https://doi.org/10.21320/1818-474X-2026-3-68-79

Дозозависимое влияние оксида азота на мембраны эритроцитов и агрегацию тромбоцитов в *ex vivo* модели искусственного кровообращения: экспериментальное исследование

М.А. Тё, Ю.К. Подоксенов, Т.Ю. Реброва, С.А. Афанасьев, О.Н. Огуркова, И.В. Кравченко, А.Ю. Кояниди, Б.Н. Козлов, Н.О. Каменщиков*

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

Реферат

АКТУАЛЬНОСТЬ: Проведение искусственного кровообращения (ИК) ассоциировано с нарушением структурно-функционального состояния мембран эритроцитов и дисфункцией тромбоцитов, что способствует развитию микроциркуляторных расстройств и послеоперационной коагулопатии. Одним из перспективных направлений адъювантной органопротекции при ИК является доставка экзогенного оксида азота (NO) в контур экстракорпоральной перфузии. Вместе с тем физиологические эффекты NO носят выраженный дозозависимый характер: субтерапевтические дозы могут быть недостаточно эффективны, тогда как избыточные концентрации способны реализовывать прооксидантные и цитотоксические эффекты. Оптимальные дозы NO при ИК до настоящего времени окончательно не определены. **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:** Оценить дозозависимые эффекты доставки оксида азота в *ex vivo* модели ИК на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов. **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ:** Проведено одноцентровое проспективное пилотное экспериментальное исследование *ex vivo* с использованием модели ИК. Биоматериал получен от 8 здоровых добровольцев. Моделирование ИК осуществляли в течение 60 мин в пяти режимах: без подачи NO (контроль) и с подачей NO в концентрациях 40, 80, 120 и 160 ppm. Оценивали микровязкость и полярность мембран эритроцитов, а также спонтанную и индуцированную агрегацию тромбоцитов (аденозиндифосфат [АДФ], коллаген, адреналин, арахидоновая кислота). **РЕЗУЛЬТАТЫ:** В контрольной группе после 60 мин ИК отмечалось достоверное увеличение

Dose-dependent effects of nitric oxide on erythrocyte membranes and platelet aggregation in an *ex vivo* model of cardiopulmonary bypass: an experimental study

M.A. Tyo, Yu.K. Podoksenov, T.Yu. Rebrova, S.A. Afanasyev, O.N. Ogurkova, I.V. Kravchenko, A.Yu. Koyanidi, B.N. Kozlov, N.O. Kamenshchikov*

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

Abstract

INTRODUCTION: Delivering of exogenous nitric oxide (NO) into the extracorporeal circuit is a potential strategy for organ protection during cardiopulmonary bypass (CPB). However, its effects are dose-dependent, and optimal concentrations remain unclear. **OBJECTIVE:** To evaluate the dose-dependent effects of nitric oxide delivery on the structural and functional properties of erythrocyte membranes and platelet aggregation activity in an *ex vivo* model of CPB. **MATERIALS AND METHODS:** We performed a single-center, prospective, pilot, experimental *ex vivo* study using a CPB model. Whole blood samples were obtained from eight healthy volunteers. CPB was simulated for 60 minutes under five conditions: a control (no NO) and NO delivery at 40, 80, 120, and 160 ppm. Erythrocyte membrane microviscosity and polarity were assessed, alongside spontaneous and induced platelet aggregation (adenosine diphosphate, collagen, epinephrine, arachidonic acid). **RESULTS:** In the control group, 60 minutes of CPB simulation significantly increased erythrocyte membrane microviscosity and decreased membrane polarity. NO delivery in the range of 40–120 ppm prevented the development of these changes. However, an NO concentration of 160 ppm increased the microviscosity of lipid–lipid interactions in erythrocyte membranes. In the control group, collagen-and low-dose of adenosine diphosphate-induced platelet aggregation decreased during CPB simulation. While NO administration at 40–120 ppm stabilized platelet aggregation activity, a concentration of 160 ppm enhanced collagen-induced platelet aggregation. **CONCLUSIONS:** Exogenous nitric oxide exerts dose-dependent effects on the structural and functional properties of erythrocyte membranes and plate-

© «Практическая медицина» 2026. Данная статья распространяется на условиях «открытого доступа», в соответствии с лицензией CC BY-NC-SA 4.0 («Attribution-NonCommercial-ShareAlike» / «Атрибуция-Некоммерчески-СохранениеУсловий» 4.0), которая разрешает неограниченное некоммерческое использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии указания автора и источника. Чтобы ознакомиться с полными условиями данной лицензии на русском языке, посетите сайт: https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.ru

коэффициентов микровязкости мембран эритроцитов и снижение их полярности. Доставка NO в диапазоне 40–120 ppm предотвращала развитие указанных изменений. При концентрации NO 160 ppm выявлялось увеличение коэффициентов микровязкости липид-липидных контактов мембран эритроцитов. Агрегационная активность тромбоцитов, индуцированная низкими концентрациями АДФ и коллагеном, снижалась в контрольной группе при моделировании ИК. Применение NO в дозах 40–120 ppm стабилизировало агрегационную активность тромбоцитов, тогда как при концентрации 160 ppm отмечалось усиление коллаген-индуцированной агрегации. **ВЫВОДЫ:** Экзогенный NO при моделировании ИК *ex vivo* оказывает дозозависимое влияние на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов. Концентрации NO в диапазоне 40–120 ppm обеспечивают реализацию мембраностабилизирующего эффекта и предотвращают гиперактивацию тромбоцитов, тогда как дальнейшее увеличение дозы сопровождается утратой защитных свойств.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: искусственное кровообращение, оксид азота, агрегация тромбоцитов, мембраны эритроцитов

* *Для корреспонденции:* Каменщиков Николай Олегович — д-р мед. наук, заведующий лабораторией медицины критических состояний научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия; e-mail: nikolajkamenof@mail.ru

Для цитирования: Тё М.А., Подоксенов Ю.К., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Огуркова О.Н., Кравченко И.В., Кояниди А.Ю., Козлов Б.Н., Каменщиков Н.О. Дозозависимое влияние оксида азота на мембраны эритроцитов и агрегацию тромбоцитов в *ex vivo* модели искусственного кровообращения: экспериментальное исследование. Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. 2026; 3:68–79. https://doi.org/10.21320/1818-474X-2026-3-68-79

Поступила: 01.02.2026
Принята к печати: 15.05.2026

let aggregation activity in an *ex vivo* CPB model. Nitric oxide concentrations of 40–120 ppm exert membrane-stabilizing effects and prevent platelet hyperactivation, whereas further dose escalation leads to a loss of protective properties.

