Эффекты оксида азота на микровязкость и полярность мембран эритроцитов при оперативном вмешательстве на сердце в эксперименте

Т.Ю. Реброва, Ю.К. Подоксенов, С.А. Афанасьев, Н.О. Каменщиков, В.А. Корепанов, М.Л. Дьякова

НИИ кардиологии –

*филиал Томского национального исследовательского медицинского центра РАН
634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а*

Резюме

Совершенствование методов защиты органов-мишеней при проведении операции аортокоронарного шунтирования определило разработку технологии доставки оксида азота (NO) в системный кровоток с использованием аппарата искусственного кровообращения (ИК), что делает NO доступным для всех органов и тканей. Цель настоящей работы – оценить влияние периоперационного кондиционирования NO на коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов при экспериментальном хирургическом вмешательстве с применением ИК. **Материал и методы.** Исследование выполнено на 20 баранах массой 30–34 кг. Были сформированы две группы. В группе ИК 10 животным выполняли стандартный, принятый в клинике, протокол проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и ИК. В группе ИК+NO 10 баранам сразу после интубации трахеи проводили подачу NO в дозе 80 ppm через контур аппарата ИВЛ. При старте ИК осуществляли доставку NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm на протяжении 90 мин, после отлучения от ИК подача NO продолжалась через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 60 мин. Определяли коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов спектрофлуориметрически с использованием зонда пирен. **Результаты и их обсуждение.** Выполнение ИК сопровождалось статистически значимым снижением коэффициента микровязкости в зоне белок-липидных контактов мембран эритроцитов баранов. В зоне общих липидов коэффициент микровязкости после проведения ИК не изменялся. Коэффициент полярности мембран на заключительном этапе операции значимо увеличивался в зоне аннулярных липидов и не изменялся в общих липидах. Подача NO в контур экстракорпоральной циркуляции нивелирует выявленное повышение микровязкости и полярности аннулярных липидов. **Заключение.** Внесение NO в контур экстракорпоральной циркуляции в концентрации 80 ppm предупреждает снижение коэффициентов микровязкости и полярности аннулярных липидов мембран эритроцитов, возникающее при проведении кардиохирургических операций.

Ключевые слова: оксид азота, искусственное кровообращение, бараны.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Реброва Т.Ю., e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru

Для цитирования: Реброва Т.Ю., Подоксенов Ю.К., Афанасьев С.А., Каменщиков Н.О., Корепанов В.А., Дьякова М.Л. Эффекты оксида азота на микровязкость и полярность мембран эритроцитов при оперативном вмешательстве на сердце в эксперименте. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2023;43(6):101–107. doi: 10.18699/SSMJ20230612

Effects of nitric oxide on microviscosity and polarity of erythrocyte membranes in experiment

T.Yu. Rebrova, Yu.K. Podoksenov, S.A. Afanasiev, N.O. Kamenshchikov, V.A. Korepanov, M.L. Diakova

Cardiology Research Institute,

Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences»

634012, Tomsk, Kievskaya st., 111a

Abstract

Enhancement of methods for protecting target organs during coronary artery bypass surgery determined the development of a technology for delivering nitric oxide (NO) to the systemic blood flow using a cardiopulmonary bypass (CB) apparatus, which makes NO available to all organs and tissues. The aim of the study was to access the effect of perioperative NO conditioning on the coefficients of microviscosity and polarity of sheep erythrocyte membranes during experimental surgical intervention using CB. **Material and methods.** Study was carried out on 20 sheep weighing 30–34 kg. Two groups were formed. In the CB group, 10 sheep underwent the standard clinical protocol of artificial lung ventilation (ALV) and CB. In the CB + NO group, 10 sheep received NO at a dose of 80 ppm through the circuit of ALV apparatus immediately after tracheal intubation. At the start of CB, NO was delivered to the extracorporeal circulation circuit at a dose of 80 ppm for 90 min. After disconnection from CB, NO supply continued through the ALV apparatus at a dose of 80 ppm for 60 min. The coefficients of microviscosity and polarity of sheep erythrocyte membranes were determined by spectrofluorimetry using pyrene probe. **Results and discussion.** The implementation of CB was accompanied by a statistically significant decrease in the microviscosity coefficient in the zones of protein-lipid contact of sheep erythrocyte membranes. In the zone of total lipids, the microviscosity coefficient did not change after CB implementation. The membrane polarity coefficient at the final stage of the surgery increased significantly in the zone of annular lipids and did not change in the zone of total lipids. NO supply to the circuit of the extracorporeal circulation neutralizes the revealed increase in the microviscosity and polarity of the annular lipids. **Conclusions.** The introduction of NO into the extracorporeal circulation circuit at the concentration of 80 ppm prevents a decrease in the coefficients of microviscosity and polarity of annular lipids of erythrocyte membranes that occurs during cardiac surgery.

