

## АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ НИТРАТНОГО ВАЗОДИЛАТАТОРА «ИЗОКЕТ» НА АРХИТЕКТонику ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

О. В. Путинцева, В. Г. Артюхов, М. А. Федакова

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

Поступила в редакцию 04.09.2020 г.

**Аннотация.** Ретардированные формы лекарственного препарата «Изокет» (изосорбида динитрата – ИСДН) занимают достойное место в длительной поддерживающей терапии хронических форм ишемической болезни сердца. Несмотря на то, что органические нитраты применяются в лечении больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями около 150 лет, однако до настоящего периода целесообразность и безопасность их использования в кардиологии является предметом дискуссии. По-прежнему, важнейшими задачами являются разработка объективных методов оценки их эффективности и способов преодоления толерантности. Новые подходы к решению этих задач может дать метод сканирующей электронной микроскопии, который позволяет получать четкую визуальную картину изменения поверхностной структуры, формы и размеров эритроцитов под влиянием лекарств – донаторов оксида азота. Оксид азота способен активно связываться со свободным гемоглобином в составе плазмы крови, проникать внутрь эритроцитов, оказывая влияние на структурное состояние внутрицеллюлярного и мембрансвязанного гемоглобина, что приводит к повышенному содержанию дезокси-, мет-, нитрозогембелка. Отклонения в соотношении отдельных лигандных форм гемопротеида от нормы могут сопровождаться формированием эритроцитарных клеток по внешнему виду и функциям отличных от дискоцитов. Поэтому модельные эксперименты по выяснению состояния эритрона в условиях воздействия ИСДН представляют несомненный теоретический и научно-практический интерес. В связи с вышеизложенным целью нашей работы стало исследование поверхностной цитоархитектоники эритроцитов человека после контакта с лекарственным препаратом «Изокет» в течение разного временного периода.

Установлено, что морфологическая картина нативной суспензии эритроцитов соответствовала таковой здорового человека, а её термостатирование при 37 °С в течение 24 ч индуцировало переход 46.6 % клеток в патологически изменённые формы. Суточный контакт эритроцитов с лекарственным препаратом «Изокет» приводил к изменению цитоархитектоники 62.8% клеток: общее количество дискоцитов (37.2%) стало меньше, чем суммарное число ОД (45.2%) и НД (17.6%) форм. Снижение количества дискоцитов в эритроне является неблагоприятным показателем, так как только нормоциты, благодаря идеальному сочетанию формы и объема эритроцитарных клеток, способны максимально насыщать целлюлярный гемоглобин кислородом и эффективно снабжать им ткани и клетки организма, бороться с гипоксией, активно развивающейся у больных с сердечно-сосудистой недостаточностью. Результаты проведенных модельных экспериментов показали, что использование ретардированной формы лекарственного препарата «Изокет», способствующей длительному контакту продуктов его метаболизма с клетками крови негативно отражаются на архитектонике отдельных эритроцитарных клеток и всего эритрона в целом, и, вероятно, в комплексе с накоплением в организме метформы гембелка могут стать одной из причин развития толерантности к действию данного лекарственного препарата.

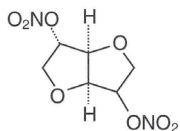
**Ключевые слова:** эритроциты, «Изокет», оксид азота, сканирующая электронная микроскопия, цитоархитектоника.

В настоящее время достойное место в длительной поддерживающей терапии хронических форм ишемической болезни сердца (ИБС) заняли разнообразные органические нитраты [1-7].

Наиболее эффективные препараты органических нитратов выпускаются в ретардированной форме, которая обеспечивает создание в организме запаса лекарственного средства и его последующее медленное освобождение. По продолжительности действия они могут обладать

умеренным (1-6 ч) и значительным пролонгированным эффектом (6-24 ч) [8].

