

## Экспериментальная оценка влияния экзогенного монооксида углерода на клетки крови

Петрова И.В.<sup>1</sup>, Бирулина Ю.Г.<sup>1</sup>, Трубачева О.А.<sup>2</sup>, Беляева С.Н.<sup>1</sup>, Шнайдер О.Л.<sup>2</sup>,  
Носарев А.В.<sup>1</sup>, Гусакова С.В.<sup>1</sup>, Васильев В.Н.<sup>1</sup>, Суханова Г.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) кардиологии, Томский национальный исследовательский  
медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук  
Россия, 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования** – изучить влияние донора монооксида углерода (СО) на Ca<sup>2+</sup>-зависимую калиевую проницаемость мембраны эритроцитов и агрегационную способность тромбоцитов.

**Материалы и методы.** Обследованы здоровые добровольцы ( $n = 27$ ) и пациенты с хронической ишемической болезнью сердца (ИБС) ( $n = 32$ ) обоего пола. Материалом исследования являлись упакованные эритроциты и обогащенная тромбоцитами плазма, полученные из венозной крови. Потенциометрическим методом изучали изменение Ca<sup>2+</sup>-зависимой калиевой проводимости мембраны эритроцитов, турбидиметрическим методом – агрегационную активность тромбоцитов при действии донора СО (CORM-2). Оценивали величину A23187- и редокс-индуцированного гиперполяризационного ответа (ГО) эритроцитов, скорость и степень агрегации тромбоцитов.

**Результаты.** В присутствии 10 и 100 мкМ CORM-2 амплитуда A23187- и редокс-зависимого ГО здоровых доноров, как и пациентов с хронической формой ИБС, дозозависимо уменьшалась, причем максимальное снижение отмечено в присутствии 100 мкМ донора СО. Воздействие CORM-2 в концентрациях 10 и 100 мкМ на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов приводило к снижению степени и скорости агрегации у здоровых доноров, достигая максимального эффекта при 100 мкМ донора СО. Однако столь однозначного влияния CORM-2 на параметры агрегации у пациентов с ИБС не наблюдалось.

**Заключение.** Полученные результаты указывают, что СО оказывает существенное влияние на ион-транспортную функцию мембраны эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов как здоровых доноров, так и пациентов с ИБС.

**Ключевые слова:** монооксид углерода, эритроциты, ион-транспортные системы, тромбоциты, агрегация.

**Конфликт интересов.** Авторы гарантируют отсутствие потенциальных и явных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00395, РФФИ и Томской области в рамках научного проекта № 19-415-703015/19.

**Соответствие принципам этики.** Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 4340 от 30.11.2015).

✉ Петрова Ирина Викторовна, e-mail: ivpetrova57@yandex.ru.

Для цитирования: Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А., Беляева С.Н., Шнайдер О.Л., Носарев А.В., Гусакова С.В., Васильев В.Н., Суханова Г.А. Экспериментальная оценка влияния экзогенного монооксида углерода на клетки крови. *Бюллетень сибирской медицины*. 2020; 19 (1): 94–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-94-100>.

## Experimental estimation of the effects of exogenous carbon monoxide on blood cells

Petrova I.V.<sup>1</sup>, Birulina J.G.<sup>1</sup>, Trubacheva O.A.<sup>2</sup>, Belyaeva S.N.<sup>1</sup>, Shnaider O.L.<sup>2</sup>, Nosarev A.V.<sup>1</sup>, Gusakova S.V.<sup>1</sup>, Vasilev V.N.<sup>1</sup>, Suhanova G.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Siberian State Medical University  
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation*

<sup>2</sup> *Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of Russian Academy Sciences  
111a, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation*

### ABSTRACT

**The aim** of the study was to investigate the effect of the carbon monoxide (CO) donor on the Ca<sup>2+</sup>-activated potassium permeability of the erythrocyte membrane and platelet aggregation ability.

