 1992 году на конференции «*American College of Chest Physicians u Society of Critical Care Medicine*»). Процесс идет при участии медиаторов воспаления с вовлечением практически всех систем организма и развивается по одним и тем же общим закономерностям; является приспособительной реакцией организма [29].

По своей сути, системная воспалительная реакция (СВР) – жизнеспасаящая реакция организма, направленная на уничтожение агрессивного агента, вызвавшего процесс, и восстановление поврежденной ткани. Академик В.А. Черешнев сформулировал определение системной воспалительной реакции следующим образом: «Это типовой, мультисиндромный, фазовоспецифичный патологический процесс, развивающийся при системном повреждении и характеризующийся тотальной воспалительной реактивностью эндотелиоцитов, плазменных и клеточных факторов крови, соединительной ткани, а на заключительных этапах и микроциркуляторными расстройствами в жизненно важных органах и тканях» [29, 5]. Причины системного воспаления могут быть самыми разнообразными: механическое повреждение тканей (ожоги, краш-синдром), значимый дефицит перфузии (как глобальный, так и локальный), наличие ишемизированных и/или некротизированных тканей (инфаркт миокарда, панкреатит), микробная инвазия, выброс эндотоксина, абсцессы независимо от их локализации. Однотипность клинических проявлений СВР при различных видах патологии определяется патогенетическими механизмами его развития [15, 20].

Основная роль в патогенезе СВР, как показывают исследования последних лет, принадлежит чрезмерному накоплению активных форм кислорода и, как следствие, избыточной выработке цитокинов. Анализ литературных данных не позволяет связывать проявление воспалительной реакции с одним из множества цитокинов [15, 16, 20]. Цитокины способны ассимилировать свои эффекты, что чаще и наблюдается в условиях неблагоприятного функционирования клеток, и, напротив, действовать разнонаправленно или непредсказуемо, что может, в конце концов, формировать «другой», ранее неизвестный, эффект известного цитокина [2,12].

На сегодняшний день известно более 200 цитокинов [13]. Взаимовлияние множества цитокинов, принимающих участие в каждом конкретном процессе; время, количество и скорость их поступления в кровоток, определяют разнообразие патологических процессов при развитии системной воспалительной реакции [2]. Важную роль в проявлении СВР играют исходное функциональное состояние органов и тканей пациента, индивидуальные особенности выработки всего спектра цитокинов, компенсаторные возможности клеток-мишеней [13].

Цитокины опосредованно влияют на функциональную активность и выживаемость клеток, а также на стимуляцию или ингибирование их (клеток) роста; обеспечивают согласованность действий иммунной, эндокринной и нервной систем в нормальных условиях и в ответ на патологические воздействия; с их помощью поддерживается необходимый для адекватного функционирования метаболический баланс и взаимодействие между отдельными клетками, тем самым обеспечивая функциональную состоятельность тканей.

Синтез и секреция цитокинов – непрерывный процесс. В нормальных условиях жизнедеятельности организма образуется небольшое количество цитокинов. Они необходимы для обеспечения целого ряда функций: сигнальной, предупреждающей клетку о неблагоприятных условиях и возможном повреждении; регулирующей компенсаторные и защитные механизмы. Они являются своеобразным языком общения клеток, обеспечивая их взаимодействие. Преимущественная локальность эффектов цитокинов обусловлена небольшой

продолжительностью существования. Несмотря на это, цитокины успевают продемонстрировать свою биологическую значимость благодаря высокой скорости реакции с клеточными рецепторами, которые присутствуют на мембранах всех клеток организма. Накопление цитокинов в крови многими учеными рассматривается как СВР [2, 12, 13, 28].

В условиях дизокии, повреждающим агентом, вызывающим выброс медиаторов воспаления (цитокинов в том числе) становятся активные формы кислорода.

Современная медицинская наука определяет окислительный стресс (ОС) и, как следствие, системную воспалительную реакцию (СВР) основными причинами и (или) необходимыми звеньями в цепи событий, приводящих к развитию многих грозных осложнений критических состояний любого генеза, в том числе и послеоперационного периода [132, 169]. Кроме того, данное утверждение в полной мере относится и к патогенезу ряда наиболее распространенных заболеваний сердца.

Растущая совокупность доказательств говорит о том, что ОС вызывает гиперхолестеринемию [139], атеросклероз [50], гипертоническую болезнь [104], сахарный диабет [148] и сердечную недостаточность [120]. То есть, по современным представлениям, ишемическая болезнь сердца, которая превалирует в фатальных исходах кардиальной патологии, и обусловленная атеросклеротическим поражением коронарных артерий, напрямую связана с ОС и СВР [147]. Очевидно, что хирургическая агрессия, усугубляет степень выраженности окислительного повреждения клеток [43, 166].

Как уже упоминалось ранее, едва ли не основным способом лечения целого ряда заболеваний сердца является хирургическая коррекция патологии. Непременным атрибутом современной кардиохирургии стало использование искусственного кровообращения. Появление технической возможности выполнять операции в условиях ИК совершило революцию в кардиохирургии, давая возможность расширить спектр кардиохирургических вмешательств [65, 72]. Однако, ИК, как полагают многие клиницисты, породило и ряд проблем,

решение которых является предметом изучения анестезиологии и реаниматологии (перфузиологии).

Так, принято считать, что искусственное кровообращение является причиной развития целого комплекса патофизиологических событий, при которых органы подвергаются тяжелым функциональным изменениям. Использование ИК связано, в том числе, с изменением редокс – состояния клеток организма, а, значит, с развитием ОС и СВР [44, 64, 189].

ОС и СВР инициируют активность целого ряда патологических процессов, приводящих к необходимости хирургического вмешательства, активность которых многократно усиливается влиянием ИК и другими повреждающими факторами операционного стресса, и достаточно часто становятся причиной полиорганной несостоятельности, той или иной степени выраженности, существенно осложняющей течение раннего послеоперационного периода в кардиохирургии [41].

Системная воспалительная реакция (СВР) определяется по наличию критериев, предложенных «American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference» [142]:

Общие показатели:

1. Лихорадка ( $> 38,3^{\circ}$ )
2. Гипотермия (температура  $< 36^{\circ}\text{C}$ )
3. Тахипноэ
4. Изменение психического состояния
5. Существенный отек подкожно-жировой клетчатки или положительный баланс жидкости ( $> 20$  мл/кг за 24 ч)
6. Гипергликемия (глюкоза плазмы крови  $> 140$  мг/дл или  $7,7$  ммоль/л) в условии отсутствие исходного сахарного диабета
7. Лейкоцитоз (лейкоциты  $> 12000$ /мкл)
8. Лейкопения (лейкоцитов  $< 4000$ /мкл)
9. Более 10% незрелых форм лейкоцитов

10. Увеличение С-реактивного белка более чем в два раза от исходного уровня
11. Прокальцитонин в плазме более 0,5 нг/л

Гемодинамических показатели:

1. Снижение артериального давления (систолическое АД <90 мм. рт. ст. или среднее АД <70 мм. рт. ст.)
2. Тахикардия (ЧСС 90 ударов в минуту или более)

Показатели органических дисфункций:

1. Снижение парциального давления в артериальной крови ( $P_{aO_2}/F_{iO_2} < 300$ )
2. Олигурия (снижение темпа диуреза <0,5 мл/кг/ч в течение не менее 2 часов на фоне адекватной инфузионной терапии)
3. Повышение креатинина больше, чем на 0,5 мг/дл или 44,2 мкмоль/л
4. Коагулопатия (МНО >1,5 или АЧТВ >60 с)
5. Интестинальная недостаточность (парез ЖКТ)
6. Тромбоцитопения (количество тромбоцитов <100000/мкл)
7. Гипербилирубинемия (общий билирубин плазмы >4 мг/дл или 70 мкмоль/л)
8. Гиперлактатемия (>2 ммоль/л)
9. Симптом «белого пятна» более 2 секунд

Лечение СВР направлено на терапию повреждающего процесса или фактора, приведшего к его развитию.

## **1.1.2 Окислительный стресс и острая сердечная недостаточность**

Сердечная недостаточность (СН) в послеоперационном периоде, как уже указывалось ранее, может быть обусловлена исходным повреждением мышцы сердца, перераспределением нагрузки на камеры в результате перестройки внутрисердечных потоков, хирургической агрессией на миокард. Чаще других осложнений СН становится причиной фатальных ситуаций в современной кардиохирургии. Значение послеоперационной СН определяется высокими цифрами частоты развития и летальностью, увеличением длительности пребывания в отделении интенсивной терапии и значительными затратами на лечение [106, 154]. По данным ряда исследований, частота, с которой встречается СН, колеблется между 8% и 25% в зависимости от ряда факторов, таких как возраст пациента, наличие сопутствующей патологии, степень предоперационной желудочковой дисфункции, тип оперативного вмешательства и степень хирургической агрессии [181].

Под сердечной недостаточностью подразумевается невозможность поддержания достаточного кровотока в органах и тканях, что приводит к нарушениям гомеостаза и, в случаях значимого дефицита кровотока, развитию несостоятельности функционирования всех органов и систем организма. Если подобная ситуация обусловлена сниженной сократительной способностью сердечной мышцы, говорят о систолической дисфункции. Если невозможность обеспечивать потребности возникает из-за жесткости миокарда и, как следствие, неспособностью сердечной мышцы увеличивать ударный объем при повышении нагрузки, говорят о диастолической дисфункции или, как ее еще называют, сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса. Зачастую, СН в раннем послеоперационном периоде обусловлена за счет обоих этих механизмов.

Низкая сократительная способность миокарда, независимо от причины, – основное звено патогенеза сердечной недостаточности или, что тоже самое, синдрома низкого сердечного выброса (СНСВ). Учитывая, что синдром низкого сердечного выброса клинически выражается в снижении тканевого и органного кровотока, чаще всего, он является причиной или поддерживающим фактором развития и прогрессирования всех других послеоперационных осложнений.

В основе установления диагноза СН лежат гемодинамические данные, полученные с помощью катетера Свана-Ганса: давление заклинивания легочных капилляров  $\geq 16$  мм. рт. ст., сердечный индекс  $< 2,2$  л/мин/м<sup>2</sup>, и насыщение кислородом смешанной венозной крови  $< 60\%$ . Оценка показателей инвазивного гемодинамического мониторинга проводится после исключения или коррекции гипотермии, гиповолемии, тампонады сердца; желательно наличие правильного сердечного ритма [109]. Большим преимуществом инвазивного мониторинга является возможность непрерывного контроля показателей работы сердца. Немалую помощь в диагностике и определении причин СН играет и ультразвуковое исследование сердца.

Степень выраженности и длительность сохранения сердечной недостаточности напрямую связаны с качеством дальнейшей жизни пациента: тяжелая продолжительная дисфункция сердечной мышцы, как правило, приводит к формированию хронической сердечной недостаточности (ХСН) и инвалидизирует пациентов [106, 181].

Лечение СН направлено на увеличение ударного объема сердца и обычно включает в себя использование препаратов, обладающих инотропным эффектом (агонистов бета-адренергических рецепторов, дигиталиса, ингибиторов фосфодиэстеразы III, кальциевого сенсibilизатора Левосимендана), сосудорасширяющих препаратов и, в ряде случаев, внутриаортальной баллонной контрпульсации [69, 116].

### **1.1.3 Окислительный стресс и острое почечное повреждение**

Острое почечное повреждение - это внезапная утрата или снижение почечной функции, которые проявляются, в том числе, и повышением креатинина сыворотки крови [102].

На острое почечное повреждение, развившееся как осложнение, приходится более 7% общего числа случаев стационарного лечения [157]. Когда состояние больного тяжелое и требует проведения диализа, госпитальная смертность составляет 50%, а у пациентов отделения интенсивной терапии (тех, кто находится в критическом состоянии) — 75% [102]. В группу риска входят пожилые люди с атеросклеротическим поражением сосудистого русла, пациенты с хроническими заболеваниями почек и пациенты со сниженной перфузией почки, вызванной, в том числе, нарушением органного кровотока. Исходное поражение сосудов почек выявляется примерно у 34% пожилых пациентов с сердечной недостаточностью [159].

Патогенез ОПП после операций на сердце, по-видимому, является многофакторным и обусловлен снижением органного кровотока, ишемическим/реперфузионным повреждением, гемолизом (особенно из-за механической травмы эритроцитов насосом и формированием в скоростном потоке зон низкого давления во время искусственного кровообращения) и результатом повреждающего действия переливаемых компонентов донорской крови [79, 94, 157]. Гемолиз приводит к повышению уровня свободного гемоглобина и, в сочетании с повышенным количеством миоглобина в плазме, является независимым предиктором развития повреждения почек после кардиохирургических вмешательств, в том числе, из-за присущих продуктам распада гемоглобина прооксидантных свойств.

Повреждение, связанное с ишемией/реперфузией, сопровождается истощением запасов АТФ в почечной ткани и, как следствие, митохондриальной дисфункцией. В митохондриях нарушается работа дыхательной цепи, образуются свободные электроны, окисляющие биомолекулы, прогрессивно снижается синтез АТФ, замыкая порочный круг и способствуя развитию оксидантного стресса. Выброс избытка активных форм кислорода и активация провоспалительных сигнальных путей (МАРК-киназы и NF-каппа В) нарушают цитоскелет клеток почечных канальцев. События, происходящие в почках, приводят к секвестрации активных нейтрофилов в почечной ткани и замыкают порочный круг дальнейшей генерации АФК [66, 123].

В настоящее время, для диагностики острого почечного повреждения (ОПП) используют критерии RIFLE [49]:

Risk - повышение креатинина сыворотки крови не более, чем на 50% или снижение скорости клубочковой фильтрации менее, чем на 25% от исходных показателей; темп диуреза менее 0,5 мл/кг/ч в течение не менее 6 часов.

Injury: повышение креатинина сыворотки крови не более, чем на 100% или снижение скорости клубочковой фильтрации >50% от исходного уровня; снижение темпа диуреза <0,5 мл/кг/ч в течение не менее 12 часов.

Failure: повышение креатинина сыворотки крови до 300% и выше, или уменьшение скорости клубочковой фильтрации >75% от базового уровня; креатинин сыворотки крови  $\geq 4$  мг/дл (350 мкмоль/л) в случае его резкого повышения; диурез < 0,3 мл/кг/ч в течение не менее 24 часов или анурия в течение 12 ч.

Loss: потребность в заместительной почечной терапии в течение более 4 недель.

End-stage kidney disease: необходимость диализа в течение более 3 месяцев.

Острое повреждение почек может быть разной степени выраженности. Чаще (примерно у 30% пациентов), клиницисты сталкиваются с ОПП легкой или

умеренной степени тяжести (R или I по шкале RIFLE), которое характеризуется увеличением концентрации креатинина в сыворотке крови не более, чем вдвое от исходного значения и может сохраняться в течение нескольких дней. Как правило, подобная ситуация не требует проведения заместительной почечной терапии (не более, чем в 1% случаев) [95]. Тем не менее, отдаленные последствия даже легкого или умеренного повреждения функции почек, как известно на сегодняшний день, могут приводить к формированию длительно сохраняющейся дисфункции почек той или иной степени выраженности [94].

О тяжелом поражении почечной функции (F, L, E по шкале RIFLE) принято говорить в ситуациях, когда уровень сывороточного креатинина стойко повышается более, чем на 300% от исходного и выраженность эндотоксикоза (азотемия) требует проведения сеансов заместительной почечной терапии – гемодиализа. Заместительную почечную терапию (ЗПТ) применяют при тяжелом повреждении почек. На практике чаще наблюдается легкое или умеренное снижение почечной функции, то есть, увеличение концентрации креатинина сыворотки крови, менее, чем на 50%, которое может сохраняться в течение года [121].

## **1.2 Молекулярные механизмы окислительного стресса**

Понятие «окислительный стресс» в большей степени относится к биохимии и представляет определенные трудности для врача клинициста. Однако, без понимания его основ, невозможно определиться ни с патогенезом его повреждающего влияния, ни с возможными путями терапии его последствий.