Лекарственный препарат «Изокет» (изосорбида динитрата – ИСДН) относится к группе периферических нитратных вазодилаторов, а его структурная формула выглядит следующим образом:



Активными метаболитами ИСДН являются изосорбида 5-мононитрат и изосорбида 2-мононитрат, которые элиминируют из организма путем денитрации и образования глюкуронидов. Время полувыведения ИСДН составляет от 4 до 90 минут, изосорбида 5-мононитрата – от 4 до 5 ч, а изосорбида 2-мононитрата – 2.5 ч. Благодаря этому гемодинамические и антиангинальные эффекты препарата «Изокет» сохраняются на протяжении нескольких часов, что обеспечивает более длительную защиту от стенокардии, чем после сублингвального приема нитроглицерина [9].

Органические нитраты с современных позиций называют донаторами экзогенного NO [10]. Они представляют собой пролекарства. Активной группой ИСДН являются нитрит-ионы ( $\text{NO}_2^-$ ) [11], которые в организме человека восстанавливаются до NO при участии редуктаз, низкомолекулярных тиолов, SH-групп и восстановленного гемоглобина. Образовавшийся оксид азота через активацию гуанилатциклазы вызывает расслабление гладких мышц коронарных сосудов и их расширение, таким образом проявляя свое вазодилаторное действие на них [12]. Кроме того, NO может принимать участие в регуляции физиологических функций эритроцитов [13], оказывать влияние на их деформируемость и агрегацию [14].

Несмотря на то, что нитраты применяются в лечении больных сердечно-сосудистыми заболеваниями около 150 лет, однако, до настоящего времени целесообразность и безопасность применения нитратов в кардиологии является предметом дискуссии [10]. По-прежнему важнейшими задачами являются разработка объективных методов оценки их эффективности и способов преодоления толерантности, как одного из побочных эффектов при регулярном применении пролонгированных форм нитратов. Новые подходы к решению этих задач может дать метод сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) [15], который позволяет получать четкую визуальную картину

изменения поверхностной структуры, формы и размеров эритроцитов под влиянием лекарств – донаторов оксида азота.

Известно, что оксид азота способен активно связываться со свободным гемоглобином в составе плазмы крови [16], а также проникать внутрь эритроцитов [17, 18], оказывая влияние на структурно-функциональное состояние внутрицеллюлярного и мембрансвязанного гемоглобина, что приводит к повышенному содержанию дезокси-, мет-, нитрозогембелка [19]. Ранее нами с помощью комплекса методов (СЭМ, регистрации электронных спектров поглощения и кривых диссоциации оксигемоглобина) было установлено, что отклонения в соотношении отдельных лигандных форм гемопротеида от нормы при контакте с эталонным нитратным вазодилатором (нитроглицерином) отражаются на морфологическом состоянии эритрона и сопровождаются формированием эритроцитарных клеток по внешнему виду [20] и функциям [16], отличных от дискоцитов. Поэтому модельные эксперименты по выяснению состояния эритрона в условиях воздействия ИСДН представляют несомненный теоретический и научно-практический интерес. В связи с изложенным выше, целью нашей работы стало исследование поверхностной цитоархитектоники эритроцитов человека после контакта с лекарственным препаратом «Изокет» в течение разного временного периода.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на суспензии эритроцитов в 0.01 моль/л Na-фосфатном буфере, полученной из крови доноров в день взятия пробы. Выделение суспензии эритроцитов из цельной крови донора осуществляли по методике, описанной в «Практикуме по биофизике» [21]. Полученную суспензию эритроцитарных клеток доводили раствором 0.01 моль/л Na-фосфатного буфера (pH 7.4) до оптической плотности  $D_{495}$ , равной 0.8, и затем использовали в эксперименте. Концентрация суспензий эритроцитов составляла  $1.34 \cdot 10^{12}$  клеток/л.

В экспериментах применяли препарат «Изокет», производитель ЮСБ Фарма ГмБХ (Германия). «Изокет» добавляли к суспензии эритроцитов человека в концентрации 5 нг/мл. Полученные образцы инкубировали в течение 1 и 24 ч при 37 °С в суховоздушном термостате в стерильных условиях.

