

УДК 612.017.2:612.111

АДАПТАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ: РОЛЬ ГЕМОГЛОБИНА, ОКСИДА АЗОТА И МЕТИЛГЛИОКСАЛЯ

© 2024 г. О. В. Космачевская¹, А. Ф. Топунов^{1, *}

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

*e-mail: aftpunov@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.05.2024 г.

После доработки 21.06.2024 г.

Принята к публикации 05.07.2024 г.

Все живые системы характеризуются такими фундаментальными свойствами, как способность к адаптации и саморегуляции. Безъядерные эритроциты млекопитающих также обладают способностью к адаптации к внешним воздействиям, но их регуляторные возможности ограничиваются цитоплазматическими механизмами, включающими фазовые переходы белков и мембран. Это один из древнейших механизмов приспособления живых систем к условиям внешней и внутренней среды. Эритроциты при изменении состава цитоплазмы, старении и энергетическом истощении претерпевают обратимую морфофункциональную трансформацию, переход из дискоцита в эхиноцит. Происходящие при этом сдвиги метаболизма соответствуют комплексу универсальных изменений, возникающих при переходе эритроцита в состояние метаболического угнетения. Как правило, эхиноцитоз рассматривают как патологический процесс, предшествующий эриптозу и гемолизу. Однако его можно рассматривать и как первый этап реализации универсальной программы пассивной адаптации клетки, конечной целью которой является переход в состояние анабиоза. Энергетический статус эритроцита определяется равновесием между растворимой и мембраносвязанной формами гемоглобина (Hb). Вещества с выраженными электрофильными свойствами — оксид азота и метилглиоксаль, влияющие на это равновесие, могут индуцировать переход эритроцита из одного метаболического состояния в другое. Механизм их действия во многом связан с модификацией тиоловых групп белков мембраны и цитоскелета, а также реакционноактивных SH-групп Hb. Представляется актуальным рассмотрение влияния этих метаболитов на состояние гемоглобина и эритроцитов.

Ключевые слова: эритроциты, гемоглобин, мембраны, тиолы, адаптация, редокс-регуляция, оксид азота, метилглиоксаль

DOI: 10.31857/S0555109924060012 EDN: QGZJPO

Приспособление к изменениям условий среды — фундаментальное свойство всех живых организмов. Несмотря на отсутствие ядерного и белоксинтезирующего аппаратов в эритроцитах млекопитающих, эти клетки обладают многоуровневой способностью к адаптации. Приведем несколько ссылок из большого количества статей на данную тему [1–8]. В отличие от ядросодержащих клеток, адаптационные возможности эритроцитов млекопитающих ограничены цитоплазматическими механизмами, основу которых составляют обратимые кооперативные фазовые переходы белков, взаимодействие их с мембраной, изменения в мембранных белках и белках цитоскелета, а также нарушение проницаемости мембраны [9]. Развертка адаптационного ответа в любой клетке начинается с неспецифического комплекса реакций, описанного в литературе, и только позже подключаются механизмы специфической регуляции. Неспецифический ответ

реализуется на уровне изменений протеома, известный как “универсальная клеточная реакция”, которая есть не что иное, как проявление филогенетически древней программы реагирования клетки на различные факторы [10–12].

Интересен и вопрос о роли микроРНК в эритроцитах, поскольку они являются основным источником микроРНК в крови. Эритроцитарная микроРНК может иметь как внутриклеточное, так и внеклеточное происхождение. Особо следует отметить микроРНК, сохранившуюся в эритроцитах со времени эритроидной дифференцировки. Исследования влияния микроРНК на метаболизм эритроцитов при гипоксии не проводились, однако обсуждается их возможная роль в адаптации эритроцитов к гипоксии по аналогии с другими клетками и тканями [13].

Из-за отсутствия ядерного аппарата и простоты устройства, эритроциты являются удобной моделью для изучения цитоплазматических (негенетических) механизмов формирования адаптационного ответа, ключевую роль в реализации которого играет молекула гемоглобина (Hb) и факторы, влияющие на ее структурно-функциональное состояние. В настоящем обзоре описана функциональная роль Hb в развитии цитоплазматических механизмов формирования метаболического состояния эритроцитов и влияние на этот процесс метаболитов оксида азота и метилглиоксала. Именно из-за относительной простоты устройства к эритроцитам может быть особенно хорошо применена фраза Нобелевского лауреата Сент-Дьёрдьи: “В основе живой природы лежит относительно небольшое число фундаментальных принципов, мудро приспособленных для самых разнообразных целей” [14].

Понимание феномена неспецифической адаптации на примере эритроцита позволит полнее раскрыть законы и механизмы приспособительной деятельности, развивающейся на уровне цитоплазмы.

ФЕНОМЕН АДАПТАЦИИ ЭРИТРОЦИТА

Связь адаптации со старением. Условия, в которых функционируют эритроциты, накладывают определенные требования к развитию их адаптивных возможностей. Эритроциты периодически подвергаются смене кислородного режима, механическому и осмотическому воздействию. К эпизодическим факторам можно отметить действие эндогенных и экзогенных токсинов, активных форм кислорода и азота. Перечисленные факторы вызывают повреждение и износ клеточных компонентов.

Известно, что эритроциты могут претерпевать обратимые изменения морфологических и биохимических параметров: увеличение вязкости, снижение деформируемости, выход ионов калия и вход ионов кальция, изменение формы. Аналогичные изменения показаны для истощенных по АТФ и “старых” эритроцитов. В зависимости от глубины нарушений, такие измененные эритроциты могут со временем либо вернуться к физиологически нормальным параметрам, либо погибнуть по механизму апоптоза (эриптоза) [15] или лизировать. Можно выделить три пути гибели эритроцитов:

- 1) гемолиз, сопровождающийся набуханием эритроцитов и разрывом плазматической мембраны вследствие выхода K^+ и входа Cl^- ;
- 2) эриптоз;
- 3) старение, сопровождающиеся сморщиванием эритроцитов и везикулообразованием вследствие выхода K^+ и Cl^- и H_2O .

Таким образом, эриптоз можно характеризовать как механизм предотвращения гемолиза и ускорения старения.

Изменения эритроцитов на обратимых стадиях изменений, как мы полагаем, носят адаптивный характер и направлены на увеличение стабильности в изменившихся условиях. Здесь мы исходим из известного положения, что в основе старения и адаптации лежат общие механизмы.

Эхиноцитарная трансформация. Жизнь клетки описывается как череда состояний активации (возбуждения) и покоя (торможения). Эритроциты не являются исключением. Рабочий цикл эритроцита складывается из оксигенации в капиллярах легких и дезоксигенации в капиллярах тканей. Процессы оксигенации/дезоксигенации сопровождаются конформационными переходами гемоглобина (R–T-переход). Молекула Hb существует в двух энергетических состояниях: напряженном “T” и расслабленном “R”. Эти два состояния отличаются энергией взаимодействия между субъединицами [16–19]. R-конформеры Hb характеризуются более рыхлой структурой, доступными реакционноактивными SH-группами и связанными ионами калия [16–19]. Дезоксигенация приводит к уплотнению молекулы Hb, снижению доступности SH-групп, высвобождению ионов калия и увеличению сродства к цитоплазматическому домену трансмембранного белка полосы 3 [20]. Таким образом, в самом цикле функционирования эритроцита происходят обратимые кооперативные переходы Hb, вызывающие изменения его конформационного и фазового состояния.

Под действием различных факторов, энергетическом истощении, изменении состава плазмы, а также в результате старения или длительного хранения эритроциты изменяют форму: двояковогнутый диск (дискоцит) может трансформироваться в шарообразную (сфероцит) или шпоровидную форму (эхиноцит) [21–23].

Эхиноцитарная трансформация происходит через ряд стадий, на каждой из которых образуется определенный вид эхиноцитов [24, 25]. Всего выделяют четыре вида эхиноцитов, между ними возможны последовательные обратимые переходы вплоть до нормальной формы (дискоцита), и только заключительная стадия эхиноцитарной трансформации является необратимой [26]. Необратимо измененная клетка погибает, как правило, апоптотическим путем. По этой причине эхиноциты относят к патологическим формам эритроцитов, появление которых предшествует эриптозу или гемолизу.

В контексте обсуждаемой темы наибольший интерес представляет состояние “торможения”, которое можно рассматривать как состояние покоя с более низким уровнем чувствительности (возбудимости). Переход в это физиологическое состояние сопровождается морфологическими и

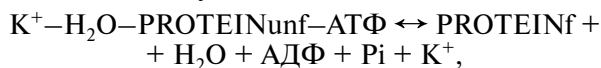
биохимическими сдвигами, которые совпадают с описанными в литературе признаками старения эритроцитов — эхиноцитарной трансформацией (сморщивание клетки). Это потеря ионов калия, низкоэнергетический сдвиг, гиперполяризация мембраны, снижение сорбционной способности цитоплазмы, повышение резистентности [26, 27].

Эхиноциты в несколько раз более устойчивы к различным воздействиям, но менее деформируемы. Способность к деформации — необходимое для функционирования эритроцитов свойство, благодаря которому они проникают в узкие капилляры тканей. Получается, что клетка как бы жертвует своей функциональностью ради сохранения структурной целостности. Можно высказать предположение, что эхиноцитарная трансформация — это реализация филогенетически древней программы пассивной адаптации клетки. При такой адаптации эритроциты могут утратить функциональную активность, но сохранить жизнеспособность. Элементарной реакцией такого адаптационного процесса является превращение комплекса ион—вода—белок, который в свою очередь устанавливает характер белок-белковых и белок-липидных взаимодействий. Главная роль в этих взаимодействиях принадлежит гемоглобину — основному белку эритроцитов, концентрация которого ~5 мМ при ~40%-ном гематокрите.

УНИВЕРСАЛЬНАЯ БЕЛКОВАЯ РЕАКЦИЯ

Ион—вода—белковый комплекс. Основоположниками учения об универсальных реакциях белков являются Д.Н. Насонов и В.Я. Александров [10, 11]. Благодаря работам этих ученых был сделан вывод, что начальные стадии денатурации белков характеризуются общими чертами: уменьшением гидратированности, активацией аминных, карбоксильных и сульфгидрильных групп, экспонированием неполярных участков, увеличением объема. Также к проявлениям общих неспецифических изменений, происходящих при повреждении белков, можно причислить образование дополнительных центров связывания металлов [28].

Опираясь на денатурационную теорию повреждения и возбуждения Д.Н. Насонова и теорию ассоциации—индукции Линга, В.В. Матвеев [12] рассматривает адаптационный процесс клетки как процесс молекулярных перестроек белков внутри клетки, который в общем виде можно представить как переход молекулы белка из состояния расплавленной глобулы с доступными для воды и ионов калия полипептидными участками в состояние компактной глобулы:



где PROTEINunf — развернутая молекула белка, PROTEINf — компактная молекула белка.