**Materials and methods.** Healthy volunteers ( $n = 27$ ) and patients with chronic coronary heart disease (CHD) ( $n = 32$ ) of both sexes were examined. The material of the study was packed red blood cells and platelet-rich plasma obtained from patient's venous blood. The change of Ca<sup>2+</sup>-dependent potassium conductivity of the erythrocyte membrane was evaluated by potentiometric method, and the platelet aggregation was studied by turbidimetric method. Carbon monoxide releasing molecule-2 (CORM-2) was used as a CO donor. The amplitude of A23187- and redox-induced hyperpolarization response (HR) of erythrocytes, and the rate and degree of platelet aggregation were estimated.

**Results.** It was shown that the addition of CORM-2 (10 and 100  $\mu\text{M}$ ) in the erythrocyte suspension caused a dose-dependent decrease in the amplitude of A23187- and redox-dependent HR in healthy donors, as well as in patients with chronic CHD. The maximum decrease was observed in the presence of 100  $\mu\text{M}$  CORM-2. The effect of CORM-2 at concentrations of 10 and 100  $\mu\text{M}$  on collagen-induced platelet aggregation led to a decrease in the degree and rate of aggregation in healthy donors. The maximum effect was shown at 100  $\mu\text{M}$  of CO donor. However, such an unambiguous effect of CORM-2 on the aggregation parameters in patients with CHD was not observed.

**Conclusion.** The results suggest that CO has a significant effect on the ion transport function of the erythrocyte membrane and platelet aggregation activity of both healthy donors and patients with CHD.

**Key words:** carbon monoxide, red blood cells, ion transport systems, platelets, aggregation.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was funded by RFBR research project No. 18-015-00395 and by RFBR and Tomsk Region research project No. 19-415-703015.

**Conformity with the principles of ethics.** All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at SSMU (Protocol No. 4340 of 30.11.2015).

**For citation:** petrova I.V., Birulina J.G., Trubacheva O.A., Belyaeva S.N., Shnaider O.L., Nosarev A.V., Gusakova S.V., Vasilev V.N., Suhanova G.A. Experimental estimation of the effects of exogenous carbon monoxide on blood cells. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2020; 19 (1): 85–93. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2020-1-85-93>.

## ВВЕДЕНИЕ

Монооксид углерода (СО) наряду с оксидом азота (NO) и сероводородом ( $H_2S$ ) является одним из представителей нового класса газовых регуляторных молекул [1, 2]. Образование СО происходит в процессе деградации молекулы гема гемопротеинов (гемоглобин, миоглобин, каталаза и др.), который катализируется ферментом гемоксигеназой (НО), имеющей индуцибельную (НО-1) и конститутивную (НО-2) изоформы [3]. В настоящее время СО рассматривается как важный медиатор в сердечно-сосудистой системе, регулирующий тонус сосудов, обладающий противовоспалительным, антиапоптотическим, антипролиферативным действием [4]. Отмечается, что СО способен модулировать поверхностную архитектуру и энергетический метаболизм красных клеток крови [5]. В то же время изменения структурно-функционального статуса эритроцитов могут являться индикатором степени повреждения мембран при различных патологических процессах, протекающих в организме.

Нарушения реологических свойств крови имеют большое значение среди факторов, определяющих гемодинамические нарушения, обнаруженные у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) [6, 7]. Показано, что у больных, страдающих ИБС, происходит изменение фосфолипидного состава мембраны эритроцитов вследствие повышенного встраивания холестерина, а также возможной экстернализации фосфатидилсерина [8]. Структурная дезорганизация и изменение физико-химических свойств эритроцитарной мембраны способствуют нарушению ее ион-транспортной функции [9, 10], в которой значимое участие принимают Gardos-каналы –  $Ca^{2+}$ -зависимые калиевые каналы ( $K_{Ca}$ -каналы), поскольку возрастание активности последних обуславливает эриптоз, а также снижает деформируемость красных клеток крови [2, 11]. Особое место в патогенезе ИБС отводится повышению агрегации тромбоцитов и связанной с этим актуальности проблемы антиагрегантной терапии. Имеющиеся литературные данные свидетельствуют, что доноры СО способны оказывать антиагрегационное действие [12].

