



Влияние доставки оксида азота на процессы апоптоза, некроптоза и пироптоза в почечной паренхиме при моделировании искусственного кровообращения: экспериментальное исследование¹

М. А. ТЁ, Н. О. КАМЕНЩИКОВ, Ю. К. ПОДОКСЕНОВ, А. В. МУХОМЕДЗЯНОВ, Л. Н. МАСЛОВ, И. В. КРАВЧЕНКО, Е. А. ЧУРИЛИНА, Б. Н. КОЗЛОВ

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель – изучить влияние доставки экзогенного оксида азота на выраженность апоптоза, пироптоза, некроптоза почечной паренхимы при моделировании искусственного кровообращения и искусственного кровообращения с циркуляторным арестом.

Материалы и методы. В исследование включили 24 барана алтайской породы и рандомизировали их на 4 равные группы. В группах ИК и ИК+NO моделировали искусственное кровообращение без циркуляторного ареста. В группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+NO моделировали искусственное кровообращение с циркуляторным арестом. В группах ИК+NO, ИК+ЦА+NO периоперационно подавали NO в концентрации 80 ppm. В группах ИК, ИК+ЦА подавали стандартную кислородно-воздушную смесь, не содержащую NO.

Результаты. В группе ИК+ЦА+NO уровень концентрации TNF-α был статистически значимо ниже 899 [739; 1019] нг/г по сравнению с группой ИК+ЦА 1716 [1284; 2201] нг/г, $p = 0,026$. Остальные маркеры программируемой клеточной гибели не различались между группами.

Заключение. Периоперационная доставка оксида азота снижает выраженность внешнего пути апоптоза в клетках почечной паренхимы при моделировании операций с искусственным кровообращением и циркуляторным арестом. Периоперационная доставка оксида азота в дозе 80 ppm не приводит к усилению процессов апоптоза, пироптоза, некроптоза в почечной паренхиме.

Ключевые слова: оксид азота, апоптоз, некроптоз, пироптоз, искусственное кровообращение

Для цитирования: Тё М. А., Каменщиков Н. О., Подоксенов Ю. К., Мухомедзянов А. В., Маслов Л. Н., Кравченко И. В., Чурилина Е. А., Козлов Б. Н. Влияние доставки оксида азота на процессы апоптоза, некроптоза и пироптоза в почечной паренхиме при моделировании искусственного кровообращения: экспериментальное исследование // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2024. – Т. 21, № 3. – С. 26–33. DOI: 10.24884/2078-5658-2024-21-3-26-33.

The influence of nitric oxide delivery on the processes of apoptosis, necroptosis and pyroptosis in the renal parenchyma after simulating cardiopulmonary bypass: an experimental study¹

М. А. TYO, N. O. KAMENSHCHIKOV, Yu. K. PODOKSENOV, A. V. MUKHOMEDZYANOV, L. N. MASLOV, I. V. KRAVCHENKO, E. A. CHURILINA, B. N. KOZLOV

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

ABSTRACT

The objective was to study the effect of the delivery of exogenous nitric oxide on the severity of apoptosis, pyroptosis, and necroptosis of the renal parenchyma after simulating cardiopulmonary bypass and cardiopulmonary bypass with circulatory arrest.

Materials and Methods. 24 Altai breed rams were randomized into 4 equal groups. In the CPB and CPB+NO groups, we simulated cardiopulmonary bypass without circulatory arrest. In the CPB+CA and CPB+CA+NO groups, we simulated cardiopulmonary bypass with circulatory arrest. In the CPB+NO, CPB+CA+NO groups, NO was given perioperative in concentration of 80 ppm.

In the CPB, CPB+CA groups, we supplied a standard oxygen-air mixture without NO.

Results. In the CPB+CA+NO group, the TNF-α concentration was statistically significantly lower: 899 [739; 1019] ng/g compared to the CPB+CA group 1716 [1284; 2201] ng/g, $p = 0.026$. The remaining markers of programmed cell death did not differ between groups.

Conclusions. Perioperative nitric oxide delivery reduces the expression of the extrinsic pathway of apoptosis of renal parenchyma cells in simulating operations with artificial circulation and circulatory arrest. Perioperative nitric oxide delivery at a dose of 80 ppm does not increase the processes of apoptosis, pyroptosis, and necroptosis in renal parenchyma.

Key words: nitric oxide, apoptosis, necroptosis, pyroptosis, cardiopulmonary bypass

For citation: Tyo M. A., Kamenshchikov N. O., Podoksenov Yu. K., Mukhomedzyanov A. V., Maslov L. N., Kravchenko I. V., Churilina E. A., Kozlov B. N. The influence of nitric oxide delivery on the processes of apoptosis, necroptosis and pyroptosis in the renal parenchyma after simulating cardiopulmonary bypass: an experimental study¹. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2024, Vol. 21, № 3, P. 26–33. (In Russ.) DOI: 10.24884/2078-5658-2024-21-3-26-33.

¹ Редакция обращает внимание на то, что оксид азота в РФ в качестве лекарственного средства пока не зарегистрирован, наличие в РФ зарегистрированной аппаратуры для доставки NO никоим образом не разрешает применение оксида азота в качестве лекарственного препарата в системе практического здравоохранения. Важно учесть, что оксид азота официально относится к токсическим соединениям III класса опасности, а исследований, доказывающих отсутствие у него негативных эффектов, недостаточно.

¹ The editorial board draws attention to the fact that nitric oxide has not yet been registered in the Russian Federation as a medicinal product; the presence in the Russian Federation of registered equipment for the delivery of NO in no way permits the use of nitric oxide as a medicinal product in the practical healthcare system. It is important to take into account that nitric oxide officially belongs to toxic compounds of hazard class III, and there are not enough studies proving that it has no negative effects.

Для корреспонденции:
Марк Артурович Тё
E-mail: marik640213@gmail.com

Correspondence:
Mark A. Tyo
E-mail: marik640213@gmail.com

Введение

Несмотря на активное развитие эндоваскулярных и малоинвазивных хирургических методик, количество кардиохирургических операций с искусственным кровообращением (ИК) и с ИК с циркуляторным арестом (ЦА) растет с каждым годом. Проведение ИК и ИК с ЦА ассоциировано с рядом повреждающих факторов: ишемией-реперфузией, активацией системного воспаления, формированием активных форм кислорода, снижением перфузионного давления [14]. Происходит активация системы комплемента и лейкоцитов, развивается окислительный стресс, снижение эффективности окислительного фосфорилирования в митохондриях [5, 7]. Запускаются различные сценарии регулируемой клеточной гибели: апоптоз, пироптоз, некроптоз, что приводит к нарушению функций различных органов [10, 21, 25].