Состояние расплавленной глобулы относится к клетке в состоянии покоя, а компактной глобулы — к клетке в активированном состоянии. Между двумя этими состояниями существует динамическое равновесие: чем сильнее молекула белка смещена в сторону развернутого состояния, тем выше устойчивость клетки. Согласно этой концепции, изменения в структуре комплекса ион—вода—белок, возникающие сразу после оказанного на клетку воздействия, составляют физическую основу реагирования живой системы. Переход белков из одной конформации в другую влечет за собой изменение коллоидных свойств протоплазмы: вязкости, текучести, растяжимости и др.

Вероятно, становление универсальной белковой реакции происходило еще на заре возникновения жизни в доклеточных структурах — протобионтах и было одним из первых механизмов формирования биологического сигнала. Исходя из этих рассуждений, R—T—переход Hb можно рассматривать как аналог прореакции.

Переход гемоглобина в состояние расплавленной глобулы. Имеются доказательства существования одной или нескольких промежуточных стадий при переходе белка из нативного состояния в развернутое. Для многих глобулярных белков обнаружено частично развернутое промежуточное состояние — расплавленная глобула [29, 30]. Белки в этом состоянии характеризуются выраженной вторичной и флуктуирующей третичной структурой, а также увеличенной гидрофобной поверхностью. Переход в состояние расплавленной глобулы происходит под действием низких и высоких значений pH, умеренных концентраций денатурирующих агентов и некоторых солей, а также при нагревании. Показано, что Hb переходит в это состояние под действием активного карбонильного соединения глиоксаля [31] и органического растворителя 2,2,2-трифтораэтанола [32, 33]. Через состояние расплавленной глобулы происходит фолдинг и сборка Hb [34]. Такой сценарий постулируется не только для систем *in vitro*, но и для клеточных систем.

В эритроците в результате различных патологических процессов образуются повышенные количества редокс-активных веществ, которые действуют на Hb и индуцируют его переход в обратимый гемихром — состояние, сходное с расплавленной глобулой [34–37]. При этом происходит активация и демаскировка сульфгидрильных групп, которые становятся доступными для связывания ионов металлов [28]. Присоединение металлов может повлиять на физико-химические свойства белка, его реакционную способность и устойчивость к денатурации и протеолитической деградации.

В работе [34] был охарактеризован процесс денатурации Hb, который включает самоокисление до метHb с последующей диссоциацией гемина (Fe-протопорфирина IX) и разворачиванием

апогемоглобина. Образование гемихромов предотвращает отделение гемина от молекул белка с измененной конформацией. Это объясняет причину перехода Нб с неправильной укладкой в гемихромы, которые накапливаются в виде нерастворимых включений (тельца Гейнца) в эритроцитах пациентов с гемоглобинопатиями.

Обратимые гемихромы также образуются при воздействии на Нб жирных кислот [38], алифатических спиртов, дегидратации, высоких концентраций глицерина, полиэтиленгликоля, продуктов реакции Майяра [39], а также в реакции окислительного денитрозилирования [40]. Обсуждается возникновение гемихромов в эритроцитах по механизму анион-индуцируемого автоокисления охуНб [41, 42]. Обсуждается возможность образования фибрилл с тетрамерными гемоглобинами в состоянии гемихрома [43].

ДВУХФАЗНАЯ РЕАКЦИЯ НА ПРИМЕРЕ ЭРИТРОЦИТА

Был поставлен простой эксперимент: эритроциты, полученные из свежей донорской крови, подвергали воздействию хлорноватистой кислоты (HOCl/OCl^-) в возрастающих концентрациях [44]. HOCl вызывает повреждение липидов мембран и белков цитоскелета, провоцируя разрушение эритроцитов и выход Нб в раствор. По количеству Нб в растворе можно было судить о степени повреждения клеточных структур. Можно было предположить линейную зависимость количества Нб в растворе от концентрации HOCl . Однако эта зависимость имела U-образный вид (рис. 1). Это означает, что в зоне средних концентраций окислителя эритроциты были более устойчивы, чем при малых и высоких дозах. Такой характер кривой вполне объясним. U-образная кривая является графическим выражением двухфазного ответа клетки, в основу которого положены общие для живых организмов принципы взаимодействия с окружающей средой, направленные на формирование адаптивной структурно-функциональной перестройки. Любая форма клеточной активности может усиливаться или подавляться в зависимости от силы/времени приложенного стимула или дозы химического вещества.

Фазный характер ответных реакций клетки известен в цитологии как закон Арндта-Шульца: “Каждый раздражитель, действуя на одиночную клетку или группу клеток, составляющих орган, вызывает усиление или ослабление их физиологической деятельности в зависимости от меньшей или большей интенсивности раздражителя...” [цитировано по 11]. Этот ответ также называют “неспецифическая реакция клетки” [10], “неспецифический адаптационный синдром клеточной

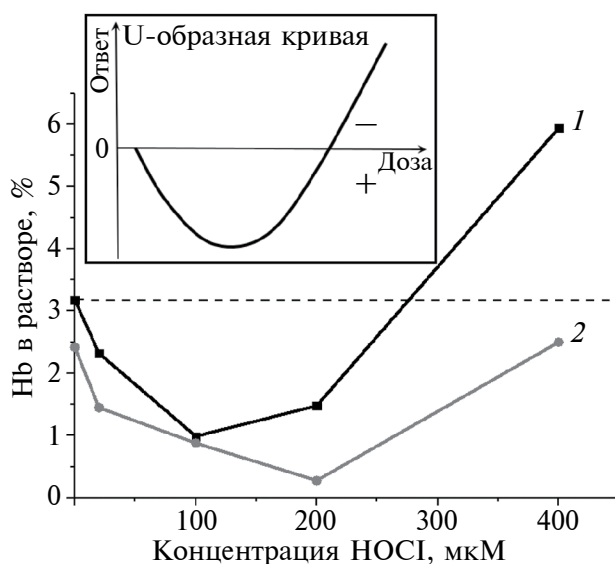


Рис. 1. Индуцированный хлорноватистой кислотой (HOCl/OCl^-) гемолиз эритроцитов: 1 – контрольный образец, 2 – эритроциты, предобработанные ДНКЖ-GS. Каждая точка – среднее из трех опытов. Горизонтальная пунктирная прямая – уровень автогемолиза в контроле. На врезке: схематичное изображение U-образной гормезисной кривой “доза–ответ”.

системы” [45], “универсальная клеточная реакция” или “протореакция” [12].

Симптомы неспецифического адаптационного синдрома наблюдаются у любых клеток при действии неблагоприятных факторов. Во второй фазе реагирования происходит увеличение светорассеяния цитоплазмы и ядра, повышение вязкости и коагуляция цитоплазмы, а также ее закисление. Для этой фазы также характерны нарушения сопряженности дыхания и фосфорилирования, усиление аэробного гликолиза, увеличение содержания свободных радикалов, снижение мембранного потенциала и синтез стрессовых белков. Переход клетки из фазы I в фазу II сопровождается либо поглощением воды (набуханием), либо дегидратацией (сморщиванием). При этом дегидратация сопряжена с увеличением устойчивости клетки (табл. 1).

Явление стимулирующего воздействия дозами, недостаточными для проявления вредных последствий, обозначается термином *гормезис*. В то же время Д.Н. Насонов активно развивал идею двухфазности реакции [10], а термин *гормезис* не использовал. В настоящее время концепцию гормезиса активно развивает Калабрезе [46, 47]. Тот факт, что эритроциты обнаруживают эффект гормезиса, свидетельствует о том, что процессы, обуславливающие двухфазную реакцию, могут быть независимы от генетической информации и связаны с превращениями цитоплазмы.

Таблица 1. Механизмы, обеспечивающие увеличение устойчивости клетки, при дегидратации

Дегидратация (сморщивание клетки)	Последствия дегидратации для клетки
Уменьшение объема клетки	Увеличение соотношения поверхность/объем способствует увеличению скорости теплообмена, в результате чего возрастает скорость снижения энергии системы, а также уменьшается площадь контакта со средой
Исключение из клетки лабильно-связанной (химически активной) воды	Снижение растворяющей способности протоплазмы, что приводит к замедлению, диффузии и ограничению скоростей ферментативных реакций, в результате чего замедляются метаболические превращения
Появление пространственной сетчатой структуры белков	Ограничение диффузии низкомолекулярных веществ, субстратов и продуктов, вследствие чего замедляется метаболизм
Изменение соотношение гидрофобных и гидрофильных групп	Может привести к инаktivации ферментов вследствие изменения их конформации
Связывание молекул белка в виде сетчатой структуры	Ограничение конформационных колебаний белковой молекулы, необходимых для совершения рабочего акта
Десорбция ионов калия	Снижение активности ферментов, активируемых ионами калия
Вход в клетку ионов натрия	Может способствовать увеличению жесткости мембраны, поскольку натриевые соли жирных кислот менее растворимы, чем калиевые

Еще в первой половине XX века был описан феномен набухания—сокращения клеток и органелл, вызываемый разнообразными воздействиями [48]. Известно, что объем эритроцитов по мере совершения рабочего цикла изменяется: в венозной крови он больше, чем в артериальной. Флуктуации объема можно рассматривать как один из показателей физиологического состояния эритроцитов. Осцилляциями объема эритроцит отвечает не только на изменение парциального давления кислорода, но и на другие факторы внеклеточные (рН, осмотическое давление, ионный состав) и внутриклеточные (старение, энергетическое истощение, окислительный стресс) [22, 23]. Изменение формы эритроцита часто можно наблюдать и при нарушениях гемостаза, тромбозах [49] и наследственных энзимопатиях [50].

Роль гемоглобина в формировании адаптации эритроцита. Известно, что функция Hb в эритроцитах не ограничивается транспортом газов. Этот белок участвует в настройке свойств эритроцита в зависимости от кислородных и редокс-условий. Гемоглобин регулирует энергетический метаболизм, ионный транспорт, деформируемость клетки, экспорт NO и АТР, а также участвует в модуляции уровня глутатиона в эритроцитах [8, 44, 51].

Эти функции Hb осуществляет благодаря способности взаимодействовать с клеточной мембраной. Гемоглобин также является молекулярным триггером часов эритроцита [52–54]. В табл. 2

представлены некоторые процессы с участием Hb и их значение для адаптации эритроцита.

Переход Hb в мембраносвязанное состояние. Гемоглобин в нативной и измененной конформации может связываться с белками мембраны и цитоскелета эритроцита [55, 56]. Переход Hb из растворимого в мембраносвязанное состояние (**MBHb** — Membrane-Bound Hemoglobin) — это один из механизмов регуляции метаболизма и настройки морфо-функциональных свойств в эритроцитах млекопитающих [51]. Взаимодействовать с мембранами Hb может в разных лигандных и окислительно-восстановительных состояниях, что позволяет ему функционировать в качестве датчика редокс-и кислородных условий [51, 56, 57].