Под окислительным стрессом подразумевают ситуации несоответствия скорости и количества образования активных форм кислорода с возможностью их инактивации [46]. Или, другими словами, окислительный стресс — это развитие

дисбаланса между функционированием антиоксидантных систем и образующимися активными формами кислорода. АФК — это свободные радикалы, то есть производные от кислорода молекулы с неспаренными электронами, что наделяет их высокой реакционной способностью.

Помимо кислорода, такие молекулы могут образовывать атомы азота или серы, которые, наряду со свободно-радикальными формами кислорода, оказывают прямое или опосредованное повреждающее действие.

#### Основные формы существования АФК:

- супероксид-анион радикал ( $O_2^-$ )
- перекись водорода ( $H_2O_2$ )
- гидроксильный радикал ( $-OH$ )
- пероксинитрит ( $ONOO^-$ )

Основу патогенеза окислительного стресса определяет истощение и/или невозможность адекватного функционирования антиоксидантных систем, призванных обеспечивать защиту клеток от избытка свободных радикалов. В результате пагубного действия обладающих выраженным окисляющим свойством молекул, происходят специфические изменения органелл; возрастает активность внутриклеточных ферментов в целом, и ферментов митохондрий в частности; меняется синтез продуктов клеточного метаболизма. Все это крайне негативно отражается на состоянии клеток, так как образующиеся в избытке свободные радикалы приводят к деструкции и функциональной несостоятельности биологических молекул и клеточных органелл [53].

На сегодняшний день биологам известны несколько механизмов, обуславливающих повреждающий потенциал активных форм кислорода. К ним относятся: перекисное окисление фосфолипидного слоя клеточных мембран и липидов плазмы крови; свободно-радикальное разрушение ДНК клеток и ДНК митохондрий, изменение редокс – потенциала клеток [24].

Поскольку АФК, как и все молекулы, имеющие свободный заряд, неустойчивы и способны стремительно вступать в реакции с образованием новых

(точнее, других) активных форм кислорода, выявить основного «виновника» окислительного стресса не представляется возможным. Изучая пути развития окислительного стресса не выделяют отдельные формы свободно-радикального кислорода, а принимают во внимание все известные варианты окисляющих агентов [147]. Укажем основные из них:

1. Большинство исследователей приписывают основную роль супероксид - анион радикалу, так как именно он образуется в митохондриях клеток при «соскальзывании» электронов в процессе сложного функционирования дыхательной цепи и зачастую является пусковым механизмом развития оксидантного стресса. Однако супероксид достаточно быстро дисмутирует в перекись водорода и эффективно удаляется различными формами супероксиддисмутазы [12, 149].

2. Из-за своих ярко выраженных окислительных свойств, наиболее деструктивным для биологических компонентов считается гидроксильный радикал  $\text{OH}\cdot$ , образующийся из  $\text{O}_2^-$  и перекиси водорода. Условием его синтеза служит наличие ионов переходных металлов. Мощнейшая окислительная способность  $\text{OH}\cdot$  обеспечивает ему возможность повреждать почти все клеточные структуры, то есть лишает его избирательности действия. Продолжительность жизни гидроксильного радикала составляет несколько наносекунд, поэтому он не распространяется более, чем на несколько нанометров от места своего образования. Короткий период жизни не позволяет предполагать, что  $\text{OH}\cdot$  является участником сигнальных путей [84, 137].

3. Перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), с точки зрения наличия неспаренных электронов, не является свободным радикалом, но ее относят к активным формам кислорода из-за наличия, пусть и небольшой, реакционной способности. Будучи наиболее стабильным продуктом восстановления  $\text{O}_2$ , перекись водорода способна длительное время находиться в клетке и продвигаться на достаточно большие расстояния от мест появления. Незначительная окислительная способность  $\text{H}_2\text{O}_2$ , вероятно, обеспечивает ей возможность выполнять функцию сигнальной

молекулы в большей степени, чем разрушать структурные элементы клеток [84, 71, 137].

Таким образом, изучая формирование и влияние на организм оксидантного стресса, необходимо принимать во внимание наличие и активность всех вариантов существования свободно-радикальных форм кислорода, поскольку, быстро вступая в реакции друг с другом и иными биологическими молекулами, изменение содержания одного из них неминуемо отражается на количестве прочих.

Каковыми бы ни были пути накопления свободных радикалов, их количество напрямую зависит от содержания кислорода в клетке. Очевидно, что в клетках тканей с большой скоростью метаболизма (прежде всего, мозг), на фоне снижения содержания кислорода, очень быстро наступает состояние, именуемое гипоксией. В случаях параллельного нарушении доставки питательных субстратов, в результате остановки или недостаточности кровотока, наступает состояние, именуемое ишемией [7, 9].

Необратимые изменения, наступающие вследствие ишемии, развиваются в различных тканях в разные сроки. Так, например, миокард и клетки почек способны пережить эпизод ишемии продолжительностью в минуты, десятки минут, а, при определённых обстоятельствах, до одного часа, тогда как в мозге необратимые деструктивные процессы наблюдаются уже через пару минут сохраняющейся гипоксии, и связаны с освобождением из клеток поврежденного мозга токсичных доз глутамата [46], который, с одной стороны, образуясь в небольшом количестве, обеспечивает сигнальную функцию, а с другой, в высоких, токсических дозах, превращается в «молекулу – убийцу» нейронов, через систему, опосредуемую митохондриями [93].

На сегодняшний день описаны несколько путей катастрофического накопления активных форм кислорода:

1. В условиях нормального содержания кислорода – **нормоксии** – инициация образования свободных радикалов кислорода, способствующая

развитию оксидантного стресса, наблюдается только в клетках, подвергшихся воспалительным изменениям и определяется активизацией фагоцитарных NADPH-оксидазных систем. В таких ситуациях организм не теряет контроль за происходящими негативными процессами и выброс АФК оказывает свое разрушительное действие только на те клетки, на которые нацелен иммунный ответ.

2. «Кислородный взрыв» может генерироваться и в условиях **гипероксии**. Образование АФК при этом обусловлено, как говорят исследователи молекулярной биологии, «ускорением потока электронов в дыхательной цепи митохондрий и увеличением вероятности их утечки на кислород, минуя терминальную оксидазу» [9].

3. В условиях кислородного дефицита – **гипоксии** – в клетках накапливаются продукты патологического метаболизма, которые, после возобновления поступления достаточного количества кислорода в кровотоки, и приводят к массивной генерации АФК. При умеренном снижении содержания кислорода в крови, благодаря «включению» компенсаторных механизмов выживания, в короткие сроки, происходит восстановление функциональной состоятельности элементов дыхательной цепи, особенно в клетках тех тканей, которые не имеют кислородных буферных систем (миоглобин – один из примеров элементов буферной системы) [9, 11]. Следующая за гипоксией реоксигенация, во-первых, приводит к неполному (одноэлектронному) восстановлению кислорода с компонентов дыхательной цепи. Во-вторых, оказывает влияние на ее функциональную состоятельность, фактически, делая дыхательную цепь генератором новых активных форм кислорода из-за сброса электронов на кислород [11].

4. Следует отметить еще один путь генерации АФК – генетический механизм «программы клеточной гибели» [11].

Образование кислорода со свободной валентностью из молекулярного кислорода – реакция первого порядка. В соответствие с химическими законами,

существует прямо пропорциональная зависимость концентрации молекулярного кислорода и количества активных форм кислорода. То есть, чем больше концентрация кислорода, тем больше количество АФК генерируется в тканях. Однако, так происходит только в некотором физиологическом интервале  $pO_2$ , а при достижении «гипоксического минимума», различного для каждой ткани, дальнейшее уменьшение парциального давления кислорода приводит к парадоксальному увеличению концентрации свобод-радикальных форм, что важно учитывать при оценки клинических ситуаций [162]. Данное явление (усиленная генерация АФК в условиях гипоксии) получило название «кислородного парадокса» [11]. Следствием обнаруженного феномена стало понимание того факта, что без соблюдения некоторых профилактических мер, время переносимой ишемии может быть существенно ниже теоретически допустимого.

Цитотоксическое действие активных форм кислорода, когда их количество превосходит компенсаторные возможности антиоксидантных систем и развивается окислительный стресс, обуславливает разрушение структурных элементов клетки и нарушает их функциональную состоятельность. К таким изменениям относятся, прежде всего окислительное повреждение белковых молекул и, входящий в их состав, нуклеиновых кислот, перекисное окисление липидов [84, 137].

Пептидные элементы клетки подвергаются разрушению радикалами кислорода путем окисления аминокислот (цистеина, серина и тирозина). При этом происходят изменение геометрической формы белка, ингибирование функционально активных элементов ферментов и потеря способности взаимодействия с другими белками. При умеренной генерации АФК указанные изменения, подвергшихся окислительному повреждению белков, направлены на сохранение ауторегуляции и активизации сигнальных путей, которые призваны предупреждают клетку о возможной опасности [137].

В условиях повышенной продукции свободных радикалов кислорода, патологическое окисление белковой молекулы способствует почти полной утрате функциональных способностей и, в конечном счете, деградации белка [84, 137].

Процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) инициируется взаимодействием активных форм кислорода с ненасыщенными жирными кислотами, составляющими фосфолипидный слой мембран. Свободный кислородный радикал забирает из молекулы жирной кислоты положительно заряженный атом водорода. В результате образуется новый активный радикал – перекисный радикал жирной кислоты, который в дальнейшем стремится к взаимодействию с другой органической кислотой, образуя новые перекиси жирной кислоты и реакционноспособные молекулы. В результате процесс окисления приобретает характер цепной реакции, и, быстро распространяясь, вовлекает в патогенез все большее количество мембранных липидов. Перекисное окисление липидов способствует значительному усилению окислительного повреждения, еще и потому, что в результате распада гидроперекиси жирных кислот тоже образуются два активных компонента – радикала, каждый из которых запускает новую цепную реакцию свободнорадикального окисления. То есть, накопление агрессивных молекул нарастает в геометрической прогрессии [84].

### **1.2.1 Механизмы клеточной защиты от АФК**

Так как процесс образования активных форм кислорода происходит непрерывно, аэробные организмы, эволюционно, сформировали глубоко эшелонированную систему для защиты от возможных повреждений свободно радикальными молекулами.

В неё входят: антиоксидантные ферменты; низкомолекулярные белковые соединения, образующие редокс – буфер; витамины; альбумины; свободные жирные кислоты и комплексоны ионов металлов [70].

Роль ферментного нейтрализатора активных форм кислорода, образующихся в клетке, принадлежит супероксиддисмутазе (СОД), каталазе и пероксидазе. Супероксиддисмутаза (СОД) инактивирует супероксид ( $O_2^-$ ). Изоформы этого фермента есть в тех внутриклеточных областях, окруженных билипидным слоем мембраны, так называемых клеточных компартментах, где может образовываться супероксид [70]. СОД обеспечивает окислительно-восстановительную реакцию двух атомов супероксида, меняя степень их окисленности, и приводя к синтезу менее агрессивной перекиси водорода и  $O_2$ . Таким образом поддерживается status quo уровня супероксида, образующегося в клетке. Далее, появившаяся в результате окислительно-восстановительной реакции перекись водорода подвергается инаktivации с помощью пероксидаз. Другой способ ее нейтрализации обеспечивает специализированный фермент – каталаза, роль которой в данном процессе ограничена пероксиомами, органеллами, содержащими ферменты. В пероксиомах, кроме пероксидаз, происходит окисление и ненасыщенных жирных кислот [58, 66, 70].

Редокс-буфер или окислительно-восстановительный потенциал клетки, в значительной мере, обеспечивается глутатионом (GSH) и тиоредоксином (TRX). Глутатион (короткий белок – трипептид) обеспечивает поддержание достаточного окислительно-восстановительного потенциала клетки благодаря его способности переходить из своей окисленной формы (GSSG) в восстановленную (GSH) и обратно. Процесс восстановления глутатиона обеспечивается ферментом глутатион-пероксидазой с участием NADPH. В исследованиях биологов было показано, что при массивной выработке активных радикалов кислорода, стремительно снижающееся соотношение GSH/GSSG способно вернуться к исходному показателю в течение 20 – 30 минут. Восполнение восстановленного глутатиона происходит не только благодаря способности к восстановлению ферментами, но и за счет его поступления из депо [149].

Еще один «маленький» белок, обеспечивающий, наряду с глутатионом, сохранение окислительно-восстановительного потенциала – тиоредоксин. Имея в своей структуре дисульфидную связь, тиоредоксин способен восстанавливать дисульфидные связи пептидов, а высвободившиеся в результате этой реакции электроны, обеспечивают работу фермента TRX-пероксидазы. Восстановление TRX осуществляется ферментом тиоредоксин-редуктазой с участием NADPH. Функциональная значимость тиоредоксина определяется исключительно восстановлением окисленных дисульфидных связей цистеина и не участвует в образовании АФК [66, 70, 77].

Среди витаминов, участвующих в процессе нейтрализации свободных форм кислорода, следует отметить антиоксидантную роль токоферолов (витамин E). Способность восстанавливать свободные радикалы обеспечивается имеющейся в составе токоферолов гидроксильной группой, которая, отдавая атом водорода нейтрализует активность радикалов. Являясь жирорастворимыми и находясь в гидрофобном слое мембран, токоферолы восстанавливают свободные радикалы жирных кислот [12, 58].

### **1.2.2 Сигнальная функция АФК**

Очевидно, что образование активных форм кислорода происходит в процессе жизнедеятельности организма если и не непрерывно, то достаточно регулярно, иначе не было бы эволюционной необходимости создавать многоуровневые системы их нейтрализации. Кроме того, биологам и клиницистам давно известно о пагубном влиянии кислородных радикалов. В этой связи, активные формы кислорода несправедливо рассматривались как неизбежные, но исключительно агрессивные агенты, разрушающие структуры клетки. Однако, в результате дальнейшего изучения клетки, «несправедливое» суждение об

активных формах кислорода изменилось. Было обнаружено, что АФК не только являются сигнальными молекулами, но и, благодаря этому, обеспечивают протективный и антиапоптотический эффекты, выживание без которых, было бы затруднительно [9].

Активные формы кислорода являются важнейшими сигнальными молекулами, принимающими участие во множестве воспалительных и стрессовых сигнальных каскадов. Повышение уровня АФК и активация соответствующих сигнальных путей приводит к местным воспалительным реакциям в органах и тканях [71, 75, 132, 188].

На сегодняшний день известны два основных механизма, обеспечивающих эффект сигнальных функций свободно-радикальных форм кислорода: изменение окислительно-восстановительного потенциала клетки (редокс – статуса) и возможности окислительной модификации белков.

Окислительно-восстановительный потенциал клетки реализуется с помощью коротких пептидов – глутатиона и тиоредоксина. Как мы уже указывали ранее (см. «Механизмы клеточной защиты от АФК»), они обладают способностью восстанавливать свободные радикалы, образующиеся в результате взаимодействия АФК с другими биомолекулами, благодаря работе соответствующих ферментов (глутатион-редуктазы и тиоредоксин-редуктазы), возвращающим им восстановительный потенциал [66, 70].

Этот механизм не только способствует инактивации свободных радикалов, но и выполняет сигнальную функцию. Сигнальной меткой может быть уровень восстановленного внутриклеточного глутатиона и динамика соотношения GSH/GSSG. Так, например, падение количества восстановленного глутатиона уменьшает или прекращает связь с ядерной ДНК и проведение сигнала от рецепторов ростовых факторов [178].