Поверхностную цитоархитектонику нативных и модифицированных растворами препарата «Изокет» (5 нг/мл) эритроцитов крови доноров изучали

методом сканирующей электронной микроскопии. Контрольные и опытные образцы фиксировали 2.5 % раствором глутарового альдегида (Sigma, США) при температуре 4 °С в течение 1 ч. Затем производили обезвоживание клеток путем центрифугирования в серии водных растворов этанола восходящей концентрации и далее ацетоном [22]. Приготовленную суспензию эритроцитов наносили на алюминиевые подложки и высушивали в термостате при 37 °С. Препараты просматривали на сканирующем электронном микроскопе JEOL (Japan Electron Optics Laboratory) JSM – 6510 LV (Япония) при ускоряющем напряжении 10 кВ в лаборатории ЦКПНО Воронежского государственного университета.

Структурное состояние мембран эритроцитов оценивали по классификации, предложенной Г.И. Козинец и В.А. Макаровым [23]. Для детального анализа характера изменения поверхностной архитектуры эритроцитов рассчитывали ряд показателей: Д – количество дискоцитов, в процентах; ОД – количество обратимо деформированных эритроцитов, в процентах; НД – количество необратимо деформированных эритроцитов, в процентах; ИТ – индекс трансформации, представляющий собой количественную оценку соотношения патологических и нормальных форм эритроцитов:  $ИТ = (ОД + НД) / Д$ ; ИОТ – индекс обратимой трансформации:  $ИОТ = ОД / Д$ ; ИНОТ – индекс необратимой трансформации:  $ИНОТ = НД / Д$ .

Опыты проводили в 6-8-кратной повторности, аналитические определения для каждой пробы осуществляли в четырех повторностях. Результаты опытов сравнивали с контролем. Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли с помощью пакета прикладных статистических программ «Stadia 7.0 (Professional)». Достоверность различий контрольных и опытных значений сравниваемых показателей определяли по t-критерию Стьюдента (при  $p < 0.05$ ), поскольку все исследуемые показатели характеризовались нормальным распределением [24].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами была исследована citoархитектоника интактных и модифицированных лекарственным препаратом «Изокет» эритроцитов крови доноров до и после инкубации при 37 °С в течение 1 и 24 ч. Результаты проведенных экспериментов представлены в табл. и на рис. 1.

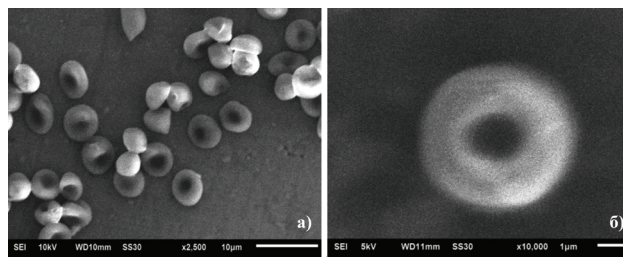


Рис. 1. Электронные микрофотографии эритроцитов контрольного образца: а) при увеличении  $\times 2500$ ; б) при увеличении  $\times 5000$

В нативном образце содержалось  $93.6 \pm 4.7$  % дискоцитов,  $4.4 \pm 0.22$  % обратимо деформированных клеток (дискоциты с одним выростом, дискоциты с гребнем, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде тутовой ягоды) и  $2.0 \pm 0.01$  % необратимо деформированных клеток (куполообразные эритроциты, сфероциты с гладкой поверхностью, сфероциты с шипиками на поверхности, эритроциты в виде «спущенного» мяча, дегенеративные формы эритроцитов), что соответствует морфологической картине красных клеток крови здорового человека [23, 25].

После инкубации суспензии эритроцитов человека при 37 °С в течение 1 ч не наблюдалось статистически достоверных изменений в содержании дискоцитов, но возросло число обратимо деформированных клеток ( $8.7 \pm 0.24$  %) и, соответственно, индекс обратимой деформации ( $0.1 \pm 0.012$ ).