Таким образом, целью данной работы явилось изучение влияния СО на ионную проницаемость мембраны эритроцитов и агрегационную способность тромбоцитов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 32 пациента (20 мужчин и 12 женщин) в возрасте 40–65 лет с клинически верифицированной хронической

формой ИБС (функциональный класс II–III). Из них у 21 (65,6%) пациента имелся в анамнезе инфаркт миокарда. Коронарный стаж составлял 5 (2; 8) лет. Артериальная гипертензия (АГ) была диагностирована у 14 (43,7%) обследованных лиц. Общеклинические, лабораторные исследования проводились до назначения консервативной терапии хронической ИБС.

Группу сравнения составили 27 здоровых добровольцев (16 мужчин и 11 женщин) в возрасте 38–62 года, не имеющие в анамнезе сердечно-сосудистых, эндокринных, генетических заболеваний. Характеристика групп пациентов приведена в табл. 1. В работе соблюдались этические стандарты, разработанные в соответствии с Хельсинкской декларацией (с поправками 2000 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации». Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие.

Материалом исследования являлась венозная кровь, которую забирали из локтевой вены пациентов утром натощак в пробирки типа BD Vacutainer® с антикоагулянтом для выполнения гематологических (анализатор XN-1000, Sysmex, Япония), биохимических (анализатор Konelab 60i, Thermo Scientific, США) и гемостазиологических исследований (коагулометр ACL TOP 700, Instrumentation Laboratory Company, США).

Суспензию эритроцитов получали путем центрифугирования (5 мин, 1 000 g, 4 °C) цельной гепаринизированной крови (17 ME/мл), удаляли плазму и клетки белой крови, затем эритроциты дважды отмывали 150 mM раствором NaCl, содержащем PBS (5 mM, pH 7,4), при тех же условиях центрифугирования. Полученный осадок эритроцитов промывали изотонической средой (320 мОсм/л), содержащей 150 mM NaCl, 10 mM глюкозы, 1 mM KCl, 1 mM  $MgCl_2$ . После этого эритроциты переносили на лед и хранили не более 12 ч. Для исследования упакованные эритроциты разводили в среде их инкубации в соотношении 1 : 5. Для выделения обогащенной тромбоцитами плазмы забранную кровь с цитратом натрия (кровь : цитрат в соотношении 9 : 1) центрифугировали при 800 g в течение 7 мин.

Изучение  $Ca^{2+}$ -зависимой калиевой проницаемости мембраны эритроцитов проводили потенциометрическим методом непрерывной регистрации мембранного потенциала. Оценивали величину гиперполяризационного ответа (ГО) эритроцитов в ответ на добавление 0,5 мкМ  $Ca^{2+}$ -ионофора A23187 или системы «аскорбат

(10 мМ) – феназинметосульфат (ФМС, 0,1 мМ)». Квазистационарный уровень рН определяли при гемолизе клеток в присутствии детергента тритона X-100 (0,2%).

Агрегационную способность тромбоцитов исследовали турбидиметрическим методом при помощи лазерного анализатора 220 LA (НПФ «Биола», Россия). Индуктором агрегации являлся коллаген в конечной концентрации 2 мг/мл. Оценивали степень и скорость агрегации по кривой среднего размера агрегатов.

Статистический анализ данных выполняли в программе SPSS Statistics 17.0 при помощи непараметрического  $U$ -критерия Манна – Уитни. Для оценки статистической значимости различий использовали критерий  $\chi^2$  Пирсона. Количественные показатели представлены в виде медианы и межквартильного интервала  $Me (Q_1; Q_3)$ , качественные – в виде  $n$  (%), где  $n$  – абсолютная величина, % – относительная величина. Различия между выборками считали статистически значимыми при значении вероятности  $p < 0,05$ .