KEYWORDS: cardiopulmonary bypass, nitric oxide, platelet aggregation, erythrocyte membrane

* *For correspondence:* Nikolai O. Kamenshchikov — Dr. Med. Sci., head of Laboratory of Critical Care Medicine, Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia; e-mail: nikolajkamenof@mail.ru

For citation: Tyo M.A., Podoksenov Yu.K., Rebrova T.Yu., Afanasyev S.A., Ogurkova O.N., Kravchenko I.V., Koyanidi A.Yu., Kozlov B.N., Kamenshchikov N.O. Dose-dependent effects of nitric oxide on erythrocyte membranes and platelet aggregation in an *ex vivo* model of cardiopulmonary bypass: an experimental study. Annals of Critical Care. 2026; 3:68–79. https://doi.org/10.21320/1818-474X-2026-3-68-79

Received: 01.02.2026
Accepted: 15.05.2026

DOI: 10.21320/1818-474X-2026-3-68-79

Введение

Проведение искусственного кровообращения (ИК) ассоциировано с развитием системной воспалительной реакции, активацией перекисного окисления липидов, а также с механическим повреждением эритроцитов, что приводит к нарушению целостности цитоплазматических мембран и функциональной активности клеток крови. Повреждение мембран эритроцитов сопровождается изменением их деформируемости, что приводит к микроциркуляторным нарушениям и способствует реализации органных повреждений [1].

Ряд агрессивных факторов, ассоциированных с ИК (контакт крови с чужеродной поверхностью контура, нефизиологичный непульсирующий поток крови, активация системы комплемента и др.), также вызывают первичную активацию тромбоцитов с развитием последующей дисфункции и угнетением активности. Указанные изменения могут приводить к дисбалансу в системе гемостаза и развитию послеоперационной коагулопатии [2, 3].

Одним из перспективных направлений адъювантной органопротекции при операциях с ИК является доставка оксида азота (NO) в контур аппарата ИК. Экспериментально показано, что применение NO снижает выраженность структурно-функциональных нарушений мембран эритроцитов и способствует сохранению их функциональной активности [4]. Наряду с этим NO ингибирует адгезию, агрегацию и дегрануляцию тромбоцитов [5], что может предотвращать их гиперактивацию во время экстракорпоральной перфузии и способствовать поддержанию гемостатического потенциала.

Однако физиологические эффекты NO носят дозозависимый характер, что обусловливает научно-клиническую дилемму баланса риск/польза при выборе целевых концентраций NO в условиях экстракорпоральной перфузии. Субоптимальные дозы NO не обеспечивают реализации органопротективного фенотипа. При этом при высоких концентрациях NO проявляет прооксидантные и цитотоксические свойства, способен инициировать перекисное окисление липидов, запускать механизмы регулируемой клеточной гибели, включая апоптоз и некроптоз, а также усиливать повреждение эритроцитов в условиях ИК [6, 7]. Избыточные дозы NO также могут вызывать выраженное угнетение функциональной активности тромбоцитов, что снижает эффективность первичного гемостаза и повышает риск развития послеоперационных кровотечений.

Таким образом, до настоящего времени не установлены оптимальная терапевтическая доза NO и продолжительность экспозиции. При этом используемая концентрация должна обеспечивать мембранопротекцию эритроцитов и антиактивационный/антидегрануляционный эффект на тромбоцитарное звено без выхода за пределы безопасных концентраций.

Цель исследования

Оценить дозозависимые эффекты доставки NO на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов в *ex vivo* модели ИК.

Материалы и методы

Было выполнено одноцентровое проспективное пилотное экспериментальное исследование *ex vivo* (модель ИК). Исследование выполнено в соответствии с принципами STROBE (Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology) для экспериментальных *ex vivo* исследований. Биоматериал был получен от 8 здоровых добровольцев. У всех участников предварительно было получено информированное согласие.

Критерии включения в исследование

- возраст старше 18 лет;
- подписанное информированное добровольное согласие.

Критерии невключения в исследование:

- наличие острых или хронических заболеваний в стадии декомпенсации на момент включения;
- любые состояния, которые могли повлиять на исследуемые показатели крови.

Критерии исключения из исследования: развитие осложнений, связанных с проведением венепункции.

У каждого участника с интервалом в 1 нед. последовательно выполняли забор пяти образцов периферической венозной крови. Полученные образцы крови помещали в стендовый аппарат ИК (Dideco D100 KIDS, Италия), в котором моделировали следующие режимы:

- механическая перфузия без подачи NO (контроль);
- механическая перфузия с подачей NO в концентрации 40 ppm;
- механическая перфузия с подачей NO в концентрации 80 ppm;
- механическая перфузия с подачей NO в концентрации 120 ppm;
- механическая перфузия с подачей NO в концентрации 160 ppm.

Каждый доброволец последовательно прошел все пять экспериментальных этапов. Таким образом, для каждой концентрации NO было получено по 8 независимых образцов (по одному от каждого участника). Общее количество проведенных экспериментов составило 40 (8 участников × 5 экспериментальных условий). Рандомизация порядка воздействий в данном пилотном исследовании не предусматривалась.

Методика моделирования искусственного кровообращения

Схема экспериментальной установки ИК с подачей в контур экзогенного NO представлена на рис. 1.

Для заполнения контура использовали раствор, содержащий:

- 11 мл цитрата натрия;
- 30 мл Стерофундина;
- 30 мл дистиллированной воды;
- 8 мл раствора $NaHCO_3$;
- 1 мл раствора KCl 4 %;
- 0,5 мл 40 % раствора глюкозы.

Данный прайм обеспечивал необходимую антикоагуляцию и поддержание кислотно-основного и электролитного гомеостаза образца крови.