Key words: nitric oxide, cardiopulmonary bypass, sheep.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence author: Rebrova T.Yu., e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru

Citation: Rebrova T.Yu., Podoksenov Yu.K., Afanasiev S.A., Kamenshchikov N.O., Korepanov V.A., Diakova M.L. Effects of nitric oxide on microviscosity and polarity of erythrocyte membranes in experiment. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2023;43(6):101–107. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20230612

Введение

В подавляющем большинстве случаев для выполнения операции аортокоронарного шунтирования требуется проведение искусственного кровообращения (ИК), что может способствовать ишемически-реперфузионному повреждению жизненно важных органов [1, 2]. В основе патогенеза функциональных нарушений миокарда и других органов, имеющих в своей структуре мышечные клетки, лежит нарушение внутриклеточного гомеостаза ионов кальция [3], избыточная продукция активных форм кислорода с повреждением мембранных структур клеток [4], а также дисфункция эндотелия сосудов и клеточных компонентов крови [5]. Проблема предупреждения интраоперационного повреждения органов определила актуальность совершенствования методов защиты при кардиохирургических операциях, выполняемых с использованием ИК. Одним из новых подходов к органопротекции является применение оксида азота (NO). Использование NO осуществляется путем введения доноров NO, индукторов NO-синтазы или внесения в ингаляционный контур газообразного NO. В зависимости от используемой концентрации NO может оказывать повреждающий или протекторный эффект. Экспериментально показано повреждающее действие высоких концентраций NO, опос-

редованное активацией перекисного окисления липидов и образованием пероксинитрита [6]. В физиологических дозах NO выступает в качестве антиоксиданта [6] и способствует вазодилатации [7]. Экспериментальные и клинические исследования эффективности периоперационного кондиционирования NO показали его органопротекторные свойства.

В настоящее время продолжают изучаться фундаментальные патофизиологические механизмы реализации органопротективных эффектов экзогенного NO в условиях ИК. Хорошо известно, что целостность и функциональная активность клеток во многом зависит от состояния цитоплазматической мембраны. Большинство рецепторов, ионных каналов и транспортеров образовано трансмембранными или связанными с мембранами белками, и их функциональная активность напрямую зависит от липидного состава и структурированности мембранной матрицы.

Цель исследования – оценить влияние периоперационного кондиционирования NO на коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов при экспериментальном хирургическом вмешательстве с применением ИК.

Материал и методы

Исследования выполнены на 20 баранах Алтайской породы массой 30–34 кг, которых содер-

жали в условиях конвенционального вивария. Все животные были рандомизированы на две группы. В первую группу включены 10 баранов, которым выполняли стандартный, принятый в клинике протокол проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ) и ИК – группа ИК. Вторую группу составили 10 баранов, которым проводили подачу NO сразу после интубации трахеи через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm – группа ИК+NO. При старте ИК осуществляли доставку NO в контур экстракорпоральной циркуляции в дозе 80 ppm на протяжении всего периода ИК (90 мин), после отлучения от ИК подача NO продолжалась через контур аппарата ИВЛ в дозе 80 ppm в течение 60 мин.

Все процедуры проводились согласно требованиям приказа Минздрава №199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.2016, принципам надлежащей лабораторной практики ГОСТ 33044–2014 и руководству [8]. Болезненные процедуры и выведение из эксперимента осуществляли на наркотизированных животных. Дизайн исследования одобрен локальным комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии (протокол № 230 от 28.06.2022). Оперативное вмешательство выполняли в экспериментальной лаборатории отделения сердечно-сосудистой хирургии.