Взаимодействовать с мембранами Hb может разными способами: электростатическое связывание deoxyHb по цитоплазматическому домену анион-транспортного белка полосы 3 (**CDB3** — Cytoplasmic Domain of Band 3 protein) [58], адсорбция к мембранным липидам с помощью гидрофобных взаимодействий [59]. Hb в составе телец Гейнца может быть ковалентно пришит к компонентам мембраны дисульфидными связями [60]. Также Hb может связываться с белками цитоскелета: спектрином и гликофорином [55, 61]. Связывание Hb с мембраной может быть обратимым и необратимым. Обратимо с высоким сродством Hb связывается с CDB3 [62]. Необратимым является ковалентное связывание Hb с компонентами

Таблица 2. Участие гемоглобина в адаптации эритроцитов

Процессы с участием гемоглобина	Значение для адаптации
Модификации, стабилизирующие R-конформацию и повышающие сродство к O ₂	Снижение вероятности образования O ₂ ⁻ в результате автоокисления
Переход Hb в форму обратимого гемихрома	Снижает реакционные свойства гемового железа, а также предотвращает высвобождение гема
Блокирование доступных SH-групп Hb. Образование аддуктов с электрофилами (аддуктов Михаэля)	Повышение окислительной стабильности белка, предотвращение потери гема
Образование нитрозильных комплексов железа, связанных с Hb	Защита βCys93 от окисления. Изменение реактивности белка: блокирование или сенсibilизация
Высвобождение нековалентно связанного GSH из Hb	Антиоксидантная защита при гипоксии
Образование лабильных агрегатов Hb	Повышение общей стабильности белка за счет снижения доступа растворителя к реакционноактивным группам
Ассоциация Hb с клеточной мембраной	Регуляция энергетического обмена, морфологии, деформируемости, ионного транспорта, продолжительности жизни эритроцита. В некоторых случаях может быть стабилизация мембраны
Пероксидазная активность metHb	Усиление антиоксидантной защиты
Увеличение гетерогенности Hb	Предотвращение кристаллизации гемоглобина

мембраны вследствие действия различных окислительных агентов (H₂O₂, *t*-BOOH, HOCl, NO₂, NO₂⁻) [63–66].

Через взаимодействие с CDB3 деохиHb в зависимости от кислородных условий изменяет энергетический обмен, морфологию, деформируемость, высвобождение регуляторов сосудистого тонуса — NO и АТФ [8, 51, 67, 68].

Сигнальную функцию выполняют также и продукты окисления и денатурации Hb: обратимые и необратимые гемихромы [51]. Накапливаясь со временем или в результате окислительного стресса, гемихромы несут информацию о редокс-условиях и продолжительности жизни эритроцита. Отложение гемихромов сопровождается повышением проницаемости мембраны для ионов калия, перекисным окислением липидов, сшиванием мембранных белков, снижением деформируемости клетки [69]. Ковалентное связывание гемихромов с мембранами приводит к кластеризации Band3 и удалению эритроцитов из кровотока [56].

Авторы работы [56] предложили концепцию, согласно которой умеренный окислительный стресс инициирует связывание Hb с мембраной. Они показали, что чем выше степень окисления гемоглобина (от Fe^{III} до Fe^V), тем в большей степени он связывается с мембраной, при этом примерно половина молекул Hb связывается за счет реакционноактивных сульфгидрильных групп. По некоторым данным, обратимое связывание Hb с

мембраной может быть адаптивной реакцией, направленной на стабилизацию липидного бислоя мембран [70, 71] и/или регуляцию его упруго-механических свойств [72].

Белок полосы 3 является центром организации мембраны, цитоскелета и регулятором ионного гомеостаза, поэтому даже незначительные изменения в связывании Hb с Band3 приводят к изменению морфофункциональных свойств эритроцитов. Известно, что посттрансляционная модификация Band3 фосфорилированием тирозинов нарушает его способность связывать Hb и белки цитоскелета [73]. Можно предположить, что и другие модификации в связывающем участке Band3, например, нитрование тирозинов и S-нитрозилирование цистеинов, приводят к нарушению кислородзависимой регуляции свойств эритроцита. Следует отметить, что благодаря реакционноактивным цистеинам CDB3 функционирует как датчик редокс-состояния клетки [74].

Увеличение доли MBHb влияет на механические свойства клетки и, в частности, на ее деформируемость. Была обнаружена отрицательная корреляция между деформируемостью эритроцита и количеством MBHb [8]. Благодаря изменению деформируемости эритроциты адаптируются к реологическим параметрам сосудистого русла. Особенно это выражено в микрососудах, в которых велико напряжение сдвига, вызванного потоком.

Это позволяет оптимизировать доставку кислорода и минимизировать сопротивление клеток потоку.

Гемоглобин как регулятор энергетического состояния эритроцитов. Регуляция многих процессов в живых системах обеспечивается совместной деятельностью разнонаправленных процессов. Так, физиологическое состояние эритроцита определяется энергетическим обменом, который представлен двумя альтернативными метаболическими путями — гликолитическим и пентозофосфатным. От распределения потока глюкозы между этими двумя путями зависят многие параметры клетки: реактивность, лабильность, резистентность, деформируемость. Гемоглобин является компонентом внутриклеточного механизма регуляции энергетического обмена. Обратимое пространственное перераспределение Hb позволяет быстро менять уровень клеточного метаболизма, что особенно важно для эритроцитов, у которых из-за отсутствия генетического аппарата невозможна регуляция через индукцию экспрессии генов. В этом случае переход Hb в мембраносвязанное состояние является механизмом формирования быстрого адаптивного ответа на изменяющиеся условия [51].

Увеличение доли deoxyHb в условиях гипоксии приводит к вытеснению ферментов гликолиза с сайта связывания с CDB3 и переходу их в растворимое активное состояние [68, 75]. Таким образом, Hb переключает метаболизм с пентозофосфатного пути на гликолитический в ответ на изменение кислородных условий в клетке [76]. С одной стороны, это способствует увеличению внутриклеточного АТФ, а, с другой, уменьшает поток глюкозы, поступающей в пентозофосфатный путь, в котором образуется NAD(P)H, являющийся кофактором антиоксидантных ферментов.

Выделяют две альтернативные стратегии биохимической адаптации: активную, сопровождающуюся увеличением синтеза АТФ и активацией энергозависимых процессов, и пассивную, сопровождающуюся уменьшением напряженности метаболических систем и усилением антиоксидантной защиты. В эритроците выбор стратегии биохимической адаптации сводится к проблеме перераспределения ресурсов между альтернативными метаболическими путями — гликолизом и пентозофосфатным путем. Гликолиз поставляет клетке АТФ, необходимую для поддержания ионного гомеостаза и работы трансмембранных насосов, а пентозофосфатный путь обеспечивает восстановительными эквивалентами ферменты антиоксидантной защиты.

Параметры энергетического обмена определяют метаболическую стратегию клетки, а в случае одноклеточных организмов — и жизненную стратегию. Таким образом, переход Hb из растворимого в мембраносвязанное состояние переключает метаболизм из низко- в высокоэнергетическое и,

таким образом, повышает активную компоненту адаптационной стратегии.

Существует корреляция между энергетическим статусом и объемом клетки. Известно, что изменение объема является оперативным механизмом реагирования клетки на стресс. Эта зависимость не линейная: снижение АТФ до определенного уровня приводит к повышению объема, ниже определенного уровня — к сокращению ниже первоначальной величины [77], что сопровождается изменением устойчивости клетки. Объем является одним из интегральных показателей функционального состояния эритроцита, который рассматривают как функцию состава наружной среды [78].

Два реакционных центра в гемоглобине: гем и β Cys93. Гемоглобин своей внешней поверхностью активно взаимодействует с окружающей средой. Характер этого взаимодействия меняется в зависимости от состояния молекулы. Для Hb характерна высокая структурная и функциональная подвижность, благодаря которой он может существовать в различных равновесных формах. Помимо переходов oxyHb-deoxyHb (R-T-переход) и растворимый Hb-MBHb, в клетке существует равновесие между мономерной, димерной и тетрамерной формами Hb. Нельзя исключить, что внутри эритроцита тетрамеры Hb расположены не хаотично, а организованы в надмолекулярный комплекс, подобный жидкокристаллическому состоянию [79], который может кооперативно реагировать на изменения состава среды и давать целостную реакцию в масштабе клетки.

За равновесие между различными формами Hb отвечают два взаимосвязанных “реакционных центра”: гемовая группа и цистеин бета-субъединиц (β Cys93). Этот доступный растворителю остаток является мишенью для связывания тиоловых реагентов, которые могут изменять сродство к O_2 , кооперативность и чувствительность Hb к изменениям pH [80]. Воздействуя на гем и β Cys93, можно модулировать конформационный R-T-переход, а также смещать равновесие молекулы в сторону увеличения гидрофильности или гидрофобности.

Тетрамерная молекула Hb содержит шесть остатков цистеина Cys93, Cys112 в β -субъединицах и Cys104 в α -субъединицах, из которых только β Cys93 является доступным для действия растворителя. Этот остаток консервативен у всех гемоглобинов позвоночных. Реакционная активность β Cys93 модулируется кислородзависимыми изменениями конформации Hb. У R-конформеров активность этого тиола по отношению к нитрозилирующим и алкилирующим агентам выше [18, 19, 81].

Обсуждается участие Hb в регуляции кислородзависимого метаболизма NO в клетках [82, 83]. Эта концепция основывается на трех свойствах Hb: 1) нитритредуктазная активность гемовой группы в дезоксигенированной форме [84], 2) способность

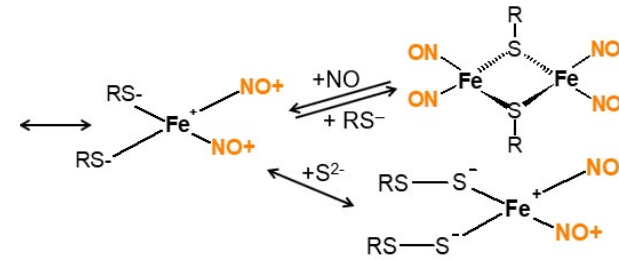
SH-групп βCys93 к обратимому нитрозилированию [85], 3) влияние R-Т-конформационного перехода на реакционную активность SH-групп βCys93 [19]. Однако способностью участвовать в транспорте NO физиологические свойства этого цистеина не исчерпываются. Поскольку этот остаток присутствует в концентрациях на несколько порядков превышающих ферментативные компоненты антиоксидантной системы эритроцитов, то он может участвовать в удалении активных форм кислорода, что было экспериментально подтверждено в работах [86, 87]. Кроме этого, βCys93 может влиять на реакции переноса электронов и снижать продукцию O₂⁻ гемовым железом [88, 89]. Нет сомнений, что тиоловые группы βCys93 являются важным звеном редокс-сигналикации эритроцита, которая осуществляется как через регуляцию количества реакционноактивных соединений [87], так и через взаимодействие Hb с компонентами мембраны [20, 90]. В то же время окисленный βCys93 предложено использовать как биомаркер окислительного стресса [80].