Внесение лекарственного препарата «Изокет» (5 нг/мл) в суспензии эритроцитарных клеток с последующей 1-часовой инкубацией образцов индуцировало снижение количества двояковогну-

Таблица 1

Показатели citoархитектоники эритроцитов крови доноров, модифицированных препаратом «Изокет» в течение разного временного периода

Показатели	Контроль	Контроль (1 ч)	Эритроциты + «Изокет» (1 ч)	Контроль (24 ч)	Эритроциты + «Изокет» (24 ч)
Д, %	$93.6 \pm 4.7$	$89.1 \pm 0.16$	$85.2 \pm 0.96^*$	$53.4 \pm 0.33^*$	$37.2 \pm 0.66^*$
ОД, %	$4.4 \pm 0.22$	$8.7 \pm 0.24^*$	$12.2 \pm 0.36^*$	$36.4 \pm 0.06^*$	$45.2 \pm 0.9^*$
НД, %	$2.0 \pm 0.01$	$2.2 \pm 0.28$	$2.6 \pm 0.76^*$	$10.2 \pm 0.19^*$	$17.6 \pm 0.3^*$
ИТ, %	$0.07 \pm 0.04$	$0.12 \pm 0.02$	$0.17 \pm 0.002^*$	$0.87 \pm 0.03^*$	$1.69 \pm 0.001^*$
ИОТ, %	$0.05 \pm 0.002$	$0.1 \pm 0.012^*$	$0.14 \pm 0.01^*$	$0.68 \pm 0.001^*$	$1.22 \pm 0.003^*$
ИНОТ, %	$0.02 \pm 0.001$	$0.02 \pm 0.01$	$0.03 \pm 0.003^*$	$0.19 \pm 0.003^*$	$0.47 \pm 0.22^*$

\*отклонения исследуемого показателя относительно значений в интактной группе статистически значимы

тых дискоцитов с  $93.6 \pm 4.7\%$  до  $85.2 \pm 0.96\%$ , повышение числа обратимо деформированных форм с  $4.4 \pm 0.22\%$  до  $12.2 \pm 0.36\%$  и необратимо деформированных клеток с  $2.0 \pm 0.01\%$  до  $2.6 \pm 0.76\%$ , значений ИТ – до  $0.17 \pm 0.02$ , ИОТ – до  $0.14 \pm 0.01$  и ИНОТ – до  $0.03 \pm 0.003$ . (табл. 1, рис. 2, 4, 5).

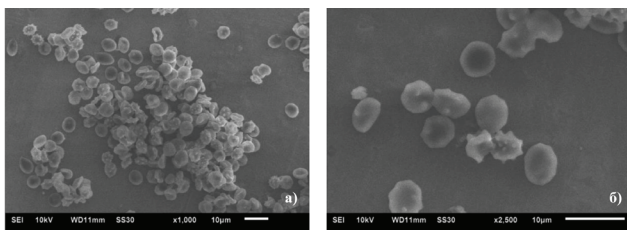


Рис. 2. Электронные микрофотографии эритроцитов после модификации суспензии эритроцитов человека лекарственным препаратом «Изокет» в течение 1 ч: а) при увеличении  $\times 1000$ ; б) при увеличении  $\times 2500$

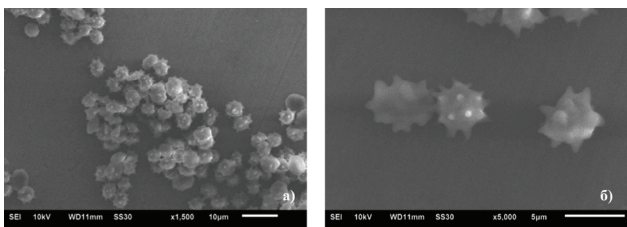


Рис. 3. Электронные микрофотографии эритроцитов после воздействия лекарственного препарата «Изокет» на суспензию эритроцитов человека в течение 24 ч: а) при увеличении  $\times 1500$ ; б) при увеличении  $\times 5000$



Рис. 4. Зависимость количества дискоцитов от времени инкубации с лекарственным препаратом «Изокет»