Таблица 1

Клинико-лабораторная характеристика обследованных лиц			
Параметр	Группа		$p$
	Здоровые доноры, $n = 27$	Пациенты с хронической ИБС, $n = 32$	
Возраст, лет, $Me (Q_1; Q_3)$	53 (42,5; 58)	56 (53,5; 62)	0,272
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> , $Me (Q_1; Q_3)$	24 (23; 25)	30 (28; 32)	0,028
Курение, $n$ (%)	9 (33,3)	13 (40,6)	0,041
Эритроциты, $10^{12}/л$ , $Me (Q_1; Q_3)$	4,6 (4,4; 4,8)	4,5 (4,3; 4,9)	0,361
Гемоглобин, г/л, $Me (Q_1; Q_3)$	147 (135; 155)	144 (131; 154)	0,118
Лейкоциты, $10^9/л$ , $Me (Q_1; Q_3)$	6,7 (5,1; 8,2)	7 (5,5; 8,4)	0,16
Тромбоциты, $10^9/л$ , $Me (Q_1; Q_3)$	240 (217; 264)	232 (205; 255)	0,121
МНО, отн. ед., $Me (Q_1; Q_3)$	1,1 (1,07; 1,14)	1 (0,95; 1,1)	0,224
АЧТВ, с, $Me (Q_1; Q_3)$	30,7 (27; 34,6)	28,9 (26,8; 33)	0,183
Фибриноген, г/л, $Me (Q_1; Q_3)$	3,1 (2,7; 5)	2,8 (2,5; 4,8)	0,11
Холестерин, ммоль/л, $Me (Q_1; Q_3)$	4,2 (3,6; 5)	5,5 (4,9; 6,4)	0,018
Триглицериды, ммоль/л, $Me (Q_1; Q_3)$	1,1 (0,6; 1,5)	2,3 (1,6; 2,7)	0,015

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Увеличение цитозольной концентрации ионов  $Ca^{2+}$  в красных клетках крови, индуцированное  $Ca^{2+}$ -ионофором A23187, равно как и воздействие искусственной редокс-системы «аскорбат – ФМС» приводит к развитию ГО. Амплитуда ГО является интегральной характеристикой, отражающей проводимость  $K_{Ca}$ -каналов мембраны эритроцитов [11, 13].

Для изучения роли СО в механизмах регуляции Gardos-каналов эритроцитов использовали его донор tricarbonyldichlororuthenium(II)-dimer (CORM-2), представляющий собой карбонил рутения. Несмотря на высвобождение СО, который связывается с гемоглобином эритроцитов с образованием карбоксигемоглобина (НЬСО), отмечается, что содержание НЬСО составляет менее 5%, а эффективная концентрация СО находится в диапазоне тех, которые наблюдаются *in vivo* [1].

В ходе исследования было установлено, что в присутствии 10 и 100 мкМ CORM-2 амплитуда A23187- и редокс-зависимого ГО здоровых доноров, как и пациентов с хронической формой ИБС, дозозависимо уменьшалась, причем максимальное снижение отмечено в присутствии

100 мкМ донора СО. При действии 10 мкМ CORM-2 амплитуда индуцированного  $Ca^{2+}$ -ионофором ГО эритроцитов больных снижалась более значительно по сравнению с ГО здоровых доноров. В отношении аскорбат – ФМС-вызванного ГО подобная зависимость была выявлена только в присутствии 100 мкМ донора СО (табл. 2).

Агрегацию тромбоцитов вызывали коллагеном, который, взаимодействуя с гликопротеином VI (GPVI) и интегрином  $\alpha_2\beta_1$  кровяных пластинок, запускает сложный каскад процессов, включающий активацию фосфолипаз С и А2, протеинкиназы С (PKC), MAP-киназ (MAPKs), повышение цитозольной концентрации ионов  $Ca^{2+}$ , синтез тромбоксана А2, секрецию гранул [14, 15].