Известно, что поверхностные остатки цистеина (βCys93) Hb участвуют в формировании комплексов с металлами [28, 91–93]. Одним из наиболее изученных таких комплексов являются динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ) [94–97]. Можно

полагать, что включение тиолов в ДНКЖ может быть одним из способов стабилизации белка и снижения его реакционной способности. В частности, образование ДНКЖ может быть одним из механизмов модулирования реакционной активности белковых тиолов [81]. Образование координационного комплекса с железом блокирует цистеиновые остатки в нормальных условиях и сенсibiliзирует их в условиях электрофильного/окислительного стресса. Это происходит потому, что тиолы в составе комплекса находятся в активной ионизированной форме (в виде тиолат-аниона) и не нуждаются в предварительном депротонировании. ДНКЖ также могут служить “кросс-линкинг”-агентом, образуя в этом случае биядерные комплексы (табл. 3). Например, такие комплексы образуются при участии Fe-S-кластеров редокс-чувствительных белков-датчиков OxyR в бактериях [98]. Возможно, что образование лабильных межбелковых связей посредством формирования биядерных ДНКЖ оказывает стабилизирующее действие на белки в условиях окислительного стресса. Поэтому их можно рассматривать как “тиоловый переключатель”, чувствительный к изменению окислительно-восстановительной среды клетки [99].

Гемоглобин – внутриклеточный “таймер”. Эритроциты, как и многие клетки организма, имеют

Таблица 3. Модификация тиоловых групп под действием активных метаболитов оксида азота

Метаболиты оксида азота	Образуемые продукты
Нитроксил	
RS ⁻ + HNO → RSNHOH → RS(O)NH ₂	Сульфинамиды и дисульфиды, в том числе образованные с участием глутатиона и H ₂ S
R'SH + RSNHOH → R'SSR + NH ₂ OH	
Пероксинитрит и высшие окислы азота	
RS ⁻ + NO ₂ [•] → RS [•] + NO ₂ ⁻ RS [•] + NO → RS-NO	S-нитрозотиолы
RS ⁻ + ONOOH → RS-NO + HOO ⁻	
RSH + N ₂ O ₃ → RS-NO + NO ₂ ⁻ + H ⁺	
RSH + N ₂ O ₄ → RS-NO + NO ₃ ⁻ + H ⁺	
Ионы железа и оксида азота	
2RS ⁻ + 3NO + Fe ²⁺ ↔ 	Моноядерные, биядерные и персульфидные ДНКЖ

автономные часы, регулирующие продолжительность жизни клетки — часы старения, и циркадные часы, регулирующие суточные колебания метаболических параметров [52–54]. И Нб играет важную роль в этом “часовом механизме” эритроцитов.

На протяжении жизни эритроцита постепенно накапливаются окисленные формы Нб — гемихромы (рис. 2), которые связываются с определенным участком Band3, тем самым вызывая его кластеризацию и появление антигенов старения [56]. Гемихромы образуются в результате постоянно проходящего процесса автоокисления oхуНб . Однако в этой последовательности событий есть несколько нерешенных проблем. Непонятно, почему гемихромы образуются и в нормальном эритроците, где есть мощная антиоксидантная защита и ферментативная система, восстанавливающая окисленный Нб (metHb). Не является ли образование гемихромов пусковым механизмом часов старения эритроцитов, ведь автоокисление Нб — это спонтанный процесс, а старение клетки считается запрограммированным? И не может ли оказаться, что случайные неферментативные реакции являются частью биологической программы?

Поскольку на протяжении всего периода жизни эритроцит подвергается действию активных форм кислорода (АФК), постоянно генерируемых гемоглобином, то в данном случае время является эквивалентом дозы или интенсивности окислительного стресса. Окислительные изменения Нб (накопление стабильных гемихромов) отражают не только редокс-условия, но и продолжительность

жизни эритроцита (рис. 2). Иными словами, Нб является внутриклеточным “таймером” [100]. Когда нарушена антиоксидантная защита и образуется больше АФК, клеточные часы идут быстрее, происходит преждевременное старение. Такая ситуация возникает у больных с хронической почечной недостаточностью, наследственным сфероцитозом, псориазом, а также при хранении эритроцитарной массы.

Обнаружение в 2011 г. циркадных ритмов в изолированных эритроцитах человека стало еще одним доводом в пользу существования независимого от транскрипции механизма циркадных часов в клетках млекопитающих, основанных на посттрансляционных процессах в цитоплазме [52]. В настоящее время считается, что основу таких часов составляют окислительно-восстановительные циклы пероксиредоксинов (PrxII). В эритроцитах PrxII является основным антиоксидантным ферментом, эффективно восстанавливающим низкие концентрации пероксида водорода. В процессе каталитического цикла этих белков образуется гиперокисленная форма — $\text{PrxII-SO}_2\text{H}$, количество которой колеблется. Около 1% от общего количества PrxII ежедневно инактивируется, что приводит к постепенному истощению пула PrxII в течение срока жизни эритроцитов [53]. Также с циркадной периодичностью изменяются количества metHb , АТФ, НАД(Ф), НАДФН, K^+ , тетрамерной и димерной форм Нб.

Гемоглобин может претендовать на роль ключевого игрока в генерации циркадных ритмов,

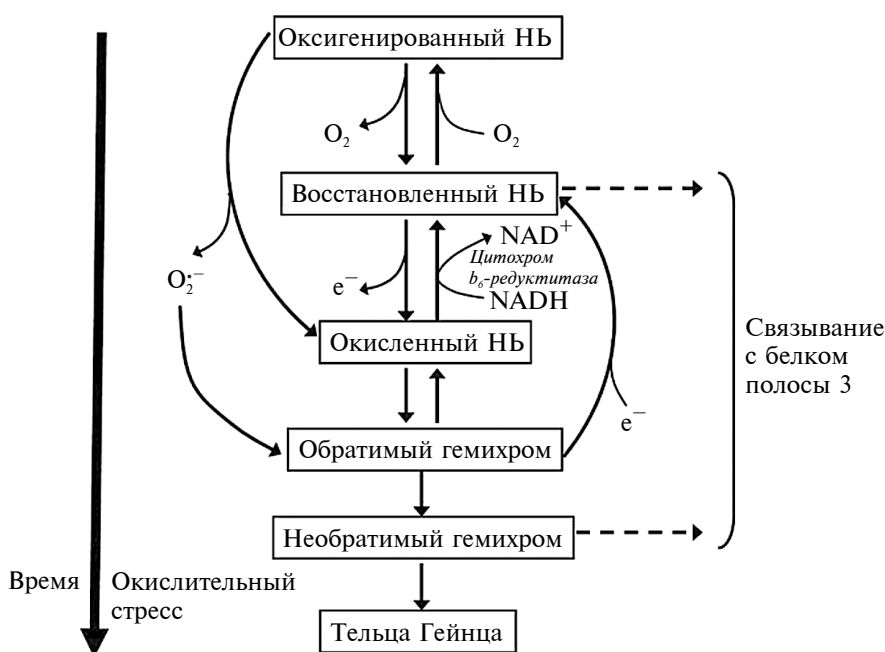


Рис. 2. Превращения гемоглобина в эритроците в зависимости от уровня окислительного стресса или времени функционирования.

поскольку в эритроцитах он является основным источником H_2O_2 . В результате автоокисления $oxyHb$ образуется супероксидный анион-радикал, который ферментативно преобразуется в H_2O_2 . Однако причины суточных колебаний H_2O_2 и, следовательно, $PrxII-SO_2H$ неизвестны. Существует гипотеза, что внутриклеточная концентрация H_2O_2 зависит от равновесия димерной и тетрамерной форм Hb , обладающих разной способностью к автоокислению. Скорость автоокисления димерной формы Hb в 13 раз превышает скорость окисления тетрамерной формы [52].

Можно предположить, что в механизме циркадного хронометрирования задействован комплекс Hb -Band 3. Поскольку гемихромы конкурируют с $PrxII$ за центры связывания с CDB3, то в условиях окислительного стресса снижается содержание связанной формы $PrxII$ [101, 102].

ОКСИД АЗОТА И МЕТИЛГЛИОКСАЛЬ КАК ФАКТОРЫ АДАПТАЦИИ ЭРИТРОЦИТА

Существующее внутри клетки равновесие между разными формами Hb определяет физико-химические параметры цитоплазмы и энергетический обмен. С помощью веществ, оказывающих влияние на это равновесие, можно настраивать клетку к изменениям физиологического состояния. В качестве таких модуляторов физиологических состояний эритроцита могут выступать вещества с выраженными электроноакцепторными свойствами, которые способны обратимо взаимодействовать с SH-группами [103, 104]. Наибольший интерес представляют такие физиологические метаболиты, как оксид азота (NO) и метилглиоксаль (MG). Эти вещества являются естественными метаболитами, они образуются как в самих эритроцитах, так и присутствуют в плазме. В зависимости от концентрации они могут оказывать как токсическое, так и сигнально-регуляторное действие [104–106]. Сигнальное действие NO и его метаболитов изучено в гораздо большей степени, чем MG. Изучение MG в контексте формирования физиологического состояния клетки представляет интерес в связи с увеличением концентрации этого метаболита в эритроцитах при диабетической гипергликемии [107, 108].

Оксид азота в клетке существует в связанной форме, чаще всего в виде нитрозотиолов (RS-NO) и ДНКЖ. ДНКЖ включают три компонента: NO-группу, двухвалентное железо и лиганды [97], в качестве которых могут выступать различные физиологические вещества: глутатион, цистеин, липоевая кислота [109], карнозин [110], эрготионеин, а также продукты модификации аминокислот метилглиоксалем [95, 111, 112]. В эритроцитах наиболее вероятно образование низкомолекулярных ДНКЖ с глутатионовыми и эрготионеиновыми лигандами, поскольку их содержание в клетке

достаточно велико. Если ДНКЖ с глутатионом (ДНКЖ-GS) изучены достаточно хорошо, то комплексы с эрготионеиновыми и карнозиновыми лигандами изучены намного хуже. Имеются данные, свидетельствующие о цитопротекторном и антиоксидантном действии карнозина и эрготионеина [113, 114], которое может быть обусловлено способностью этих соединений связывать ионы двухвалентных металлов.

ДНКЖ являются универсальными регуляторами различных биохимических и физиологических процессов [97]. Они поддерживают прооксидантно-антиоксидантное равновесие в клетке благодаря антиоксидантному, антирадикальному и хелатному действиям, показанных в работах [94, 95, 109, 115–117].