Острое почечное повреждение (ОПП) – частое осложнение операций с ИК, возникает в 30% случаев, при этом у 5% пациентов требует проведения заместительной почечной терапии [12]. При определенных типах вмешательств (сочетанные вмешательства, мультиклапанная хирургия, реконструктивные вмешательства на аорте) частота ОПП может возрасти до 70% с потребностью в проведении заместительной почечной терапии в 16% случаев [15]. ОПП резко ухудшает исходы кардиохирургических операций и приводит к повышению летальности, увеличению инфекционных осложнений и времени госпитализации [1, 4]. На данный момент не существует медикаментозных средств с доказанной эффективностью для защиты почек при операциях с ИК и ИК+ЦА.

Доставка NO при операциях с ИК – перспективная методика защиты почек. Периоперационная доставка экзогенного NO при операциях с ИК в ряде клинических рандомизированных исследований показала нефропротективные эффекты [15, 24]. Однако механизмы реализации этого эффекта остаются не до конца изученными.

Поскольку в основе процессов регулируемой клеточной гибели лежит особый молекулярный механизм, его можно модулировать (замедлять или ускорять) с помощью фармакологических или генетических вмешательств [8]. В последнее время большое внимание приковано к изучению регуляции оксидом азота (NO) клеточного цикла. NO является важной сигнальной молекулой в межклеточных взаимодействиях и оказывает как активирующее, так и ингибирующее влияние на программируемую клеточную гибель [22]. Для проведения дальнейших исследований и внедрения в клиническую практику необходимо изучить механизмы влияния NO на регулирующую клеточную гибель.

Цель исследования – изучить влияние доставки экзогенного оксида азота на выраженность апоптоза, пироптоза, некроптоза почечной паренхимы при моделировании искусственного кровообращения и искусственного кровообращения с циркуляторным арестом.

Материалы и методы

Все процедуры исследования проводились в испытательной лаборатории согласно требованиям приказа Минздрава № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 1 апреля 2016 г., Принципам надлежащей лабораторной практики ГОСТ 33044–2014 и руководству Janet C. Garber, «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition National Research Council», 2011. Все болезненные процедуры осуществляли на наркотизированных животных и выведение животных из эксперимента выполняли в соответствии с международными стандартами гуманного обращения с животными и директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных.

В одноцентровое проспективное рандомизированное контролируемое экспериментальное исследование включили 24 барана алтайской породы массой 30–34 кг. Экспериментальные животные были рандомизированы на 4 равные группы по 6 животных в каждой.

В группе ИК+NO моделировали ИК, в модифицированные контуры аппаратов искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и аппаратов ИК в течение всей операции подавали экзогенный NO в концентрации 80 ppm.

В группе ИК моделировали ИК, выполняли стандартный протокол ИВЛ и ИК.

В группе ИК+ЦА+NO моделировали ИК с ЦА, в модифицированные контуры аппаратов ИВЛ и ИК в течение всей операции, за исключением времени ЦА, подавали экзогенный NO в концентрации 80 ppm.

В группе ИК+ЦА моделировали ИК с ЦА, выполняли стандартный протокол ИВЛ и ИК с ЦА.

Модификацию контура аппарата ИВЛ производили путем интеграции на линию вдоха двух гидрофобных вирусно-бактериальных фильтров с разъемом Люера: через проксимальный производили подачу NO, через дистальный – анализ NO/NO₂.

Модификацию контура аппарата ИК осуществляли путем встраивания в линию подачи кислородно-воздушной смеси двух переходников ¼ с разъемом Люера: через проксимальный производили подачу NO, через дистальный – анализ NO/NO₂.

Методика обеспечения операции. Для достижения седации и анальгезии производили масочную седацию севофлураном, после чего катетеризировали

большую подкожную вену задней конечности периферическим катетером. Выполняли индукцию анестезии дробным введением пропофола в дозировке 100 мг. На фоне сохраненного спонтанного дыхания выполняли прямую ларингоскопию и производили интубацию трахеи эндотрахеальной трубкой № 6,5. Начинали ИВЛ в режиме Controlled Mandatory Ventilation (CMV) с управлением по объему 8 мл/кг, частотой дыхательных движений 20 в мин, фракционной концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси 50% и положительным конечно-экспираторным давлением 5 см H_2O . Поддержание анестезии на всех этапах эксперимента выполняли инфузией пропофола 5 мг·кг⁻¹·ч⁻¹.

Хирургическим путем выделяли и катетеризовали внутреннюю яремную вену и внутреннюю сонную артерию катетерами 7F для проведения инфузионной терапии, забора крови на лабораторные анализы и контроля инвазивного артериального давления.

Оперативный доступ осуществляли путем правосторонней торакотомии в 4–5 межреберье. Выделяли аорту, верхнюю и нижнюю полые вены, вскрывали полость перикарда. Подключение аппарата ИК производили по схеме «аорта – верхняя полая вена – нижняя полая вена».

ИК в группах без ЦА проводили в условиях нормотермии в непульсирующем режиме с перфузионным индексом 2 л·мин⁻¹·м⁻². Площадь поверхности тела барана считали равной 1,1 м². Среднее артериальное давление во время ИК поддерживали на уровне 65 мм рт. ст.

ИК в группах экспериментальных животных, которым моделировали ЦА, проводили в гипотермическом режиме. Охлаждение начинали сразу после начала ИК, при достижении эзофагеальной температуры 30 °С производили окклюзию нисходящей аорты и таким образом моделировали бесперфузионный ЦА субдиафрагмальных органов в течение 15 мин. Перфузионный индекс при этом снижали до 1 л·мин⁻¹·м⁻². Далее осуществляли снятие зажима с нисходящей аорты, реперфузию и согревание до 36,6 °С. На этапе согревания перфузионный индекс составлял 2 л·мин⁻¹·м⁻².

Продолжительность ИК во всех группах составила 90 мин, после чего экспериментальные животные были отлучены от ИК, забор биоматериала (биоптат ткани почек) во всех группах проводили через 1 час после перевода экспериментальных животных на спонтанное кровообращение. Таким образом было смоделировано состояние после продленного ИК.