В результате окисления пептидов происходят изменения (модификации) их структуры и/или функциональной активности и избирательности. Поврежденные активными радикалами белки тоже выполняют роль сигналов, указывающих на

неблагополучие и необходимость ответных действий, которые строго регламентированы многоуровневой системой контроля. Хорошо изученный и часто цитируемый вариант сигнальной модификации белка – окисление остатков цистеина в третичной, функционально стабильной, структуре пептида. Изменения происходят в тиольной группе (-SH), которая или окисляется (образуются дисульфидные мостики и нарушается конформация белка), или S – глутатионируется [141]. Далее, в зависимости от локализации измененного цистеинового остатка, возможно несколько сценариев развития событий: модифицированный пептид или инактивируется, или теряет способность взаимодействия с ДНК. Окисление цистеина – процесс обратимый [43].

Окисленный тирозин может участвовать в образовании белков димеров и тримеров, в результате чего пептиды утрачивают свои исходные функции. Его окисление с участием  $H_2O_2$  и пероксидазы происходит, например, при синтезе меланина. Окисленные формы тирозина также, предположительно, задействованы в сигнальных механизмах клетки [70].

### **1.2.3 Карбонилированные белки**

Одними из первых молекул, подвергающихся окислительному повреждению, как уже упоминалось выше, являются белки. Их аминокислотные остатки окисляются с образованием карбониллов. В них появляются альдегидные (СОН) или кетонные (СО) группы. Это происходит, например, при непосредственном окислении аминокислотных остатков лизина, аргинина, пролина и треонина. Карбонилирование происходит не только под воздействием непосредственно активных радикалов кислорода. Продукты окисления полиненасыщенных жирных кислот также могут модифицировать белки, образуя белковые карбонилы [65, 50]. Наличие карбонилированных белков является

одним из важнейших маркеров окислительного стресса. Образование карбонилированных участков приводит к функциональному или структурному повреждению белков. Умеренно карбонилированные белки подвергаются деградации протеазами, то есть восстанавливают утраченную состоятельность, а значительно карбонилированные белки образуют нерастворимые агрегаты, которые не могут быть уничтожены протеазами, что приводит к повреждению клеток и тканей [74, 180].

Хорошо известно, что повышенный уровень карбонилированных белков наблюдается при широком круге патологических состояний: при ревматоидном артрите [140], сепсисе, тяжелой политравме [164], остром панкреатите [74, 180], когнитивных нарушениях, предшествующих развитию болезни Альцгеймера [65], а также в результате повреждения «ишемия/реперфузия» [65, 51].

## 1.2.4 Нитротирозин

Еще одна свободно-радикальная молекула – оксид азота (NO). Он синтезируется в нормально функционирующих клетках организма (основной пул оксида азота генерируется эндотелиальными клетками). С одной стороны, являясь реакционно активным, он способствует образованию большого количества новых радикалов и развитию окислительного стресса. С другой, приносит несомненную пользу, принимая участие в регуляции сосудистого тонуса и системного давления, передаче импульсов в центральной и периферической нервной системе, регулируя иммунный ответ, являясь компонентом системы гемостаза и др. Такая неоднозначность отношения к NO, стала причиной активного изучения его роли в жизнедеятельности организма. Известно, что оксид азота обеспечивает свои физиологические эффекты путем активации гуанилатциклазы и синтеза циклического гуанозинмонофосфата [31].

В данной работе оксид азота упоминается из-за свободно-радикальной природы его молекулы, что делает его участником оксидантного стресса. Способность окислять обусловлена присутствием неспаренного электрона у атома азота.

По данным исследователей, продолжительность жизни NO от 5 до 30 секунд [35]. То есть, он или достаточно быстро вступает в контакт со своими внутриклеточными мишенями (например, трипептидами-тиолами), или, в присутствии избыточного количества активных форм кислорода, взаимодействуя с ними, образует пул «новых» АФК, окисляясь до неактивных нитрита и нитрата.

Исходя из сказанного, пути воздействия NO разделяют на прямой и/или косвенный.

Под прямым действием понимают физиологическую работу, обеспечивающую положительные эффекты функционирования оксида азота, что обеспечивается, например, стимуляцией гуанилатциклазы, взаимодействием с металлами, содержащимися в ферментах, с образованием нитрозильных комплексов и др. [12,35].

Под непрямым действием NO подразумеваются химические реакции оксида азота с активными формами кислорода (супероксидом ( $O_2^-$ ) или кислородом). В зависимости от того, в какие реакции и с какими молекулами вступает NO, как отмечает в своих работах Плотников Е.Ю., «развивается либо нитрозилирующий стресс (образование нитрозоаминов, S-нитрозотиолов, дезаминирование оснований ДНК), либо окислительный стресс».

Будучи липофильной молекулой, NO легко проходит сквозь фосфолипидный слой мембраны. Это позволяет ему добираться до своих мишеней не только в местах своей генерации, но и на расстоянии, значительно превышающем размеры клетки [35].

Несмотря на определенные успехи в изучении взаимодействия оксида азота со своими мишенями, вопрос о том, является ли сам NO цитотоксичным, или повреждающим действием обладают только активные продукты его

взаимодействия со свободно-радикальными формами кислорода, остается открытым.

Известно, что NO в клетках-мишенях образует активные промежуточные формы взаимодействия. К ним относятся нитрозоний (NO<sup>+</sup>), нитроксил (NO<sup>-</sup>) и пероксинитрит (ONOO<sup>-</sup>) [35]. По мнению некоторых исследователей, основная цитотоксическая роль продуктов взаимодействия NO, принадлежит пероксинитриту – ONOO<sup>-</sup> - продукту взаимодействия оксида азота с супероксидом кислорода (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Это связано с тем, что пероксинитрит является самой нестабильной молекулой среди всех свободно-радикальных продуктов метаболизма NO [40]. Пероксинитрит вступает в реакцию с различными биологическими молекулами клетки: аминокислотными остатками белков, липидами, нуклеиновыми кислотами и низкомолекулярными антиоксидантами. Было показано, что после ишемии/реперфузии он образуется в миокарде и в дальнейшем поступает в кровоток [137], интенсивно нитрозилируя белки и, возможно, продуцирует чрезвычайно агрессивный гидроксил – радикала (•OH). OH• ответственен за многие явления, формирующие оксидантный стресс.

Другой сценарий дальнейшего окислительного каскада оксида азота – нитрозилирование белков по остаткам тирозина. Данный процесс осуществляется ONOO<sup>-</sup> [79]. Такое развитие событий тоже приводит к катастрофическим функциональным нарушениям, так как полученный продукт взаимодействия ингибирует фосфорилирование тирозина, лишая функциональной состоятельности внутриклеточные сигнальные пути. При реакции пероксинитрита с аминокислотным остатком тирозина, входящим в состав разнообразных белков, образуется нитротирозин, что позволяет считать его индикатором патологического окисления NO при различных клинических состояниях.

Пероксинитрит способен окислять митохондриальный цитохром C, в результате чего цитохром теряет свою состоятельность и не может поддерживать движение электронов в дыхательной цепи [35].

Справедливости ради, следует сказать, что несмотря на пристальное внимание биологов к окисляющим свойствам оксида азота, имеется достаточно

информации и о цитопротекторном действии NO [40]. На основании имеющихся данных, понятен тот факт, что определяющими эффектом NO факторами, являются его концентрация, активность сигнальных путей, окислительно-восстановительный потенциал клетки и, особенно, наличие избыточного количества активных форм кислорода. Так, например, можно предполагать, что в физиологических или близких к физиологическим условиям функционирования клетки, нитрированный цитохром С участвует в некоторых сигнальных процессах. В последнее время высказываются предположения, что избирательное нитрозилирование некоторых белков носит позитивный (регуляторный) характер, напоминающий фосфорилирование [79].

На сегодняшний день существуют единичные исследования, демонстрирующие повышение содержания нитротирозина в плазме крови пациентов во время кардиохирургических операций [120]. Однако и этот факт нельзя признать бесспорным, так как ряд исследователей, напротив, описывают снижение уровня нитротирозина как во время, так и сразу после искусственного кровообращения [49]. Связь этих изменений с послеоперационными осложнениями и неблагоприятными исходами не изучалась.

Таким образом, окислительный стресс является одним из звеньев патогенеза различных заболеваний, в том числе, сердечно-сосудистой системы.

В результате дизокии, неизбежно возникающей у пациентов кардиохирургического профиля, обусловленной и нарушением гемодинамики до операции, и обедненным кровотоком во время операции, происходит выработка и накопление большого количества активных форм кислорода. Результатом этого становятся многочисленные нарушения: истощается окислительно-восстановительный потенциал клеток; страдает функционирование цитозольных и митохондриальных ферментов; нарушаются процессы клеточного метаболизма; деструкции подвергаются органеллы; меняется активность сигнальных белков, вызывая активацию провоспалительных и проапоптических сигнальных путей [55]; токсичные субстанции влияют на клеточные функции факторов роста, цитокинов, и других молекул [183].

Пожалуй, наиболее яркая вспышка генерации активных форм кислорода наблюдается в результате гипоксии с последующей реоксигенацией, неминуемо сопровождающей весь периоперационный период в кардиохирургии [183, 99].

## ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Общая характеристика больных

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

Обследованы 67 взрослых пациентов, госпитализированных в отделение кардиохирургической реанимации ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (Москва) (Таблица 1), в период с сентября 2015 года по март 2016 года. Всем пациентам, соответствующим критериям включения/исключения и подписавшим информированное согласие, присваивался порядковый номер, и они автоматически включались в исследование.

**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	–	–

**Критерии включения:**

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

### Критерии исключения:

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

## **2.2 Анестезия и интенсивная терапия**

Все пациенты проходили плановое обследование и подготовку к операции. Накануне операции больные прекращали прием гипотензивных препаратов и антикоагулянтов, сокращали кардиотропную терапию, сохраняя прием бета-блокаторов, аспирина и статинов. Премедикация состояла из в/м введения диазепама в дозе 10 мг.

Индукция анестезии осуществлялась внутривенным введением пропофола в дозе  $2,2 \pm 0,9$  мг/кг, затем внутривенным введением фентанила в дозе 4 мкг/кг/час.

Поддержание ингаляционной анестезии в период до и после искусственного кровообращения осуществлялась севофлураном в дозе примерно 1 МАК. BIS поддерживался на уровне 40–55. По необходимости осуществлялось введение фентанила в дозе  $3,4 \pm 1,0$  мкг/кг/ч. Среднее артериальное давление поддерживалось в пределах 80–120% от исходного уровня.

В период проведения ИК осуществлялась инфузия пропофола в дозе  $4,5 \pm 0,5$  мг/кг/ч и фентанила в дозе 10 мкг/кг/ч.

Во время операции всем больным осуществляли мониторинг жизнеобеспечивающих параметров:

1. ЭКГ в 5 отведениях с подсчетом ЧСС, анализом характера ритма, аритмий и девиаций сегмента ST аппаратом IntelliVue MP 60 (Philips, Нидерланды);

2. Артериальное давление неинвазивным и инвазивным методом аппаратом IntelliVue MP 60 через катетер, установленный в лучевой или бедренной артерии;
3. Показатели сердечной деятельности - ЦВД, ДЛА, ДЗЛА, СВ с использованием катетера Свана-Ганца;
4. Плетизмография с пульсоксиметрией аппаратом IntelliVue MP 60;
5. Показатели внешнего дыхания и легочной механики (ДО, Рпик, Pcp, МОД, комплайнс) аппаратом Dräger Primus (Dräger Medical AG & Co. KG, Германия);
6. Состав газонаркотической смеси (FiO<sub>2</sub>, EtCO<sub>2</sub>, Etanesth) анализирующим блоком аппарата ИВЛ Dräger Primus;
7. Биспектральный индекс аппаратом BIS Vista (Aspect Medical Systems, США);
8. Термометрия (назофарингеальная);
9. Церебральная оксиметрия аппаратом Invos Oximeter (Somanetics, США);
10. Время активированного свертывания аппаратом Mini II (Helena Laboratories, США);
11. Общий анализ крови аппаратом Advia 60 (Siemens, США) и газовый состав артериальной и смешанной венозной крови аппаратом ABL 800 FLEX (Radiometer, Дания) каждые 30 минут.

Искусственное кровообращение проводилось с использованием аппарата Jostra HL20 с мембранным оксигенатором в режиме умеренной гипотермии (32°C) и расчетной скоростью перфузии 2,4–2,6 л/мин. Для кардиopleгии использовался раствор Custodiol. Во время ИК среднее артериальное давление поддерживалось в пределах 70–90 мм. рт. ст. В случаях его снижения меньше указанных значений, осуществлялась инфузия норэпинефрина. Доза вводимого норэпинефрина не различалась значимо между группами.

#### Алгоритм назначения добутамина:

Добутамин в стартовой дозе 5 мкг/кг/мин назначали в случае снижения сердечного индекса (СИ) менее 2,5 л/мин/м<sup>2</sup> при условии адекватной анестезии и отрицательном результате пробы с волемиической нагрузкой. Контролируя

динамику 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 л/мин/м<sup>2</sup>.

#### Алгоритм назначения норэпинефрина:

В случае снижения среднего АД до 65 мм. рт. ст. и ниже, на фоне нормоволемии и адекватной инотропной поддержки (нормальном значении СИ) начинали инфузию норадреналина в стартовой дозе с 0,02 мкг/кг/мин и изменяли 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.

## **2.3 Диагностика исследуемых осложнений**

**Системная воспалительная реакция (СВР)** определялась по критериям, предложенным «American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference» [33]. Для постановки диагноза считали необходимым наличие как минимум 2 критериев из разделов «общие и гемодинамические показатели» (см стр. 26).

**Критерием острой сердечной недостаточности (ОСН)** считался сердечный индекс (СИ) менее 2,2 л/мин/м<sup>2</sup> при давлении заклинивания легочной артерии (ДЗЛА) не менее 14 мм. рт. ст. и сатурации смешанной венозной крови менее 60%. Учитывалась потребность в инфузии инотропных препаратов (эпинефрин, добутамин) в дозе, эквивалентной 5 мкг/кг/мин и более добутамина, на протяжении не менее 6 часов после операции.

Шкала вазопрессорно-инотропной поддержки определялась по формуле:

$IS = \text{добутамин (мкг/кг/мин)} + \text{допамин (мкг/кг/мин)} + 100 \times \text{эпинефрин (мкг/кг/мин)}$ .

**Острое почечное повреждение (ОПП)** диагностировали по критериям RIFLE [46, 115], учитывая степень выраженности почечной дисфункции.

## 2.4 Методы исследования

Уровень карбонилированных белков определяли на следующих этапах:

1. карбонилы I — уровень карбонилированных белков после индукции анестезии;
2. карбонилы II — уровень карбонилированных белков после окончания операции;
3. карбонилы III — уровень карбонилированных белков через 24 часа после окончания операции;
4. карбонилы IV — уровень карбонилированных белков через 72 часа после окончания операции.

Уровень нитротирозина определяли на следующих этапах:

1. нитротирозин I – уровень нитротирозина после индукции анестезии;
2. нитротирозин II – уровень нитротирозина после окончания операции;
3. нитротирозин III – уровень нитротирозина через 24 часа после окончания операции;
4. нитротирозин IV – уровень нитротирозина через 72 часа после окончания операции.

Кровь получали путем пункции локтевой вены и помещали в пробирки, содержащие ЭДТА. Непосредственно после перемещения в пробирки пробы

центрифугировали с ускорением 1500g в течение 20 минут. Плазма сохранялась при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа.

#### Определение уровня карбонилированных белков

Уровень карбонилированных белков в плазме крови был измерен методом спектрофотометрии. После осаждения белков плазмы с равным объемом 1%-ной трихлоруксусной кислоты, осадок ресуспензировали в 10 мМ ДНФГ (динитрофенилгидразин) в 2N HCl, или с помощью 2N HCl в качестве контрольной заготовки. Гранулы промывали три раза смесью 1:1 этанол/этилацетат и конечный осадок растворяли в 6M гидрохлорида гуанидина. Содержание карбонильной группы определяли по оптической плотности при длине волны 370 нм с коэффициентом экстинкции  $22000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . Общую концентрацию белка определяли по поглощению при 280 нм, используя стандартные кривые для бычьего сывороточного альбумина. Результаты выражали в виде нмоль карбонильных групп на миллиграмм белка плазмы [151].