Глутатионовые ДНКЖ оказывают стабилизирующее действие на эритроциты. ДНКЖ-GS повышают эластичность эритроцитов и тем самым улучшают микроциркуляцию [118]. Известно также, что NO участвует в регуляции выживаемости эритроцитов [119]. ДНКЖ также участвуют в регуляции выживаемости эритроцитов, поскольку являются донором NO [119].

В модельных экспериментах было исследовано влияние ДНКЖ-GS на устойчивость суспензии эритроцитов к индуцированному хлорноватистой кислотой гемолизу [115]. Предобработка эритроцитов комплексами приводила к расширению зоны дозозависимого ответа клеток (рис. 1, кривая 2). Во всем диапазоне используемых концентраций окислителя в предобработанных комплексами эритроцитах уровень гемолиза был ниже, чем в контрольном образце. Можно предположить, что стабилизирующее действие ДНКЖ-GS связано с переводом клеток на более низкий уровень реактивности. Клетки становятся менее чувствительны, но более устойчивы к повреждению.

Повышение осмотической резистентности эритроцитов было также показано при обработке их метилглиоксалем [120]. В связи с этим можно предположить, что существует определенный концентрационный диапазон NO и MG, в пределах которого устойчивость эритроцитов возрастает.

Наблюдаемое цитопротекторное действие ДНКЖ может быть связано как с антиоксидантным и антирадикальным действием [94, 95, 109, 115–117], так и с модификацией тиоловых групп мембранных рецепторов и белков цитоскелета. С помощью спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) было показано, что ДНКЖ-GS эффективно перехватывают $HOCl$. Однако, принимая во внимание используемые в эксперименте низкие микромолярные концентрации ДНКЖ-GS, можно предположить, что наиболее вероятным является сигнально-регуляторное действие этих комплексов, которое может реализоваться в том числе и с участием Hb .

Тот факт, что сама по себе хлорноватистая кислота в одном интервале концентраций стабилизирует эритроциты, а в другом — индуцирует гемолиз (рис. 1, кривая 1), может быть объяснен двухфазным характером реакции. Следуя этой логике, был поставлен эксперимент, в котором проводили предынкубацию эритроцитов с HOCl , взятой в концентрации, вызывающей максимальное стабилизирующее действие на клетки (200 мкМ) в течение 20 мин. После этого клетки обрабатывали новой порцией 200 мкМ HOCl . Хлорноватистая кислота в концентрации 400 мкМ вызывала гемолиз (рис. 3, столбец 4), однако та же доза, внесенная дробно, оказывала противоположное действие (рис. 3, столбец 3). Феномен предадаптации живых систем низкими сублетальными дозами хорошо известен и применяется в медицинской практике (закон Арндта—Шульца, см. выше).

Хлорноватистая кислота также способна в определенных дозах оказывать цитопротекторное действие. Однако в отличие от ДНКЖ-GS разница между биологически активной дозой и повреждающей у нее намного меньше. Если ДНКЖ-GS в концентрации 400 мкМ оказывает положительный эффект на клетки, то HOCl в этой концентрации индуцирует гемолиз. Таким образом, можно считать ДНКЖ-GS эндогенным биорегулятором естественной резистентности, оказывающим модулирующее действие на уровне цитоплазмы и белок-липидных взаимодействий. Полученные результаты согласуются с ранее установленными фактами положительного влияния ДНКЖ на метаболизм эритроцитов [118].

Фазные изменения состояния эритроцитов в зависимости от дозы воздействия, к сожалению, не

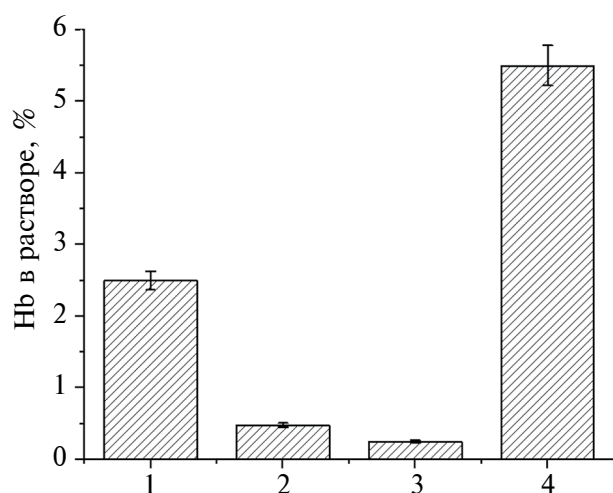


Рис. 3. Ингибирование окислительного гемолиза эритроцитов: эффект предадаптации к окислителю: 1 — контроль, 2 — 200 мкМ HOCl , 3 — 200 мкМ HOCl (20 мин инкубации) + 200 мкМ HOCl , 4 — 400 мкМ HOCl .

всегда учитываются исследователями, работающими над повышением стабильности эритроцитов, хотя они часто сталкиваются с наличием зон стабилизации и дестабилизации.

Предобработка низкими дозами реакционно-активных соединений может изменить характеристики зависимости “доза—ответ”, например, увеличить зону стабилизации. Для эритроцитов показано стабилизирующее действие низких доз оксида азота [118], озона [121], иона уранила [122], мелатонина [123]. Эти вещества наряду с ДНКЖ-GS можно считать адаптогенами.

Особенностью ДНКЖ как цитопротекторов (адаптогенов) является низкий порог эффективной дозы (2 мкМ) в отличие, например, от α -токоферола и аскорбиновой кислоты, оказывающих 100% ингибирование окислительного гемолиза только начиная с концентрации 100 мкМ [124]. Поэтому изучение защитного влияния ДНКЖ на эритроциты важно не только для понимания механизмов, лежащих в основе регуляции жизнедеятельности клетки, но и имеет практическую значимость для разработки лекарственных препаратов.

Терапевтический эффект низких доз известен еще со времен Парацельса. В настоящее время разнонаправленное действие различных факторов на клетку объясняют с позиций концепции гормезиса [45], которая соответствует универсальному двухфазному ответу клетки на возрастающий стимул [10] (см. выше).

Еще одним эндогенным веществом, влияющим на метаболизм клетки, является активное дикарбонильное соединение — метилглиоксаль [105]. Метилглиоксаль образуется при деградации конъюгатов глюкозы с белком и перекисного окисления липидов. В статьях [107, 108, 125] описаны пути образования этого метаболита в эритроцитах.

Если роль NO и O_2^- в клеточной редокс-сигнализации изучена хорошо, то о механизмах регуляторного действия MG известно намного меньше, хотя еще в середине XX века Сент-Дьёрдьи указал на наличие регуляторных свойств у кетонов и альдегидов. Особое значение в клеточной сигнализации он придавал метилглиоксалу [14]. MG содержит одновременно альдегидную и кетонную группы, что сильно увеличивает его электроноакцепторную способность. Он легко образует нестабильные аддукты (тиогемиацетали) с SH-группами глутатиона и других биомолекул [126]. Связывая реакционноактивные тиолы, MG уменьшает пул SH-групп, способных вступать в донорно-акцепторные взаимодействия, то есть оказывает десенсибилизирующее действие на клетку. Поэтому MG, также как и NO , можно рассматривать в качестве вещества-биорегулятора.

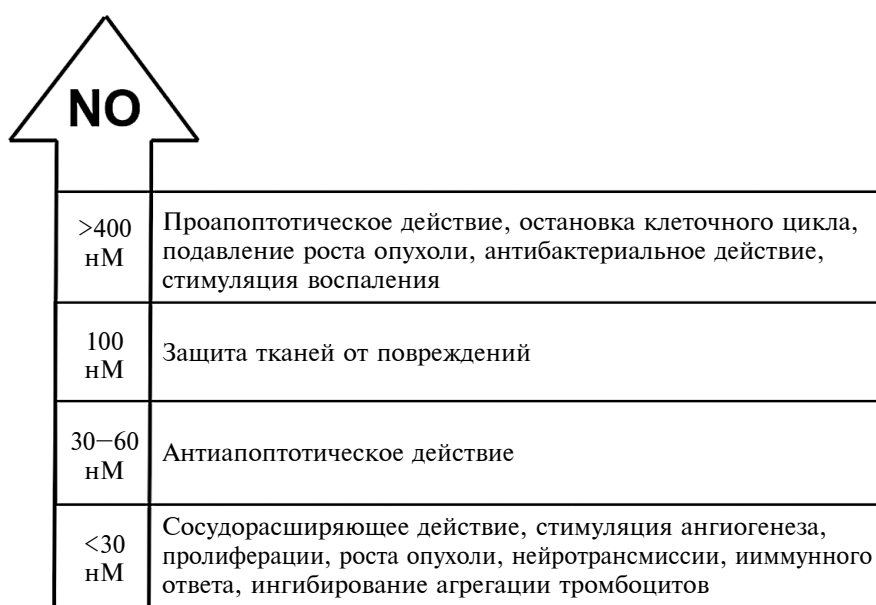
В эритроцитах больных диабетом обнаружено снижение уровня GSH за счет его связывания

с MG [127]. Такие эритроциты предрасположены к апоптозу [128]. Способность MG останавливать пролиферацию и индуцировать апоптоз показана для многих эукариотических и прокариотических клеток [105]. MG имеет шесть сайтов связывания с молекулой Hb: α Arg92, β Lys66, β Arg30 и β Lys144 образуют карбоксиэтил, α Arg92 и β Arg30 гидроимидазолон [129].

В функционировании MG и NO можно выявить общие черты. Оба вещества являются физиологическими метаболитами, образующимися во всех про- и эукариотических клетках. Для них доказано взаимодействие с сигнальными путями, регулирующими различные физиологические функции клетки: пролиферацию, апоптоз, выработку факторов роста и др. MG и NO оказывают разнонаправленное действие на клетки, которое определяется их концентрацией (рис. 4) и физиологическим состоянием клетки. На молекулярном уровне сигнально-регуляторное действие этих веществ во многом реализуется через изменения в цистеиновом протеоме [92, 104]. Следует отметить, что в эритроците в норме концентрации этих веществ поддерживаются в определенном диапазоне, в то время как концентрационные флуктуации могут иметь сигнально-регуляторное значение.

Биологическое действие оксида азота основано на взаимодействии с гемовым железом и тиоловыми группами цистеина. MG, и NO повышают сродство Hb к кислороду, то есть могут выступать в роли “аллостерических эффекторов” [130, 131]. Благодаря этому эффекту они смещают равновесие пула молекул Hb в сторону R-конформации.