Для получения и обеспечения доставки NO был использован аппарат «ТИАНОКС» (РФЯЦ-ВНИИЭФ, Саров, Россия), осуществляющий синтез NO, его подачу в ингаляционный контур и мониторинг содержания NO/NO₂ в линии подачи газовой смеси непосредственно во время проведения терапии NO. В группе ИК+NO конечная инспираторная концентрация NO составляла 80 ppm. Животные, попавшие в группу ИК, получали стандартную кислородно-воздушную смесь, не содержащую NO. Исследование полностью имитировало операцию в условиях ИК. Для оценки безопасности предлагаемой технологии осуществляли непрерывный мониторинг концентрации NO₂ в доставляемой газовой смеси контура аппарата ИВЛ и оксигенатора аппарата ИК. Критическим считали значение NO₂ = 2 ppm, при превышении которого доставка NO должна была быть прекращена.

Получение образцов крови для биохимических исследований, характеризующих адекватность механической перфузии, осуществляли на следующих этапах оперативного вмешательства: сразу после интубации животного, до начала ИК, на момент начала ИК, через 60 мин после отключения животного от ИК. Дискретно регистрировали содержание гемоглобина, гематокрит, сатурацию центральной венозной крови кислородом

(SvO₂), веноартериальный градиент CO₂ (Δ CO₂), уровень лактата и метгемоглобина (MetHb), кислотно-щелочное состояние крови, содержание нитритов, нитратов на газоанализаторе Stat Profile CCX (Nova Biomedical, США).

Для выделения мембран эритроцитов и дальнейшего определения коэффициентов их микровязкости осуществляли забор венозной крови в вакутейнеры с гепарином лития (17 МЕ/мл) в начале ИК и через 60 мин после отключения животного от ИК. Образцы крови центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин. После удаления плазмы эритроцитарный осадок 3 раза отмывали охлажденным физиологическим раствором. Каждый раз эритроциты осаждали при 1500 об/мин в течение 10 мин. Мембраны эритроцитов получали путем гипоосмотического гемолиза, как описано ранее [9]. Количество общего белка в суспензии теней эритроцитов измеряли методом микро-Лоури в модификации S.T. Ohnishi [10] с использованием реактивов фирмы Sigma-Aldrich (США). Для определения спектральных характеристик образцы мембран эритроцитов разводили в 10мМ трис-НСl буфере (pH 7,4) до конечной концентрации белка 0,3 мг/мл. Характеристику структурных свойств липидной фазы мембран эритроцитов проводили с использованием определения интенсивности спектральных пиков при ее взаимодействии с флуоресцентным зондом пирен (Sigma-Aldrich) на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Varian, США). К 2 мл суспензии мембран эритроцитов добавляли 20 мкл 10 мкМ спиртового раствора пирена. Микровязкостные свойства мембран в области аннулярных и общих липидов оценивали по степени эксимеризации пирена, вычисляя отношение интенсивности флуоресценции эксимеров и мономеров (J_{470}/J_{370}) при длине волны возбуждающего света (λ_b) 285 нм и 340 нм соответственно [11, 12]. Полярность аннулярных и общих липидов анализировали по отношению амплитуд вибранных пиков мономеров (J_{390}/J_{370}) при $\lambda_b = 285$ и $\lambda_b = 340$ нм [11, 12].

Применение критерия Шапиро – Уилка показало нормальность распределения количественных показателей, результаты представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Различия между показателями анализировали с помощью критерия Стьюдента для независимых или зависимых групп.

Результаты

В табл. 1 представлены коэффициенты микровязкости (J_{470}/J_{370}) и полярности (J_{390}/J_{370}) в области белок-липидных ($\lambda_b = 285$ нм) и липид-липидных взаимодействий ($\lambda_b = 340$ нм), полученные для мембран эритроцитов баранов в группах ИК и

Таблица 1. Коэффициенты микровязкости и полярности мембран эритроцитов баранов при введении NO в ингаляционный контур

Table 1. Coefficients of microviscosity and polarity of sheep erythrocyte membranes with the introduction of NO into the inhalation circuit

Группа животных	Этап оперативного вмешательства	Коэффициент микровязкости, отн. ед.		Коэффициент полярности, отн. ед.	
		Липид-липидные контакты	Белок-липидные контакты	Липид-липидные контакты	Белок-липидные контакты
ИК, n = 10	До ИК	0,29±0,102	0,40±0,107	1,05±0,011	4,95±0,796
	60 мин после ИК	0,28±0,087	0,19±0,058*	1,05±0,015	3,42±0,499*
ИК+NO, n = 10	До ИК	0,25±0,115	0,43±0,150	1,04±0,028	5,04±0,666
	60 мин после ИК	0,25±0,022	0,40±0,147#	1,05±0,017	5,08±0,428#

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей: * – до ИК ($p < 0,001$), # – группы ИК ($p < 0,01$).