Воздействие CORM-2 в концентрациях 10 и 100 мкМ на процессы, вызываемые коллагеном в тромбоцитах, приводило к дозозависимому снижению степени и скорости агрегации у здоровых доноров, достигая максимального эффекта при 100 мкМ донора СО. Однако столь однозначного влияния CORM-2 на параметры агрегации у пациентов с ИБС не наблюдалось, хотя исходные значения не отличались для больных и здоровых волонтеров (табл. 3).

Таблица 2

Влияние CORM-2 на гиперполяризационный ответ эритроцитов здоровых доноров и пациентов с хронической ИБС, $Me (Q_1; Q_3)$				
Параметр	Здоровые доноры, $n = 27$		Пациенты с хронической ИБС, $n = 32$	
	Амплитуда гиперполяризационного ответа (ГО), мВ			
	A23187-индуцированный	Редокс-индуцированный	A23187-индуцированный	Редокс-индуцированный
Контроль	-25,4 (-26,3; -23,2)	-48,6 (-50,1; -47,5)	-34,7 (-37,1; -31,5) $p_3 = 0,02$	-49,5 (-53,7; -45,5)
+CORM-2 (10 мкМ)	-18,3 (-21,1; -16,9) $p_1 = 0,004$	-38,8 (-43,4; -34,2) $p_1 = 0,003$	-25,2 (-28,5; -21,4) $p_1 < 0,001$ ; $p_3 = 0,004$	-35,6 (-38,9; -31,2) $p_1 < 0,001$
+CORM-2 (100 мкМ)	-10,2 (-12,5; -8,4) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,01$	-28,3 (-31,4; -22,7) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,003$	-17,7 (-22; -13,5) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,011$ ; $p_3 = 0,02$	-20,6 (-25,5; -17) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,004$ ; $p_3 = 0,005$

Примечание. Уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем для данного ГО ( $p_1$ ); CORM-2 (10 мкМ) для данного ГО ( $p_2$ ); сходным показателем для здоровых доноров ( $p_3$ ).

Таблица 3

Влияние CORM-2 на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов здоровых доноров и пациентов с хронической ИБС, $Me (Q_1; Q_3)$				
Параметр	Здоровые доноры, $n = 27$		Пациенты с хронической ИБС, $n = 32$	
	Степень агрегации, отн. ед.	Скорость агрегации, отн. ед./мин	Степень агрегации, отн. ед.	Скорость агрегации, отн. ед./мин
Контроль	10,2 (8,5; 13,2)	32,5 (29,2; 37,1)	11,8 (9,7; 13)	31,7 (26,5; 36,8)
+CORM-2 (10 мкМ)	5,4 (4,1; 8,2) $p_1 = 0,001$	22,1 (18,6; 24,5) $p_1 < 0,001$	10,6 (8,8; 12,1) $p_3 = 0,003$	22,8 (20,3; 24,4) $p_1 < 0,001$
+CORM-2 (100 мкМ)	2,3 (1,8; 3,6) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,003$	10,4 (8,8; 14,3) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$	6,1 (2,4; 5,5) $p_1 = 0,008$ ; $p_2 = 0,001$ ; $p_3 = 0,015$	15,6 (-21,5; -17) $p_1 < 0,001$ ; $p_2 = 0,001$ ; $p_3 = 0,01$

Примечание. Уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем для данного параметра ( $p_1$ ); CORM-2 (10 мкМ) для данного параметра ( $p_2$ ); сходным показателем для здоровых доноров ( $p_3$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В течение последних трех десятилетий электрофизиологические исследования показали, что мембрана эритроцитов человека наделена большим разнообразием ион-транспортных систем, которые участвуют в гомеостазе катионной и, в меньшей степени, анионной проводимости клеток [10]. Известно, что активация Gardos-каналов, способствуя массивной утечке калия наружу, вызывает смещение мембранного потенциала в сторону гиперполяризации и создает движущую силу для вытеснения хлора из эритроцитов. Выход наружу катионов и анионов сопровождается потерей воды, что приводит к значительному обезвоживанию и сжатию клеток [2].

