БИОФИЗИКА, 2022, том 67, № 1, с. 88–95

БИОФИЗИКА КЛЕТКИ

УДК 577.336

О ПРИРОДЕ СПЕКТРАЛЬНОГО СДВИГА ПОЛОСЫ Соре ЭРИТРОЦИТАРНОГО ОКСИГЕМОГЛОБИНА ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ОРГАНИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ В СУСПЕНЗИЮ ЭРИТРОЦИТОВ

© 2022 г. Н.Л. Лаврик

Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, 630090, Новосибирск, Институтская ул., 3

E-mail: lavrik@kinetics.nsc.ru

Поступила в редакцию 05.07.2021 г.
После доработки 11.11.2021 г.
Принята к публикации 12.11.2021 г.

Рассмотрены возможные гипотезы объяснения экспериментально наблюдаемых сдвигов максимумов полос Соре эритроцитарного оксигемоглобина HbO_2 при добавлении органических молекул в суспензию эритроцитов. Показано, что гипотезы, основанные на прямом взаимодействии оксигемоглобина с органическими молекулами, химическом превращении оксигемоглобина и изменении структуры мембрано-связанного оксигемоглобина, не в состоянии в полной мере объяснить характер спектральных изменений полосы Соре. Показана непротиворечивость представлений, заключающаяся в том, что добавляемые органические молекулы, адсорбируясь на поверхности эритроцитов, изменяют величину и градиент электростатического поля внутри клетки. Вследствие этих изменений может иметь место деформация структуры гидрофобного кармана, в котором находится гем и изменение положения иона железа относительно плоскости порфиринового кольца. Сдвиги полосы Соре являются следствием указанных изменений.

Ключевые слова: полоса Соре, оксигемоглобин, поверхность эритроцитов, органические молекулы, электростатическое поле мембраны эритроцитов.

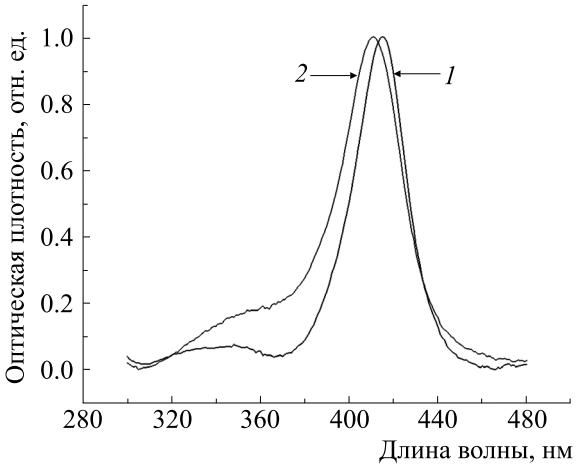
DOI: 10.31857/S0006302922010082

Эритроциты являются одним из важнейших элементов крови, поэтому несомненный интерес представляет вопрос о влиянии их взаимодействия с ее компонентами на эритроцитарный оксигемоглобин (HbO_2), на 25% заполняющий объем эритроцита [1] и выполняющий важнейшую функцию в живом организме – контроль и регуляцию концентрации кислорода. Компонентами крови, в частности, могут являться различные органические молекулы (ОМ).

Одним из возможных методов диагностики состояния эритроцитарного гемоглобина может служить метод регистрации и анализа электронных спектров поглощения. В частности, сведения о молекулах оксигемоглобина HbO_2 можно получить из наблюдения спектров электронного поглощения в видимой области (полоса Соре, $\lambda \sim 413$–420 нм и полосы поглощения на $\lambda \sim 542$ и 576 нм). Полосы поглощения на 542 и 576 нм являются характерными для молекулы HbO_2, поскольку для других производных гемоглобина этот дублет имеет заметно отличающиеся спектральные параметры: меньшую интенсивность относительно полосы Соре и расстояние между полосами дублета. В связи с этим наличие хорошо регистрируемых полос на $\lambda \sim 413$–420 нм, ~542 нм и 576 нм может являться надежным маркером на содержание HbO_2 [2], что позволяет надежно отличать его от других производных гемоглобина (дезоксигемоглобин, метгемоглобин, карбоксигемоглобин, гемихром и т.д.).