Цитоархитектура эритроцитов после термостатирования при  $37^\circ\text{C}$  в течение 24 ч отличалась от таковой свежесыведенных клеток и характеризовалась существенными изменениями ее показателей. Так, содержание дискоцитов уменьшилось до  $53.4 \pm 0.33\%$ , количество обратимо деформированных клеток возросло до  $36.4 \pm 0.06\%$ , а необ-

ратимо деформированных – до  $10.2 \pm 0.19\%$ . По-видимому, именно с образовавшимися в процессе хранения гетерогенными изменениями поверхностной архитектоники в популяции эритроцитов связаны активизация окислительных процессов гембелка, повышенное метгемоглобинообразование, понижение устойчивости и частичный гемолиз клеток, выявленные нами ранее [16, 19].



Рис. 5. Зависимость количества ОД и НД эритроцитов от времени инкубации с лекарственным препаратом «Изокет»

Суточный контакт суспензии эритроцитов с лекарственным препаратом «Изокет» привел к ещё более значительному снижению числа двояковогнутых дискоцитов (до  $37.2 \pm 0.66\%$ ), увеличению процентного содержания обратимо деформированных эритроцитов до  $45.2 \pm 0.9\%$ , а необратимо деформированных форм до  $17.6 \pm 0.3\%$  относительно контроля. В результате длительного воздействия ИСДН значения ИТ составили  $1.69 \pm 0.001$ , ИОТ –  $1.22 \pm 0.003$ , ИНОТ –  $0.47 \pm 0.22$ . Таким образом, длительная экспозиция лекарственного препарата «Изокет» (24 ч) способствует усилению (развитию) процессов модификации поверхностной структуры эритроцитов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая результаты проведенных исследований, можно сделать следующее заключение. С помощью метода сканирующей электронной микроскопии было установлено, что термостатирование интактных эритроцитов при  $37^\circ\text{C}$  в течение 24 ч индуцирует переход  $46.6\%$  клеток в морфологически изменённые формы.

Суточная инкубация эритроцитов с лекарственным препаратом «Изокет» в физиологически оптимальной концентрации, равной  $5\text{ нг/мл}$ , приводила к изменению цитоархитектоники более  $60\%$  клеток: общее количество дискоцитов ( $37.2 \pm 0.66\%$ ) стало меньше, чем суммарное чис-

ло ОД ( $45.2 \pm 0.9$  %) и НД ( $17.6 \pm 0.3$  %) форм эритроцитарных клеток – 62.8 %.

Снижение количества дискоцитов в эритроэне является неблагоприятным показателем, так как только нормоциты, благодаря идеальному сочетанию формы и объема эритроцитарных клеток, способны максимально насыщать цитоплазматический гемоглобин кислородом и эффективно снабжать им ткани и клетки организма, бороться с процессом гипоксии, активно развивающейся у больных с сердечно-сосудистой недостаточностью

Результаты проведенных модельных экспериментов показали, что использование ретардированной формы лекарственного препарата «Изокет», способствующей длительному контакту продуктов его метаболизма с клетками крови негативно отражается на архитектонике отдельных эритроцитарных клеток и всего эритроэна в целом, и, вероятно, в комплексе с накоплением в организме метформы гембелка могут стать одной из причин развития толерантности к действию данного лекарственного средства.

Выявленные особенности взаимодействия изосорбида динитрата (ИСДН) с эритроцитарными клетками доноров указывают на необходимость контроля как за общей морфологической картиной эритроэна больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, так и за содержанием в их крови метформы гемоглобина, для констатации нежелательных и получения максимально благоприятных эффектов при их применении.