Методика доставки оксида азота. В группах ИК+NO и ИК+ЦА+NO на всех этапах для NO-терапии использовали образец установки плазмохимического синтеза оксида азота АИТ-NO-О1 «Тианокс» (ФГУП «РФЯЦ-ВНИИЭФ», Саров, РФ).

В группе ИК+NO сразу после интубации трахеи и до перехода на экстракорпоральное кровообращение в модифицированный контур аппарата ИВЛ подавали NO в концентрации 80 ppm. При переходе на ИК производили подачу NO в модифицированный

контур аппарата ИК в концентрации 80 ppm. После отлучения от ИК и перехода на собственное кровообращение NO подавали в модифицированный контур аппарата ИВЛ в течение 1 часа.

В группе ИК+ЦА+NO сразу после интубации трахеи и до перехода на экстракорпоральное кровообращение в модифицированный контур аппарата ИВЛ подавали NO в концентрации 80 ppm. При переходе на ИК производили подачу NO в модифицированный контур аппарата ИК в концентрации 80 ppm. На этапе бесперфузионного гипотермического ЦА доставку NO не проводили, поскольку механическая перфузия в почках не осуществлялась. После отлучения от ИК и перехода на собственное кровообращение NO подавали в модифицированный контур аппарата ИВЛ в течение 1 часа.

Животные, вошедшие в группы ИК и ИК+ЦА, на всех этапах эксперимента получали стандартную кислородно-воздушную смесь, не содержащую NO.

Предварительная подготовка биоматериала. Часть взятой для исследования паренхимы почки замораживали в жидком азоте. Полученные образцы гомогенизировали в жидком азоте, добавляя 500 мкл фосфатного буфера (ФСБ, pH = 7), охлажденного до 2 °С. Для разрушения клеточных мембран использовали несколько циклов замораживания/оттаивания. Затем гомогенат центрифугировали 15 мин при 1500 g и температуре 2 °С на центрифуге SL 16R (Thermo Scientific, США). Надосадочную жидкость отбирали по 100 мкл в эппендорфы и замораживали при –80 °С.

Методика определения взаимодействующей с рецептором серин/треонин-протеинкиназы 3 в гистологическом материале почечной паренхимы.

Определение взаимодействующей с рецептором серин/треонин-протеинкиназы 3 (RIPK3) проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep Receptor Interacting Serine Threonine Kinase 3 (RIPK3) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия).

Определение протеина 3, содержащего пуриновый домен NLR (NLRP3) в гистологическом материале почечной паренхимы, проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep NLR Pyrin Domain Containing Proteins 3 (NLRP3) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия).

Определение Гасдермина D (GSDMD) в гистологическом материале почечной паренхимы проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep Gasdermin D (GSDMD) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия).

Определение фактора некроза опухоли α (TNF- α) в гистологическом материале почечной паренхимы проводили иммуноферментным методом с использованием набора «Sheep Tumor Necrosis Factor Alpha (TNFAlpha) Elisa kit» (Bluegene Biotech, Китай) на

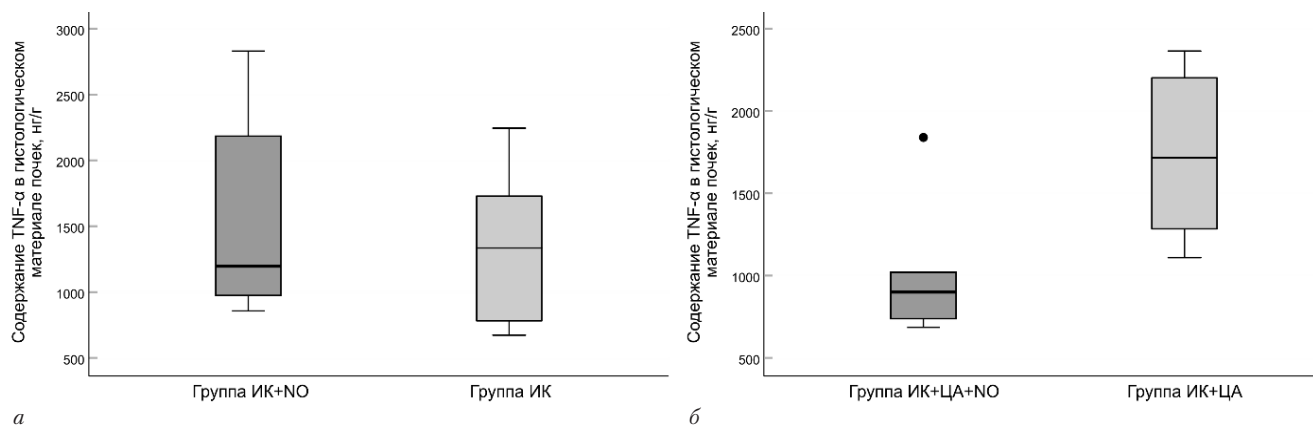


Рис. 1. Содержание TNF- α (нг/г) в гистологическом материале почек через 60 мин после отлучения от ИК: а – в группах ИК и ИК+НО; б – в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО

Fig. 1. TNF- α content (ng/g) in renal histological material 60 min after weaning from CPB: а – in CPB and CPB+NO groups; б – in CPB+CA and CPB+CA+NO groups

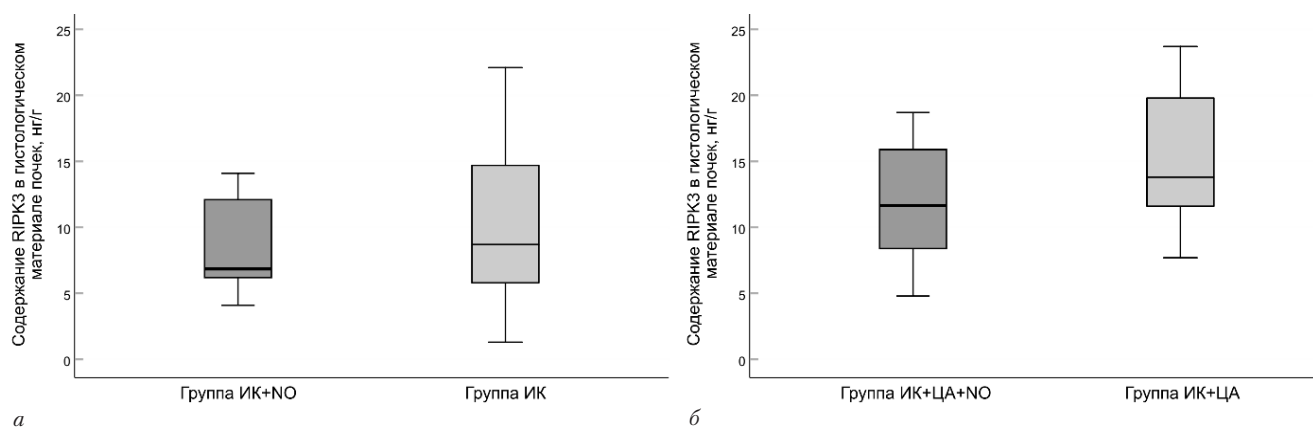


Рис. 2. Содержание RIPK3 (нг/г) в гистологическом материале почек через 60 мин после отлучения от ИК: а – в группах ИК и ИК+НО; б – в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО

Fig. 2. RIPK3 content (ng/g) in renal histological material 60 min after weaning from CPB: а – in CPB and CPB+NO groups; б – in CPB+CA and CPB+CA+NO groups

многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200 (Tecan, Австрия).

Статистический анализ. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics v.27 (разработчик – IBM Corporation). При описании количественных показателей использовали медиану (Me) и межквартильный интервал (IQR). Для выявления статистически значимых различий количественных показателей в независимых группах использовали критерий Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при пороговом уровне значимости $p = 0,05$.

Результаты

В группе ИК+НО величина концентрации TNF- α (нг/г) составила 1196 [975; 2183], в группе ИК 1335 [782; 1728]. Значимой разницы по уровню концентрации TNF- α между группами ИК+НО и ИК нет, $p = 0,69$.

В группе ИК+ЦА+НО величина концентрации TNF- α (нг/г) составила 899 [739; 1019], в группе ИК+ЦА 1716 [1284; 2201]. Концентрации TNF- α

была значимо ниже в группе ИК+ЦА+НО по сравнению с группой ИК+ЦА, $p = 0,026$. Данные по уровням TNF- α представлены на рис. 1.

В группе ИК+НО величина концентрации RIPK3 (нг/г) составила 6,85 [6,2; 12,1], в группе ИК 8,7 [5,8; 14,7]. Значимой разницы по уровню концентрации RIPK3 между группами ИК+НО и ИК нет, $p = 0,69$.

В группе ИК+ЦА+НО величина концентрации RIPK3 (нг/г) составила 11,7 [8,4; 15,9], в группе ИК+ЦА 13,8 [11,6; 19,8]. Значимой разницы по уровню концентрации RIPK3 между группами ИК+ЦА+НО и ИК+ЦА нет, $p = 0,39$. Данные по уровням RIPK3 представлены на рис. 2.

В группе ИК+НО величина концентрации NLRP3 (нг/г) составила 194 [176; 237], в группе ИК 209 [153; 263]. Значимой разницы по уровню концентрации NLRP3 между группами ИК+НО и ИК нет, $p = 0,93$.

В группе ИК+ЦА+НО величина концентрации NLRP3 (нг/г) составила 184 [70,1; 227], в группе ИК+ЦА 186 [87,4; 272]. Значимой разницы по уровню концентрации NLRP3 между группами ИК+ЦА+НО и ИК+ЦА нет, $p = 0,48$. Данные по уровням NLRP3 представлены на рис. 3.

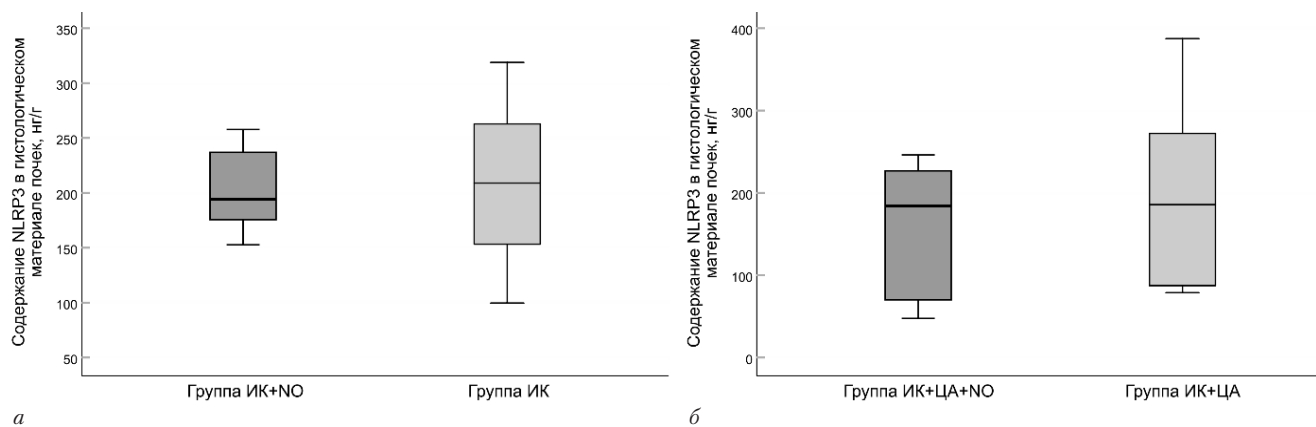


Рис. 3. Содержание NLRP3 (нг/г) в гистологическом материале почек через 60 мин после отлучения от ИК: а – в группах ИК и ИК+НО; б – в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО

Fig. 3. NLRP3 content (ng/g) in renal histological material 60 min after weaning from CPB: а – in CPB and CPB+NO groups; б – in CPB+CA and CPB+CA+NO groups