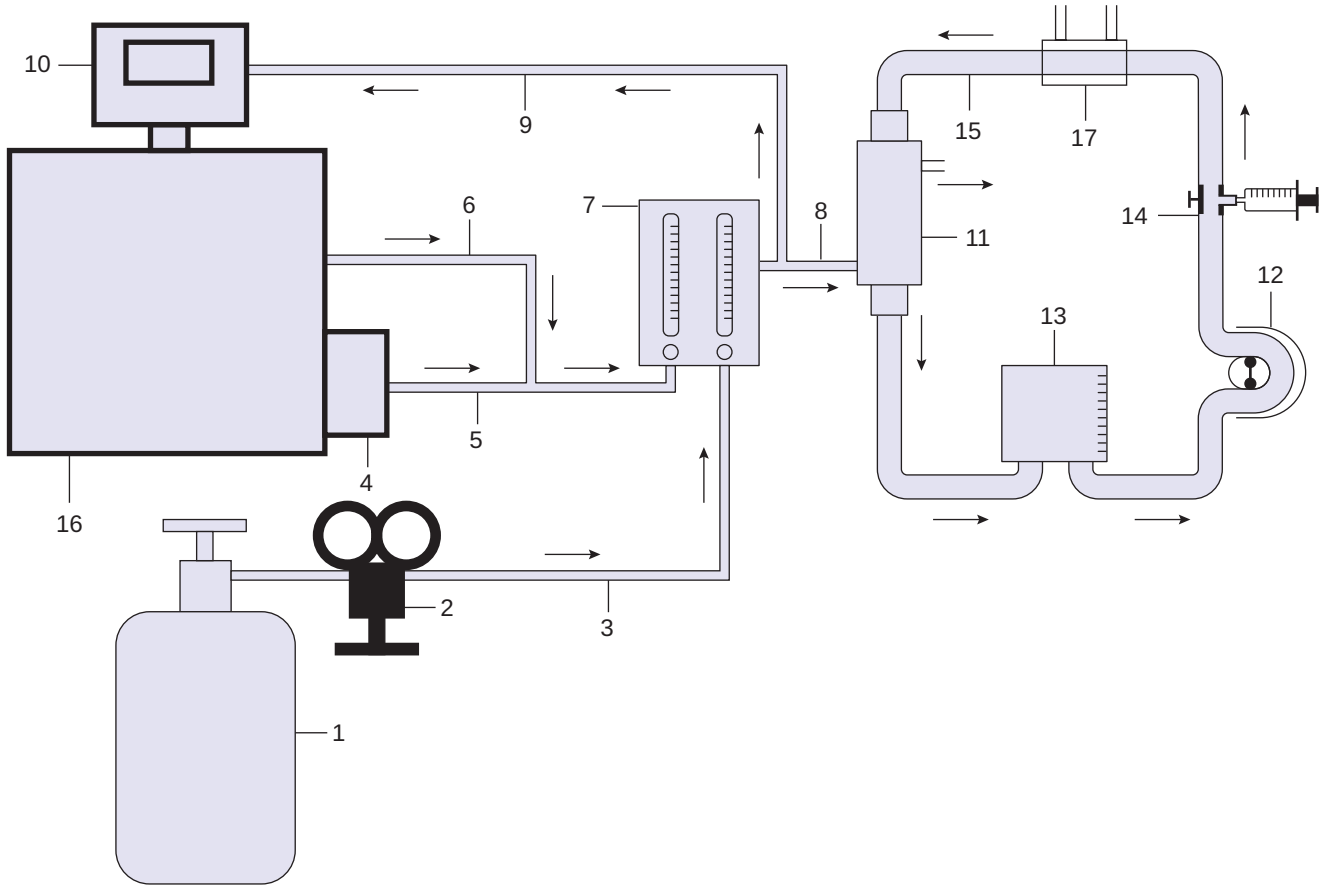

Рис. 1. Модель искусственного кровообращения с доставкой оксида азота:

1 — источник медицинского углекислого газа; *2* — редуктор; *3* — магистраль подачи углекислого газа; *4* — источник медицинского воздуха; *5* — магистраль подачи медицинского воздуха; *6* — магистраль подачи оксида азота; *7* — дозиметр; *8* — магистраль подачи газово-воздушной смеси; *9* — магистраль забора проб газово-воздушной смеси; *10* — анализатор концентрации оксида азота и диоксида азота; *11* — оксигенатор; *12* — роликовый насос аппарата искусственного кровообращения; *13* — кардиотомный резервуар; *14* — тройник для забора проб и заполнения контура; *15* — магистраль для крови; *16* — генератор оксида азота; *17* — теплообменник.

Fig. 1. Cardiopulmonary bypass model with nitric oxide delivery:

1 — medical carbon dioxide source; *2* — pressure regulator; *3* — carbon dioxide supply line; *4* — medical air source; *5* — medical air supply line; *6* — nitric oxide supply line; *7* — gas flowmeter; *8* — gas-air mixture supply line; *9* — gas-air mixture sampling line; *10* — nitric oxide and nitrogen dioxide analyzer; *11* — oxygenator; *12* — roller pump of the CPB machine; *13* — cardiotomy reservoir; *14* — three-way connector for sampling and circuit priming; *15* — blood line; *16* — nitric oxide generator; *17* — heat exchanger.

Забор крови у здоровых добровольцев осуществляли натощак из кубитальной вены в объеме 100 мл. Заполнение кардиотомного резервуара (*13*) выполняли через тройник (*14*).

После перемешивания крови с первичным праймом запускали роликовый насос аппарата ИК (*12*), обеспечивающий движение крови по магистрали (*15*) с целью заполнения контура и вытеснения воздуха.

После полного заполнения контура инициировали ИК. Для этого одновременно осуществляли:

- подачу углекислого газа из баллона (*1*);
- подачу воздуха из компрессора (*4*);
- подачу NO с использованием аппарата плазмохимического синтеза NO «Тианокс» (РФЯЦ-ВНИИЭФ, г. Саров, РФ) (*16*).

Скорость подачи газов контролировали с помощью дозиметра (*7*). Мониторинг концентраций NO и диоксида азота осуществляли с использованием газоанализатора аппарата «Тианокс» (*10*).

После прохождения дозиметра газовая смесь поступала в оксигенатор (*11*), где взаимодействовала с кровью.

Объемную скорость работы роликового насоса (*12*) устанавливали на уровне 100 мл/мин. Давление в контуре ИК составляло около 40 мм рт. ст. Давление окклюзии при полностью пережатых магистралях и скорости вращения насоса 5 об./мин составляло 300–350 мм рт. ст. Температуру в контуре поддерживали на уровне 37 °C с помощью теплообменника (*17*) на протяжении всего эксперимента. Моделирование ИК продолжали в течение 1 ч.

Оценку содержания гемоглобина и гематокрита, сатурации кислородом, парциальных давлений кислорода и углекислого газа, уровня метгемоглобина, а также показателей кислотно-основного состояния крови проводили дискретно каждые 10 мин на газоанализаторе Stat Profile CCX (Nova Biomedical, США).

Методика определения микровязкости мембран эритроцитов

Для выделения мембран эритроцитов и последующего определения коэффициентов их микровязкости кровь, смешанную с праймом, в объеме 10 мл отбирали в вакутейнер с этилендиаминтетрауксусной кислотой, калиевой солью через тройник (*14*) стендовой установки ИК до начала подачи экзогенного NO и через 60 мин после начала его подачи в контур.