Для эритроцитов гипоксия выступает как стресс-фактор, вызывающий в клетках адаптивное метаболическое перепрограммирование [13, 132]. В условиях гипоксии увеличивается образование $O_2^{\cdot-}$ в реакции автоокисления Hb в ходе активной дезоксигенации (рис. 1) [133, 134] и NO в нитриредуктазной реакции, катализируемой deoxyHb [84, 135]. Внутриклеточная концентрация этих соединений тем выше, чем глубже гипоксия и выше доля deoxyHb. Эти реакционноактивные соединения могут вступать в окислительно-восстановительные взаимоотношения друг с другом, а также с SH-группами низко- и высокомолекулярных тиолов, что приводит к сдвигам в тиол-дисульфидном равновесии. Например, в реакции NO и $O_2^{\cdot-}$ образуется пероксинитрит ($ONOO^-$), который окислительно модифицирует белки и липиды [136]. Как правило, активные формы кислорода и активные формы азота являются побочными продуктами аэробного метаболизма. Эритроциты являются исключением, поскольку именно в условиях гипоксии возрастает продукция $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $ONOO^-$ и др. Эти соединения участвуют в окислительно-восстановительной передаче сигналов, необходимой для нормальной клеточной физиологии за счет регуляции функции белков, имеющих редокс-чувствительные тиолы [91, 137–139]. В эритроците высокие уровни NO приводят к изменению состояния тиоловых групп Hb [137–139] и белков цитоскелета [140]. Сигнально-регуляторное действие NO на эритроциты хорошо известно. Так, показано, что NO сохраняет деформируемость эритроцитов в условиях окислительного стресса [141]. В табл. 3 представлены основные реакции тиоловых групп под действием активных метаболитов NO.



>400 нМ	Проапоптотическое действие, остановка клеточного цикла, подавление роста опухоли, антибактериальное действие, стимуляция воспаления
100 нМ	Защита тканей от повреждений
30–60 нМ	Антиапоптотическое действие
<30 нМ	Сосудорасширяющее действие, стимуляция ангиогенеза, пролиферации, роста опухоли, нейротрансмиссии, иммунного ответа, ингибирование агрегации тромбоцитов

Рис. 4. Зависимость биологического эффекта оксида азота от его концентрации. Рисунок составлен по данным [106].

Как было показано, в том числе и в наших экспериментах, в системе, моделирующей карбонильный и нитрозативный стресс, происходит образование радикальных интермедиатов (анион-радикал MG , O_2^- и ONOO^-) [142], а также окисленных и активированных форм тиолов [143]. Активированные формы тиолов (тиолят-анион и сульфеновая кислота) являются нестабильными промежуточными продуктами окислительной модификации тиоловых групп [92, 144, 145]. Эти интермедиаты более реакционноактивны по отношению к электрофилам [99]. Сульфеновые кислоты действуют как мягкий электрофил и слабый нуклеофил [92]. Можно предположить, что появление активированных тиолов повышает чувствительность клетки, в то время как окисление и блокада тиолов способствуют снижению чувствительности (возбудимости). Таким образом, реакционноактивные соединения посредством влияния на цистеиновый протеом модулируют физиологическое состояние клетки [91, 137–139].

Реактивность эритроцитов. Эритроцит в своих морфофункциональных изменениях отражает функциональное состояние системы крови. Физиологическое состояние эритроцитов связано с определенным состоянием организма в условиях нормы и патологии. Изменение морфо-функциональных свойств эритроцитов происходит под влиянием физической нагрузки, гипоксии, эндотоксинов, фармакологических химиопрепаратов [21, 23].

В настоящее время предлагают рассматривать реактивность мембран эритроцита в качестве индикатора стрессового состояния или адаптационной реакции организма на клеточно-молекулярном уровне. Выявлено четыре типа адаптивных вариантов реактивности клеточных мембран эритроцитов [1, 2]. Существуют разные способы оценки реактивности эритроцитов: определение устойчивости их суспензии к окислительному или осмотическому гемолизу, оценка чувствительности мембран к экзогенным биорегуляторам, изучение липидного состава мембран, определение электрофоретической подвижности эритроцитов. В качестве еще одного индикатора реактивности эритроцитов мы предлагаем использовать уровень МВНб [51].

Конфликт адаптационных стратегий. Любое длительное фармакологическое воздействие изменяет функциональное состояние клеток ткани. Измененные клетки обнаруживают извращенную реакцию на воздействие биорегуляторов. Сдвиги функциональных состояний клеток, изменение их чувствительности и реактивности — это следствие действия эволюционно выработанных механизмов клеточной адаптации, призванных предохранять и поддерживать специфическую функцию клеток. Однако адаптация клетки не всегда происходит в интересах целостного организма. Зачастую адаптация на клеточном уровне сопровождается низкоэнергетическим сдвигом, который влечет за

собой нарушение структуры мембраны, цитоскелета, ионтранспортирующих механизмов, снижение мембранного потенциала. Весь этот комплекс изменений направлен на уменьшение чувствительности и повышение резистентности клетки.

В случае пребывания клетки в состоянии глубокого метаболического угнетения, возникает необходимость выработки устойчивых системных компенсаторных механизмов, которые вернули бы всю систему в состояние равновесия. Платой за это новое состояние равновесия могут быть изменения в работе гомеостатирующих регуляторных контуров высшего уровня. В результате конфликта адаптационных стратегий разных уровней организации, клеточного и организменного, могут возникнуть патологические состояния, получившие название “болезни компенсации”. К таким болезням относят широко распространенные хронические заболевания сердечно-сосудистой системы как атеросклероз и артериальную гипертензию. Оба заболевания имеют общую патогенетическую основу — изменение структуры и функции клеточных мембран [146].

Согласно мембранной теории развития артериальной гипертензии и инсулинорезистентности, нарушение трансмембранного транспорта моновалентных катионов изменяет реактивность клеток, составляющих основу сосудистой стенки [146]. Такие клетки не способны адекватно отвечать на любые раздражители извне и изнутри, они отвечают либо повышенным возбуждением, либо глубоким торможением. Нарушение трансмембранного ионного транспорта может быть генетически детерминированным процессом, но также может возникать вследствие реализации механизма клеточной адаптации.

В качестве диагностического маркера первичной артериальной гипертензии используют скорость $\text{Na}^+ - \text{Li}^+$ -противотранспорта (НЛП) в мембране эритроцитов. Нарушение НЛП в эритроцитах может происходить в случае включения пассивной программы адаптации, например, при изменении состава плазмы. Это предположение согласуется с теми фактами, что мембранные нарушения на клеточном уровне сопровождаются увеличением ионов кальция и натрия в клетке, снижением продукции АТФ, увеличением микровязкости, сокращением объема, изменением нормы-реакции клетки. Перечисленные отклонения присущи обратимо трансформированным формам эритроцитов. В контексте этих соображений изучение адаптационных изменений эритроцитов поможет более глубокому пониманию механизмов, лежащих в основе развития атеросклероза и артериальной гипертензии.

* * *

Подводя итоги, необходимо обозначить следующие перспективы изучения роли Нб в формировании метаболического состояния эритроцитов и

влияния на этот процесс доноров NO и метилгли-оксала. В первую очередь возникает необходимость в разработке тест-системы для определения уровня реактивности эритроцитов. С помощью такой тест-системы можно будет выделять адаптивные варианты (фенотипы) эритроцитов, образующиеся в различных условиях. Для этого необходимо установить взаимосвязь между уровнем МВН и уровнем реактивности эритроцитов в модельных экспериментах и в пробах крови, взятых у здоровых и больных людей. Также необходимо изучить влияние различных эндогенных электрофильных соединений (в том числе MG и доноров NO) на реактивность и некоторые показатели метаболического состояния эритроцитов.

Можно надеяться, что изучение этих аспектов послужит основой для разработки концепции, объясняющей адаптогенное действие низких уровней реакционноактивных электрофильных соединений на клетку. Кроме этого, вызывает интерес участие таких метаболитов в реализации программы адаптации и реабилитации эритроцитов, консервированных или циркулирующих в условиях различных патологий. Представленные в статье данные и сделанные на их основе обобщения помогут лучше понять роль НВ в устройстве биологических часов эритроцита.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ. Проведение работы не поддерживалось внешними источниками финансирования и грантами.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ. В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kamada T., Tokuda S., Aozaki S., Otsuji S. // J. Appl. Physiol. 1993. V. 74. P. 354–358.
2. Parthasarathi K., Lipowsky H.H. // Am. J. Physiol. 1999. V. 277. P. H2145–H2157.
3. Petibois C., Deleris G. // Arch. Med. Res. 2005. V. 36. P. 524–531.
4. Mohandas N., Gallagher P.G. // Blood. 2008. V. 112. P. 3939–3948.
5. Karaman Yu.K., Novgorodtseva T.P., Zhukova N.V. // International Journal of Applied and Fundamental Research. 2009. V. 2. P. 15–16.
6. Зайцева О.И., Петрова И.А., Эверт Л.С., Колодяжная Т.А., Деревцова С.Н. // Вестник новых медицинских технологий. 2013. Т. 20. № 2. С. 69–72.
7. Martusevich A.A., Deryugina A.V., Martusevich A.K. // Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 2016. V. 12. № 3. P. 5–11.
8. Barshtein G., Livshits L., Gural A., Arbell D., Barkan R., Pajic-Lijakovic I., Yedgar S. // Int. J. Mol. Sci. 2024. V. 25. № 11. e5814. <https://doi.org/10.3390/ijms25115814>
9. Sae-Lee W., McCafferty C.L., Verbeke E.J., Havugimana P.C., Papoulas O., McWhite C.D., et al. // Cell. Rep. 2022. V. 40. № 3. e111103. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111103>
10. Насонов Д.Н. Местная реакция протоплазмы и распространяющееся возбуждение. М.: Изд-во Академии наук СССР, 1962. 426 с.
11. Александров В.Я. Реактивность клеток и белки. Л.: Наука, 1985. 318 с.
12. Matveev V.V. // Cell. Mol. Biol. 2005. V. 51. P. 715–723.
13. Jin X., Zhang Y., Wang D., Zhang X., Li Y., Wang D., Liang Y., Wang J., Zheng L., Song H., Zhu X., Liang J., Ma J., Gao J., Tong J., Shi L. // iScience. 2024. V. 27. № 4. e109315. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.109315>
14. Сент-Дьёрдьи А. Биоэлектроника. Исследование в области клеточной регуляции, защитных механизмов и рака. М.: Мир, 1971. 80 с. (Szent-Györgyi A. Bioelectronics: A Study in Cellular Regulations, Defense, and Cancer. New York: Academic Press, 1968. 89 p.)
15. Lang E., Lang F. // Bio Med. Res. Int. 2015. V. 2015. e513518. <https://doi.org/10.1155/2015/513518>
16. Mihailescu M.-R., Russu I.M. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. V. 98. № 7. P. 3773–3777.
17. Benesch R.E., Benesch R. // Biochemistry. 1962. V. 1. № 5. P. 735–738.
18. Morell S.A., Hoffman P., Ayers V.E., Taketa F. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1962. V. 48. P. 1057–1061.
19. Aboluwoye C.O., Adebayo E.A., Egunlusi D., Tijani K., Bolaji S., Olayinka S. // Bull. Chem. Soc. Ethiop. 1998. V. 12. P. 17–25.
20. Chu H., Breite A., Ciruolo P., Franco R.S., Low P.S. // Blood. 2008. V. 111. № 2. P. 932–938.
21. Agroyannis B., Dalamangas A., Tzanatos H., Fourtounas C., Kopelias I., Koutsikos D.J. // Appl. Physiol. 1985. V. 80. № 2. P. 711–712.
22. Reinhart W.H., Schulzki T. // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2011. V. 49. № 1–4. P. 451–461.
23. Chowdhury A., Dasgupta R., Majumder S.K. // J. Biomed. Opt. 2017. V. 22. № 10. P. 1–9.
24. Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев Б.Ю., Гудкова О.Е. и др. // Общая реаниматология. 2012. Т. 8. С. 5–12.
25. Mustafa I., Marwani A.A., Nasr K.M., Kano N.A., Hadwan T. // BioMed. Res. Int. 2016. V. 2016. e4529434. <https://doi.org/10.1155/2016/4529434>
26. Кидалов В.Н., Сясин И.И., Хадарцев А.А. // Вестник новых медицинских технологий. 2005. Т. 7. С. 6–10.
27. Chowdhury A., Dasgupta R., Majumder S.K. // J. Biomed. Opt. 2017. V. 22. № 10. P. 1–9.
28. Kosmachevskaya O.V., Novikova N.N., Yakunin S.N., Topunov A.F. // Biochemistry (Mosc.). 2024. V. 89. Suppl. 1. P. S180–S204.
29. Bychkova V.E., Dolgikh D.A., Balobanov V.A., Finkelstein A.V. // Molecules. 2022. V. 27. № 14. e4361. <https://doi.org/10.3390/molecules27144361>