#### Определение уровня нитротирозина

Уровень нитротирозинов определялся методом твердофазного иммуоферментного анализа ELISA [43].

Анализ проводили в 96-луночных пластинках, покрытых нитро-БСА иммобилизованным антигеном. Строилась стандартная кривая при инкубации исследуемого материала в лунках с последовательным разбавления нитро-БСА в течение 2 часов при  $37^{\circ}\text{C}$  с последующей промывкой. Инкубации проводились с биотинилированным анти-IgG кролика. После дальнейшей промывки, развитие цвета инициировали добавлением специального субстрата и через 30 минут останавливали добавлением 4,0 мл серной кислоты. Антитела связывания определяли оптическую плотность при 490 нм. Концентрации ингибирующих нитрированные белки анти-IgG были оценены по стандартной кривой как нитро-БСА эквиваленты. Данные для стандартных кривых рассчитывались с

использованием программного обеспечения "Эльзевир" (Кембридж, Великобритания).

Анализ 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).

## 2.5 Статистический анализ

Предварительно, для оценки нормальности распределения величин, количественные параметры анализировались на нормальность распределения тестами Лиллиефорса и Шапиро-Уилка. Для сравнения тех параметров, которые не имели нормального распределения, применялся U-критерий Уитни-Манна.

Для оценки качества маркеров ранних послеоперационных осложнений применялась 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 соотношению чувствительности и специфичности критериев:

- требование максимальной суммарной чувствительности и специфичности модели (индекс Юдена), т.е.  $\text{Cut off} = \max (\text{Se} + \text{Sp})$ ;

- требование баланса между чувствительностью и специфичностью, т.е. когда  $\text{Se} \sim \text{Sp}$ :  $\text{Cut off} = \min |\text{Se} - \text{Sp}|$  (где  $\text{Cut off}$  — пороговое значение,  $\text{Se}$  — чувствительность,  $\text{Sp}$  — специфичность).

Предпочтение отдавалось второму из приведенных критериев.

Для анализа динамики показателей с распределением, отличным от нормального, применялся ранговый дисперсионный анализ по Фридмену с апостериорным анализом с использованием непараметрического теста Вилкоксона. Средние значения нормально распределенных количественных параметров представлены средним арифметическим со стандартным отклонением ( $M \pm \sigma$ ). Параметры, которые не соответствовали нормальному распределению представлены 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).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Периоперационная динамика маркеров окислительного стресса у обследованных больных.

#### 3.1.1. Динамика содержания в крови больных карбонилированными 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.

### **3.1.2. 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]

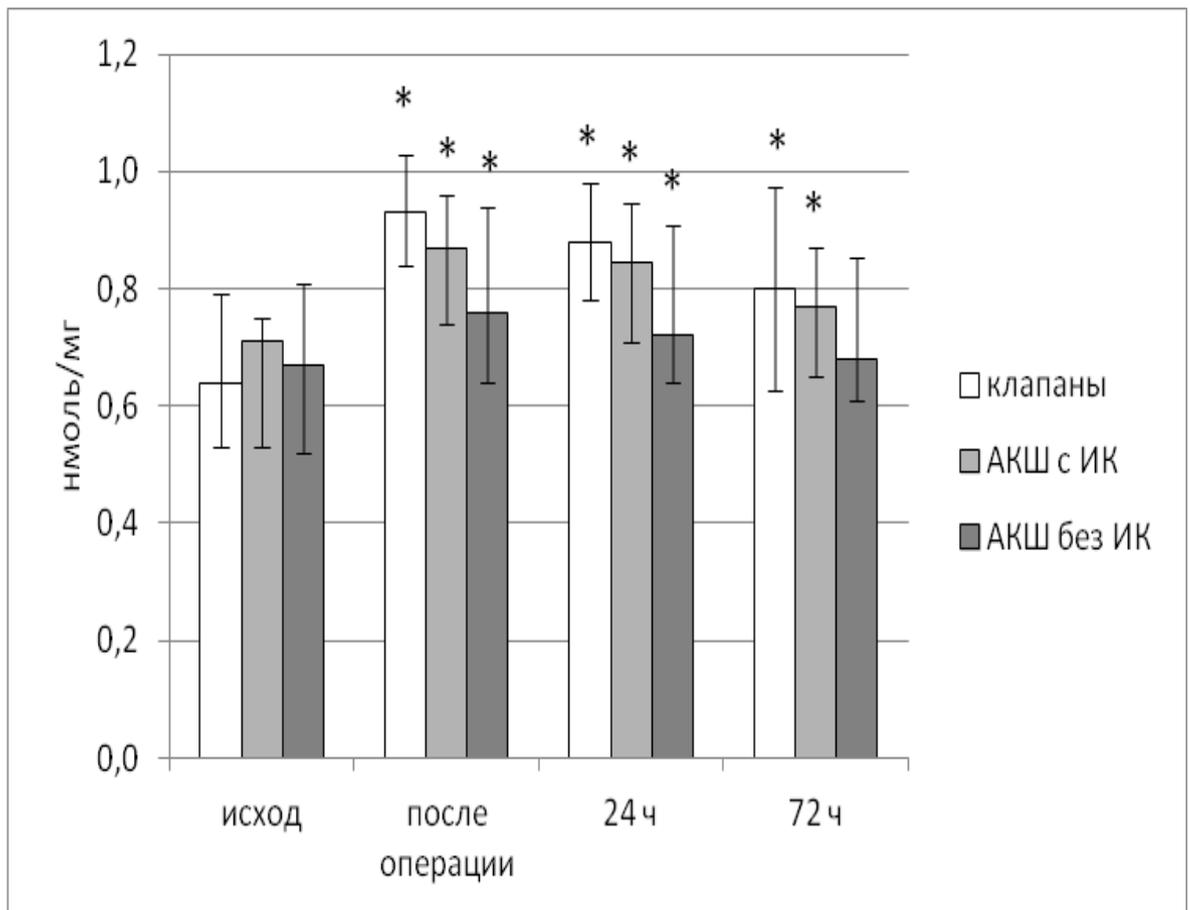
Примечание: данные представлены медианой и [межквартильным интервалом];

### **3.2. Периоперационная динамика маркеров окислительного стресса при различных видах кардиохирургических операций**

#### **3.2.1. Динамика содержания в крови больных карбонилированных белков при различных видах оперативных вмешательств**

Опера

ции 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**

Примечание: Карбонилы I – уровень карбонилированных белков после индукции анестезии; Карбонилы II – уровень карбонилированных белков после окончания операции; Карбонилы III – уровень карбонилированных белков через 24 часа после окончания операции; Карбонилы IV – уровень карбонилированных белков через 72 часа после окончания операции; Знаком \* – обозначены значимые различия по отношению к исходу. I – межквартильный интервал.

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

Показатель	Значение, нмоль/мг		
	клапаны	АКШ без ИК	АКШ с ИК
Карбонилов после индукции	0,64 [0,53 - 0,79]	0,67 [0,52 - 0,81]	0,71[0,53 - 0,75]
Карбонилов через час после операции	0,93 [0,84 - 1,03]*	0,76 [0,64 - 0,94]*	0,87[0,78-0,94]*
Карбонилов через 24 часа после операции	0,88 [0,78 - 0,98]*	0,72 [0,64 - 0,91]*	0,84[0,74-0,91]*
Карбонилов 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 карбонилов в плазме крови на момент окончания операции составил 0,93 [0,83;1,03] нмоль/мг, что на 45% ( $p < 0,01$ ) 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 карбонилов 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 подвергшиеся 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  $139 \pm 33$  мин в группе больных с протезированием клапанов и  $141 \pm 38$  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).

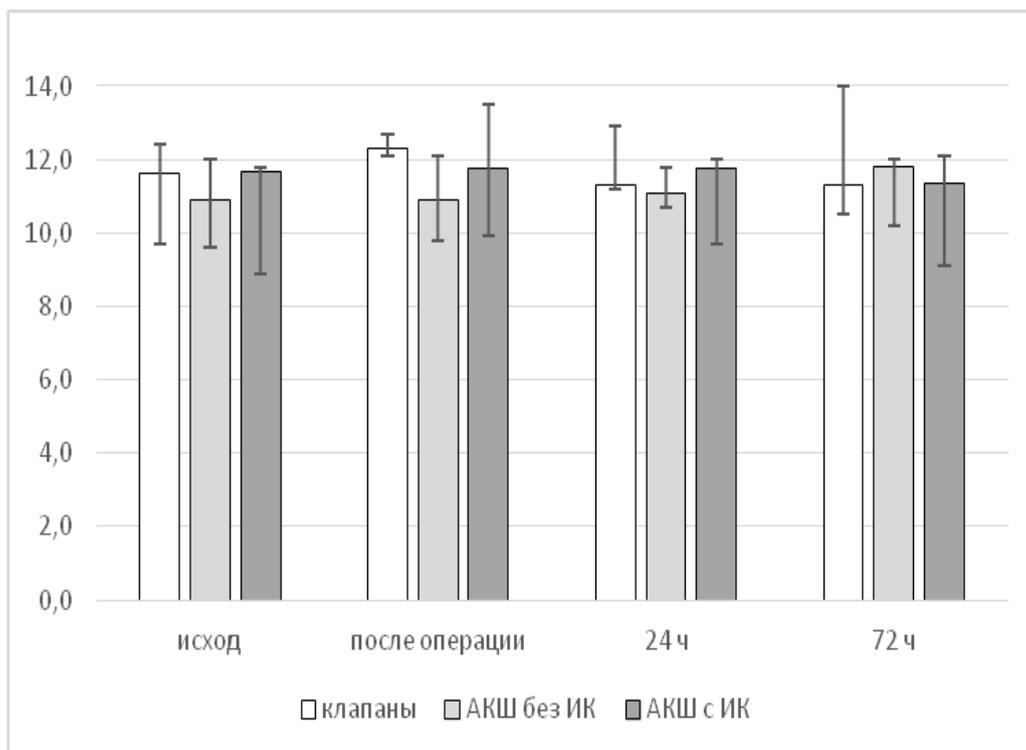
Пиковое значение карбонилированных белков, определенных через час после операции (Карбонилы II), после протезирования клапанов сердца было несколько выше, чем у пациентов после АКШ без ИК:  $p=0,04$ . Однако это отличие не было выраженным и к следующему этапу исследования нивелировалось. Вместе с тем, 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.

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

Далее, в таблице 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 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];

### **3.3. 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.

#### **3.3.1. 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 (см. главу 2).

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 значимая ( $p > 0,1$ ). 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 значимая ( $p > 0,1$ ). 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 значимая ( $p > 0,05$ ). Среднее частота развития СН в когорте – 46% (Таблица 8).

**Таблица 8. Частота развития ранних послеоперационных осложнений**

Осложнения	СВР (52%)	ОПП (33%)	СН (46%)	Общая частота осложнений
Операции на клапанах	71%	47%	65%	89%
АКШ с ИК	45%	32%	52%	79%
АКШ без ИК	48%	24%	24%	67%

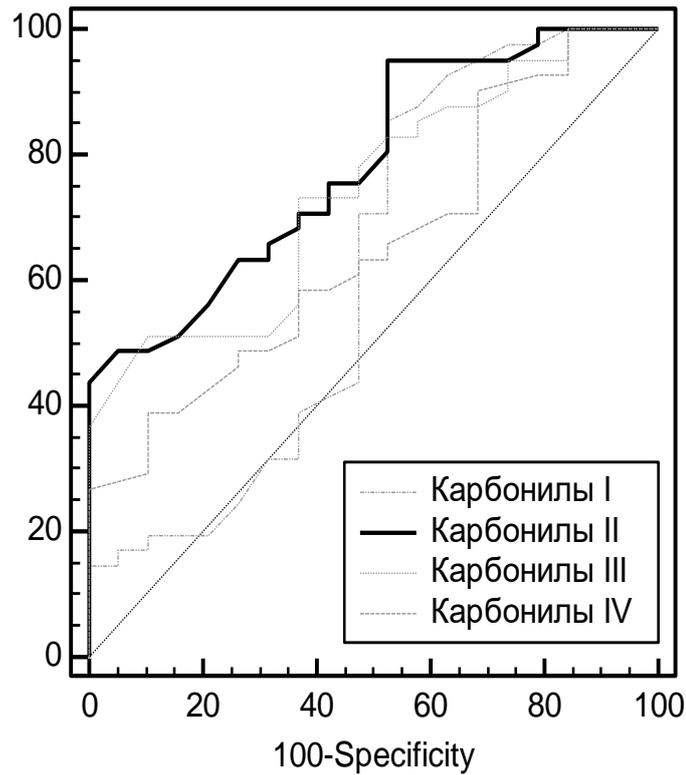
Общая частота осложнений - композитный исход (СВР и/или ОПП и/или ОСН) среди обследованных больных составила 78%.

### **3.3.2. 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 9) 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 4. ROC-кривые для всех исследуемых осложнений**

**Таблица 9. 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,  $p < 0,05$ ) (Таблица 8).

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».

Точка Cut Off для всех изученных послеоперационных осложнений (системная воспалительная реакция, острое почечное повреждение и острая сердечная недостаточность) была определена по балансу между чувствительностью и специфичностью, т.е. когда они приблизительно равны (около 61%), что составило 0,85 - 0,87 нмоль/мг (Таблица 10).

**Таблица 10. 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

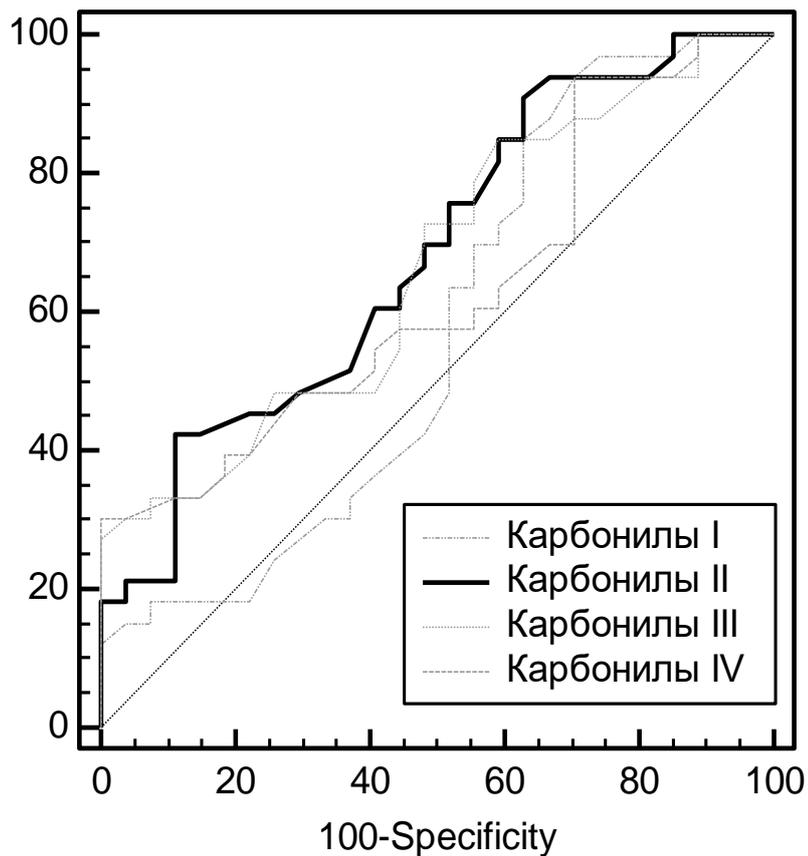
Примечание: р – значимость по отношению к AUC = 0,5

***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.

На рисунке 5 представлен ROC - анализ прогностической значимости карбонилированных пептидов в развитии системной воспалительной реакции (SIRS) в раннем послеоперационном периоде.