Полученные нами результаты необходимо учитывать при обсуждении вопросов, касающихся изучения влияния нитратных вазодилаторов на структурно-функциональные свойства клеток крови и их компонентов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чазов Е.И. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний: Рук-во для практикующих врачей. Москва, Литтера, 2005, 972 с.
2. Лупанов В.П. Нитраты. Руководство по кардиологии в четырех томах. Под ред. акад. Чазова Е.И. Изд. «Практика», 2014, 4: 688-703.
3. Евдокимова А.Г., Евдокимов В.В., Радзевич А.Э., Ольхин В.А. Место нитратов в лечении сердечно-сосудистых заболеваний; научные доказательства и клиническая практика. Справочник поликлинического врача. 2013, 4. С. 24-29.
4. Кириченко А.А. // CONSILIUM MEDICUM (Кардиология). 2012. Т. 14, № 5. С. 64-66.
5. Шилов А.М., Осин А.О., Еремина И.В. // CONSILIUM MEDICUM (Кардиология). 2011. Т. 13, № 5. С. 99-101.
6. Крыжановский С.А., Вититнова М.Б. // Терапевт. 2011. №3. С. 38-54.
7. Munzel T, Steven S, Daiber A. // Vascul Pharmacol. 2014. Vol. 63, N 3. P. 105-113.
8. [https://www.rlsnet.ru/fg\\_index\\_id\\_90.htm](https://www.rlsnet.ru/fg_index_id_90.htm) (дата обращения 01.09.2020 г.)
9. Лупанов В.П. Нитраты в лечении больных ишемической болезнью сердца: фокус на изосорбида динитрат. Медицинский Совет. 2016. № 8. С. 86-90.
10. Евдокимова А.Г., Евдокимов В.В., Кожина Н.А. // Медицинский совет. 2014. № 8. С. 12-16.
11. Divakaran S., Loscalzo J. Journal of the american college of cardiology, 2017. Vol. 70. N 19. P. 2393-2410.
12. Справочник Видаль. Лекарственные препараты России. Справочник, Москва : Астра-ФармСервис, 2005. 1536 с.
13. Jubelin B.C., Gierman J.L. // Am. J. Hypertens. 1996. N 9. P. 1214-1219.
14. Korbut R., Gryglewski R.J. // J. Physiol. Pharmacol. 1996. V. 47. P. 591-599.
15. Яминский И.В., Горелкин П.В., Ерофеев А.С. // Медицина и высокие технологии. 2014. № 2. С. 11-26.
16. Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Калаева Е.А., Савостин В.С. Гемоглобин человека в условиях воздействия различных физико-химических агентов. Воронеж : ИПЦ Воронежского государственного университета, 2013. 364 с.
17. Tsoukias N.M., Popel A.S. // Am. J. Phys. Heart Circ. Physiol. 2002. Vol. 222. P. 2265-2277.
18. Doctor A., Stamler J.S. // Comprehensive Physiol.. 2011. N 1 (1). P. 541-568.
19. Калаева Е.А., Артюхов В.Г., Путинцева О.В., Полубезьева А.И. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. Т. 79, № 9. С. 12-17.
20. Путинцева О.В., Артюхов В.Г., Федакова М.А. // Вестник Воронежского государственного университета. Серия : Химия. Биология. Фарма-ция. 2018. № 3. 193-198.
21. Артюхов В.Г., Башарина О.В., Вашанов Г.А., Калаева Е.А., Лавриненко И.А., Наквасина М.А., Путинцева О.В., Радченко М.С., Резван С.Г. Практикум по биофизике. Под ред. В.Г. Артюхова. Воронеж: Изд. дом ВГУ, 2016. 314 с.
22. Bhowmick S., Das D.K., Mati A.K. // Micron. 2013. N 44. P. 384-394.

23. Козинец Г.И., Макаров В.А. Исследование системы крови в клинической практике. Москва: Триада-Х, 1998, 480 с.

24. Калаева Е.А., Артюхов В.Г, Калаев В.Н. Теоретические основы статистики и практическое применение математической статистики в биоло-

гических исследованиях. Воронеж : Изд-во ВГУ, 2016. 284 с.

25. Руководство по гематологии : в 3-х т./под ред. А.И. Воробьева. Москва: Ньюдиамед. 2004, Т.1, 280 с.