Природа полосы Соре в молекуле HbO_2 обусловлена электронными переходами в протопорфирине IX [3]. Его комплекс с ионом Fe^{2+} образует гем, который находится в гидрофобной впадине (кармане) глобина. Спектральные параметры порфиринов (в частности, полоса Соре) зависят от электронного состояния молекулы, что позволяет наблюдать за процессами деформации ее структуры [4, 5]. Таким образом, изменение конфигурации гидрофобного кармана или изменение положения гема внутри гидрофобного кармана может повлиять на электронные свойства гема и соответственно на спектральные свойства полосы Соре. Действительно в работе

Сокращения: HbO_2 – оксигемоглобин, ОМ – органические молекулы, ЭП – электростатическое поле.



Нормированные спектры полос Соре оксигемоглобина: *1* – спектр исходного HbO_2, *2* – спектр HbO_2 после добавления гуминовой кислоты. Концентрация эритроцитов $4{\cdot}10^8$ кл/л, гуминовой кислоты – 9 мг/л.

[6] было установлено наличие коротковолнового сдвига полосы Соре при лизисе эритроцитов мыши, а в работе [7] при лизисе эритроцитов некоторых животных, что было интерпретировано как результат изменения взаимодействия гема с белковым окружением.

Систематическая информация об изменении параметров полосы Соре в зависимости от добавления органических молекул к суспензии эритроцитов практически отсутствует. Имеются лишь отдельные сообщения. Так, в работе [8] было установлено, что добавление глицирризиновой кислоты (10^{-6} М) в суспензию эритроцитов, выделенных из крови человека ($[HbO_2] \sim 4{\cdot}10^{-7}$ М), приводит к коротковолновому сдвигу полосы Соре (~6 нм). В работе [9] наблюдали наличие коротковолнового сдвига (~ 4 нм) и длинноволнового сдвига (~ 2 нм) полосы Соре молекул оксигемоглобина при добавлении гуминовых кислот ($\sim 10^{-6}$–10^{-7} М) в суспензию эритроцитов ($[HbO_2] \sim 2{\cdot}10^{-6}$ М), выделенных из крови различных животных. На рисунке в качестве примера коротковолнового сдвига полосы Соре при добавлении гуминовых кислот представлены спектры поглощения суспензии эритроцитов, выделенных из крови гуся. В работе [10] наблюдали коротковолновой сдвиг полосы Соре на ~ 2 нм при добавлении нитроглицерина к суспензии эритроцитов, выделенных из крови человека ($[HbO_2] = 4.8{\cdot}10^{-7}$ М) при концентрации нитроглицерина $2{\cdot}10^{-8}$ М и $2{\cdot}10^{-5}$ М (время инкубирования 3 ч).

Таким образом, в настоящее время наличие сдвига максимума полосы Соре при добавлении ОМ к эритроцитам *in vitro* надежно установлено. Однако единое объяснение имеющихся данных отсутствует.

Целью настоящего сообщения является обсуждение потенциально возможных вариантов интерпретации сдвига полосы Соре эритроцитарного оксигемоглобина при добавлении ОМ к суспензии эритроцитов. Обсуждение показало, что объяснения, в основе которых находятся представления о химическом превращении оксигемоглобина и деформации структуры примембранного HbO_2, не в состоянии интерпретировать спектральный сдвиг полосы Соре. Непротиворечивым оказалось объяснение, заключающееся в том, что 1) добавляемые органические молекулы, адсорбируясь на поверхность эритроцитов, изменяют величину и градиент электростатического поля внутри эритроцита; 2) за счет этих изменений может иметь место деформация структуры гидрофобного кармана, в котором находится гем, и изменение положения иона железа относительно плоскости порфиринового кольца гема. Сдвиги полосы Соре являются следствием указанных изменений.

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ ОБЪЯСНЕНИЯ СДВИГА ПОЛОСЫ СОРЕ ЭРИТРОЦИТАРНОГО ОКСИГЕМОГЛОБИНА ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ОРГАНИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛ К СУСПЕНЗИИ ЭРИТРОЦИТОВ

Взаимодействие органических молекул с HbO_2. Простейшим объяснением сдвига полосы Соре могло быть наличие прямого взаимодействия ОМ с молекулой HbO_2 и соответственно образование комплекса {ОМ–HbO_2}. Такое взаимодействие могло иметь место в случае проникновения ОМ во внутренний объем эритроцита. (Обсуждение

вопроса о возможности проникновения ОМ во внутренний объем эритроцита мы опускаем, но полагаем, что оно возможно.) Однако результаты экспериментов по непосредственному добавлению нитроглицерина к оксигемоглобину [11] не показали сдвига полосы Соре, в то время как при добавлении нитроглицерина к суспензии эритроцитов сдвиг полосы Соре наблюдался [10]. Полученные результаты означают, что даже если при добавлении ОМ происходит лигирование молекул HbO_2 в результате непосредственного их взаимодействия с ОМ, то этот процесс не приводит к изменению положения максимума полосы Соре.