ИК+NO. Применение аппарата ИК способствовало значимому ($p < 0,001$) снижению коэффициента микровязкости в зоне белок-липидных контактов эритроцитов баранов контрольной группы, коэффициент микровязкости в зоне общих липидов не изменялся. Со стороны коэффициента полярности мембран на заключительном этапе операции зафиксированы аналогичные изменения. Как видно из табл. 1, подача NO в дозе 80 ppm

через контур аппарата ИВЛ сразу после интубации трахеи животного предупреждала уменьшение коэффициентов микровязкости и полярности в области белок-липидных взаимодействий.

В табл. 2 представлены значения основных показателей метаболизма, адекватности механической перфузии, безопасности NO-кондиционирования, общего гомеостаза и гомеостаза NO в организме животных. Анализ попарного

Таблица 2. Показатели красной крови, обмена кислорода и метаболизма NO на этапах операции в экспериментальных группах животных

Table 2. Parameters of red blood, oxygen exchange, and NO metabolism at the stages of surgery in experimental groups of animals

Показатель	Группа	Этап оперативного вмешательства			
		Интубация трахеи	Начало ИК	60 мин после отлучения от ИК	p
Содержание гемоглобина, г/л	ИК	95,50 ± 5,61	94,50 ± 3,99	83,83 ± 4,31	0,00001
	ИК+NO	97,00 ± 4,10	98,00 ± 1,79	82,83 ± 4,71	0,000002
Гематокрит, %	ИК	29,00 ± 1,52	27,67 ± 1,63	24,83 ± 3,06	0,0378
	ИК+NO	28,33 ± 2,42	27,33 ± 1,75	22,50 ± 2,95	0,00016
Содержание MetHb, %	ИК	0,45 ± 0,16	0,48 ± 0,21	0,58 ± 0,14	0,194
	ИК+NO	0,45 ± 0,30	1,22 ± 0,21*	2,20 ± 0,34*	0,00013
ΔCO ₂ , мм рт. ст.	ИК	2,83 ± 1,47	2,66 ± 1,37	3,50 ± 1,64	0,526
	ИК+NO	3,00 ± 1,55	3,66 ± 2,16	4,01 ± 1,78	0,455
SvO ₂ , %	ИК	70,0 ± 3,29	71,60 ± 2,42	71,01 ± 2,52	0,583
	ИК+NO	75,5 ± 3,33	74,66 ± 2,65	78,66 ± 6,43	0,156
Содержание лактата, ммоль/л	ИК	1,70 ± 0,76	1,66 ± 0,64	3,61 ± 0,71	0,0024
	ИК+NO	1,43 ± 0,53	1,40 ± 0,41	3,51 ± 0,61	0,0002
Содержание свободного гемоглобина, г/л	ИК	6,50 ± 2,07	8,00 ± 3,69	47,5 ± 6,44	0,00002
	ИК+NO	6,17 ± 2,79	7,67 ± 2,73	49,5 ± 4,18	0,00011
Содержание NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	ИК	5,97 ± 0,671	6,07 ± 0,624	6,78 ± 1,486	0,616
	ИК+NO	6,92 ± 1,686	6,89 ± 0,736	7,31 ± 1,138	0,688
Содержание NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	ИК	18,21 ± 1,591	22,21 ± 1,797	18,376 ± 2,098	0,286
	ИК+NO	37,02 ± 14,435*	57,21 ± 14,885*	45,85 ± 9,402*	0,013
Содержание NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻ , мкмоль/л	ИК	24,21 ± 1,797	28,21 ± 1,491	25,09 ± 2,179	0,158
	ИК+NO	43,92 ± 15,281*	64,10 ± 14,733*	55,88 ± 9,177*	0,023

Примечание: * – обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей группы ИК.

сравнения динамики показателей между группами животных выявил внутригрупповые различия: в процессе проведения операции у животных групп ИК и ИК+NO отмечено статистически значимое снижение содержания гемоглобина (на 12,7 и 14,6 % соответственно) и гематокрита (на 14,4 и 20,6 % соответственно). При межгрупповом сравнении показателей значимых различий не обнаружено. В обеих группах животных на 60-й минуте отлучения от ИК отмечено достоверное увеличение концентрации лактата относительно исходных показателей на 112,3 % в группе ИК и на 145,5 % в группе ИК+NO. Межгрупповых различий по данному показателю не выявлено. В этот же период в крови животных обеих групп наблюдался статистически значимый подъем концентрации свободного гемоглобина (см. табл. 2).