Последующее исследование структурно-функционального состояния мембран эритроцитов проводили с использованием метода, ранее подробно описанного в нашей предыдущей публикации [4].

Методика определения агрегационной способности тромбоцитов

Для выделения тромбоцитов и оценки их агрегационной способности кровь, смешанную с праймом, в объеме 10 мл плазмы отбирали в пластиковые пробирки. Плазму, богатую тромбоцитами, получали с использованием центрифуги ОПн-3.02 при 1000 об./мин в течение 7 мин.

Агрегационную активность тромбоцитов исследовали методом Г. Борна в модификации З.А. Габбасова с использованием двухканального лазерного анализатора агрегации 220 LA («НПФ Биола») с компьютерной обработкой данных в программе AGGR. Метод основан на анализе флуктуаций светопропускания, величина которых пропорциональна среднему размеру образующихся агрегатов.

В качестве индукторов агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ), коллаген, адреналин и арахидоновую кислоту. Рабочие растворы готовили с использованием диагностических наборов фирм «Технология-стандарт» и «Sigma» согласно инструкциям производителя. Конечные концентрации индукторов в реакционной смеси составляли: АДФ — 0,5 и 5 мкМ, коллаген — 2 нг/мл, адреналин — 5 мкМ, арахидоновая кислота — 1 мМ. В кюветы с обогащенной тромбоцитами плазмой объемом 300 мкл добавляли 30 мкл соответствующего индуктора. Запись кривых агрегации проводили в течение 5 мин, при этом индуктор вносили через 10 с от начала регистрации. Степень агрегации оценивали по максимальному увеличению светопропускания после добавления индуктора, выраженному в процентах.

Оценку исходов проводили в условиях ослепления: исследователи, анализирующие структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов, не имели информации о принадлежности образцов к экспериментальным группам.

Статистический анализ

Статистический анализ результатов проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics версии 26 (IBM Corporation, Армонк, США). При описании количественных показателей использовали медиану (Me) и первый и третий квартили [Q1; Q3]. Для сравнения значений в связанных выборках применяли *W*-критерий Уилкоксона. При сравнении нескольких независимых выборок количественных данных применялся критерий Краскела—Уоллиса. В случае выявления статистически значимых различий между группами выполнялось апостериорное попарное сравнение с использованием критерия Данна. Коррекция уровня значимости при апостериорных сравнениях выполнялась с использованием поправки Бонферрони. Критический уровень статистической значимости при проверке гипотез составлял 0,05.

Результаты

На протяжении всего периода ИК показатели гемоглобина, гематокрита, сатурации, парциальных давлений кислорода и углекислого газа, уровней лактата и метгемоглобина, а также показатели кислотно-основного состояния крови статистически значимо не различались между группами на всех этапах исследования и находились в пределах референсных значений. Концентрация диоксида азота перед входом в оксигенатор во всех исследованных диапазонах концентрации NO не превышала 3 ppm.

Значения коэффициентов микровязкости и полярности мембран эритроцитов представлены в табл. 1.

В контрольной группе после 60 мин ИК достоверно увеличивались коэффициенты микровязкости белок-липидных (p = 0,012) и липид-липидных контактов (p = 0,012) и снижался коэффициент полярности белок-липидных контактов (p = 0,012).

При доставке NO в концентрациях 40–120 ppm значимых изменений исследуемых параметров не выявлено (p > 0,05).

При концентрации NO 160 ppm отмечено увеличение микровязкости липид-липидных контактов (p = 0,017), тогда как остальные показатели оставались без статистически значимых изменений.

Через 60 мин моделирования ИК статистически значимых межгрупповых различий коэффициентов микровязкости и полярности мембран эритроцитов в зависимости от дозы NO выявлено не было (p > 0,05 для всех показателей).

Таблица 1. Коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов при моделировании искусственного кровообращения с различными концентрациями оксида азота

Table 1. Microviscosity and polarity coefficients of erythrocyte membranes in cardiopulmonary bypass simulation with different concentrations of nitric oxide

Конц. NO	Этап	Микровязкость БЛК, отн. ед. Me [Q1; Q3]	*p*	Микровязкость ЛЛК, отн. ед. Me [Q1; Q3]	*p*	Полярность БЛК, отн. ед. Me [Q1; Q3]	*p*	Полярность ЛЛК, отн. ед. Me [Q1; Q3]	*p*
Контроль	Исходно	0,38 [0,32; 0,41]	0,01*	0,45 [0,39; 0,52]	0,01*	0,95 [0,94; 1,16]	0,01*	0,81 [0,78; 0,87]	0,78
	60 мин ИК	0,44 [0,39; 0,46]		0,52 [0,47; 0,56]		0,93 [0,92; 0,96]		0,8 [0,8; 0,87]	
40 ppm	Исходно	0,38 [0,35; 0,41]	0,4	0,47 [0,44; 0,53]	0,16	0,93 [0,9; 1,03]	0,67	0,79 [0,79; 0,86]	1
	60 мин ИК	0,35 [0,3; 0,42]		0,42 [0,35; 0,54]		0,93 [0,9; 0,95]		0,79 [0,78; 0,83]	
80 ppm	Исходно	0,33 [0,3; 0,39]	0,16	0,39 [0,34; 0,5]	0,16	0,93 [0,92; 0,99]	0,09	0,79 [0,78; 0,93]	0,4
	60 мин ИК	0,39 [0,35; 0,42]		0,48 [0,41; 0,55]		0,91 [0,9; 0,92]		0,78 [0,77; 0,81]	
120 ppm	Исходно	0,38 [0,34; 0,57]	0,4	0,45 [0,4; 0,62]	0,49	0,92 [0,87; 0,93]	0,58	0,82 [0,79; 0,88]	0,04*
	60 мин ИК	0,36 [0,35; 0,59]		0,44 [0,42; 0,64]		0,91 [0,89; 0,93]		0,77 [0,77; 0,8]	
160 ppm	Исходно	0,33 [0,29; 0,55]	0,07	0,38 [0,35; 0,52]	0,02*	0,94 [0,91; 0,95]	0,4	0,78 [0,77; 0,79]	0,4
	60 мин ИК	0,39 [0,36; 0,58]		0,47 [0,44; 0,6]		0,93 [0,89; 0,94]		0,8 [0,76; 0,82]	

Примечание: * Различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).
БЛК — белок-липидные контакты; конц. NO — концентрация оксида азота; ЛЛК — липид-липидные контакты.

Note: * Differences between parameters are statistically significant ($p < 0.05$).
БЛК — protein-lipid contacts; конц. NO — nitric oxide concentration; ЛЛК — lipid-lipid contacts.