Химические превращения оксигемоглобина. *Образование молекул метгемоглобина.* При взаимодействии молекул оксигемоглобина с органическими молекулами может иметь место окисление иона Fe^{2+}до Fe^{3+}. В результате этой реакции образуется молекула метгемоглобина metHb [2]. Максимум полосы Соре для этой молекулы находится в более коротковолновой области [2], соответственно образование метгемоглобина при добавлении ОМ может сопровождаться сдвигом положения максимума этой полосы поглощения в коротковолновую область. Прямым спектроскопическим свидетельством в пользу того, что сдвиг полосы Соре не может объясняться появлением метгемоглобина при добавлении ОМ, является сохранение спектральных параметров полос поглощения на $\lambda \sim 545$ нм и на $\lambda \sim 575$ нм [8, 9]. На этих длинах волн молекулы метгемоглобина не имеют заметно наблюдаемых полос поглощения [2]. Дополнительным спектроскопическим свидетельством в пользу того, что сдвиг полосы Соре не может объясняться появлением метгемоглобина при добавлении ОМ, является наличие длинноволнового сдвига полосы Соре при добавлении гуминовой кислоты к суспензии эритроцитов, выделенных из крови петуха [9].

Образование молекул гемихрома. Другим химическим фактором, который мог бы обуславливать коротковолновой сдвиг полосы Соре в результате добавления ОМ, является образование молекул гемихрома (продукта окисления гемоглобина). Спектр поглощения полосы Соре этой молекулы имеет максимум в более коротковолновой области относительно спектра молекулы HbO_2 [2]. Образование этой новой компоненты в суспензии эритроцитов могло бы приводить к коротковолновому сдвигу полосы Соре.

Коротковолновый сдвиг полосы Соре гемихрома относительно HbO_2 составляет порядка 2 нм [2]. Следовательно, наблюдаемые в работах [8, 9] коротковолновые сдвиги на 6 и 4 нм заведомо не могут быть объяснены образованием гемихрома. Также прямым спектроскопическим свидетельством в пользу того, что при добавлении ОМ сдвиг полосы Соре не может объясняться образованием гемихрома, является сохранение формы дублета на $\lambda \sim 545$ нм и 575 нм. При появлении заметных количеств гемихрома форма контура полосы поглощения на этих длинах волн должна искажаться, поскольку у гемихрома этот дублет практически отсутствует [2]. Наличие длинноволнового сдвига полосы Соре [9] при добавлении гуминовой кислоты к суспензии эритроцитов, выделенных из крови петуха, также противоречит образованию гемихрома.

Изменение электронных свойств мембрано-связанных молекул оксигемоглобина. Этот вариант объяснения, с помощью которого можно было попытаться интерпретировать сдвиги полосы Соре при добавлении ОМ к суспензии эритроцитов, заключается в том, что они обусловлены изменением структурных свойств мембрано-связанного оксигемоглобина $mbHbO_2$ из-за адсорбции ОМ на поверхность эритроцита.

В интактных эритроцитах HbO_2 может существовать в свободной (в цитоплазме клетки) и мембрано-связанной формах [12]. По данным работы [13] доля ассоциированного HbO_2 в нативных эритроцитах в зависимости от ряда факторов может изменяться в диапазоне от 7 до 10%, а согласно работе [14] – от 1.1 до 5.2%, т.е. может иметь место заметное количество комплексов {$mbHbO_2$–внутренняя поверхность мембраны}. При добавлении ОМ молекулы $mbHbO_2$ могут претерпеть изменение структуры, поскольку структура комплекса {$mbHbO_2$–внутренняя поверхность мембраны} может измениться из-за деформации внешней и соответственно внутренней поверхности мембраны. Действительно в работах [15, 16] было установлено изменение поверхностных свойств мембраны эритроцитов человека под действием гемина, ионов Zn^{2+} и молекул верапамила. Влияние добавления молекул глицирризиновой кислоты на поверхностные свойства мембран эритроцитов было также установлено в работе [17], а в работе [18] наблюдали морфологическое изменение поверхности эритроцитов в присутствии оксида углерода.