Прогностические возможности показали Карбонилы II (площадь под кривой 0,682) в отношении развития СВР. При определении точки cut-off, оказалось, уровень карбонилов 0,85 нмоль/мг белка с чувствительностью 59,28 % и специфичностью 58,62 % предсказывает развитие системной воспалительной реакции в раннем послеоперационном периоде (Рисунок 5).



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

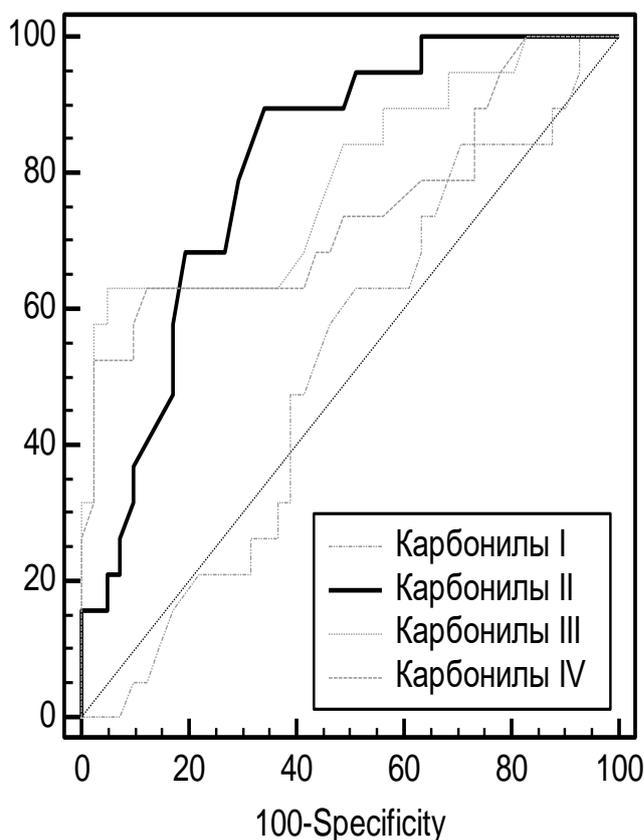
***Карбонилированные пептиды и острое почечное повреждение.***

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).

На рисунке 6 представлен ROC-анализ прогностической значимости изученных параметров окислительного стресса (карбонилированных пептидов) в качестве предикторов развития ОПП в раннем послеоперационном периоде.

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.



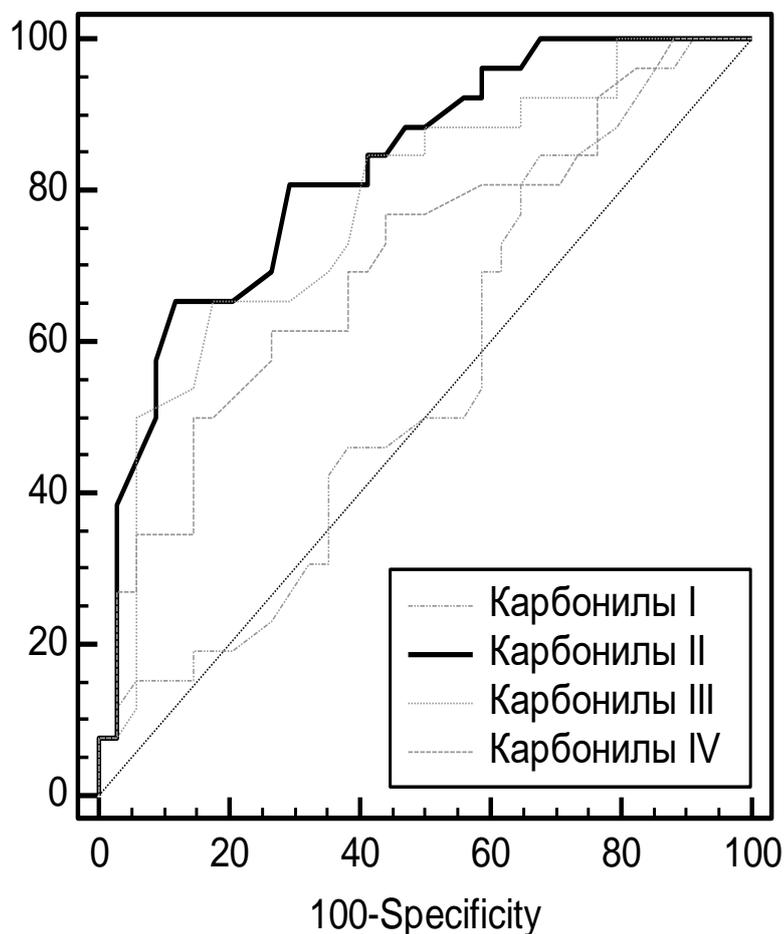
**Рисунок 6. ROC – анализ прогностической значимости карбонилированных пептидов для острого почечного повреждения**

***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).



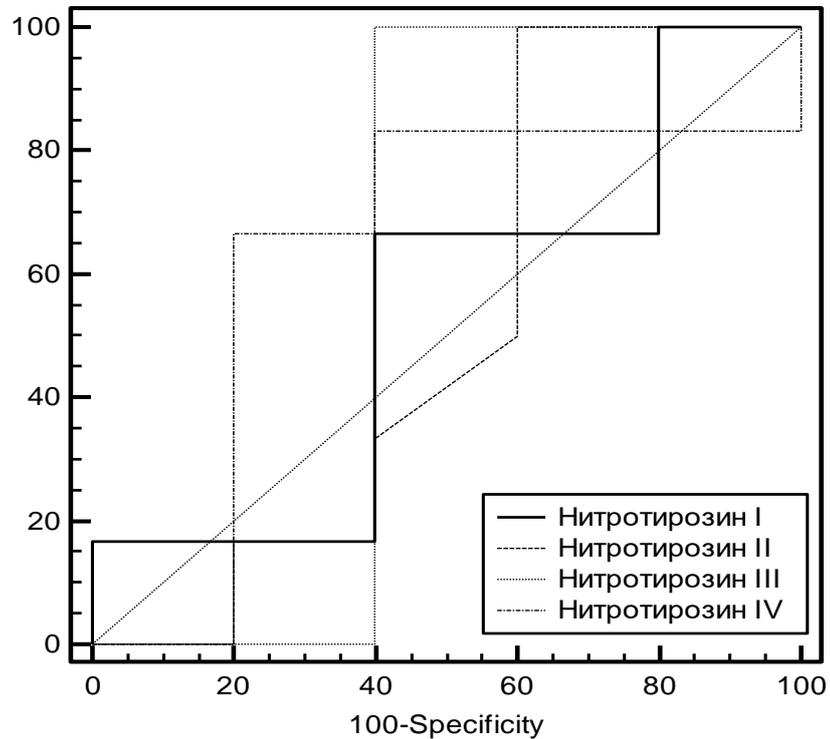
**Рисунок 7. ROC анализ прогностической значимости карбонилированных пептидов в качестве предикторов развития ОСН**

### **3.3.3. 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 11 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**

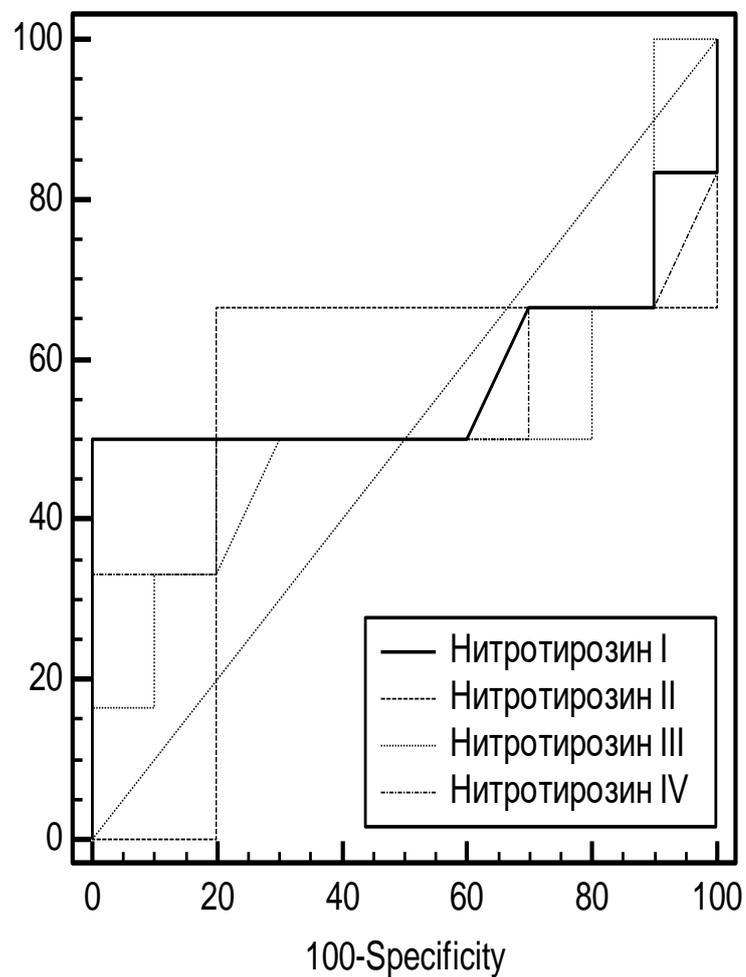
**Таблица 11. Прогностическая значимость нитротирозина в качестве предиктора СВР на всех этапах исследования**

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 12, 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**

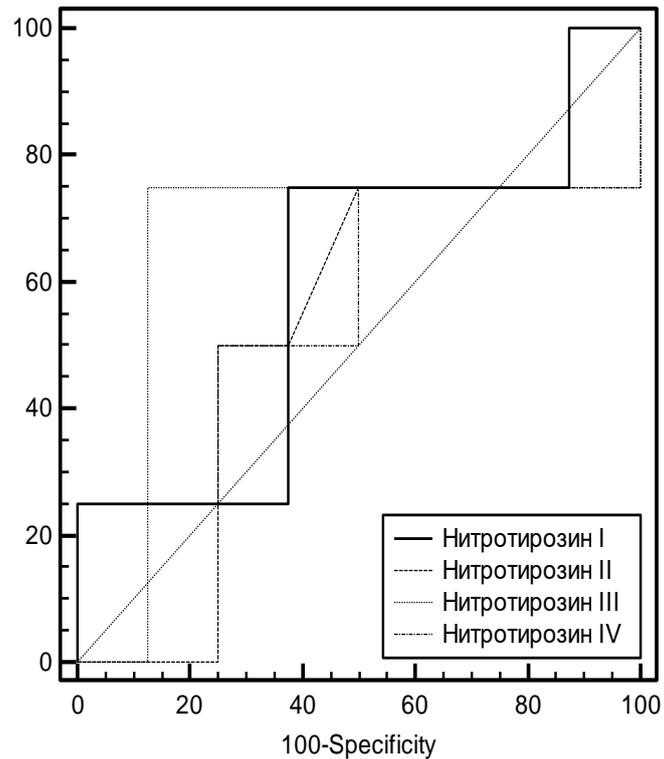
**Таблица 12. Прогностическая значимость нитротирозина в качестве предиктора ОПН на всех этапах исследования**

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 13 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 13. Прогностическая значимость нитротирозина в качестве предиктора ОН 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.

## Заключение

Итак, в процессе проведения настоящего исследования установлена значимая корреляция уровня карбонилированных пептидов в плазме крови, и частоты развития послеоперационных осложнений (СВР, ОПН и ОСН) в кардиохирургии.

Ранее уже было известно, что операции на сердце повышают уровень карбонилированных белков [65, 50]. Однако в доступной литературе не было данных о наличии корреляции их увеличения в раннем послеоперационном периоде с развитием осложнений и ростом неблагоприятных исходов в кардиохирургии. Отсутствие таких данных, возможно, объясняется малой выборкой пациентов (10–20 человек) в цитируемых исследованиях [119, 164].

Известно, что карбонилированные белки являются продуктом патологического метаболизма при дизоксии и отражают выраженность окислительного стресса [65]. В настоящем исследовании впервые убедительно продемонстрирована важная роль окислительного стресса в генезе изучаемых осложнений у выбранных категорий больных.

Нами установлено, что наиболее информативен показатель уровня карбониллов, измеренный сразу после окончания операции.

Ранее, S. Du et al., в исследовании 2015 [71], предпринимали попытку проследить возможную взаимообусловленность ОС и острого почечного повреждения. О степени выраженности ОС авторы судили по динамике «концентрации конечных продуктов окисления белков» (advanced oxidation protein products (AOPP)). Исследование было проведено у 162 пациентов после кардиохирургических операций с ИК. В результате было показано, что уровень AOPP 69,9 ммоль/л, измеренный через 1 час после операции, предсказывает вероятность развития ОПП с чувствительностью 74% и специфичностью 63%. В нашем исследовании AUC для ОПП составил 0,810, что несколько лучше результата, полученного для AOPP в цитируемом исследовании.

Следует отметить, что АОРР и карбонилированные белки — не идентичные понятия [52]. Последние (карбонилы) могут образовываться как в результате непосредственного взаимодействия аминокислот с активными формами кислорода, так и в результате множественных непрямых реакций с другими окисленными биомолекулами. Вероятно, по этой причине белковые карбонилы оказываются более перспективными маркерами – предикторами не только ОПШ, но и других послеоперационных осложнений в кардиохирургии, что позволяет предположить универсальный характер влияния окислительного стресса на частоту развития послеоперационных осложнений в кардиохирургии.

Проведенное исследование не выявило преимуществ техники «off pump» по сравнению с методикой «on pump» при выполнении АКШ. Выраженность окислительного стресса оказалась сопоставимой в обеих изучаемых группах («с» и «без» применения аппарата искусственного кровообращения). Не различались методики и по частоте развития изучаемых осложнений. Данное наблюдение подтверждает ранее неоднократно высказываемое мнение об отсутствии преимуществ техники «АКШ без ИК» [160] и переоценки негативной роли искусственного кровообращения (по крайней мере, в исследованном временном диапазоне длительности ИК) в развитии ОС.

Выраженность ОС оказалась значимо выше у пациентов с протезированием клапанов сердца (т.е. при выполнении кардиотомии), чем у пациентов с изолированным вмешательством на венечных артериях. Статистический анализ не подтвердил различий степени повышения уровня карбонилированных белков в зависимости от продолжительности ИК между сравниваемыми группами.

Проведенное исследование имеет прямое практическое применение: определение уровня карбонилов в плазме крови в первый час после операций на сердце является хорошим предиктором развития СВР, ОПН и ОСН. Полученные данные позволяют рекомендовать определение карбонилированных пептидов, измеренных сразу после окончания операции, с целью прогнозирования возможных осложнений раннего послеоперационного периода.

Изучение уровня нитротирозина у пациентов, оперированных на сердце и сосудах, не выявило его значимой динамики на всех этапах послеоперационного периода. Не оправдалась его прогностическая значимость и как предиктора мультиорганной недостаточности после кардиохирургических операций.

Как уже упоминалось ранее, активные формы азота (АФА), которым является NO и продукты его окисления, привлекают внимание многих исследователей, но, на сегодняшний день, о них имеются очень противоречивые данные, а отсутствие ясного представления о метаболизме АФА, приводит к разнообразию трактовок механизмов его повреждающего действия

Так, в упомянутом выше исследовании Matata VM и соавторов [120], было показано более чем двукратное повышение количества нитротирозина после индукции анестезии перед началом ИК. Данные изменения сохранялись не более одного часа и далее, к исходу второго часа интраоперационного периода, уровень нитротирозина возвращался к исходным значениям. Исследование было выполнено на небольшой когорте пациентов (20 человек), которым выполнялось АКШ, как с ИК, так и без него. В цитируемое исследование вошли пациенты с неосложненным течением ИБС, которым были выполнены операции с наложением не более 2 шунтов и длительностью ишемии миокарда после пережатия аорты не более 35 минут, длительность ИК не превышала 70 минут. Учитывая непродолжительные периоды искусственного кровообращения, авторы предположили, что в исследованных наблюдениях источником нитротирозинов являлись не активированные нейтрофилы, активация которых занимает, скорее всего более протяженный временной интервал, а эндотелиоциты — вторые по значимости, после нейтрофилов, источники оксида азота. В обсуждениях результатов исследования высказывалось предположение, что, возможно, процесс инициируется экзогенным гепарином, который также может выступать опосредованным индуктором синтеза NO из-за оказываемого влияния на мембрану эндотелиоцитов [46].