Агрегационная активность тромбоцитов при моделировании ИК с различными дозами NO представлена в табл. 2.

Спонтанная агрегация тромбоцитов, а также агрегация, индуцированная АДФ 5 мкМ, адреналином и арахидоновой кислотой, не изменялись после 60 мин ИК ни в контрольной группе, ни при доставке NO в концентрациях 40–160 ppm ($p > 0,05$).

При стимуляции агрегации тромбоцитов АДФ 0,5 мкМ в контрольной группе отмечено снижение агрегации после 60 мин ИК ($p = 0,011$), тогда как в группах с доставкой NO достоверных изменений не выявлено.

Коллаген-индуцированная агрегация снижалась в контрольной группе после ИК ($p = 0,011$), не изменялась при концентрациях NO 40–120 ppm и достоверно возрастала при 160 ppm NO ($p = 0,011$).

Через 60 мин моделирования ИК статистически значимых межгрупповых различий спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов между группами с различными дозами NO выявлено не было ($p > 0,05$ для всех показателей).

Обсуждение

Полученные в данном *ex vivo* экспериментальном исследовании результаты подтверждают роль ИК как повреждающего фактора и демонстрируют дозозависимый характер влияния экзогенного NO на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов.

В контрольной группе моделирование ИК сопровождалось статистически значимым увеличением коэффициентов микровязкости в области белок-липидных и липид-липидных взаимодействий мембран эритроцитов, что свидетельствует об уменьшении количества эксимеров (димеров) зонда пирена в толще мембран, что возможно при повышении плотности упаковки молекул фосфолипидов в мембранном бислое и, следовательно, повышении его микровязкости. Указанные изменения характерны для механического и оксидативного повреждения эритроцитов при экстракорпоральном кровообращении и ранее описаны как следствие сдвиговых напряжений, контакта с чужеродной поверхностью и активации перекисного окисления липидов. Изменение микровязкости мембран эритроцитов может приводить к микроциркуляторным изменениям, что рассматривается как один из механизмов ухудшения тканевой перфузии и развития органной дисфункции в условиях ИК [1].

Применение NO в дозах 40–120 ppm предотвращало развитие указанных нарушений, что указывает на мембраностабилизирующий и мембранопротективный эффект по отношению к эритроцитам NO в данном диапазоне концентраций. Вероятными механизмами данного действия являются ингибирование перекисного окисления липидов, снижение активности свободнорадикальных процессов, а также модуляция взаимодействий мембранных белков с липидным бислоем [8]. Полученные результаты согласуются с экспериментальными и клиническими данными, свидетельствующими о способности NO улучшать реологические свойства эритроцитов и снижать степень их повреждения при ИК без негативного влияния на оксигенаторы [9–11]. Данный диапазон концентраций NO также показал свою безопасность и эффективность в реализации органопротективного фенотипа в серии экспериментальных работ и клинических исследований [12–14]. При этом патофизиологически обоснованная оптимизация концентраций NO не находилась в фокусе внимания исследователей.

В данном исследовании использование NO в дозе 160 ppm сопровождалось снижением микровязкости липид-липидных контактов мембран эритроцитов, что, вероятно, отражает дестабилизацию липидного бислоя вследствие оксидативного и нитрозативного повреждения мембранных липидов и указывает на переход доставки экзогенного NO из защитного в потенциально повреждающий фактор. Известно, что при высоких концентрациях NO взаимодействует с супероксидным анионом с образованием пероксинитрита — высокореакционного прооксиданта, инициирующего нитрозилирование белков и окислительное повреждение мембранных липидов [15]. Полученные данные подтверждают узкий терапевтический диапазон NO и необходимость строгого контроля его концентрации при использовании в контуре ИК, несмотря на перспективность данного подхода в других клинических сценариях [16].

Наряду с влиянием на микровязкость мембран, в проведенных экспериментах NO оказывал эффект и на показатели полярности. Введение NO предотвращало снижение полярности аннулярных липидов, наблюдавшееся в контрольной группе после 60 мин циркуляции, что может свидетельствовать о сохранении нормальной гидрофильно-гидрофобной организации мембранных доменов. Выявленное снижение полярности в области липид-липидных взаимодействий при концентрации NO 120 ppm, вероятно, отражает перераспределение мембранных липидов и изменение микродоменной организации мембраны под действием NO, не сопровождающееся нарушением ее целостности. Подобные эффекты описываются как адаптационные и требуют дальнейшего изучения с привлечением дополнительных методов мембранного анализа.

Аналогичные закономерности были получены в других экспериментальных исследованиях, в которых моделирование ИК сопровождалось менее выраженными изменениями структурно-функциональной организации мембран эритроцитов [4]. В условиях циркуляции крови в сосудистом русле животного изменения микровязкости ограничивались областью аннулярных липидов, тогда как при прохождении крови через экспе-

Таблица 2. Агрегационная активность тромбоцитов при моделировании искусственного кровообращения с различными дозами оксида азота

Table 2. Platelet aggregation activity during cardiopulmonary bypass simulation with different doses of nitric oxide