Изменение структуры молекулы $mbHbO_2$ при деформации поверхности эритроцита может вызывать деформацию структуры гидрофобного кармана, в котором находится гем, и соответственно влиять на взаимодействие гем–глобин. Изменение этого взаимодействия способно непосредственно влиять на параметры спектров поглощения молекулы $mbHbO_2$. Однако проведенные оценочные расчеты для возможного коротковолнового сдвига в несколько нанометров от исходного положения полосы Соре показали, что даже при доле молекул $mbHbO_2$ в 5–10% необходимо, чтобы величина коэффициента молярного

поглощения $mbHbO_2$ в несколько раз превышала значение для свободной молекулы HbO_2, но такое отличие отмечено не было [12]. Таким образом, имеющиеся данные также не позволяют считать возможным объяснение коротковолнового сдвига полосы Соре с помощью представлений о наличии изменений в структуре $mbHbO_2$.

Изменение внутреннего электростатического поля благодаря деформации поверхности эритроцита. Интерпретация сдвигов полосы Соре при добавлении ОМ к суспензии эритроцитов могла бы заключаться в том, что они обусловлены изменением внутриклеточного электростатического поля (ЭП), свойства которого изучались, например, в работах [19–26]. Внутриклеточное электростатическое поле может претерпевать изменение в результате адсорбции ОМ на поверхности (предварительное предположение). Если принять это предположение, то в случае его правильности вопросы, обсуждаемые выше, снимаются, поскольку не требуется рассматривать ни возможности парного взаимодействия, ни возможного химического превращения исходных молекул HbO_2. Ниже приводится ряд публикаций, в которых экспериментально и теоретически рассматриваются вопросы о наличии внутриклеточного ЭП для гема в составе гембелков и природе его изменения.

Литературные данные о наличии электростатического поля в гем-белках. В обзоре [19] глобин рассматривается как матрица с внутренним электрическим полем, способным вызывать изменения спектральных свойств оптических центров и делается попытка соотнести наблюдаемые спектральные свойства оптических центров в геме с внутренними электрическими полями белка. В работе [20] с помощью метода частотно-избирательного обесцвечивания спектра поглощения миоглобина лошади и использования квантово механических расчетов была изучена величина двух компонент внутреннего электрического поля в плоскости порфирина и показано, что для ориентации внутреннего поля доминирующий вклад вносят депротонированные боковые цепи пропионовой кислоты порфиринового кольца. В работе [21] с использованием метода молекулярной динамики было показано, что в цитохроме *c* биологически значимые электрические поля вызывают повышенную подвижность и структурные искажения ключевых сегментов белка. Это приводит к отделению шестого аксиального лиганда Met80 от гем-железа. Моделирование дало подробную атомистическую картину влияния ЭП на структуру цитохрома *c*. В этой работе было также показано, что в цитохроме *c* изменение трансмембранного потенциала может модулировать его структуру, т.е. вызывать структурные искажения ключевых белковых сегментов гема. Сделанные расчеты показали, что для цитохрома *c* электростатическое поле внутри этой молекулы (включая гидрофобный карман) зависит от изменения заряда и положения периферических групп белка. Также предполагается, что переменный трансмембранный потенциал может модулировать структуру цитохрома *c*. Применительно к обсуждаемым данным по влиянию добавления ОМ на спектр полосы Соре полученные в работе [21] результаты означают, что изменение параметров электростатического потенциала мембраны эритроцитов может обусловливаться деформацией структуры поверхности эритроцита. Авторы работы [22] исследовали внутреннее ЭП в цитохроме *c* методом электронной спектроскопии кругового дихроизма в видимой области. Анализ полученных данных показал, что природа происхождения B-полосы в спектре поглощения может быть отнесена к внутреннему ЭП в кармане белка. В работе [23] с помощью численного анализа распределения ЭП в различных клеточных структурах показано, что взаимодействие эритроцитов между собой существенно влияет на значения напряженности поля внутри клетки. Авторам работы [24] анализ результатов экспериментов по наблюдению эффекта Штарка для полосы Соре молекулы деоксигемоглобина позволил сделать заключение, что внутреннее ЭП белка существенно влияет на электронные свойства гема. Значимость величины внутреннего ЭП на проницаемость мембраны эритроцитов была показана в работе [25]. В работе [26] было рассчитано изменение электрического потенциала вдоль белка и его изменение в зависимости от окружения. Аналитическая формула, устанавливающая связь между изменением объема эритроцита и мембранным потенциалом, была представлена в работе [27]. Из полученного соотношения следует, что деформация поверхности мембраны эритроцита, вызывая изменение его объема, может приводить как к увеличению, так и к уменьшению трансмембранного потенциала.