В ситуации отсутствия четкого понимания механизма повреждающего действия NO представляются важными данные об ингибировании индуцибельной

синтез азота оксида азота (i-NOS) митохондриальной цитохромоксидазы, что нарушает работу дыхательной цепи митохондрий и приводит к генерации избыточного количества АФК, падению производства АТФ, окислению кардиолипидов внутренней мембраны митохондрий и прогрессированию окислительного стресса. [58, 181]. Нарушение работы дыхательной цепи митохондрий приводит к «соскакиванию» свободных электронов и, как следствие, к образованию активного кислорода, который, взаимодействуя с NO, и образует агрессивный пероксинитрит. Тирозин (нитротирозины являются продуктом взаимодействия пероксинитрита с тирозином) — это лишь одна из многих точек приложения пероксинитрита. Возможно, основное повреждающее действие принадлежит другим продуктам патологического метаболизма NO.

То есть, из выше сказанного следует, что относительно кратковременное повышение уровня NO в условиях наличия избыточного количества АФК может являться пусковым механизмом ОС, причем, повреждающим действием обладают не столько сам NO, сколько последующие метаболиты, увеличивающие число активных форм кислорода в геометрической прогрессии.

Возможно, с подобной ситуацией мы встретились и в настоящем исследовании: NO, наряду с иными механизмами, запустил ОС и исчез, до того, как мы предприняли попытку обнаружить его на этапе окончания операции. Таким образом, полученные результаты не опровергают важную роль NO в развитии ОС, но исключают нитротирозины из числа претендентов на роль предиктора органной дисфункции в раннем послеоперационном периоде.

## **Ограничения исследования**

Мощность исследования оказалась достаточной для подтверждения важной роли продуктов окислительного стресса в определении вероятности послеоперационных осложнений в кардиохирургии. Однако, наличие

корреляционной связи *средней* степени между выраженностью ОС и частотой развития СВР, ОПН и ОСН может свидетельствовать о том, что ОС является важным, но не единственным механизмом, приводящим к развитию осложнений в раннем послеоперационном периоде в кардиохирургии. Иные механизмы, потенциально способные повлиять на частоту развития ранних осложнений, в настоящей работе не изучались.

Кроме того, вывод об отсутствии различий в степени выраженности ОС и частоте развития СВР, ОПН и ОСН у пациентов с двумя сравниваемыми методиками АКШ, нуждается в оговорке: работа выполнена в ограниченном временном диапазоне ИК, возможно, при увеличении продолжительности искусственного кровообращения могли бы быть получены иные результаты (рис. 1, 2).

## 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 0,826;  $p < 0,0001$ ) и острого почечного повреждения (площадь под ROC-кривой 0,810;  $p < 0,0001$ ). 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.

## **Перспективы дальнейшей разработки темы**

На сегодняшний день существуют ограничения определения уровня карбонилированных пептидов. Данное исследование осуществляется только в лабораториях научно-исследовательских институтов физико-химической биологии. В перспективе возможна разработка тест-системы определения уровня карбониллов в плазме крови доступной для клиницистов.

Кроме того, полученное в результате данной исследовательской работы понимание механизмов повреждающего воздействия окислительного стресса, неминуемо развивающегося, в той или иной степени выраженности, у всех кардиохирургических пациентов, позволит определить пути поиска фармакологического средств для предотвращения или нивелирования повреждающего действия активных форм кислорода.

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АД – артериальное давление

АКШ – аорто-коронарное шунтирование

АФК – активные формы кислорода

АФА – активные формы азота

ДЗЛА – давление заклинивания легочной артерии

ДЛА – давление в легочной артерии

ДИ – доверительный интервал

ЗПТ - заместительная почечная терапия

ИК – искусственное кровообращение

ИБС – ишемическая болезнь сердца

МПНП – митохондриальная пора неспецифической проницаемости

ОСН – острая сердечная недостаточность

ОПП – острое почечное повреждение

ОПН – острая почечная недостаточность

ОС – оксидантный стресс

ПИТ – палата интенсивной терапии

ПОБ - продукты окисления белков

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПОН – полиорганная недостаточность

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СВ – сердечный выброс

СВР – системная воспалительная реакция

СИ – сердечный индекс

СМСВ – синдром малого сердечного выброса

СН – сердечная недостаточность

СО – стандартная ошибка

ФП – фибрилляция предсердий

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЦВД – центральное венозное давление

## Список литературных источников

1. Авдеева, М.Г. Патогенетические механизмы инициации синдрома системного воспалительного ответа (обзор литературы) / М.Г. Шубич // Клиническая лабораторная диагностика. — 2003. — № 6. — С. 3–9.
2. Александрова, Ю.Н. О системе цитокинов / Педиатрия. — 2007. — № 3. — С. 125–127.
3. Ашиткова, Н.В. Эффективность препарата рекомбинантного интерлейкина 2 человека в терапии неонатального сепсиса и тяжелых неонатальных инфекций / Н.Н. Володин, М.В. Дегтярева и др. // Педиатрия. — 2009. — № 3. — С. 80–86.
4. Афанасьева, А.Н. Синдромы эндогенной интоксикации и системного воспалительного ответа: общность и различия / И.Н. Одинцова, В.В. Удут // Анестезиология и реаниматология. — 2007. — № 4. — С. 67–71.
5. Бандажевский, Ю.И. Роль бактериальных липополисахаридов в провоцировании иммунного конфликта в системе мать–плод // Архив патологии. — 1989. — № 51. — С. 77–79.
6. Воеводин, Д.А. Цитокиногормональные взаимодействия: положение об иммуноэндокринной регуляторной системе / Г.Н. Розанова // Педиатрия. — 2006. — № 1. — С. 94–102.
7. Гребенчиков, О.А. Молекулярные механизмы развития и адресная терапия синдрома ишемии-реперфузии / В.В. Лихванцев, Е.Ю. Плотников и др. // Анестезиология и реаниматология. — 2014. — № 3. — С. 59–67.
8. Дегтярева, М.В. Роль интерлейкина 1 и фактора некроза опухолей у новорожденных детей в норме и патологии / Д.Н. Дегтярев, Н.Н. Володин и др. // Педиатрия. — 1996. — № 1. — С. 93–96.
9. Зоров, Д.Б. Активные формы кислорода и азота: друзья или враги? / С.Ю. Банникова, В.В. Белоусов и др. // Биохимия. — 2005. — Т. 70, №45. — С. 215–221.
10. Зоров, Д.Б. Митохондрия как многоликий Янус / Н.К. Исаев, Е.Ю. Плотников // Биохимия. — 2007. — Т. 72. — С. 1371–1384.

11. Зоров, Д.Б. Феноптозная проблема: от чего гибнет организм? Уроки по почечной недостаточности / Е.Ю. Плотников, С.С. Янкаускас и др. // Биохимия. — 2013. — Т.77№7. — С. 893 – 906.
12. Колпаков, И.Е. Системный воспалительный ответ (обзор) / Д.Е. Афанасьев // Новые медицинские технологии. — 2003. — № 5–6. — С. 70–75.
13. Кузин, М.И. Синдром системного ответа на воспаление // Хирургия. — 2000. — № 2. — С. 53–59.
14. Куценко, Е.В. Системный воспалительный ответ в случаях гнойно-воспалительного процесса и неинфекционного воспаления. Сходство и различие // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. — 2001. — № 26. — С. 46–54.
15. Левит, Д.А. Острое катаболическое состояние при синдроме системного воспалительного ответа различной этиологии. Попытка клинического анализа / И.Н. Лейдерман // Вестник интенсивной терапии. — 2006. — № 2. — С. 9–14.
16. Лейдерман, И.Н. Синдром полиорганной недостаточности (ПОН). Метаболические основы (Лекция. Часть1) // Вестник интенсивной терапии. — 1999. — № 2.
17. Лихванцев, В.В. Неспецифический делирий в отделении интенсивной терапии и реанимации // Анестезиология и реаниматология. — 2015. — Т.60, №2. — С.55–59.
18. Лихванцев, В.В. Анестетическое прекондиционирование: Почему данные, полученные в эксперименте, не всегда подтверждаются в клинике? / О.А. Гребенчиков, Е.А. Шмелева и др. // Вестник Анестезиологии и Реаниматологии. — 2013. — Т.10, №4. — С. 9–14.
19. Малов, В.А. Медико-биологические аспекты проблемы интоксикации в инфекционной патологии / С.Г. Пак // Терапевтический архив. — 1992. — № 11. — С. 7–11.
20. Медвинский, И.Д. Тяжелый гестоз с позиции синдрома системного воспалительного ответа / В.Н. Серов, Л.Н. Юрченко и др. // Вестник интенсивной терапии. — 2003. — № 1. — С. 19–26.

21. Мороз, В.В. Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии–реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии / Д.Н. Силачев, Е.Ю. Плотников и др. // Общая реаниматология. – 2013. – Т. IX. № 1. – С. 63–72
22. Недоспасов, А.А. Биогенный NO в конкурентных отношениях // Биохимия. – 1998. – Т.63№7. – С. 881–904.
23. Пирогов, Ю.А. Новое поколение Скулачев–ионов обладающих выраженным нефро– и нейропротекторным действием / Н.К. Исаев, Д.Б. Зоров // Биохимия. – 2010. – Т.75,№2.– С. 177–184.
24. Плотников, Е.Ю. Митохондрии как центральное звено повреждающих и защитных сигнальных путей при развитии почечной недостаточности // Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук, Москва. – 2009.
25. Плотников, Е.Ю. Нейропротекция в кардиохирургии / Д.Н. Силачев, А.А. Чупыркина и др. // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2014. – Т.1,№2.– С.4–7.
26. Плотников, Е.Ю. Новое поколение Скулачев–ионов обладающих выраженным нефро– и нейропротекторным действием / Д.Н. Силачев, А.А. Чупыркина и др. // Биохимия. – 2013. – Т.75,№2. – С. 177–184.
27. Потапов, А.Л. Синдром системного воспалительного ответа и антиэндотоксиновый иммунитет после операций на органах брюшной полости // Клінічна хірургія. — 2008. — № 1. — С. 22–24.
28. Савельев, В.С. Сепсис в начале XXI века / Б.Р. Гельфанд // — М.: Литтерра, 2006.
29. Шано, В.П. Варианты лечения критических состояний с учетом патогенеза SIRS–синдрома системного воспалительного ответа / Ф.И. Гюльмамедов, А.Н. Нестеренко и др. // Анестезиология и реаниматология. — 1997. — № 6. — С. 48–53.
30. Шубич, М.Г. Адгезивные межклеточные взаимодействия / М.Г. Авдеева, А.Д. Вакуленко // Архив патологии. — 1997. — № 59. — С. 4–8.

31. Albina, J.E. Role of nitric oxide in mediation of macrophage cytotoxicity and apoptosis / J.S. Reichner // *Cancer Metastasis Rev.* – 1998. – Vol.17. – P. 39–53.
32. Alston, R.P. Pump head or not! Does avoiding cardiopulmonary bypass or coronary artery bypass surgery result in less brain damage? // *Br. J. Anaesth.* – 2005. – Vol.94. – P.699–701.
33. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis // *Crit Care Med.* Vol.992, №20. – P.864–874
34. Amit, X. Kidney Function After Off–Pump or On–Pump Coronary Artery Bypass Graft Surgery A Randomized Clinical Trial / P. J. Garg, S.Salim et al // *JAMA.* – 2014. – Vol. 311№21. – P.2191–2198.
35. Andrews, D. T. L–arginine cardioplegia reduces oxidative stress and preserves diastolic function in patients with low ejection fraction undergoing coronary artery surgery / J. Sutherland, P. Dawson et al. // *Anaesthesia and Intensive Care/* – 2013. – Vol. 40, №1. – P. 99–106.
36. Angelini, G.D. Early and midterm outcome after off–pump and on–pump surgery in beating heart against cardioplegic arrest studies (BHACAS 1 and 2): a pooled analysis of two randomised controlled trials / F.C. Taylor, B.C. Reeves // *Lancet.* – 2002. – Vol.359. – P. 1194–1199.
37. Arthur, J. S. C. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity / S. C. Ley // *Nature Reviews Immunology* – 2013. – Vol. 13, № 9 - P. 679–692.
38. Arvola, O. Remote Ischemic Preconditioning Attenuates Oxidative Stress during Cardiopulmonary Bypass. / H. Haapanen, J. Herajärvi et al. //
39. *Heart Surg Forum* – 2016. – Vol. 23, № 4 – P. 192.
40. Ascione, R. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass / C.T. Lloyd, M.J. Underwood et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2000. – Vol.69. – P. 1198–1204.
41. Asimakopoulos, G. Lung injury and acute respiratory distress syndrome after cardiopulmonary bypass / P.L. Smith, C.P. Ratnatunga et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 1999. – Vol.68. – P.1107–1115.

- 42.** Ball, L. Postoperative complications of patients undergoing cardiac surgery / F. Costantino, P. Pelosi // *Current Opinion in Critical Care*. – 2016. – Vol.4., №22. – P. 386–392.
- 43.** Barrett, W.C. Roles of superoxide radical anion in signal transduction mediated by reversible regulation of protein–tyrosine phosphatase 1B / J.P. DeGnore, Y.F. Keng et al. // *J Biol Chem*. – 1999. – Vol. 274. – P. 343–346.
- 44.** Bartels, K. Perioperative Organ Injury / J. Karhausen, E. Clambey et al. // *Anesthesiology*. – 2013. – Vol.119, №6. – P. 1474–1489.
- 45.** Basile, D.P. The endothelial cell in ischemic acute kidney injury: implications for acute and chronic function // *Kidney Int*. – 2007. – Vol.72, №2. – P.151–156.
- 46.** Barzegar, Amiri Oliaand New reagents for detecting free radicals and oxidative stress / C. H. Schiesser, M. K. Taylor // *Organic & Biomolecular Chemistry*. – 2014. – Vol. 12 – P. 6757–6766.
- 47.** Baufreton, C. J. Inflammatory response and hematological disorders in cardiac surgery: toward more physiological cardiopulmonary bypass / J. Corbeau, F. Pinaud // *Annales Francaises d’Anesthesie et de Reanimation* – 2006. –Vol. 25, №5. – P. 510–520.
- 48.** Bayram, H. Comparison of the effects of pulsatile cardiopulmonary bypass, non–pulsatile cardiopulmonary bypass and off–pump coronary artery bypass grafting on the respiratory system and serum carbonyl / D. Erer, E. Iriz et al. // *Perfusion*. – 2013. – Vol. 27. – P. 378–385.
- 49.** Bellomo, R. Acute Dialysis Quality Initiative (2004). Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double–edged sword? / C. Ronco, J. Kellum et al. // *J. Clin. Invest*. – 1985. – Vol.76. – P.1713–1719.
- 50.** Benveniste, H. Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis / J. Drejer, A. Schousboe et al. // *J. Neurochem*. – 1984. – Vol.43, №5. – P.1369–1413.