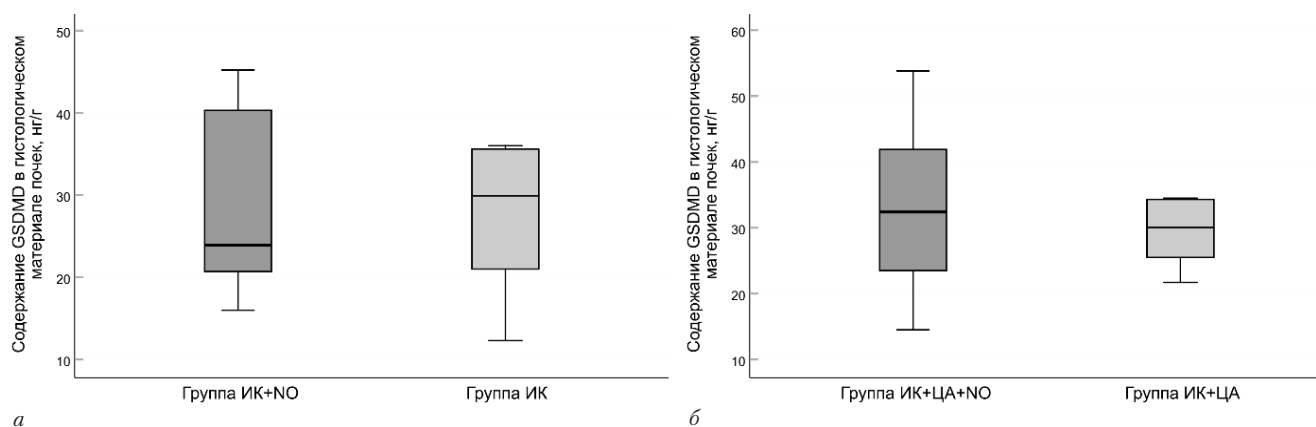


Рис. 4. Содержание GSDMD (нг/г) в гистологическом материале почек через 60 мин после отлучения от ИК: а – в группах ИК и ИК+НО; б – в группах ИК+ЦА и ИК+ЦА+НО

Fig. 4. GSDMD content (ng/g) in renal histological material 60 min after weaning from CPB: а – in CPB and CPB+NO groups; б – in CPB+CA and CPB+CA+NO groups

В группе ИК+НО величина концентрации GSDMD (нг/г) составила 23,9 [20,7; 40,3], в группе ИК 29,9 [21; 35,6]. Значимой разницы по уровню концентрации GSDMD между группами ИК+НО и ИК нет, $p = 1$.

В группе ИК+ЦА+НО величина концентрации GSDMD (нг/г) составила 32,4 [23,5; 41,9], в группе ИК+ЦА 30,1 [25,5; 34,3]. Значимой разницы по уровню концентрации GSDMD между группами ИК+ЦА+НО и ИК+ЦА нет, $p = 0,81$. Данные по уровням GSDMD представлены на рис. 4.

Обсуждение

В данном проспективном рандомизированном контролируемом экспериментальном исследовании выполнена оценка влияния доставки NO на процессы апоптоза, некроптоза, пироптоза в почечной паренхиме при моделировании ИК. Воздействие неблагоприятных факторов при проведении ИК запускает один или несколько сигнальных путей, которые приводят к возникновению и реализации механизмов регулируемой клеточной гибели: некроптоза, пироптоза и апоптоза, что приводит к

органной дисфункции и реализации ОПП [11, 20]. Пироптоз, некроптоз, апоптоз, окислительный стресс, митохондриальная дисфункция, системная воспалительная реакция являются взаимосвязанными молекулярными механизмами, усиливающими повреждающие воздействия, в том числе ишемически-реперфузионное повреждение, что приводит к дисфункции почек [2, 18].

За формирование клеточной гибели по типу апоптоза отвечает гиперэкспрессия TNF- α , некроптоза – RIPK3, пироптоза – NLRP3 и GSDMD. По тканевой концентрации маркеров пироптоза, апоптоза и некроптоза можно судить о степени органного повреждения, оценивать эффективность и безопасность применения нефропротективных препаратов.

NO – перспективная молекула для осуществления протективных свойств в критических для клетки условиях. Известна ее роль в механизмах регулируемой клеточной гибели [22]. NO является регуляторной молекулой для апоптоза и в зависимости от дозы способна оказывать как про- так и антиапоптотическое действие.

NO способен ингибировать апоптоз двумя путями:

1) NO активирует гуанилазциклазу и генерирует цГМФ из ГТФ, что блокирует передачу апоптотических сигналов и переход прокаспаз в активные каспазы;

2) NO блокирует выход цитохрома С из митохондрий. Происходит ингибирование активации каспазы-3 и каспазы-9 путем S-нитрозилирования, что предотвращает разрушение ДНК [11, 16].

С другой стороны, NO способен запускать процесс апоптоза путем стимуляции растворимой гуанилатциклазы, что приводит к накоплению белка р53 и повреждению ДНК. Индукция апоптоза требует воздействия высоких уровней экзогенных доноров NO, что приводит к активации сигнальных путей апоптоза [13].

В нашем исследовании доставка NO в концентрации 80 ppm при моделировании ИК с ЦА привела к снижению уровня TNF-α (маркера внешнего пути апоптоза), что говорит о протективном влиянии NO на клетки почечной ткани. TNF-α, помимо участия в апоптозе, является провоспалительным цитокином, снижение его концентрации при моделировании ИК с ЦА с доставкой NO может снижать развитие системной воспалительной реакции и улучшать исходы операций с ИК. Мы не получили значимой разницы по уровню TNF-α между основной и контрольными группами при моделировании ИК, что говорит об отсутствии индуцирующего влияния NO на апоптоз клеток почечной паренхимы.

Данные о воздействии NO на пироптоз и некроптоз немногочисленны и противоречивы. В исследовании группы W. Miao et al. (2015) было показано, что NO-синтетаза зависимое нитрозилирование RIPK3 провоцирует повреждение нейронов путем активации некроптоза в ишемизированной нервной ткани [17].

Результаты нашего исследования показали, что доставка NO не усиливает проявления некроптоза при моделировании ИК и ИК с ЦА.

В исследовании группы E. Hernandez-Cuella et al. (2012) было показано, что S-нитрозилирование инфламасомы NLRP3 ингибирует ее активацию и оказывает протекторное влияние на клетки путем снижения выраженности эффектов пироптоза [9].

В исследовании группы X.-X. Xu et al. (2023) ингибирование NO-синтетазы и снижение уровня NO оказывало нейропротективную роль при эпилепсии за счет снижения выраженности пироптоза [23].

Доставка NO по нашей методике не приводила к увеличению выраженности пироптоза, оцененного по концентрации NLRP3 и GSDMD при моделировании ИК и ИК с ЦА. Доставка экзогенного NO является перспективным методом нефропротекции в кардиохирургии. Однако пути реализации данных эффектов все еще до конца не известны. Для внедрения в широкую клиническую практику важно понимать субклеточные механизмы действия NO. Ряд экспериментальных исследований показал, что доставка NO способна уменьшать выраженность митохондриальной дисфункции и улучшать энергетическое обеспечение почечной ткани [2, 3]. Проведенное нами исследование показало, что доставка NO по предложенной методике снижает выраженность внешнего пути апоптоза, является безопасной и не приводит к индукции механизмов программируемой клеточной гибели.