*Воронежский государственный университет  
Путинцева О.В., доктор биол. наук, профессор,  
кафедра биофизики и биотехнологии*

*Voronezh State University  
Putintseva O.V., PhD., DSci., Full Professor,  
Department of Biophysics and Biotechnology*

*Артюхов В.Г., доктор биол. наук, профессор,  
заведующий кафедрой биофизики и биотехнологии  
E-mail: artyukhov@bio.vsu.ru*

*Artyukhov V. G., PhD., DSci., Full Professor, Head  
of the Department of Biophysics and Biotechnology  
E-mail: artyukhov@bio.vsu.ru*

*Федакова М.А. магистр кафедры биофизики и  
биотехнологии*

*Fedakova M.A. Master of Biophysics and  
Biotechnology dept.*

## **ANALYSIS OF THE IMPACT OF THE NITRATE VASODILATOR "ISOKET" ON THE ARCHITECTONICS OF HUMAN ERYTHROCYTES**

**O. V. Putintseva, V. G. Artyukhov, M. A. Fedakova**

*Voronezh State University*

**Abstract.** Retarded forms of the drug "Isoket" (isosorbide dinitrate - ISDN) occupy a worthy place in long-term maintenance therapy of chronic forms of ischemic heart disease. Despite the fact that organic nitrates have been used in the treatment of patients with cardiovascular diseases for about 150 years, until now, the feasibility and safety of their use in cardiology is a matter of debate. As before, the most important tasks are the development of objective methods for assessing their effectiveness and ways to overcome tolerance. New approaches to solving these problems can be provided by the method of scanning electron microscopy, which allows one to obtain a clear visual picture of changes in the surface structure, shape and size of erythrocytes under the influence of drugs - nitric oxide donors. Nitric oxide is able to actively bind with free hemoglobin in the blood plasma, penetrate into erythrocytes, influencing the structural state of intracellular and membrane-bound hemoglobin, which leads to an increased content of deoxy-, met-, nitroso membrane. Deviations in the ratio of individual ligand forms of hemoprotein from the norm may be accompanied by the formation of erythrocyte cells in appearance and functions different from discocytes. Therefore, model experiments to elucidate the state of the erythron under the influence of ISDN are of undoubted theoretical and scientific-practical interest. In connection with the above, the purpose of our work was to study the surface cytoarchitectonics of human erythrocytes after contact with the drug "Isoket" for a different time period.

It was found that the morphological picture of the native suspension of erythrocytes corresponded to that of a healthy person, and its thermostating at 37 ° C for 24 h induced the transition of 46.6% of cells into pathologically altered forms. Daily contact of erythrocytes with the drug "Isoket" led to a change in the cytoarchitectonics of 62.8% of cells: the total number of discocytes (37.2%) became less than the total number of OD (45.2%) and ND (17.6%) forms ... A decrease in the number of discocytes in erythron is an unfavorable indicator, since only normocytes, due to the ideal combination of the shape and volume of erythrocyte cells, are able to maximize the saturation of cellular hemoglobin with oxygen and efficiently supply them with tissues and body cells, fight hypoxia, which is actively developing in patients with cardiovascular failure. The results of the conducted model experiments showed that the use of the retarded form of the drug "Isoket", which promotes long-term contact of its metabolic products with blood cells, negatively affects the architectonics of individual erythrocyte cells and the entire erythron as a whole, and, probably, in combination with the accumulation of the metform can be one of the reasons for the development of tolerance to the action of this drug.