Наблюдаемое снижение амплитуды ГО в ответ на действие различных концентраций донора CO,

в свою очередь, свидетельствует о подавлении  $Ca^{2+}$ -зависимой калиевой проводимости мембраны и утечки ионов калия из клетки, вероятно, вследствие взаимодействия CO с белками канала или его регуляторными протеинкиназами [16]. В то же время более значимый эффект CO у пациентов с хронической ИБС в отличие от здоровых доноров может быть связан не только с особенностями структурной перестройки мембраны эритроцитов, повышенной липидной перекисидацией [9], но и с его антиоксидантными свойствами и увеличением уровня глутатиона (GSH) в клетках крови [17]. К тому же установлено, что электронно-донорная система «аскорбат – ФМС» способствует образованию редокс-агентов, которые опосредовано через окисление и восстановление SH-групп оказывают свое влияние на Gardos-каналы мембраны эритроцитов [18].

Тромбоциты играют важную роль в поддержании гемостаза. Тем не менее функциональная реакция тромбоцитов может быть изменена либо за счет увеличения проагрегатных стимулов, либо за счет уменьшения количества антиагрегационных веществ. Эти факторы способствуют повышенной агрегации тромбоцитов и часто возникают при сердечно-сосудистых заболеваниях. Показано, что ИБС связана с системным дисбалансом в гемостазе, вызванным наличием гиперкоагулянтного состояния и снижением фибринолиза [19]. У пациентов с хронической ИБС увеличивается доля крупных метаболически и ферментативно более активных тромбоцитов [20], а также тромбоцитов, неспособных к экспрессии Р-селектина и имеющих значительно большую склонность к образованию микроагрегатов в цитратном антикоагулянте [21].

В нашем исследовании показано, что донор СО приводил к уменьшению степени и скорости коллаген-индуцированной агрегации у здоровых доноров и пациентов с ИБС, причем для последних понадобилась большая концентрация СО. Полученные нами данные согласуются с результатами S. Chlopicki и соавт., подтверждающая антиагрегационное действие экзогенных доноров СО [12]. Кроме того, в присутствии ингибитора гуанилатциклазы (ODQ) снижение вызванной коллагеном агрегации с использованием CORM-3 не блокировалось, а увеличивалось, что указывает на дополнительные эффекторные мишени СО в тромбоцитах. Отмечается также, что СО, по сути, не являясь мощным ингибитором активации тромбоцитов, приобретает это значение, когда имеется недостаток других антиагрегантов (NO и простаглицлина). Известно, что антиагрегантная терапия, как правило, аспирином, может быть неэффективна, поскольку существуют другие важные пути активации тромбоцитов, на которые не влияет блокада циклооксигеназы [22]. В связи с этим доноры СО выступают весьма перспективными агентами в качестве антиагрегантов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании установлено, что СО оказывает существенное влияние на ион-транспортную функцию мембраны эритроцитов и агрегационную активность тромбоцитов как здоровых доноров, так и пациентов с ИБС. СО-зависимое уменьшение амплитуды  $Ca^{2+}$ - и редокс-вызванного ГО может иметь положительное значение в механизмах регуляции деформируемости эритроцитов. Снижение агрегации тромбоцитов под действием СО создает предпосылки