Однако сообщается и об отрицательных эффектах NO-терапии. Ряд РКИ и метаанализ показали, что терапия NO увеличивает частоту ОПП у пациентов с острым респираторным дистресс-синдромом [19]. NO является универсальной сигнальной молекулой: участвует в физиологических и патофизиологических процессах в почках [6]. Возможно, при различных состояниях доставка экзогенного NO разнонаправленно действует на почечную паренхиму. Поэтому к внедрению в клиническую практику доставки NO на данном этапе следует относиться с осторожностью.

Вывод

Периоперационная доставка оксида азота снижает выраженность внешнего пути апоптоза клеток почечной паренхимы при моделировании операций с искусственным кровообращением и циркуляторным арестом. Периоперационная доставка оксида азота в дозе 80 ppm не усиливает процессы апоптоза, пироптоза, некроптоза в почечной паренхиме.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каменщиков Н. О., Подоксенов Ю. К., Дьякова М. Л. и др. Острое повреждение почек в кардиохирургии: определение, эпидемиология, исходы и социально-экономическая значимость // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2020. – Т. 24, № 4. – С. 11-21. DOI: 10.21688/1681-3472-2020-4-11-21.
2. Тё М. А., Каменщиков Н. О., Подоксенов Ю. К. и др. Влияние донации оксида азота на выраженность митохондриальной дисфункции почечной ткани при моделировании искусственного кровообращения: экспериментальное исследование // Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова. – 2023. – № 4. – С. 176-184. DOI: 10.21320/1818-474X-2023-4-176-184.
3. Тё М. А., Каменщиков Н. О., Подоксенов Ю. К. и др. Влияние доставки оксида азота на энергетическое обеспечение почечной ткани при про-

REFERENCES

1. Kamenshchikov N.O., Podoksenov Y.K., Diakova M.L. et al. Acute kidney injury in cardiac surgery: definition, epidemiology, outcomes and socio-economic significance. *Patologiya Krovoobrashcheniya i Kardio-khirurgiya*, 2020, vol. 24, no. 4, pp. 11-21. (In Russ.) DOI: 10.21688/1681-3472-2020-4-11-21.
2. Tyo M.A., Kamenshchikov N.O., Podoksenov Y.K. et al. The effect of nitric oxide donation on the severity of mitochondrial dysfunction to the renal tissue in cardiopulmonary bypass simulation: an experimental study. *Annals of Critical Care*, 2023, no. 4, pp. 176-184. (In Russ.) DOI: 10.21320/1818-474X-2023-4-176-184.
3. Tyo M.A., Kamenshchikov N.O., Podoksenov Y.K. et al. Effect of nitric oxide delivery on energy supply of renal tissue in cardiopulmonary bypass:

- ведении искусственного кровообращения: экспериментальное исследование // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2024. – Т. 39, № 1. – С. 163–170. DOI: 10.29001/2073-8552-2022-592.
4. Bedford M., Stevens P. E., Wheeler T. W., Farmer C. K. What is the real impact of acute kidney injury? // *BMC Nephrol.* – 2014. – Vol. 15. – P. 95. DOI: 10.1186/1471-2369-15-95.
 5. Billings F. T., Pretorius M., Schildcrout J. S. et al. Obesity and oxidative stress predict AKI after cardiac surgery // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2012. – Vol. 23, № 7. – P. 1221–1228. DOI: 10.1681/asn.2011090940.
 6. Carlström M. Nitric oxide signalling in kidney regulation and cardiometabolic health // *Nat Rev Nephrol.* – 2021. – Vol. 17, № 9. – P. 575–590. DOI: 10.1038/s41581-021-00429-z.
 7. Cherry A. D. Mitochondrial dysfunction in cardiac surgery // *Anesthesiol. Clin.* – 2019. – Vol. 37, № 4. – P. 769–785. DOI: 10.1016/j.ancin.2019.08.003.
 8. Galluzzi L., Bravo-San Pedro J. M., Kepp O. et al. Regulated cell death and adaptive stress responses // *Cell Mol. Life Sci.* – 2016. – Vol. 73, № 11–12. – P. 2405–2410. DOI: 10.1007/s00018-016-2209-y.
 9. Hernandez-Cuellar E., Tsuchiya K., Hara H. et al. Cutting edge: nitric oxide inhibits the NLRP3 inflammasome // *J. Immunol.* – 2012. – Vol. 189, № 11. – P. 5113–5117. DOI: 10.4049/jimmunol.1202479.
 10. Hou L., Yang Z., Wang Z. et al. NLRP3/ASC-mediated alveolar macrophage pyroptosis enhances HMGB1 secretion in acute lung injury induced by cardiopulmonary bypass // *Lab. Invest.* – 2018. – Vol. 98, № 8. – P. 1052–1064. DOI: 10.1038/s41374-018-0073-0.
 11. Kers J., Leemans J. C., Linkermann A. An overview of pathways of regulated necrosis in acute kidney injury // *Semin. Nephrol.* – 2016. – Vol. 36, № 3. – P. 139–152. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2016.03.002.
 12. Kiers H. D., Boogaard M. van den, Schoenmakers M. C. et al. Comparison and clinical suitability of eight prediction models for cardiac surgery-related acute kidney injury // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2013. – Vol. 28, № 2. – P. 345–351. DOI: 10.1093/ndt/gfs518.
 13. Kim Y. M., Bombeck C. A., Billia T. R. Nitric oxide as a bifunctional regulator of apoptosis // *Circ. Res.* – 1999. – Vol. 84, № 3. – P. 253–256. DOI: 10.1161/01.res.84.3.253.
 14. Kumar A. B., Suneja M. Cardiopulmonary bypass –associated acute kidney injury // *Anesthesiology.* – 2011. – Vol. 114, № 4. – P. 964–970. DOI: 10.1097/aln.0b013e318210f86a.
 15. Lei C., Berra L., Rezoagli E. et al. Nitric oxide decreases acute kidney injury and stage 3 chronic kidney disease after cardiac surgery // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2018. – Vol. 198, № 10. – P. 1279–1287. DOI: 10.1164/rccm.201710-2150OC.
 16. Liu L., Stamler J. NO: an inhibitor of cell death // *Cell Death Differ.* – 1999. – Vol. 6. – P. 937–942. DOI: 10.1038/sj.cdd.4400578.
 17. Miao W., Qu Z., Shi K. et al. RIP3 S-nitrosylation contributes to cerebral ischemic neuronal injury // *Brain Res.* – 2015. – Vol. 1627. – P. 165–176. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.08.020.
 18. Nieuwenhuijs-Moeke G. J., Pischke S. E., Berger S. P. et al. Ischemia and Reperfusion Injury in Kidney Transplantation: Relevant Mechanisms in Injury and Repair // *J. Clin. Med.* – 2020. – Vol. 9, № 1. – P. 253. DOI: 10.3390/jcm9010253.
 19. Ruan S. Y., Huang T. M., Wu H. Y. et al. Inhaled nitric oxide therapy and risk of renal dysfunction: a systematic review and meta-analysis of randomized trials // *Crit. Care.* – 2015. – Vol. 19, № 1. – P. 137. DOI: 10.1186/s13054-015-0880-2.
 20. Saikumar P., Venkatachalam M. A. Role of apoptosis in hypoxic/ischemic damage in the kidney // *Semin. Nephrol.* – 2003. – Vol. 23, № 6. – P. 511–521. DOI: 10.1053/s0270-9295(03)00130-x.
 21. Tu L. N., Hsieh L., Kajimoto M. et al. Shear stress associated with cardiopulmonary bypass induces expression of inflammatory cytokines and necroptosis in monocytes // *JCI Insight.* – 2021. – Vol. 6, № 1. – P. e141341. DOI: 10.1172/jci.insight.141341.
 22. Wang Y., Chen C., Loake G. J., Chu C. Nitric oxide: promoter or suppressor of programmed cell death? // *Protein Cell.* – 2010. – Vol. 1, № 2. – P. 133–142. DOI: 10.1007/s13238-010-0018-x.
 23. Xu X. X., Shi R. X., Fu Y. et al. Neuronal nitric oxide synthase/reactive oxygen species pathway is involved in apoptosis and pyroptosis in epilepsy // *Neural. Regen. Res.* – 2023. – Vol. 18, № 6. – P. 1277–1285. DOI: 10.4103/1673-5374.357906.
 24. Yan Y., Kamenshchikov N., Zheng Z., Lei C. Inhaled nitric oxide and postoperative outcomes in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: A systematic review and meta-analysis // *Nitric Oxide.* – 2024. – Vol. 146, № 64. – P. 64–74. DOI: 10.1016/j.niox.2024.03.004.
 - an experimental study. *The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2024, vol. 39, no. 1, pp. 163–170. (In Russ.) DOI: 10.29001/2073-8552-2022-592.
 4. Bedford M., Stevens P.E., Wheeler T.W., Farmer C.K. What is the real impact of acute kidney injury? *BMC Nephrol*, 2014, vol. 15, pp. 95. DOI: 10.1186/1471-2369-15-95.
 5. Billings F.T., Pretorius M., Schildcrout J.S. et al. Obesity and oxidative stress predict AKI after cardiac surgery. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*, 2012, vol. 23, no. 7, pp. 1221–1228. DOI: 10.1681/asn.2011090940.
 6. Carlström M. Nitric oxide signalling in kidney regulation and cardiometabolic health. *Nat Rev Nephrol*, 2021, vol. 17, no. 9, pp. 575–590. DOI: 10.1038/s41581-021-00429-z
 7. Cherry A.D. Mitochondrial dysfunction in cardiac surgery. *Anesthesiol. Clin*, 2019, vol. 37, no. 4, pp. 769–785. DOI: 10.1016/j.ancin.2019.08.003.
 8. Galluzzi L., Bravo-San Pedro J.M., Kepp O. et al. Regulated cell death and adaptive stress responses. *Cell Mol. Life Sci*, 2016, vol. 73, no. 11–12, pp. 2405–2410. DOI: 10.1007/s00018-016-2209-y.
 9. Hernandez-Cuellar E., Tsuchiya K., Hara H. et al. Cutting edge: nitric oxide inhibits the NLRP3 inflammasome. *J. Immunol*, 2012, vol. 189, no. 11, pp. 5113–5117. DOI: 10.4049/jimmunol.1202479.
 10. Hou L., Yang Z., Wang Z. et al. NLRP3/ASC-mediated alveolar macrophage pyroptosis enhances HMGB1 secretion in acute lung injury induced by cardiopulmonary bypass. *Lab. Invest*, 2018, vol. 98, no. 8, pp. 1052–1064. DOI: 10.1038/s41374-018-0073-0.
 11. Kers J., Leemans J.C., Linkermann A. An Overview of Pathways of Regulated Necrosis in Acute Kidney Injury. *Semin. Nephrol*, 2016, vol. 36, no. 3, pp. 139–152. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2016.03.002.
 12. Kiers H.D., Boogaard M. van den, Schoenmakers M.C. et al. Comparison and clinical suitability of eight prediction models for cardiac surgery-related acute kidney injury. *Nephrol. Dial. Transplant*, 2013, vol. 28, no. 2, pp. 345–351. DOI: 10.1093/ndt/gfs518.
 13. Kim Y.M., Bombeck C.A., Billia T.R. Nitric oxide as a bifunctional regulator of apoptosis. *Circ. Res*, 1999, vol. 84, no. 3, pp. 253–256. DOI: 10.1161/01.res.84.3.253.
 14. Kumar A.B., Suneja M. Cardiopulmonary bypass –associated acute kidney injury. *Anesthesiology*, 2011, vol. 114, no. 4, pp. 964–970. DOI: 10.1097/aln.0b013e318210f86a.
 15. Lei C., Berra L., Rezoagli E. et al. Nitric oxide decreases acute kidney injury and stage 3 chronic kidney disease after cardiac surgery. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*, 2018, vol. 198, no. 10, pp. 1279–1287. DOI: 10.1164/rccm.201710-2150OC.
 16. Liu L., Stamler J. NO: an inhibitor of cell death. *Cell Death Differ*, 1999, vol. 6, pp. 937–942. DOI: 10.1038/sj.cdd.4400578.
 17. Miao W., Qu Z., Shi K. et al. RIP3 S-nitrosylation contributes to cerebral ischemic neuronal injury. *Brain Res*, 2015, vol. 1627, P.165–176. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.08.020.
 18. Nieuwenhuijs-Moeke G.J., Pischke S.E., Berger S.P. et al. Ischemia and Reperfusion Injury in Kidney Transplantation: Relevant Mechanisms in Injury and Repair. *J. Clin. Med*, 2020, vol. 9, no. 1, pp. 253. DOI: 10.3390/jcm9010253.
 19. Ruan S.Y., Huang T.M., Wu H.Y. et al. Inhaled nitric oxide therapy and risk of renal dysfunction: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Crit Care*, 2015, vol. 19, no. 1, pp. 137. DOI: 10.1186/s13054-015-0880-2.
 20. Saikumar P., Venkatachalam M.A. Role of apoptosis in hypoxic/ischemic damage in the kidney. *Semin. Nephrol*, 2003, vol. 23, no. 6, pp. 511–521. DOI: 10.1053/s0270-9295(03)00130-x.
 21. Tu L.N., Hsieh L., Kajimoto M. et al. Shear stress associated with cardiopulmonary bypass induces expression of inflammatory cytokines and necroptosis in monocytes. *JCI Insight*, 2021, vol. 6, no. 1, pp. e141341. DOI: 10.1172/jci.insight.141341.
 22. Wang Y., Chen C., Loake G.J., Chu C. Nitric oxide: promoter or suppressor of programmed cell death? *Protein Cell*, 2010, vol. 1, no. 2, pp. 133–142. DOI: 10.1007/s13238-010-0018-x.
 23. Xu X.X., Shi R.X., Fu Y. et al. Neuronal nitric oxide synthase/reactive oxygen species pathway is involved in apoptosis and pyroptosis in epilepsy. *Neural. Regen. Res*, 2023, vol. 18, no. 6, pp. 1277–1285. DOI: 10.4103/1673-5374.357906.
 24. Yan Y., Kamenshchikov N., Zheng Z., Lei C. Inhaled nitric oxide and postoperative outcomes in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass: A systematic review and meta-analysis. *Nitric Oxide*, 2024, vol. 146, no. 64, pp. 64–74. DOI: 10.1016/j.niox.2024.03.004.