Конц. NO	Этап	Спонтанная агрегация, % Me [Q1; Q3]	*p*	АДФ 5 мкМ, % Me [Q1; Q3]	*p*	АДФ 0,5 мкМ, % Me [Q1; Q3]	*p*
Контроль	Исходно	1,24 [0,92; 1,32]	0,12	5,13 [4,76; 6,15]	0,16	3,21 [2,15; 5,19]	0,01*
	60 мин ИК	0,93 [0,74; 1,23]		4,81 [4,12; 6,16]		2,75 [1,87; 4,12]	
40 ppm	Исходно	1,26 [0,85; 1,47]	0,18	5,13 [4,32; 6,23]	0,26	3,27 [2,4; 4,49]	0,33
	60 мин ИК	0,95 [0,73; 1,39]		4,91 [3,49; 5,48]		2,9 [1,59; 3,56]	
80 ppm	Исходно	1,21 [0,96; 1,32]	0,53	5,13 [4,74; 7,14]	0,58	3,23 [2,65; 5,49]	0,89
	60 мин ИК	1,27 [0,96; 1,6]		5,03 [4,17; 6,73]		3,14 [2,25; 4,99]	
120 ppm	Исходно	1,2 [0,78; 1,31]	1	5,17 [4,26; 6,46]	0,57	3,25 [2,39; 4,41]	1
	60 мин ИК	1,18 [0,72; 1,35]		5,09 [4,12; 6,94]		3,16 [1,47; 5,46]	
160 ppm	Исходно	1,29 [0,94; 1,49]	0,87	5,19 [4,32; 7,39]	0,29	3,21 [2,78; 4,36]	0,67
	60 мин ИК	1,3 [0,81; 1,51]		5,29 [4,32; 7,56]		3,28 [2,28; 4,59]	
Конц. NO	**Этап**	**Адреналин 5 мкМ, % Me [Q1; Q3]**	***p***	**Коллаген 2 нг/мл, % Me [Q1; Q3]**	***p***	**АК 1 мМ, % Me [Q1; Q3]**	***p***
Контроль	Исходно	5,94 [3,12; 7,89]	0,48	49,43 [47,13; 52,49]	0,01*	12,75 [9,49; 14,49]	0,4
	60 мин ИК	5,92 [3,52; 7,25]		45,51 [42,37; 49,19]		12,74 [10,49; 13,19]	
40 ppm	Исходно	5,93 [3,78; 6,45]	0,23	49,52 [45,37; 53,43]	0,58	12,35 [10,21; 12,76]	0,67
	60 мин ИК	5,96 [3,68; 7,48]		49,41 [46,76; 54,19]		12,75 [9,49; 14,49]	
80 ppm	Исходно	5,92 [4,16; 8,15]	0,74	49,67 [48,13; 51,51]	0,73	12,73 [9,31; 13,26]	0,58
	60 мин ИК	5,96 [4,16; 8,49]		49,5 [47,56; 52,49]		12,73 [9,49; 14,49]	
120 ppm	Исходно	5,94 [3,59; 7,51]	0,48	49,8 [47,43; 51,49]	0,67	12,76 [10,12; 15,46]	0,2
	60 мин ИК	5,91 [4,51; 7,59]		49,4 [47,98; 52,35]		12,43 [8,98; 12,75]	
160 ppm	Исходно	5,95 [2,84; 7,56]	0,57	49,76 [45,27; 53,12]	0,01*	12,74 [9,68; 14,35]	0,57
	60 мин ИК	5,94 [4,61; 8,65]		68,97 [64,41; 72,49]		12,75 [10,41; 14,53]	

Примечание: * Различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$).
АДФ — аденозиндифосфат; АК — арахидоновая кислота; конц. NO — концентрация оксида азота.

Note: * Differences between parameters are statistically significant ($p < 0.05$).
АДФ — adenosine diphosphate; АК — arachidonic acid; конц. NO — nitric oxide concentration.

риментальную установку *ex vivo* отмечались более выраженные нарушения в зоне липид-липидных и белок-липидных контактов, что указывает на более жесткие условия воздействия. Несмотря на это, добавление NO сопровождалось нормализацией измененных параметров мембран, что подтверждает его мембраностабилизирующий потенциал.

Анализ агрегационной активности тромбоцитов показал, что в контрольной группе ИК приводило к снижению агрегационного ответа на стимуляцию АДФ в низкой концентрации (0,5 мкМ), отражающей чувствительность тромбоцитов к слабым физиологическим агонистам, а также на коллаген — ключевой индуктор адгезии и активации тромбоцитов при повреждении сосудистой стенки. Данные изменения соответствуют феномену первичной гиперактивации тромбоцитов с последующим функциональным истощением, ранее описанному при ИК [2].

Доставка NO в дозах 40–120 ppm предотвращала развитие указанных изменений, что указывает на его способность стабилизировать функциональное состояние тромбоцитов, ограничивать их гиперактивацию в условиях ИК и сохранять адекватную реактивность после циркуляции.

При концентрации NO 160 ppm отмечалось значимое усиление коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов, что может отражать дисбаланс регуляторного влияния NO на тромбоцитарную активацию при превышении терапевтического диапазона доз. Данный эффект подчеркивает потенциальную опасность использования высоких концентраций NO и необходимость прецизионного подбора дозировки для предотвращения нарушений системы гемостаза.

Интерпретацию полученных результатов существенно дополняют новые данные о зависимости системного поглощения NO от способа его доставки. Cenci S. et al. показали, что при идентичной концентрации NO (80 ppm) скорость системного поглощения при доставке через контур аппарата искусственной вентиляции легких более чем втрое превышает таковую при подаче в контур аппарата ИК (25,1 *vs* 8,2 мкмоль/мин; $p < 0{,}001$), что отражается в достоверно более низких уровнях метгемоглобина во время механической перфузии (0,6 *vs* 2,1 %) [17]. Такие же закономерности системной адсорбции NO были показаны при других клинических сценариях [18, 19]. Таким образом, текущая клиническая практика и рекомендации, рассматривающие диапазон концентраций 20–80 ppm в качестве стандартного при ингаляционном применении NO через контур аппарата искусственной вентиляции легких, не могут быть автоматически перенесены на режим доставки через оксигенатор аппарата ИК. При сопоставимой концентрации реальная системная биодоступность молекулы при доставке во время механической перфузии оказывается существенно ниже, что может обусловливать недостаточную выраженность органопротективного эффекта. Клиническая значимость этого феномена определяется еще и тем, что степень выраженности постперфузионного гемолиза — ключевого патофизиологического субстрата, определяющего терапевтическую мишень для экзогенного NO, — существенно варьирует в зависимости от совокупности операционных, технических и биологических факторов [20]. Операции высокой процедурной сложности, повторные и экстренные вмешательства, а также длительные комбинированные процедуры ассоциированы с повышенным риском гемолиза вследствие большей продолжительности ИК, механической травмы эритроцитов и увеличения потребности в трансфузиях [21]. Наряду с операционно-техническими детерминантами, тяжесть гемолиза определяется исходным структурно-функциональным статусом эритроцитов пациента: даже при отсутствии диагностированных гематологических заболеваний исходное повышение перекисного окисления липидов мембран, дефицит 2,3-дифосфоглицерата и сниженная деформируемость эритроцитов достоверно предсказывают высокие концентрации свободного гемоглобина во время ИК [22]. Дополнительными биологическими модификаторами являются уровень гематокрита, дефицит гаптоглобина, а также этническая и генетическая вариабельность механической резистентности эритроцитов [23]. В этом контексте принципиально важно, что экзогенный NO не только нивелирует токсические эффекты свободного гемоглобина, но и непосредственно защищает структурно-функциональный статус эритроцитарных мембран. Показано, что NO нивелирует негативные эффекты ИК и гипотермической остановки кровообращения на полярность и микровязкость мембран эритроцитов, а клинические данные свидетельствуют об ослаблении липидной пероксидации и патологической эритроцитарной агрегации на фоне его применения, что полностью согласуется с результатами настоящего исследования [24]. В данном исследовании установлено, что диапазон 40–120 ppm обеспечивает мембранопротекцию эритроцитов и стабилизацию тромбоцитарной функции без признаков цитотоксичности. Вместе с тем дальнейшее увеличение концентрации до 160 ppm сопровождается появлением феномена обратного ответа (opposite responder effect): значимым нарастанием микровязкости липид-липидных контактов мембран эритроцитов и усилением коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов, что свидетельствует о переходе NO из мембранопротективного в прооксидантный режим действия с утратой антиагрегационных свойств. Таким образом, концентрация 120 ppm при доставке в оксигенатор аппарата ИК представляется оптимальным целевым уровнем: вероятно, она обеспечивает пороговую системную биодоступность NO, необходимую для реализации мультиорганной защиты и при этом остается в пределах безопасного гемореологического диапазона, не достигая концентраций, инициирующих обратный