**Keywords:** erythrocytes, "Isoket", nitric oxide, scanning electron microscopy, cytoarchitectonics.

## REFERENCES

1. Chazov E.I. Racional'naja farmakoterapija serdechno-sosudistyh zabolevanij: Ruk-vo dlja praktikujushhijh vrachej. Moskva, Littera, 2005, 972 s.
2. Lupanov V.P. Nitraty. Rukovodstvo po kardiologii v chetyreh tomah. Pod red. akad. Chazova E.I. Izd. «Praktika», 2014, 4, 688-703.
3. Evdokimova A.G., Evdokimov V.V., Radzevich A.Je., Ol'hin V.A. Mesto nitratov v lechenii serdechno-sosudistyh zabolevanij; nauchnye dokazatel'stva i klinicheskaja praktika. Spravochnik poliklinicheskogo vracha, 2013, 4, pp. 24-29.
4. Kirichenko A.A., CONSILIUM MEDICUM (Kardiologija), 2012, T. 14, № 5, pp. 64-66.
5. Shilov A.M., Osin A.O., Eremina I.V., CONSILIUM MEDICUM (Kardiologija), 2011, T. 13, № 5, pp. 99-101.
6. Kryzhanovskij S.A., Vititnova M.B., Terapevt, 2011, №3, pp. 38-54.
7. Munzel T., Steven S., Daiber A., Vascul Pharmacol., 2014, Vol. 63, N 3, pp. 105-113.
8. [https://www.rlsnet.ru/fg\\_index\\_id\\_90.htm](https://www.rlsnet.ru/fg_index_id_90.htm)
9. Lupanov V.P. Nitraty v lechenii bol'nyh ishemicheskoy bolezn'ju serdca: fokus na izosorbida dinitrat, Medicinskij Sovet, 2016, № 8, pp. 86-90.
10. Evdokimova A.G., Evdokimov V.V., Kozhina N.A., Medicinskij sovet, 2014, № 8, pp. 12-16.
11. Divakaran S., Loscalzo J., Journal of the american college of cardiology, 2017, Vol. 70, N 19, pp. 2393-2410.
12. Spravochnik Vidal'. Lekarstvennyye preparaty Rossii. Spravochnik, Moskva : AstraFarmServis, 2005, 1536 s.
13. Jubelin B.C., Gierman J.L., Am. J. Hypertens, 1996, N 9, pp. 1214-1219.
14. Korbut R., Gryglewski R.J., J. Physiol. Pharmacol., 1996, V. 47, pp. 591-599.
15. Jaminskij I.V., Gorelkin P.V., Erofeev A.S., Medicina i vysokie tehnologii, 2014, № 2, pp. 11-26.
16. Artjuhov V.G., Putinceva O.V., Kalaeva E.A., Savostin V.S. Gemoglobin cheloveka v uslovijah vozdeystvija razlichnyh fiziko-himicheskijh agentov. Voronezh : IPC Voronezhskogo gosuniversiteta, 2013, 364 s.
17. Tsoukias N.M., Popel A.S., Am. J. Phys. Heart Circ. Physiol., 2002, Vol. 222, R. 2265-2277.
18. Doctor A., Stamler J.S., Comprehensive Physiol., 2011, N 1 (1), R. 541-568.
19. Kalaeva E.A., Artjuhov V.G., Putinceva O.V., Poljubez'eva A.I., Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija, 2016, T. 79, № 9, pp. 12-17.
20. Putinceva O.V., Artjuhov V.G., Fedakova M.A., Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Serija: Himija. Biologija. Farmacija, 2018, № 3, pp. 193-198.
21. Artjuhov V.G., Basharina O.V., Vashanov G.A., Kalaeva E.A., Lavrinenko I.A., Nakvasina M.A., Putinceva O.V., Radchenko M.S., Rezvan S.G. Praktikum po biofizike. Pod red. V.G. Artjuhova. Voronezh: Izd. dom VGU, 2016, 314 s.
22. Bhowmick S., Das D.K., Mati A.K., Micron, 2013, N 44, R. 384-394.
23. Kozinec G.I., Makarov V.A. Issledovanie sistemy krovi v klinicheskoy praktike. Moskva: Triada-H, 1998, 480 s.
24. Kalaeva E.A., Artjuhov V.G., Kalaev V.N. Teoreticheskie osnovy statistiki i prakticheskoe primenenie matematicheskoy statistiki v biologicheskijh issledovanijah. Voronezh : Izd-vo VGU, 2016, 284 s.
25. Rukovodstvo po gematologii : v 3-h t./pod red. A.I. Vorob'eva. Moskva: N'judiamed, 2004, T.1, 280 s.