51. Braz, M. G. Comparison of oxidative stress in ASA physical status I patients scheduled for minimally invasive surgery under balanced or intravenous anesthesia / L. G. Braz, J. R. Braz et al. // *Minerva Anesthesiologica* – 2013. - Vol. 79, № 9 - P. 1030–1038.
52. Capeillere–Blandin, C. Biochemical and spectrophotometric significance of advanced oxidized protein products / V. Gausson, B. Descamps–Latscha et al. // *Biochim Biophys Acta*. – 2004. – Vol. 1689. – P. 91–102.
53. Cadenas, E Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity / H. Sies // *Adv. Enzyme Regul.* 1985; 23: 217–37.
54. Cai, H. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. The role of oxidant stress / D.G. Harrison // *Circ. Res.* – 2000. – Vol.87. – P.840–844.
55. Callister, M.E. Extracellular thioredoxin levels are increased in patients with acute lung injury / A. Burke–Gaffney, G.J. Quinlan et al. // *Thorax*. – 2006. – Vol. 61, №6. – P. 521–527.
56. Carrier, M. L–arginine supplemented nondiluted blood cardioplegia: a clinical trial / L.P. Perrault, A. Fortier et al. // *Journal of Cardiovascular Surgery*. – 2010. – Vol.51, №2. – P. 283–287.
57. Cason, B.A. Anesthetic–induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits / A.K. Gamperl, R.E. Slocum et al. // *Anesthesiology*. – 1997 – Vol.87. – P.1182–1190.
58. Cavalca, V. Oxidative stress and nitric oxide pathway in adult patients who are candidates for cardiac surgery: patterns and differences / E. Tremoli, B. Porro et al. // *Interactive Cardio– Vascular and Thoracic Surgery*. – 2013. – Vol.17, №6. – P. 923–930.
59. Chaudhari, N. A molecular web: endoplasmic reticulum stress, inflammation, and oxidative stress / P. Talwar, A. Parimisetty et al. // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2014. – Vol. 8. – P.165–172.
60. Chello, M. Inhibition of neutrophil apoptosis after coronary bypass operation with cardiopulmonary bypass / P. Mastroberto, A. Quirino et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2002. – Vol.73. – P. 123–130.

61. Cleveland, J.C. Off pump coronary artery bypass grafting decrease risk-adjusted mortality and morbidity / A.L. Shroyer, A.Y. Chen et al. // *Ann. Thorac. Surg.* –2001. – Vol.72. – P.1282–1289.
62. Cox, C.M. Effect of cardiopulmonary bypass on pulmonary gas exchange: a prospective randomised study / R. Ascione, A.M. Cohen et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2000. – Vol.69. – P.140–145.
63. Crompton, M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death // *Biochem. J.* – 1999. – Vol. 341 (Pt 2). – P. 233–49.
64. Dabbous, A. The inflammatory response after cardiac surgery / C. Kassas, A. Baraka // *Middle East Journal of Anesthesiology.* – 2003. – Vol. 17, №2. – P. 233–254.
65. Dalle-Donne, I. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression / G. Aldini, M. Carini et al. // *J Cell Mol Med.* – 2006. – Vol.10. – P.389–406.
66. Daly, R. C. Fifty years of open heart surgery at the Mayo Clinic / J. A. Dearani, G.A. Mc Gregor et al. // *Mayo Clinic Proceedings.* – 2005. – Vol. 80, № 5. – P.636–640.
67. Devarajan, P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury // *Journal of the American Society of Nephrology.* – 2006. – Vol. 17.№6. – P.1503–1520.
68. Diegeler, A. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: a comparison of limited approach, “off-pump” technique, and conventional cardiopulmonary bypass / N. Doll, T. Rauch et al. // *Circulation.* – 2000. – Vol.102. – P. 95–100.
69. Doyle, A.R. Treatment of perioperative low cardiac output syndrome / A.K. Dhir, A.H. Moors et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 1995. – Vol.59. – P.3–11.
70. Droge, W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* – 2002. – Vol.82. – P. 47–95.
71. Du, S. Advanced oxidation protein products in predicting acute kidney injury following cardiac surgery / X. Zeng, J. Tian et al. // *Biomarkers.* – 2014. – 20 (3), 206–211.

- 72.** Edmunds, L. H. Cardiopulmonary bypass after 50 years // *The New England Journal of Medicine*. – 2004. – Vol. 351. – P. 1603–1606.
- 73.** Eriksson, H.I. Levosimendan facilitates weaning from cardiopulmonary bypass in patients undergoing coronary artery bypass grafting with impaired left ventricular function / J. R. Jalonen, L.O. Heikkinen et al. // *Annals of Thoracic Surgery*. – 2009. – Vol. 87, №2. – P. 448–454.
- 74.** Esterbauer, H. (1991) Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes / R. Schaur, H. Zollner // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1991. – Vol. 11. – P. 81–128
- 75.** Fleury, C. Mitochondrial reactive oxygen species in cell death signaling / B. Mignotte, J.L. Vayssiere // *Biochimie*. – 2002. – Vol.84. – P. 131–141.
- 76.** Fowler, A.A. Adult respiratory distress syndrome: risk with common predispositions / R.F. Hamman, J.T. Good et al. // *Ann. Intern. Med.* – 1983. – Vol.98. – P.593–597.
- 77.** Fridovich, I. Superoxide radical and superoxide dismutases // *Annu. Rev. Biochem.* – 1995. – Vol.64. – P. 97–112.
- 78.** Gadaleta, D. Neutrophil leukotriene generation increases after cardiopulmonary bypass / A. L. Fahey, M. Verma et al. // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 1994. – Vol.108, №4. – P. 642–647.
- 79.** Gerritsen, W. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: oxidative stress and renal function / W. van Boven, A. Driessen et al. // *Eur J Cardiothorac Surg*. – 2001. – Vol.20. – P. 923–929.
- 80.** Ghorbel, M.T. Changes in renal medulla gene expression in a pre-clinical model of post cardiopulmonary bypass acute kidney injury / N.N. Patel, M. Sheikh et al. // *BMC Genomics*. – 2014. – Vol. 15, №1. – P.118–129.
- 81.** Gonenc, A. Free radical reaction products and antioxidant capacity in beating heart coronary artery surgery compared to conventional bypass / A. Hacisevki, H. Griffiths et al. // *Biochemistry (Mosc)*. – 2013. – Vol. 76. – P.677–685

- 82.** Green, T. R. Specificity and properties of propofol as an antioxidant free radical scavenger / I. S. R. Bennett, V. M. Nelson // *Toxicology and Applied Pharmacology*. – 1994. – Vol. 129, №1. – P. 163–169.
- 83.** Groeneveld, Johan A.B. Mechanism of pulmonary dysfunction after on–pump and off–pump cardiac surgery: a postoperative cohort study / K. Jansen Evert // *Journal of cardiothoracic surgery*. – 2007. – Vol.2. – P.235–239.
- 84.** Gupta, R.K. Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review / A.K. Patel, N. Shah // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2014. – Vol. 15. – P. 4405–4409.
- 85.** Gu, Y.J. Increased neutrophil priming and sensitization before commencing cardiopulmonary bypass in cardiac surgical patients / P. Schoen, I. Tigchelaar, B.G. Loeff et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 2002. – Vol.74. – P.1173–1179.
- 86.** Halestrap, A. P. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion—a target for cardioprotection / S. J. Clarke, S. A. Javadov // *Cardiovascular Research*. – 2004. – Vol. 61, №3. – P. 372–385.
- 87.** Hatemi, A.C. Oxidant Status following Cardiac Surgery with Phosphorylcholine-Coated Extracorporeal Circulation Systems. / K. Çeviker, A. Tongut et al. // *Oxid Med Cell Longev*. – 2016. – Epub Nov 23.
- 88.** Hawkins, C. Generation and propagation of radical reactions on proteins / M. Davies // *Biochim Biophys Acta*. – 2001. – Vol. 1504. – P. 196–219.
- 89.** Honda, H. M. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury / P. Korge, J. N. Weiss // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2005. – Vol.1047. – P. 248–258.
- 90.** Hu, Q. Critical role of NADPH oxidase–derived reactive oxygen species in generating Ca<sup>2+</sup> oscillations in human aortic endothelial cells stimulated by histamine / Z.X. Yu, V.J. Ferrans et al. // *J. Biol. Chem.* – 2002. – Vol.277. – 32546–32551.
- 91.** Hunter, D.R The Ca<sup>2+</sup>–induced membrane transition in mitochondria. I. The protective mechanisms / R.A. Haworth // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1979. – Vol.195. – P. 453–459.

- 92.** Isaev, N.K. The role of mitochondria in oxidative and nitrosative stress during ischemia/reperfusion in the rat kidney / V.I. Kirpatovsky, D.B. Zorov // *Kidney Int.* – 20013. – Vol.72. – P. 1493–1502.
- 93.** Isaev, N.K. Neurotoxic glutamate treatment of cultured cerebellar granule cells induces  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent collapse of mitochondrial membrane potential and ultrastructural alterations of mitochondria / D.B. Zorov, E. V. Stelmashook et al. // *FEBS Lett.* – 2015 – Vol.392. – P.143–147.
- 94.** Ishani, A. The magnitude of acute serum creatinine increase after cardiac surgery and the risk of chronic kidney disease, progression of kidney disease, and death / D. Nelson, B. Clothier et al. // *Arch. Intern Med.* – 2011.–Vol.171, №3. – P.226–233.
- 95.** Javanmard, S.H. The effect of melatonin on endothelial dysfunction in patient undergoing coronary artery bypass grafting surgery. / K. Heshmat-Ghahdarijani, M. Mirmohammad-Sadeghi et al. // *Adv Biomed Res.* – 2016. – Vol. 28, № 5 – P. 174.
- 96.** Jonventre, J.V. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? / A. Zuk // *Kidney International.* – 2004. – Vol. 66, №2. – P. 480–485.
- 97.** Juhaszova, M. Protection in the aged heart: preventing the heart – break of old age? / C. Rabuel, D.B. Zorov et al. // *Cardiovasc. Res.* – 2005. – Vol.66,№2. – P.233–244.
- 98.** Juhaszova, M. Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore / D.B Zorov, S.H. Kim et al. // *J. Clin. Invest.* – 2004. – Vol. 113. – P.1535–1549.
- 99.** Kamata, H. Reactive oxygen species promote  $\text{TNF}\alpha$ -induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases / S.-I. Honda, S. Maeda, L. Chang et al. // *Cell.* – 2005. – Vol. 120, №5. – P. 649–661.
- 100.** Karkouti, K. Transfusion and risk of acute kidney injury in cardiac surgery // *British Journal of Anaesthesia.* – 2014. –Vol. 109, №1. – P. 29–33.
- 101.** Kawahito, K. Enhanced responsiveness of circulatory neutrophils after cardiopulmonary bypass: increased aggregability and superoxide producing capacity / E. Kobayashi, M. Ohmori et al. // *Artificial Organs.* – 2000. – Vol. 24, № 1. – P. 37–42.

- 102.** Kellum, J.A. for the KDIGO AKI Guideline Work Group. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1) / N. Lameire // *Crit. Care.* – 2013. – Vol.17, №1. – P.204.
- 103.** Kennedy, E. Cognitive Outcome After On- and Off-Pump Coronary Artery Bypass Grafting Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis / C. Kevin, C. Choy et al. // *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia.* – 2013. – Vol.27, №2. – P.253–265.
- 104.** Kerr, S. Superoxide anion production is increased in a model of genetic hypertension: role of the endothelium / M.J Brosnan, M. McIntyre et al. // *Hypertension.* – 1999. – Vol.33. – P.1353–1358.
- 105.** Kim, Y. M. Association of atrial nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity with the development of atrial fibrillation after cardiac surgery / H. Kattach, C. Ratnatunga et al. // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2008. – Vol. 51, №1. – P. 68–74.
- 106.** Kirklin, J. Postoperative care / B. Barrat-Byes // *En: Kirklin J. Cardiac surgery.* 2 ed New York: Churchill Livingstone. – 1993. – P. 195– 247.
- 107.** Kokita, N. Propofol improves functional and metabolic recovery in ischemic reperfused isolated rat hearts / A. Hara, Y. Abiko et al. // *Anesthesia and Analgesia.* – 1998. – Vol. 86, №2. – P. 252–258.
- 108.** Kowaltowski, A.J. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress / R.F. Castilho, A.E. Vercesi // *FEBS Lett.* – 2015 – Vol.495. – P. 12–15.
- 109.** Kroemer, G. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis / B. Dallaporta, M. Resche-Rigon // *Annu. Rev. Physiol.* – 1998. – Vol. 60. – P. 619–642.
- 110.** Lamb, N.J. Oxidative damage to proteins of bronchoalveolar lavage fluid in patients with acute respiratory distress syndrome: evidence for neutrophil-mediated hydroxylation, nitration, and chlorination / J.M.C. Gutteridge, C. Baker et al. // *Critical Care Medicine.* – 1999. – Vol. 27, № 9. – P. 1738–1744.
- 111.** Lamy, A. CORONARY Investigators. Off-pump or on-pump coronary-artery bypass grafting at 30 days / P. Devereaux, D. Prabhakaran et al. // *N Engl J Med.* – 2013. – Vol.368, №16. – P. 1489–1497.

- 112.** Lamy, A. CORONARY Investigators. Effects of off-pump and on-pump coronary-artery bypass grafting at 1 year / P.J.Devereaux, D. Prabhakaran et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 368, №13. – P.1179–1188.
- 113.** Landoni, G. Mortality reduction in cardiac anesthesia and intensive care: results of the First International Consensus Conference / J. Augoustides, F. Guarracino et al. // *Acta Anaesthesiol Scand.* – 2013. – Vol.55. – P.259–266
- 114.** Lazzarino, G. Myocardial release of malondialdehyde and purine compounds during coronary bypass surgery / P. Raatikainen, M. Nuutinen et al. // *Circulation.* – 1994. – Vol.90. – P. 291–297.
- 115.** Levin, R.L. The Calcium Sensitizer Levosimendan Gives Superior Results to Dobutamine in Postoperative Low Cardiac Output Syndrome / M. A. Degrange R., Porcile et al. // *Rev. Esp. Cardiol.* – 2008. – Vol.61, №5. – 471–479.
- 116.** Levy, J. Intravenous milrinone in cardiac surgery / J. Bailey, G. Deeb // *Ann. Thorac. Surg.* – 2002. – Vol.73. – P.325–330.
- 117.** Levy, J.H. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass / K.A. Tanaka // *The Annals of Thoracic Surgery.* 2003. – Vol. 75, № 2. – P.715–720.
- 118.** Li, C. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury R.M. Jackson // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2002. – Vol. 282. – P.227–241.
- 119.** Lomivorotov, V. New-onset atrial fibrillation after cardiac surgery: pathophysiology, prophylaxis, and treatment / S. Efremov, E. Pokushalov et al. // *J Cardiothorac Vasc Anesth.* – 2016. – Vol.30. – P.200–216.
- 120.** Lopez Farre, A. Heart failure, redox alterations, and endothelial dysfunction / S. Casado // *Hypertension.* – 2001. – Vol. 38. – P.1400–1405
- 121.** Mao, H. Cardiac surgery associated acute kidney injury / N. Katz, W. Ariyanon et al. // *CardioRenal. Medicine.* – 2013. – Vol. 3, № 3. – P. 178–199.
- 122.** Matata, B.M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation / A.W. Sosnowski, M. Galinanes // *Ann. Thorac .Surg.* – 2000. – Vol.69. – P. 785–791.