эффект. Совокупность представленных данных формирует научное обоснование для проведения клинических испытаний NO в концентрации 120 ppm при его доставке непосредственно в контур экстракорпоральной циркуляции, прежде всего у пациентов высокого риска, при сложных реконструктивных и сочетанных процедурах, повторных вмешательствах, а также при исходно скомпрометированном структурно-функциональном статусе эритроцитов как наиболее уязвимой субпопуляции с точки зрения гемолиз-опосредованного органного повреждения.

Данное исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, *ex vivo* характер модели ИК лишен эффектов нейрогуморальной регуляции, эндотелиального ответа, системной воспалительной реакции и клиренса NO и его метаболитов, характерных для *in vivo* перфузии. Это же относится к вариабельности перфузионных стратегий (скорость потока, температурный режим, выраженность гемодилюции и др.), которые могут модифицировать степень повреждения мембран эритроцитов и уровень гемолиза, а также тромбоцитарную реактивность. Данные обстоятельства существенно ограничивают экстраполяцию выявленных дозозависимых эффектов на клинические условия кардиохирургических вмешательств с ИК. Во-вторых, небольшой размер выборки исследования не предполагает построение сложной многопараметрической модели для однозначной трактовки клинически значимых различий по показателям микровязкости мембран эритроцитов и тромбоцитарной реактивности.

Наконец, данная работа фокусировалась на прокси-паттернах мембранного и тромбоцитарного ответа и не включала оценку органоспецифичных исходов. Таким образом, терапевтический диапазон концентраций ингаляционного NO при доставке в контур экстракорпорального кровообращения (40–120 ppm), определенный в данном исследовании как оптимальный, требует клинической верификации в последующих рандомизированных контролируемых исследованиях. При этом использование концентрации 120 ppm представляется наиболее обоснованной.

Заключение

Экзогенный NO при моделировании ИК *ex vivo* оказывает дозозависимое влияние на структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов. Концентрации NO в диапазоне 40–120 ppm обеспечивают реализацию мембраностабилизирующего эффекта и предотвращают гиперактивацию тромбоцитов, тогда как дальнейшее увеличение дозы сопровождается утратой защитных свойств. Для определения оптимальной концентрации необходимо проведение дальнейших клинических исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no competing interests.

Вклад авторов. Все авторы в равной степени участвовали в разработке концепции статьи, получении и анализе фактических данных, написании и редактировании текста статьи, проверке и утверждении текста статьи.

Author contribution. All authors according to the ICMJE criteria participated in the development of the concept of the article, obtaining and analyzing factual data, writing and editing the text of the article, checking and approving the text of the article.

Этическое утверждение. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ (протокол № 283 от 10.09.2025).

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of the Research Institute of Cardiology of the Tomsk National Research Medical Center (Protocol No. 283 dated September 10, 2025).

Информация о финансировании. Исследование проводилось в рамках государственного задания на проведение фундаментальных научных исследований № 125041705260-5, зарегистрированного 17 апреля 2025 г.

Funding source. The study was conducted within the framework of the state assignment for basic research No. 125041705260-5, registered on April 17, 2025.

Декларация о наличии данных. Данные, подтверждающие выводы этого исследования, можно получить у корреспондирующего автора по обоснованному запросу.

Data availability statement. Data supporting the conclusions of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Благодарности. Авторы благодарят научного сотрудника лаборатории реаниматологии Елену Ким за перевод рукописи на английский язык.

Acknowledgments. The authors thank Research Assistant of the Laboratory of Critical Care Medicine Elena Kim for the English translation of the manuscript.

ORCID авторов:

Тё М.А. — 0000-0003-2672-6136

Подоксенов Ю.К. — 0000-0002-8939-2340

Реброва Т.Ю. — 0000-0003-3667-9599

Афанасьев С.А. — 0000-0001-6066-3998

Огуркова О.Н. — 0000-0001-8397-0296
Кравченко И.В. — 0000-0003-0841-4673
Кояниди А.Ю. — 0009-0002-8457-2497
Козлов Б.Н. — 0000-0002-0217-7737
Каменщиков Н.О. — 0000-0003-4289-4439