Мониторинг концентрации в плазме крови метаболитов NO показало статистически значимое двукратное повышение содержания нитратов и суммарной концентрации нитратов и нитритов у животных группы ИК+NO на всех этапах оперативного вмешательства в сравнении с группой ИК (см. табл. 2). Наряду с этим отмечено достоверное увеличение уровня NO_3^- и $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ на 60-й минуте после отлучения от ИК в сравнении с показателями при интубации трахеи.

Известно, что NO относится к метгемоглобинообразователям. С целью контроля за концентрацией MetHb в плазме крови в процессе операции проводился мониторинг его уровня. В группе ИК не отмечалось значимых изменений уровня MetHb в плазме крови. В группе ИК+NO через 60 мин после отлучения от ИК зафиксировано почти 5-кратное повышение содержания MetHb, которое значимо превышало исходное значение показателя в этой группе животных и величину в группе ИК на соответствующем этапе операции (см. табл. 2). При кондиционировании животных NO не отмечено случаев превышения концентрации MetHb в крови верхней границы референсных значений – 5 %.

Обсуждение

Важной задачей при проведении хирургических вмешательств с применением ИК является сохранение жизнеспособности органов, в первую очередь сердца. На протяжении последних лет наблюдается активный интерес исследователей к изучению молекулярных механизмов органопroteкции, опосредованной NO.

Микровязкость и полярность служат важными характеристиками структурно-функционального состояния биологических мембран.

Регуляция состава фосфолипидов и степени насыщенности жирнокислотных остатков в клеточных мембранах основана на связи между процессами перекисного окисления липидов (ПОЛ), с одной стороны, и скоростью обновления липидов – с другой [13]. Усиление активности процессов ПОЛ сопровождается изменением липидного состава, что, в свою очередь, приводит к изменению вязкости и заряда молекул фосфолипидов липидного бислоя. Состояние аннулярных липидов и мембранных белков находится в тесной взаимосвязи и взаимозависимости [14]. Белки так же, как и липиды, подвергаются модифицирующему влиянию активных форм кислорода [15]. Окисление белков сопровождается образованием внутримолекулярных сшивок и изменением зарядов аминокислотных остатков. Результаты наших экспериментальных исследований свидетельствуют об отсутствии изменений микровязкости и полярности в липидном бислое мембран эритроцитов баранов при проведении операционных манипуляций, имитирующих ИК с применением ИВЛ. В то же время выполнение операции с ИК сопровождается повышением микровязкости и полярности в области белок-липидных контактов мембран эритроцитов, о чем свидетельствует выявленное нами уменьшение абсолютных значений соответствующих коэффициентов. Изменение структурно-функциональных свойств в зоне аннулярных липидов эритроцитарных мембран на окончательном этапе проведения операции может быть обусловлено усилением активности процессов свободнорадикального окисления липидов и белков. Правомочность такого объяснения доказана многочисленными исследованиями содержания продуктов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов при проведении кардиохирургических операций с использованием ИК у пациентов с ИБС [16, 17]. Молекула гемоглобина, а возможно, и продукты ее взаимодействия с метаболитами NO могут тормозить развитие реакций ПОЛ, т. е. выступать в роли антиоксидантов [18, 19].

Настоящее экспериментальное исследование, выполненное на баранах, полностью имитировало операцию в условиях ИК. По нашим данным, применение NO в концентрации 80 ppm не отразилось на показателях красной крови (содержание гемоглобина, гематокрит) и газового состава крови (ΔCO_2 , SvO_2). Отмеченное увеличение концентрации метаболитов NO, MetHb и лактата в процессе NO-кондиционирования не повлияло на метаболический профиль, отражающий адекватность проведения экстракорпоральной перфузии. В пользу отсутствия повреждающего эффекта у NO, используемого в дозе 80 ppm, свидетель-

ствуется и тот факт, что мы не выявили изменений показателей микровязкости и полярности мембран эритроцитов животных в группе ИК+NO. Это утверждение не противоречит данным о том, что эффекты, индуцированные введением в организм животных токсической дозы метгемоглобинообразователя нитрата натрия, реализуются за счет возрастания микровязкости липидной фазы, снижения абсолютного числа общих липидов и фосфолипидов в мембранах эритроцитов, увеличения доли холестерина, лизофосфатидилхолина, сфингомиелина и фосфатидилсерина [20].