- 123.** Menasche, P. Free radicals and myocardial protection: a surgical viewpoint / A. Piwnica // *Ann Thorac Surg.* – 1989. – Vol.47. – P. 939–945.
- 124.** Meredith, A.J. Circulating biomarker responses to medical management vs. mechanical circulatory support in severe inotrope-dependent acute heart failure. / D.L. Dai, V. Chen et al. // *ESC Heart Fail* – 2016. – Vol. 3 – P. 86-96.
- 125.** McDonald, C. Low preoperative selenium is associated with post-operative atrial fibrillation in patients having intermediate-risk coronary artery surgery. / K. Shekar, A. Clarke et al. // – 2016. – Vol. 70 – P. 1138-1143.
- 126.** Mitchell, P. Chemiosmotic hypothesis of oxidative phosphorylation / J. Moyle // *Nature.* – 1967. – Vol. 213. – P. 137–139.
- 127.** Montaigne, D. Mitochondrial dysfunction as an arrhythmogenic substrate: a translational proof-of-concept study in patients with metabolic syndrome in whom post-operative atrial fibrillation develops / X. Marechal, P. Lefebvre et al. // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2013. – Vol. 62, №16. – P. 1466–1473.
- 128.** Murkin, J.M. Beating heart surgery: Why expectless central nervous system morbidity / W.D. Boyd, S. Ganapathy et al. // *Ann. Thorac. Surg.* – 1999. – Vol.68. – P.1498–1501.
- 129.** Murphy, M.P. Targeting antioxidants to mitochondria by conjugation to lipophilic cations / R. A. J Smith // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* – 2007. – Vol. 47. – P. 629–656.
- 130.** Murphy, P.G. The antioxidant potential of propofol (2, 6– diisopropylphenol) D. S. Myers, M. J. Davies et al. // *British Journal of Anaesthesia.* – 1992. – Vol. 68, №6. – P. 613–618.
- 131.** Murry, C.E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / R.B. Jennings, K.A. Reimer // *Circulation.* – 1986. – Vol.74. – P.1124–1136.

- 132.** Nabeebaccus, A. NADPH oxidases and cardiac remodeling / M. Zhang, A.M. Shah // *Heart Failure Reviews*. – 2013. – Vol.16, №1, P. 5–12.
- 133.** Nashef, S. EuroSCORE II / F. Roques, L. Sharples et al. // *Eur J Cardiothorac Surg*. – 2012. – Vol.41. – P.734–745.
- 134.** Nedospasov, A. An autocatalytic mechanism of protein nitrosylation / R. Rafikov, N. Beda et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. – 2000. – Vol.97. – P.13543–13548.
- 135.** Niu, Z.–Z. Perioperative levosimendan therapy is associated with a lower incidence of acute kidney injury after cardiac surgery: a meta– analysis / S.–M. Wu, W.–Y. Sun et al. // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2014. – Vol. 63, №2. – P. 107–112.
- 136.** Ng, C.S. “Limiting inflammatory response to cardiopulmonary bypass: pharmaceutical strategies / Wan S. // *Current Opinion in Pharmacology*. – 2012. – Vol.12, № 2. – P.155–159.
- 137.** Noctor, G. The metabolomics of oxidative stress / C. Lelarge–Trouverie, A. Mhamdi // *Phytochemistry*. – 2014. – Vol.112. – P.33–53.
- 138.** Nowicki, R. The estimation of oxidative stress markers and apoptosis in right atrium auricles cardiomyocytes of patients undergoing surgical heart revascularization with the use of warm blood cardioplegia / J. Saczko, J. Kulbacka et al. // *Folia Histochemica et Cytobiologica*. – 2010. – Vol. 48, №2. – P. 202–207.
- 139.** Ohara, Y. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production / T.E. Peterson, D.G. Harrison // *J. Clin. Invest*. – 1993. – Vol.91. – P.2546–2551.
- 140.** Orhan, G. Effects of N–acetylcysteine on myocardial ischemia–reperfusion injury in bypass surgery / N. Yapici, M. Yuksel et al. // *Heart and Vessels*. – 2006. – Vol. 21, №1. – P. 42–47.
- 141.** Orosz, J. E. Balanced anesthesia with sevoflurane does not alter redox status in patients undergoing surgical procedures / L. G. Braz, A. L. Ferreira et al. // *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* – 2014. – Vol. 773 – P. 29–33.

- 142.** Paes, E. R. D. DNA damage and antioxidant status in medical residents occupationally exposed to waste anesthetic gases / J. T. Braz, da Lima et al. // *Acta Cirurgica Brasileira* – 2014. - Vol. 29, № 4 - P. 280–286.
- 143.** Padgett, C.M. Cellular responses to nitric oxide, role of protein S-thiolation/dethiolation / A.R. Whorton // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1998. – Vol. 358. – P. 232–242.
- 144.** Pantke,  
U. (1999) Oxidized proteins as a marker of oxidative stress during coronary heart surgery / T. Volk, M. Schmutzler et al. // *Free Radic Biol Med.* – 1999. – Vol. 27. – P. 1080–1086.
- 145.** Paolo, Biglioli. Biological effects of off-pump vs. on-pump coronary artery surgery: focus on inflammation, hemostasis and oxidative stress // *European Journal of Cardio-thoracic Surgery.* – 2003. – Vol.24. – P.260–269.
- 146.** Parolari, A. OPCAB vs. CABG: meta-analysis of currently available randomized trials / F. Alamanni, A. Cannata et al. // *Ann. Thorac. Surg*, in press
- 147.** Pearson, T.A. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association / G. A. Mensah, R.W. Alexander et al. // *Circulation.* – 2003. – Vol. 107, №3. – P. 499–511.
- 148.** Pieper, G.M. Diabetic-induced endothelial dysfunction in rat aorta: role of hydroxyl radicals / P. Langenstroer, W. Siebeneich // *Cardiovasc. Res.* – 1997. – Vol. 34. – P.145–156.
- 149.** Plotnikov, E.Y. Superoxide reacts with nitric oxide to nitrate tyrosine at physiological pH via peroxynitrite / A.V. Kazachenko, M.Y. Vysokikh et al. // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275. – P. 32460–32466.
- 150.** Plummer, Z. E. The effects of propofol cardioplegia on blood and myocardial biomarkers of stress and injury in patients with isolated coronary artery bypass grafting or aortic valve replacement using cardiopulmonary bypass: protocol for a single-center randomized controlled trial / S. Baos, C. A. Rogers et al. // *JMIR Research Protocols.* – 2014. – Vol. 3, №3. – article 35.

- 151.** Prabhu, A. Effect of N–acetylcysteine in attenuating ischemic reperfusion injury in patients undergoing coronary artery bypass grafting with cardiopulmonary bypass / D. I. Sujatha, N. Kanagarajan et al. // *Annals of Vascular Surgery*. – 2009. – Vol. 23, №5. – P. 645–651.
- 152.** Premaratne, S. Atrial fibrillation and flutter following coronary artery bypass graft surgery: a retrospective study and review / I. Premaratne, N. Fernando et al. // *JRSM Cardiovasc Dis*. – 2016. – Vol. 5. – 204–218.
- 153.** Quality Initiative (ADQI) Group. // *Crit Care*. – 2004. – Vol. 8. – P.204–212.
- 154.** Rao, V. Predictors of low cardiac output syndrome after coronary artery bypass / J. Ivanov, R.D. Weisel et al. // *J. Thorac Cardiovasc. Surg*. – 1996. – Vol.112. – P.38–51.
- 155.** Reznick, A. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay / L. Packer // *Methods Enzymol*. – 2004. – Vol. 233. – P.357–363.
- 156.** Relevy, H. Blood banking–induced alteration of red blood cell flow properties / A. Koshkaryev, N. Manny et al. // *Transfusion*. – 2008. – Vol. 48, №1. – P. 136–146.
- 157.** Romagnoli, S. Postoperative acute kidney injury / Z. Ricci // *Minerva Anestesiologica*. – 2014. – Vol.81, № 6. – P.684–696.
- 158.** Rosner, M.H. Acute kidney injury associated with cardiac surgery / M.D. Okusa // *Clin. J Am. Soc. Nephrol*. – 2006. – Vol.1, №1. – P.19–32.
- 159.** Runzer, T. R. Tissue antioxidant capacity during anesthesia: propofol enhances in vivo red cell and tissue antioxidant capacity in a rat model / D. M. Ansley, D. V. Godin // *Anesthesia & Analgesia*. – 2002. – Vol. 94, №1. – P. 89–93.
- 160.** Sabik, J.F. Does off–pump coronary surgery reduce morbidity and mortality? / A.M. Gillinov, E.H.Blackstone et al. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. – 2002. – Vol.124. – P.698–707.
- 161.** Sadek, H.A. Cardiac ischemia/reperfusion, aging, and redox–dependent alterations in mitochondrial function / A.C. Nulton–Persson, P.A. Szweda et al. // *Arch. Biochem. Biophys*. – 2003. – Vol.420. – P. 201–208.
- 162.** Schumacker, P.T. Hypoxia, anoxia, and O<sub>2</sub> sensing: the search continues // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol*. – 2002. – Vol.283. – P.918–921.

- 163.** Schallner, N. Isoflurane but not sevoflurane or desflurane aggravates injury to neurons in vitro and in vivo via p75NTR-NF- $\kappa$ B activation / F. Ulbrich, H. Engelstaedter et al. // *Anesthesia and Analgesia* – 2014. – Vol. 119, № 6 – P. 1429–1444.
- 164.** Song, B. C. Biological functions of histidine-dipeptides and metabolic syndrome / N.-S. Joo, G. Aldini et al. // *Nutrition Research and Practice* – 2014. – Vol. 8, № 1 – P. 3–10.
- 165.** Seabra, V.F. Off-pump coronary artery bypass surgery and acute kidney injury: a meta-analysis of randomized controlled trials / S. Alobaidi, E.M.Balk, A.H. Poon et al. // *Clin. J. AmSoc. Nephrol.* – 2013. – Vol.5, №10. – P. 1734–1744.
- 166.** Ball, L. Cardiac dysfunction in the CABG patient // *Curr Opin Pharmacol.* – 2012. – Vol.12. – P. 166–171.
- 167.** Skulachev, V.P. A biochemical approach to the problem of aging: "megaproject" on membrane-penetrating ions. The first results and prospects // *Biochemistry (Moscow)*. – 2007. – Vol. 72. – P.1385–1396.
- 168.** Skulachev, V.P. Chemiosmotic concept of the membrane bioenergetics: what is already clear and what is still waiting for elucidation? // *J. Bioenerg. Biomembr.* – 1994. – Vol. 26. – P.589–98.
- 169.** Skulachev, V.P. How proapoptotic proteins can escape from mitochondria? // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol.29. – P. 1056–1059
- 170.** Skulachev, V.P. Mitochondria in the programmed death phenomena; a principle of biology: "it is better to die than to be wrong" // *IUBMB Life.* –2000. – Vol. 49. – P. 365–373.
- 171.** Smith, R.A.J. Mitochondria targeted small molecule therapeutics and probes / R. C. Hartley, M. P. Murphy // *Antioxidants and Redox Signaling.* – 2014. – Vol. 15, № 12. – P. 3021–3038.
- 172.** Smith, R.A.J. Animal and human studies with the mitochondria-targeted antioxidant Mito Q / M. P. Murphy // *Annals of the New York Academy of Sciences.* – 2010. – Vol. 1201. – P. 96–103.

- 173.** Stambolic, V. Lithium inhibits glycogen synthase kinase-3 activity and mimics wingless signalling in intact cells / L. Ruel, J.R. Woodgett // *Curr. Biol.* – 1996. – Vol.6, №12. – P.1664–1668.
- 174.** Suleiman, M.S. Mitochondria: a target for myocardial protection / A.P. Halestrap, E.J. Griffiths // *Pharmacology and Therapeutics.* –2001. – Vol. 89, №1. – P. 29–46.
- 175.** Suleiman, M.S. Inflammatory response and cardioprotection during open-heart surgery: the importance of anaesthetics / K. Zacharowski, G. D. Angelini // *British Journal of Pharmacology.* – 2008. – Vol. 53, №1. – P. 21–33.
- 176.** Taggart, D.P. Respiratory dysfunction after cardiac surgery: effects of avoiding cardiopulmonary bypass and the use of bilateral internal mammary arteries // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* – 2000. – Vol.18. – P. 31–37.
- 177.** Tarvasmäki, T. Acute heart failure with and without concomitant acute coronary syndromes: patient characteristics, management, and survival. / V.P. Harjola, M.S. Nieminen et al. // FINN-AKVA Study Group. *J Card Fail.* – 2014. – Vol. 20, № 10 – P. 723-30.
- 178.** Thakar, C.V. Perioperative Acute Kidney Injury // *Advances in Chronic Kidney Disease.* – 2013. – Vol 20, №1. – P.67–75.
- 179.** Thannickal, V.J. Reactive oxygen species in cell signaling / B.L. Fanburg // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2000. – Vol.279. – P.1005–1028.
- 180.** Thygesen, K. Universal definition of myocardial infarction / J. Alpert, H. White et al. // *Eur Heart J.* – 2007. – Vol. 28. – P.2525–2538.
- 181.** Tritapepe, L. Levosimendan pre-treatment improves outcomes in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery / V. De Santis, D. Vitale et al. // *Br. J. Anaesth.* – 2013. – Vol.102. – P.198–204.
- 182.** Van der Heiden, K.. Role of nuclear factor kappaB in cardiovascular health and disease / S. Cuhlmann, L. A. Luong et al // *Clinical Science.* – 2010. – Vol. 118, № 10. – P. 593–605.

- 183.** Van Dijk, D. Early outcome after off-pump versus on-pump coronary bypass surgery— results from a randomized study / A.P. Nierich, E. Jansen et al. // *Circulation*. – 2001. – Vol.104. – P.1761–1766.
- 184.** Vandenberghe, W. Acute Kidney Injury in Cardiorenal Syndrome Type 1 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. / S. Gevaert et al. // *Cardiorenal Med*. – 2015. – Vol. 6 – P. 116-28.
- 185.** Visser, J. Micronutrients: do small things matter? // *Afr J Clin Nutr* – 2010. – 23 (Suppl): S58–61.
- 186.** Wang, H. L. Subanesthetic isoflurane reduces zymosan-induced inflammation in murine Kupffer cells by inhibiting ROS-activated p38 MAPK/NF- $\kappa$ B signaling / Li // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* – 2014 – vol. 2014. – Article ID 851692 – P. 13.
- 187.** Wu, Y. S. Molecular mechanisms underlying chronic inflammation-associated cancers / J. L. Antony et al. // *Cancer Letters* – 2014. - Vol. 345 – № 2 - P. 164–173.
- 188.** Xia, Z. Z. Large-dose propofol during cardiopulmonary bypass decreases biochemical markers of myocardial injury in coronary surgery patients: a comparison with isoflurane / Z. Huang, D. M. Ansley D // *Anesthesia and Analgesia*. – 2006. – Vol. 103, № 3. – P. 527–532.
- 189.** Yadav, U. C. S. Regulation of NF- $\kappa$ B induced inflammatory signaling by lipid peroxidation-derived aldehydes / K. V. Ramana // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2013. – Vol. 13. – P.456–461.
- 190.** Yokoyama, T. Off-pump versus on-pump coronary bypass in high-risk subgroups / F.J. Baumgartner, A. Gheissari et al. // *Ann. Thorac. Surg*. – 2000. – Vol.70. – P.1546–1550.
- 191.** Zakkar, M. Angelini Cardiopulmonary Bypass and Oxidative Stress / G. Guida, S. Suleiman et al. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – Vol.2015. – 8 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/189863>.
- 192.** Zhang, Y.H. Molecular mechanisms of neuronal nitric oxide synthase in cardiac function and pathophysiology / C.Z. Jin, J.H. Jang et al. // *The Journal of Physiology*. – 2014. – Vol. 592. – P.3189– 3200.

- 193.** Zhao, S. Effects of propofol on the activation of nuclear factor- $\kappa$ B and cardiomyocytes apoptosis during myocardial ischemia/reperfusion injury in rats / L.-J. Xie, J.-X. Zhang // *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi.* – 2010. – Vol. 26, № 3. – P. 291–295.
- 194.** Zorov, D. B. Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiacmyocytes / C. R. Filburn, L.-O.Klotz et al. // *The Journal of Experimental Medicine.* – 2000. – Vol. 192, №7. – P. 1001–1014.
- 195.** Zorov, D.B. Regulation and pharmacology of the mitochondrial permeability transition pore / M. Juhaszova, Y. Yaniv, H.B. Nuss et al. // *Cardiovasc Res.* – 2009 – Vol.83. – P.213–225.