Литература/References

[1] *Vercaemst L.* Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: a review in search of a treatment algorithm. J Extra Corpor Technol. 2008; 40(4): 257–67. DOI: 10.1051/ject/200840257
[2] *Varghese S.J., Unni M.K., Mukundan N., Rai R.* Platelet Functions in Cardiopulmonary Bypass Surgery. Med J Armed Forces India. 2005; 61(4): 316–21. DOI: 10.1016/S0377-1237(05)80053-X
[3] *Harker L.A., Malpass T.W., Branson H.E., et al.* Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: acquired transient platelet dysfunction associated with selective alpha-granule release. Blood. 1980; 56(5): 824–34. DOI: 10.1182/blood.V56.5.824.824
[4] *Реброва Т.Ю., Подоксенов Ю.К., Афанасьев С.А. и др.* Эффекты оксида азота на микровязкость и полярность мембран эритроцитов при оперативном вмешательстве на сердце в эксперименте. Сибирский научный медицинский журнал. 2024; 43(6): 101–7. [*Rebrova T.Yu., Podoksenov Yu.K., Afanasiev S.A., et al.* Effects of nitric oxide on microviscosity and polarity of erythrocyte membranes in experiment. Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal. 2024; 43(6): 101–7. (In Russ)] DOI: 10.18699/SSMJ20230612
[5] *Loscalzo J.* Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. Circ Res. 2001; 88(8): 756–62. DOI: 10.1161/hh0801.089861
[6] *Li J., Billiar T.R.* The role of nitric oxide in apoptosis. Semin Perinatol. 2000; 24(1): 46–50. DOI: 10.1016/s0146-0005(00)80055-5
[7] *Brown G.C., Borutaite V.* Nitric oxide, mitochondria, and cell death. IUBMB Life. 2001; 52(3–5): 189–195. DOI: 10.1080/15216540152845993
[8] *Kamenshchikov N.O., Churilina E.A., Korepanov V.A., et al.* Effect of inhaled nitric oxide on intestinal integrity in cardiopulmonary bypass and circulatory arrest simulation: An experimental study. Indian J Anaesth. 2024; 68(7): 623–30. DOI: 10.4103/ija.ija1267_23
[9] *Дерюгина А.В., Богуш А.В., Пичугин В.В. и др.* Влияние медицинских газов на агрегацию и электрофоретическую подвижность эритроцитов у кардиохирургических больных. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2025; 88(10): 15–19. [*Deryugina A.V., Bogush A.V., Pichugin V.V., et al.* Effect of medical gases on the aggregation and electrophoretic mobility of erythrocytes in cardiac surgery patients. Experimental and clinical pharmacology. 2025; 88(10): 15–19. (In Russ)] DOI: 10.30906/0869-2092-2025-88-10-15-19
[10] *Пичугин В.В., Дерюгина А.В., Домнин С.Е. и др.* Первый опыт комбинированного применения оксида азота и молекулярного водорода в обеспечении операций на сердце у пациентов высокого риска. Пульмонология. 2024; 34(1): 32–41. [*Pichugin V.V., Deryugina A.V., Domnin S.E., et al.* The first experience of the combined use of nitric oxide and molecular hydrogen for cardiac surgery in high-risk patients. Pulmonologiya. 2024; 34(1): 32–41. (In Russ)] DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-1-32-41
[11] *Радовский А.М., Воротынцев И.В., Атласкин А.А. и др.* Воздействие высокой концентрации оксида азота на оксигенаторы аппаратов искусственного кровообращения (экспериментальное исследование). Общая реаниматология. 2024; 20(1): 50–62. [*Radovskiy A.M., Vorotyntsev I.V., Atlaskin A.A., et al.* The Effect of High Nitric Oxide Concentrations on Oxygenators in Cardiopulmonary Bypass Machines (Experimental Study). General Reanimatology. 2024; 20(1): 50–62. (In Russ)] DOI: 10.15360/1813-9779-2024-1-2351
[12] *Баутин А.Е., Радовский А.М., Маричев А.О. и др.* Влияние оксида азота, подаваемого в оксигенатор аппарата искусственного кровообращения, на функциональное и морфологическое состояние внутренних органов: экспериментальное исследование. Пульмонология. 2024; 34(3): 350–63. [*Bautin A.E., Radovskiy A.M., Marichev A.O., et al.* The effect of nitric oxide supplied to the oxygenator of the cardiopulmonary bypass on the functions and morphology of internal organs: experimental animal study. Pulmonologiya. 2024; 34(3): 350–63. (In Russ)] DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-3-350-363
[13] *Radovskiy A.M., Bautin A.E., Marichev A.O., et al.* NO Addition during Gas Oxygenation Reduces Liver and Kidney Injury during Prolonged Cardiopulmonary Bypass. Pathophysiology. 2023; 30(4): 484–504. DOI: 10.3390/pathophysiology30040037
[14] *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; 198(10): 1279–87. DOI: 10.1164/rccm.201710-2150OC
[15] *Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L.* Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiol Rev. 2007; 87(1): 315–424. DOI: 10.1152/physrev.00029.2006
[16] *Kamenshchikov N.O., Safaee Fakhr B., Kravchenko I.V., et al.* Assessment of continuous low-dose and high-dose burst of inhaled nitric oxide in spontaneously breathing COVID-19 patients: A randomized controlled trial. Nitric Oxide. 2024; 149: 41–8. DOI: 10.1016/j.niox.2024.06.003
[17] *Cenci S., Gaonkar M., Villalobos R., et al.* Methemoglobin Formation Reflects Systemic Nitric Oxide Uptake: The Critical Role of Delivery Method. Results from Secondary Analysis of a Randomized Controlled Trial. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2026; 45(3): 117–28. DOI: 10.1053/j.jvca.2026.04.029
[18] *Bühl T., Cenci S., Gianni S., et al.* Predictors of methemoglobin formation in high-dose inhaled nitric oxide therapy: A retrospective cohort study. Nitric Oxide. 2026; 160: 35–43. DOI: 10.1016/j.niox.2025.11.006
[19] *Dong R., Wanderley H.V., Mereto E., et al.* Breath-by-breath quantification of inhaled nitric oxide absorption and modeling of methemoglobin kinetics. Redox Biol. 2026; 92: 104125. DOI: 10.1016/j.redox.2026.104125

[20] *Arora P., Di Fenza R., Shetty N.S., et al.* Nitric Oxide to Reduce Acute Kidney Injury in Patients with Preexisting Endothelial Dysfunction Requiring Prolonged Cardiopulmonary Bypass: A Randomized Clinical Trial. Anesthesiology. 2026; 144(3): 652–65. DOI: 10.1097/ALN.0000000000005861

[21] *Hu J., Rezoagli E., Zadek F., et al*. Free Hemoglobin Ratio as a Novel Biomarker of Acute Kidney Injury After On-Pump Cardiac Surgery: Secondary Analysis of a Randomized Controlled Trial. Anesth Analg. 2021; 132(6): 1548–58. DOI: 10.1213/ANE.0000000000005381

[22] *Чумакова С.П., Уразова О.И., Зима А.П. и др*. Особенности физиологии эритроцитов. гемолиз и эриптоз. Гематология и трансфузиология. 2018; 63(4): 343–51. [*Chumakova S.P., Urazova O.I., Zima A.P., et al.* Features of the physiology of erythrocytes. Hemolysis and eryptosis. Russian journal of hematology and transfusiology, 2018; 63(4): 343–51. (In Russ)] DOI: 10.25837/HAT.2019.51.80.003

[23] *Bhirowo Y.P., Raksawardana Y.K., Setianto B.Y., et al*. Hemolysis and cardiopulmonary bypass: meta-analysis and systematic review of contributing factors. J Cardiothorac Surg. 2023; 18(1): 291. DOI: 10.1186/s13019-023-02406-y

[24] *Pichugin V., Volvach A., Deryugina A., et al.* Enhanced Organ Protection During Cardiopulmonary Bypass in Cardiac Surgery: Synergistic Effects of Nitric Oxide and Hydrogen Therapy. Journal of Cardiac Surgery. 2025; 1: 6749229. DOI: 10.1155/jocs/6749229