25. Yeh C. H., Lin Y. M., Wu Y. C. et al. Nitric oxide attenuates cardiomyocytic apoptosis via diminished mitochondrial complex I up-regulation from cardiac ischemia-reperfusion injury under cardiopulmonary bypass // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2004. – Vol. 128, № 2. – P. 180–188. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2003.11.056.

25. Yeh C.H., Lin Y.M., Wu Y.C. et al. Nitric oxide attenuates cardiomyocytic apoptosis via diminished mitochondrial complex I up-regulation from cardiac ischemia-reperfusion injury under cardiopulmonary bypass. J. Thorac. Cardiovasc. Surg, 2004, vol. 128, no. 2, pp. 180–188. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2003.11.056.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Научно-исследовательский институт кардиологии,
Томский национальный исследовательский медицинский
центр Российской академии наук,
634012, Россия, г. Томск, ул. Киевская, 111а.

Те Марк Артурович

младший научный сотрудник, лаборатория медицины
критических состояний.
E-mail: marik640213@gmail.com, ORCID: 0000-0003-2672-6136,
SPIN-код: 9334-0989

Каменищikov Николай Олегович

канд. мед. наук, заведующий лабораторией медицины
критических состояний.
E-mail: nikolajkamenof@mail.ru, ORCID: 0000-0003-4289-4439,
SPIN-код: 9415-3606

Подоксенов Юрий Кириллович

д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория
медицины критических состояний.
E-mail: uk@cardio-tomsk.ru, ORCID: 0000-0002-8939-2340,
SPIN-код: 3257-7562

Мухомедзянов Александр Валерьевич

канд. мед. наук, научный сотрудник, лаборатория
экспериментальной кардиологии.
E-mail: sasha_m91@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1808-556X,
SPIN-код: 1865-0861

Маслов Леонид Николаевич

д-р мед. наук, зав. отделением экспериментальной
кардиологии.
E-mail: maslov@cardio-tomsk.ru, ORCID: 0000-0002-6020-1598,
SPIN-код: 5843-2490

Кравченко Игорь Валерьевич

младший научный сотрудник, лаборатория медицины
критических состояний.
E-mail: kravchenko271094@gmail.com,
ORCID: 0000-0003-0841-4673, SPIN-код: 3891-0222

Чурилина Елена Александровна

младший научный сотрудник, лаборатория медицины
критических состояний.
E-mail: lena.semenova.96@inbox.ru,
ORCID: 0000-0003-3562-9979, SPIN-код: 6338-0330

Козлов Борис Николаевич

д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория
медицины критических состояний.
E-mail: bnkozlov@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-0217-7737,
SPIN-код: 9265-9432

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research
Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
111a, Kievskaya str., Tomsk, 634012, Russia.

Tjo Mark A.

Junior Research Fellow, Laboratory of Critical Care Medicine.
E-mail: marik640213@gmail.com, ORCID: 0000-0003-2672-6136,
SPIN-код: 9334-0989

Kamenshchikov Nikolay O.

Cand. of Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Critical Care
Medicine.
E-mail: nikolajkamenof@mail.ru, ORCID: 0000-0003-4289-4439,
SPIN-код: 9415-3606

Podoksenov Yury K.

Dr. of Sci. (Med.), Leading Research Fellow, Laboratory
of Critical Care Medicine.
E-mail: uk@cardio-tomsk.ru, ORCID: 0000-0002-8939-2340,
SPIN-код: 3257-7562

Mukhomedzyanov Alexandr V.

Cand. of Sci. (Med.), Research Fellow, Laboratory
of Experimental Cardiology.
E-mail: sasha_m91@mail.ru, ORCID: 0000-0003-1808-556X,
SPIN-код: 1865-0861

Maslov Leonid N.

Dr. of Sci. (Med.), Head of the Laboratory of Experimental
Cardiology.
E-mail: maslov@cardio-tomsk.ru, ORCID: 0000-0002-6020-1598,
SPIN-код: 5843-2490

Kravchenko Igor V.

Junior Research Fellow, Laboratory of Critical Care Medicine.
E-mail: kravchenko271094@gmail.com,
ORCID: 0000-0003-0841-4673, SPIN-код: 3891-0222

Churilina Elena A.

Junior Research Fellow, Laboratory of Critical Care Medicine.
E-mail: lena.semenova.96@inbox.ru,
ORCID: 0000-0003-3562-9979, SPIN-код: 6338-0330

Kozlov Boris N.

Dr. of Sci. (Med.), Leading Research Fellow, Laboratory
of Critical Care Medicine.
E-mail: bnkozlov@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-0217-7737,
SPIN-код: 9265-9432