Заключение

Внесение NO в контур экстракорпоральной циркуляции в концентрации 80 ppm способствует нивелированию изменений показателей структурно-функционального состояния мембран эритроцитов, отмеченных при проведении кардиохирургических операций, что способствует поддержанию нормальной функции клеток организма. Использование NO, полученного по технологии плазмохимического синтеза, с целью органопротекции является безопасным, легко воспроизводимым и хорошо контролируемым методом.

Список литературы / References

1. Yu L., Zhu K., Du N., Si Y., Liang J., Shen R., Chen B. Comparison of hybrid coronary revascularization versus coronary artery bypass grafting in patients with multivessel coronary artery disease: a meta-analysis. *J. Cardiothorac. Surg.* 2022;17(1):147. doi: 10.1186/s13019-022-01903-w
2. van den Eynde J., Bomhals K., Noé D., Jacquemyn X., McCutcheon K., Bennett J., Puskas J.D., Oosterlinck W. Revascularization strategies in patients with multivessel coronary artery disease: a Bayesian network meta-analysis. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2022;34(6):947–957. doi: 10.1093/icvts/ivab376
3. Kalogeris T., Baines C.P., Krenz M., Korthuis R.J. Ischemia/Reperfusion. *Compr. Physiol.* 2016;7(1):113–170. doi: 10.1002/cphy.c160006
4. Cadenas S. ROS and redox signaling in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection. *Free Radic. Biol. Med.* 2018;117:76–89. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.024
5. Szocs K. Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance. *Gen. Physiol. Biophys.* 2004;23(3):265–295.
6. Radi R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018;115(23):5839–5848. doi: 10.1073/pnas.1804932115

7. Малахова З.Л., Васина Е.Ю., Власов Т.Д. Эндотелий-зависимая вазодилатация сосудов кожи здорового человека: оксид азота или гиперполяризующий фактор? *Рос. физиол. ж.* 2017; 103(8):930–939.

Malakhova Z.L., Vasina E.Yu., Vlasov T.D. Endothelium-dependent vasodilatation of the skin of a healthy man: nitrogen oxide or hyperpolarizing factor? *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology*. [In Russian]. 2017;103(8):930–939.

8. Guide for the care and use of laboratory animals: Eighth Edition. Washington: The National Academies Press, 2011.

9. Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Путрова О.Д., Попов С.В. Возрастзависимые особенности микровязкости мембран эритроцитов при экспериментальном кардиосклерозе. *Успехи геронтол.* 2012;25(4):644–647. doi: 10.1134/S2079057013030119

Rebrova T.Yu., Afanasiev S.A., Putrova O.D., Popov S.V. Age-related features of erythrocyte membrane microviscosity in experimental cardiosclerosis. *Adv. Gerontol.* 2013;3:211–214. doi: 10.1134/S2079057013030119

10. Ohnishi S.T., Barr J.K. A simplified method of quantitating protein using the biuret and phenol reagents. *Anal. Biochem.* 1978;86(1):193–200. doi: 10.1016/0003-2697(78)90334-2

11. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов. М.: Наука, 1989. 277 с.

Dobretsov G.E. Fluorescent probes in the study of cells, membranes and lipoproteins. Moscow: Nauka, 1989. 277 p. [In Russian].

12. Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Путрова О.Д., Репин А.Н. Микровязкость мембран эритроцитов при хронической коронарной недостаточности у лиц средней и старшей возрастных групп. *Успехи геронтол.* 2014;27(3):457–462.

Rebrova T.Yu., Afanasiev S.A., Putrova O.D., Repin A.N. Microviscosity of erythrocyte membranes in chronic coronary insufficiency in patients of middle and older age groups. *Adv. Gerontol.* 2015;5:45–49. doi: 10.1134/S2079057015010099

13. Sezgin E., Levental I., Mayor S., Eggeling C. The mystery of membrane organization: composition, regulation and roles of lipid rafts. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2017;18(6):361–374. doi: 10.1038/nrm.2017.16

14. Revin V.V., Gromova N.V., Revina E.S., Prosnikova K.V., Revina N.V., Bochkareva S.S., Stepushkina O.G., Grunuyshkin I.P., Tairova M.R., Incina V.I. Effects of polyphenol compounds and nitrogen oxide donors on lipid oxidation, membrane-skeletal proteins, and erythrocyte structure under hypoxia. *Biomed. Res. Int.* 2019;2019:6758017. doi: 10.1155/2019/6758017