для разработки подходов к оптимизации антиагрегантной терапии у пациентов с ИБС с участием этого газомедиатора.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Garcia-Gallego S., Bernardes G. Carbon-monoxide-releasing molecules for the delivery of therapeutic CO *in vivo*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2014; 53 (37): 9712–9721. DOI: 10.1002/anie.201311225.
2. Lang E., Qadri S.M., Jilani K., Zelenak C., Lupescu A., Schleicher E., Lang F. Carbon monoxide-sensitive apoptotic death of erythrocytes. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2012; 111 (5): 348–355. DOI: 10.1111/j.1742-7843.2012.00915.x.
3. Ryter S.W., Choi A.M. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from metabolism to molecular therapy. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2009; 41 (3): 251–260.
4. Motterlini R., Otterbein L.E. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2010; 9 (9): 728–743. DOI: 10.1038/nrd3228.
5. Tyunina O.I., Artyukhov V.G. Carbon monoxide (CO) modulates surface architectonics and energy metabolism of human blood erythrocytes. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2018; 165 (6): 803–807. DOI: 10.1007/s10517-018-4269-5.
6. Revin V.V., Ushakova A.A., Gromova N.V., Balykova L.A., Revina E.S., Stolyarova V.V., Stolbova T.A., Solomadin I.N., Tychkov A.Yu., Revina N.V., Imarova O.G. Study of erythrocyte indices, erythrocyte morphometric indicators, and oxygen-binding properties of hemoglobin hematorporphyrin patients with cardiovascular diseases. *Adv. Hematol.* 2017; 2017: 8964587. DOI: 10.1155/2017/8964587.
7. Upadhyay R.K. Emerging risk biomarkers in cardiovascular diseases and disorders. *J. Lipids.* 2015; 2015: 971453. DOI: 10.1155/2015/971453.
8. Tziakas D.N., Kaski J.C., Chalikiaris G.K., Romero C., Fredericks S., Tentes I.K., Kortsaris A.X., Hatseras D.I., Holt D.W. Total cholesterol content of erythrocyte membranes is increased in patients with acute coronary syndrome: a new marker of clinical instability? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2007; 49 (21): 2081–2089. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.08.069.
9. Namazi G., Jamshidi R.S., Attar A.M., Sarrafzadegan N., Sadeghi M., Naderi G., Pourfarzad M. Increased membrane lipid peroxidation and decreased  $Na^+/K^+$ -ATPase activity in erythrocytes of patients with stable coronary artery disease. *Coron. Artery Dis.* 2015; 26 (3): 239–244. DOI: 10.1097/MCA.000000000000196.
10. Thomas S.L., Bouyer G., Cuffe A., Egee S., Glogowska E., Ollivau C. Ion channels in human red blood cell membrane: Actors or relics? *Blood Cells, Molecules & Diseases.* 2011; 46 (4): 261–265. DOI: 10.1016/j.bcmd.2011.02.007.
11. Maher A.D., Kuchel P.W. The Gardos channel: a review of the  $Ca^{2+}$ -activated  $K^+$  channel in human erythrocytes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003; 35 (8): 1182–1197. DOI: 10.1016/S1357-2725(02)00310-2.