30. Gupta M.N., Uversky V.N. // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 24. № 3. e2424.
<https://doi.org/10.3390/ijms24032424>
31. Iram A., Alam T., Khan J.M., Khan T.A., Khan R.H., Naeem A. // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 8. e72075.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.007207>
32. Dave S., Mahajan S., Chandra V., Gupta P. // *Int. J. Biol. Macromol.* 2011. V. 49. № 4. P. 536–542.
33. Iram A., Naeem A. // *Arch. Biochem. Biophys.* 2013. V. 533. P. 69–78.
34. Samuel P.P., White M.A., Ou W.C., Case D.A., Phillips Jr. G.N., Olson J.S. // *Biophys. J.* 2020. V. 118. № 6. P. 1381–1400.
35. Jennings P.A., Wright P.E. // *Science*. 1993. V. 262. P. 892–896.
36. Rifkind J.M., Abugo O., Levy A., Heim J. // *Methods Enzymol.* 1994. V. 231. P. 449–480.
37. Culbertson D.S., Olson J.S. // In: *Protein Folding and Metal Ions: Mechanisms, Biology, Disease.* / Ed. P. Wittung-Stafshede, C.M. Gomes. Abingdon-on-Thames, UK: Taylor and Francis, 2010. P. 97–122.
38. Андреюк Г.М., Кусель М.А. // *Биоорганическая химия*. 1997. Т. 23. № 4. С. 290–293.
39. Ioannou A., Varotsis C. // *PLoS One*. 2017. V. 12. e0188095.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188095>
40. Arnold E.V., Bohle D.S., Jordan P.A. // *Biochemistry*. 1999. V. 38. P. 4750–4756.
41. Shikama K. // *Chem. Rev.* 1998. V. 98. P. 1357–1373.
42. Sugawara Y., Kadono E., Suzuki A., Yukuta Y., Shibasaki Y., Nishimura N. et al. // *Acta Physiol. Scand.* 2003. V. 179. P. 49–59.
43. Vergara A., Vitagliano L., Verde C., di Prisco G., Mazzarella L. // *Methods Enzymol.* 2008. V. 436. P. 425–444.
44. Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Bindar V.N., Topunov A.F. // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2019. V. 55. № 2. P. 83–98.
45. Браун А.Д., Моженко Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы. Л.: Наука, 1987. 232 с.
46. Calabrese V., Cornelius C., Dinkova-Kostova A.T., Calabrese E.J., Mattson M.P. // *Antioxid. Redox Signal.* 2010. V. 13. P. 1763–1811.
47. Agathokleous E., Liu C.-J., Calabrese E.J. // *Soil & Environmental Health*. 2023. V. 1. № 1. e100003.
<https://doi.org/10.1016/j.seh.2023.100003>
48. Agutter P.S. // *Bioessays*. 2007. V. 29. № 4. P. 324–333.
49. Kruchinina M.V., Gromov A.A. // *Atheroscler. J.* 2018. V. 18. № 2. P. 165–179.
50. Huisjes R., Bogdanova A., van Solinge W.W., Schiffelers R.M., Kaestner L., van Wijk R. // *Front. Physiol.* 2018. V. 9. e656.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00656>
51. Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. // *Biochemistry (Moscow)*. 2018. V. 83. № 12–13. P. 1575–1593.
52. O'Neill J.S., Reddy A.B. // *Nature*. 2011. V. 469. P. 498–503.
53. Cho C.S., Yoon H.J., Kim J.Y., Woo H.A., Rhee S.G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. V. 111. P. 12043–12048.
54. Henslee E.A., Crosby P., Kitcatt S.J., Parry J.S.W., Bernardini A., Abdallat R.G., et al. // *Nat. Commun.* 2017. V. 8. № 1. e1978.
<https://doi.org/10.1038/s41467-017-02161-4>
55. Mishra K., Chakrabarti A., Das P.K. // *J. Phys. Chem. B*. 2017. V. 121. P. 7797–7802.
56. Welbourn E.M., Wilson M.T., Yusof A., Metodiev M.V., Cooper C.E. // *Free Radic. Biol. Med.* 2017. V. 103. P. 95–106.
57. Shimo H., Arjunan S.N.V., Machiyama H., Nishino T., Suematsu M., Fujita H., et al. // *PLoS Comput. Biol.* 2015. V. 11. № 6. e1004210.
<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004210>
58. Segal M.F., Chu H., Christian J., Low P.S. // *Biochem.* 2012. V. 51. P. 3264–3272.
59. Sharma R., Premachandra B.R. // *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1991. V. 46. P. 33–44.
60. Chan E., Desforges J.F. // *Br. J. Haematol.* 1976. V. 33. № 3. P. 371–378.
61. Datta P., Chakrabarty S., Chakrabarty A., Chakrabarty A. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2008. V. 1778. P. 1–9.
62. Demehin A.A., Abugo O.O., Jayakumar J.R., Rifkind J.M. // *Biochem.* 2002. V. 41. P. 8630–8637.
63. Sullivan S.G., Stern A. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1984. V. 774. P. 215–220.
64. Zavodnik I.B., Lapshina E.A., Rekawiecka K., Zavodnik L.B., Bartosz G., Bryszewska M. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1999. V. 1421. P. 306–316.
65. Nagababu E., Mohanty J.G., Bhamidipaty S., Ostera G.R., Rifkind J.M. // *Life Sci.* 2010. V. 86. P. 133–138.
66. Kriebardis A.G., Antonelou M.H., Stamoulis K.E., Economou-Petersen E., Margaritis L.H., Papassideri I.S. // *J. Cell. Mol. Med.* 2007. V. 11. P. 148–155.
67. Luneva O.G., Sidorenko S.V., Ponomarchuk O.O., Tverskoy A.M., Cherkashin A.A., Rodnenkov O.V. et al. // *Cell. Physiol. Biochem*. 2016. V. 39. № 1. P. 81–88.
68. Castagnola M., Messana I., Sanna M.T., Giardina B. // *Blood Transfus.* 2010. V. 8. P. 53–58.
69. Jarolim P., Lahav M., Liu S.C., Palek J. // *Blood*. 1990. V. 76. P. 2125–2131.
70. Knutton S., Finean J.B., Coleman R., Limbrick A.R. // *J. Cell Sci.* 1970. V. 7. P. 357–371.
71. Комиссарчик Я.Ю., Левин С.В., Свиридов Б.Е., Сабалаускас И.Ю., Айдитите Г.С. // *Общие механизмы клеточных реакций на повреждающие воздействия*. Л.: Институт цитологии, 1977. С. 29–31.
72. Шперлинг И.А., Рязанцева Н.В., Куприна Н.П., Филиппова О.Н., Rogov O.A., Акимов В.В., Бас В.В. // *Современные наукоемкие технологии*. 2004. № 6. С. 104.
73. Ferru E., Giger K., Pantaleo A., Campanella E., Grey J., Ritchie K., Vono R., Turrini F., Low P.S. // *Blood*. 2011. V. 117. P. 5998–6006.
74. Pantaleo A., Ferru E., Pau M.C., Khadjavi A., Mandili G., Mattè A. et al. // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. V. 2016. e6051093.
<https://doi.org/10.1155/2016/6051093>
75. Chu H., Low P.S. // *Biochem. J.* 2006. V. 400. P. 143–151.
76. Weber R.E., Voelter W., Fago A., Echner H., Campanella E., Low P.S. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2004. V. 287. P. 454–464.