15. Akagawa M. Protein carbonylation: molecular mechanisms, biological implications, and analytical

approaches. *Free Radic. Res.* 2021;55(4):307–320. doi: 10.1080/10715762.2020.1851027

16. Ochoa J.J., Vilchez M.J., Palacios M.A., García J.J., Reiter R.J., Muñoz-Hoyos A. Melatonin protects against lipid peroxidation and membrane rigidity in erythrocytes from patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. *J. Pineal. Res.* 2003;35(2):104–108. doi: 10.1034/j.1600-079x.2003.00061.x

17. Реброва Т.Ю., Шипулин В.М., Афанасьев С.А., Воробьева Е.В., Кийко О.Г. Опыт применения аскорбиновой кислоты как антиоксиданта у пациентов после операции коронарного шунтирования с использованием искусственного кровообращения. *Кардиология.* 2012;52(7):73–76.

Rebrova T.Yu., Shipulin V.M., Afanasiev S.A., Vorobieva E.V., Kiyko O.G. The experience of the application of ascorbinic acid as antioxidant after coronary artery surgery with use of cardiopulmonary bypass. *Kardiologiya = Cardiology.* 2012;52(7):73–76. [In Russian].

18. Widmer C.C., Pereira C.P., Gehrig P., Vallelian F., Schoedon G., Buehler P.W., Schaer D.J. Hemoglobin can attenuate hydrogen peroxide-induced oxidative stress by acting as an antioxidative peroxidase. *Antioxid. Redox. Signal.* 2010;12(2):185–198. doi: 10.1089/ars.2009.2826

19. Насыбуллина Э.И., Космачевская О.В., Топунов А.Ф. Влияние метаболитов оксида азота на образование мембраносвязанного гемоглобина в условиях карбонильного стресса. *Труды Карельского научного центра РАН.* 2018;(4):93–104. doi: 10.17076/them814

Nasybullina E.I., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. Effect of nitric oxide metabolites on the formation of membranebound hemoglobin under carbonyl stress. *Trudy Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN = Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2018;(4):93–104. [In Russian]. doi: 10.17076/them814

20. Филиппова О.Н., Шперлинг И.А., Рогов О.А., Сапрыкина Э.В., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Механизмы повреждения эритроцитов при токсическом действии метгемоглобинообразователей. *Бюл. сиб. мед.* 2006;5(1):32–37.

Filippova O.N., Shperling I.A., Rogov O.A., Saprykina E.V., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V. Mechanisms of erythrocytes' damage after toxic effects of methemoglobin poisons. *Byulleten' sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine.* 2006;5(1):32–37. [In Russian].

Сведения об авторах:

Реброва Татьяна Юрьевна, к.м.н., ORCID: 0000-0003-3667-9599, e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru
Подоксенов Юрий Кириллович, д.м.н., ORCID: 0000-0002-8939-2340, e-mail: uk@cardio-tomsk.ru
Афанасьев Сергей Александрович, д.м.н., ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: tyrsky@cardio-tomsk.ru
Каменщиков Николай Олегович, к.м.н., ORCID: 0000-0003-4289-4439, e-mail: no@cardio-tomsk.ru
Корепанов Вячеслав Андреевич, ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: vakorep41811@gmail.com
Дьякова Мария Леонидовна, к.м.н., ORCID: 0000-0001-9353-7234, e-mail: prima.maria@mail.ru

Information about the authors:

Tatiana Yu. Rebrova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-3667-9599, e-mail: rebrova@cardio-tomsk.ru
Yuriy K. Podoksenov, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8939-2340, e-mail: uk@cardio-tomsk.ru
Sergey A. Afanasiev, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: tyrsky@cardio-tomsk.ru
Nikolay O. Kamenshchikov, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-4289-4439, e-mail: no@cardio-tomsk.ru
Vyacheslav A. Korepanov, ORCID: 0000-0001-6066-3998, e-mail: vakorep41811@gmail.com
Mariya L. Diakova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-9353-7234, e-mail: prima.maria@mail.ru

Поступила в редакцию 11.05.2022

После доработки 11.06.2023

Принята к публикации 13.07.2023

Received 11.05.2022

Revision received 11.06.2023

Accepted 13.07.2023