12. Chlopicki S., Lomnicka M., Fedorowicz A., Grochal E., Kramkowski K., Mogielnicki A., Buczko W., Motterlini R. Inhibition of platelet aggregation by carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): comparison with NO donors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2012; 385 (6): 641–650. DOI: 10.1007/s00210-012-0732-4.
13. Gusakova S.V., Kovalev I.V., Birulina Y.G., Smagliy L.V., Petrova I.V., Nosarev A.V., Orlov S.N., Aleinyk A.N. The effects of carbon monoxide and hydrogen sulfide on transmembrane ion transport. *Biophysics.* 2017; 62 (2): 220–226. DOI: 10.1134/S0006350917020099.
14. Yun S.H., Sim E.H., Goh R.Y., Park J.I., Han J.Y. Platelet Activation: The Mechanisms and potential biomarkers. *Biomed. Res. Int.* 2016; 2016: 9060143. DOI: 10.1155/2016/9060143.
15. Шатурный В.И., Шахиджанов С.С., Свешникова А.Н., Пантелеев М.А. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови. *Биомедицинская химия.* 2014; 60 (2): 182–200.
16. Del Carlo B., Pellegrini M., Pellegrino M. Modulation of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels of human erythrocytes by endogenous protein kinase C. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003; 1612 (1): 107–116. DOI: 10.1016/S0005-2736(03)00111-1.
17. Metere A., Iorio E., Scorza G., Camerini S., Casella M., Crescenzi M., Minetti M., Pietraforte D. Carbon monoxide signaling in human red blood cells: evidence for pentose phosphate pathway activation and protein de-glutathionylation. *Antioxid Redox Signal.* 2014; 20 (3): 403–416.
18. Петрова И.В., Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А., Розенбаум Ю.А., Смаглий Л.В., Рыдченко В.С., Гусакова С.В. Участие SH-групп в регуляции Ca<sup>2+</sup>-зависимой калиевой проницаемости мембраны эритроцитов при сердечно-сосудистой патологии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2018; 104 (7): 827–834. DOI: 10.7868/S0869813918070080.
19. Bratseth V., Pettersen A.A., Opstad T.B., Arnesen H., Seljeflot I. Markers of hypercoagulability in CAD patients. Effects of single aspirin and clopidogrel treatment. *Thromb. J.* 2012; 10 (1): 12. DOI: 10.1186/1477-9560-10-12.
20. Sharma D., Pandey M., Rishi J.P. A Study of platelet volume indices in patients of coronary artery diseases. *Journal of Scientific and Innovative Research.* 2016; 5 (5): 161–164.
21. McBane R.D., Karnicki K., Tahirkheli N., Miller R.S., Owen W.G. Platelet characteristics associated with coronary artery disease. *J. Thromb Haemost.* 2003; 1 (6): 1296–1303. DOI: 10.1046/j.1538-7836.2003.00183.x.
22. Schwartz K.A. Aspirin resistance: a clinical review focused on the most common cause, noncompliance. *Neurohospitalist.* 2011; 1 (2): 94–103. DOI: 10.1177/1941875210395776.

## Вклад авторов

Петрова И.В., Гусакова С.В. – проверка интеллектуального содержания, утверждение рукописи для публикации. Бирулина Ю.Г., Трубачева О.А. – разработка концепции и дизайна, интерпретация и анализ данных, написание рукописи. Носарев А.В., Шнайдер О.Л. – обоснование рукописи. Беляева С.Н. – выполнение экспериментальной части исследования. Васильев В.Н., Суханова Г.А. – разработка концепции и дизайна исследования.

## Сведения об авторах

Петрова Ирина Викторовна, д-р биол. наук, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-9034-4226.

Бирулина Юлия Георгиевна, канд. биол. наук, ассистент, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0003-1237-9786.

Трубачева Оксана Александровна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, отделение функциональной и лабораторной диагностики, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID 0000-0002-1253-3352.

Беляева Софья Николаевна, студент, медико-биологический факультет, СибГМУ, г. Томск.

Шнайдер Ольга Леонидовна, врач-кардиолог, отделение атеросклероза и хронической ишемической болезни сердца, НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, г. Томск.

Носарев Алексей Валерьевич, д-р мед. наук, доцент, профессор, кафедра биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0002-0119-9707.

Гусакова Светлана Валерьевна, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой биофизики и функциональной диагностики, СибГМУ, г. Томск. ORCID 0000-0001-5047-8668.

Васильев Владимир Николаевич, д-р биол. наук, профессор, кафедра физической культуры и здоровья, СибГМУ, г. Томск.

Суханова Галина Алексеевна, д-р биол. наук, профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Петрова Ирина Викторовна, e-mail: ivpetrova57@yandex.ru.

Поступила в редакцию 24.02.2019

Подписана в печать 25.12.2019