77. Weed R.I., LaCelle P.L., Merrill E.W. // J. Clin. Invest. 1969. V. 48. P. 795–809.
78. Атауллаханов Ф.И., Корунова Н.О., Спиридонов И.С., Пивоваров И.О. // Биологические мембраны. 2009. Т. 26. С. 163–179.
79. Dybas J., Bokamper M.J., Marzec K.M., Mak P.J. // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2020. V. 239. e118530. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118530>
80. Alayash A.I. // Lab. Invest. 2021. V. 1. P. 4–11.
81. Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Novikova N.N., Topunov A.F. // Appl. Biochem. Microbiol. 2020. V. 56. № 5. P. 512–520.
82. Gladwin M.T., Ognibene F.P., Pannell L.K., Nichols J.S., Pease-Fye M.E., Shelhamer J.H., Schechter A.N. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. № 18. P. 9943–9948.
83. Stamler J.S., Singel D.J., Piantadosi C.A. // Nat. Med. 2008. V. 14. P. 1008–1009.
84. Huang K.T., Keszler A., Patel N., Patel R.P., Gladwin M.T., Kim-Shapiro D.B., Hogg N. // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 31126–31131.
85. Xu X., Cho M., Spencer N.Y., Patel N., Huang Z., Shields H. et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. P. 11303–11308.
86. Isbell T.S., Sun C.W., Wu L.C., Teng X., Vitturi D.A., Branch B.G., et al. // Nat. Med. 2008. V. 14. P. 773–777.
87. Vitturi D.A., Sun C.-W., Harper V.M., Thrash-Williams B., Cantu-Medellin N., Chacko B.K., et al. // Free Radic. Biol. Med. 2013. V. 55. P. 119–129.
88. Balagopalakrishna C., Abugo O.O., Horsky J., Manoharan P.T., Nagababu E., Rifkind J.M. // Biochemistry. 1998. V. 37. P. 13194–13202.
89. Bonaventura C., Godette G., Tesh S., Holm D.E., Bonaventura J., Crumbliss A.L. et al. // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. P. 5499–5507.
90. Jacob H.S., Brain M.C., Dacie J.V. // J. Clin. Invest. 1968. V. 47. № 12. P. 2664–2677.
91. Giles N.M., Watts A.B., Giles G.I., Fry F.H., Littlechild J.A., Jacob C. // Chem. Biol. 2003. V. 10. P. 677–693.
92. Paulsen C.E., Carroll K.S. // Chem. Rev. 2013. V. 113. № 7. P. 4633–4679.
93. Novikova N.N., Kovalchuk M.V., Yurieva E.A., Kononov O.V., Stepina N.D., Rogachev A.V. et al. // J. Phys. Chem. B. 2019. V. 123. № 40. P. 8370–8377.
94. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Timoshin A.A., Vanin A.F., Topunov A.F. // Methods Enzymol. 2008. V. 436. P. 445–461.
95. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Ruuge E.K., Topunov A.F. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. № 1. e168. <https://doi.org/10.3390/ijms24010168>
96. Bosworth C.A., Toledo J.C.Jr., Zmijewski J.W., Li Q., Lancaster J.R. Jr. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. P. 4671–4676.
97. Vanin A.F. Dinitrosyl Iron Complexes as a “Working Form” of Nitric Oxide in Living Organisms. Cambridge, UK: Cambridge Scholars Publishing, 2019. 266 p. ISBN: 978-1-5275-3906-8
98. Seth D., Hausladen A., Stamler J.S. // Antioxid. Redox Signal. 2020. V. 32. № 12. P. 803–816.
99. Schlecht S., Fleming H., Parks K. // ChemRxiv. 2023. Preprint 2023–05–18. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2023-wb9m7>
100. Badior K.E., Casey J.R. // IUBMB Life. 2018. V. 70. P. 32–40.
101. Matte A., Bertoldi M., Mohandas N., An X., Bugatti A., Brunati A.M. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2013. V. 55. P. 27–35.
102. Bayer S.B., Low F.M., Hampton M.B., Winterbourn C.C. // Free Radic. Res. 2016. V. 50. P. 1329–1339.
103. Long M.J., Aye Y. // Chem. Res. Toxicol. 2016. V. 29. № 10. P. 1575–1582.
104. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Topunov A.F. // Biochemistry (Moscow). 2019. V. 84. Suppl. 1. P. S206–S224.
105. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Topunov A.F. // Appl. Biochem. Microbiol. 2017. V. 53. № 3. P. 273–289.
106. Hsiao H.Y., Chung C.W., Santos J.H., Villaflores O.B., Lu T.T. // Dalton Trans. 2019. V. 48. P. 9431–9453.
107. Rabbani N., Thornalley P.J. // Diabetes. 2014. V. 63. P. 50–52.
108. Kosmachevskaya O.V., Novikova N.N., Topunov A.F. // Antioxidants. 2021. V. 10. № 2. e253. <https://doi.org/10.3390/antiox10020253>
109. Pugachenko I.S., Nasybullina E.I., Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Topunov A.F. // Appl. Biochem. Microbiol. 2023. V. 59. № 5. P. 561–569.
110. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Ruuge E.K., Kalenikova E.I., Topunov A.F. // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. № 24. e17236. <https://doi.org/10.3390/ijms242417236>
111. Shumaev K.B., Gubkina S.A., Vanin A.F., Burbaev D.Sh., Mokh V.P., Topunov A.V., Ruuge E.K. // Biophysics. 2013. V. 58. № 2. P. 172–177.
112. Fu T.-T., Shen L. // Front. Pharmacol. 2022. V. 13. e850813. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.850813>
113. Cheah I.K., Halliwell B. // Biochim. Biophys. Acta. 2012. V. 1822. P. 784–793.
114. Malathy D., Anusha D., Karthika K., Punnaigai K. // J. Clin. Diagn. Res. 2023. V. 17. № 7. P. FC01–FC05.
115. Shumaev K.B., Gorudko I.V., Kosmachevskaya O., Grigoryeva D., Panasenkov O.M., Vanin A. et al. // Oxid. Med. Cell. Longev. 2019. V. 2019. e2798154. <https://doi.org/10.1155/2019/2798154>
116. Shumaev K.B., Kosmachevskaya O.V., Grachev D.I., Timoshin A.A., Topunov A.F., Lankin V.Z., Ruuge E.K. // Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry. 2021. V. 15. № 4. P. 313–319.
117. Kosmachevskaya O.V., Nasybullina E.I., Shumaev K.B., Novikova N.N., Topunov A.F. // Int. J. Mol. Sci. 2021. V. 22. № 24. e13649. <https://doi.org/10.3390/ijms222413649>
118. Шамова Е.В., Бичан О.Д., Дрозд Е.С., Горудко И.В., Чужик С.А., Шумаев К.Б. и др. // Биофизика. 2011. Т. 56. № 2. С. 265–271.
119. Nicolay J.P., Liebig G., Niemoeller O.M., Koka S., Ghashghaieina M., Wieder T. et al. // Pflugers Arch. 2008. V. 456. P. 293–305.
120. Lankin V., Belova E., Tikhaze A.K. // Biophysics. V. 62. № 2. P. 252–255.

121. Белых И.А., Воловельская Е.Л., Зинченко В.Д. // Проблемы криобиологии. 2007. Т. 17. С. 237–242.
122. Шевченко О.Г. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2014. Т. 4. С. 377–384.
123. Tesoriere L., D'Arpa D., Conti S., Giaccone V., Pintauro A.M., Livrea M.A. // Pineal Research. 1999. V. 27. P. 95–105.
124. Mendanha S.A., Anjos J.L.V., Silva A.H.M., Alonso A. // Braz. J. Med. Biol. Res. 2012. V. 45. P. 473–481.
125. Phillips S.A., Thornalley P.J. // Biochem. Soc. Trans. 1993. V. 21. № 2. e163s. <https://doi.org/10.1042/bst021163s>
126. Zeng J., Davies M.J. // Chem. Res. Toxicol. 2005. V. 18. P. 1232–1241.
127. Beard K.M., Shangari N., Wu B., O'Brien P.J. // Mol. Cell Biochem. 2003. V. 252. P. 331–338.
128. Nicolay J.P., Liebig G., Niemoeller O.M., Koka S., Ghashghaiein M., Wieder T. et al. // Life Sci. 2010. V. 86. P. 133–138.
129. Chen H.-J.C., Chen Y.-C., Hsiao C.-F., Chen P.-F. // Chem. Res. Toxicol. 2015. V. 28. P. 2377–2389.
130. McMahon T.J., Stone A.E., Bonaventura J., Stamler J.S. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. V. 159. № 3. P. A352.
131. Stepuro T.L., Zinchuk V.V. // J. Physiol. Pharmacol. 2006. V. 57. № 1. P. 29–38.
132. D'Alessandro A., Xia Y. // Curr. Opin. Hematol. 2020. V. 27. № 3. P. 155–162.
133. Misra H.P., Fridovich I. // J. Biol. Chem. 1972. V. 247. P. 6960–6962.
134. Kieffmann R., Rifkind J.M., Nagababu E., Bhattacharya J. // Blood. 2008. V. 111. P. 5205–5214.
135. Crawford J.H., Isbell T.S., Huang Z., Shiva S., Chacko B.K., Schechter A.N. et al. // Blood. 2006. V. 107. P. 566–574.
136. Abalenikhina Yu.V., Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. // Appl. Biochem. Microbiol. 2020. V. 56. № 6. P. 611–625.
137. Yang J., Carrol K.S., Liebler D.C. // Molecular & Cellular Proteomics. 2016. V. 15. P. 1–11.
138. Finelli M.J. // Front Aging Neurosci. 2020. V. 12. e254. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00254>
139. Kosmachevskaya O.V., Topunov A.F. // Appl. Biochem. Microbiol. 2021. V. 57. № 5. P. 543–555.
140. Barbarino F., Wäschenbach L., Cavalho-Lemos V., Dillenberger M., Becker K., Gohlke H., Cortese-Krott M.M. // Biol. Chem. 2020. V. 402. № 3. P. 317–331.
141. Diederich L., Suvorova T., Sansone R., Keller T.C.S. 4th, Barbarino F., Sutton T.R. et al. // Front. Physiol. 2018. V. 9. e332. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00332>
142. Desai K.M., Wu L. // Drug Metabol. Drug. Interact. 2008. V. 23. P. 151–173.
143. Kosmachevskaya O.V., Shumaev K.B., Nasybullina E.I., Gubkina S.A., Topunov A.F. // Hemoglobin. 2013. V. 37. № 3. P. 205–218.
144. Svensson R., Alander J., Armstrong R.N., Morgenstern R. // Biochemistry. 2004. V. 43. P. 8869–8877.
145. Turell L., Botti H., Carballed S., Radi R., Alvarez B. // J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 2009. V. 877. № 28. P. 3384–3392.
146. Биллах Х.М., Хасанов Н.Р., Ослопов В.Н., Чугунова Д.Н. // Практическая медицина. 2013. Т. 3. № 71. С. 34–36.

Adaptation of Erythrocytes: The Role of Hemoglobin, Nitric Oxide and Methylglyoxal (Review)

O. V. Kosmachevskaya^a and A. F. Topunov^{a,*}

^aBach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences,
Moscow, 119071 Russia

*e-mail: aftopunov@yandex.ru

All living systems are characterized by such fundamental properties as the ability to adaptation, self-regulation and formation of resistance. Mammalian non-nuclear erythrocytes also have the ability to adapt to external effects, but their regulatory capabilities are limited by cytoplasmic mechanisms, including phase transitions of proteins and membranes. This is one of the most ancient mechanisms of adaptation of living systems to external and internal conditions. Erythrocytes under changes in plasma composition, aging and energy depletion, undergo a reversible morpho-functional transformation, the transition from a discocyte to an echinocyte. The metabolic shifts occurring in this case correspond to a complex of universal changes that take place during erythrocyte transition to metabolic depression. As a rule, echinocytosis is considered as a pathological process preceding eryptosis and hemolysis. But it can be also considered as the first stage of the implementation of an universal program of passive cell adaptation, the ultimate goal of which is to transfer the system to suspended animation state. The energy status of an erythrocyte is determined by the equilibrium of soluble and membrane-bound hemoglobin (Hb) forms. Compounds with pronounced electrophilic properties – nitric oxide and methylglyoxal, affecting this equilibrium can induce cell's transition from one metabolic state to another. The mechanism of their regulatory action is largely related to the modification of thiol groups of membrane and cytoskeleton proteins, including reactive SH-groups of Hb. It seems relevant to consider their effect on the state of Hb and erythrocytes.

Keywords: erythrocytes, hemoglobin, membranes, thiols, adaptation, redox regulation, nitric oxide, methylglyoxal