Таким образом, совокупность экспериментальных и теоретических работ свидетельствует о том, что гем, находясь внутри гидрофобного кармана белка, претерпевает взаимодействие с внутренним ЭП эритроцита. Можно полагать, что электронные свойства гема будут зависеть от его взаимодействия с ЭП. Соответственно, спектральные параметры полосы Соре, которая формируется электронными переходами в геме, также будут чувствительны к этому взаимодействию.

Далее рассматриваются возможности интерпретации имеющихся экспериментальных данных в рамках представлений, заключающихся в том, что 1) добавляемые органические молекулы, адсорбируясь на поверхность эритроцитов, изменяют величину и градиент электростатического поля ЭП внутри эритроцита; 2) за счет этих изменений могут иметь место деформация структуры

гидрофобного кармана, в котором находится гем, и изменение положения иона железа относительно порфириновой плоскости.

Природа изменений величины и градиента электростатического поля внутри эритроцита. Добавленные в суспензию эритроцитов ОМ могут адсорбироваться на их поверхности [28–31]. (Площадь поверхности эритроцита составляет ~136–163 мкм^2 [32].) При экспериментально использованных концентрациях эритроцитов (~10^8 кл/л) и ОМ ~ 10^{-5} М на один эритроцит приходится 10^5 ОМ. Таким образом, даже если доля адсорбированных ОМ составляет ~10%, количество ОМ достаточно для покрытия заметной части поверхности эритроцитов. В результате благодаря адсорбции ОМ часть поверхности эритроцита может быть подвержена деформации. Об изменении поверхности эритроцита при адсорбции ОМ свидетельствуют данные работ [16, 17]. В результате деформации поверхности эритроцита возможно искажение конфигурации ЭП как на внешней, так и на внутренней его поверхности [33–35]. Таким образом, параметры ЭП внутри клетки могут измениться относительно исходных. В результате при добавлении ОМ все эритроцитарные молекулы HbO_2 будут находиться в электростатическом поле, отличающемся от исходного. Это измененное ЭП по сравнению с исходным будет по другому влиять на молекулы оксигемоглобина, что может вызывать конформационные перестройки в белках и соответственно приводить к изменению структуры гидрофобного кармана и положению гема в нем. Деформация структуры гидрофобного кармана будет обуславливать изменение взаимодействия порфиринового кольца гема с глобином, что может определять спектральный сдвиг полосы Соре, положение которой зависит от электронного состояния порфиринового кольца [3].

Искажение параметров исходного электростатического поля также будет иметь место в результате проникновения (встраивания) органических молекул в мембрану эритроцита, наличие которого показано и обсуждено в работе [36]. Таким образом, деформация мембраны эритроцитов при добавлении ОМ и соответственно искажение исходного внутреннего ЭП могут быть обусловлены двумя структурными факторами: адсорбцией ОМ на поверхности эритроцита и проникновением ОМ в липидный бислой мембраны.

Другим возможным фактором, влияющим на электронные свойства порфиринового кольца в молекуле HbO_2 в результате деформации структуры клеточной мембраны и соответственно на изменения конфигурации внутреннего электростатического поля, будет непосредственное влияние ЭП на положение иона Fe^{2+} в параллельном или ортогональном направлениях относительно плоскости порфиринового кольца. Смещение иона железа относительно плоскости порфиринового кольца, т.е., изменение расстояния «ион железа – атом азота» имидазольного остатка проксимального гистидина, искажает начальную электронную конформацию HbO_2 [37], что также может обуславливать сдвиг полосы Соре.

Следовательно, имеется как минимум два независимых физических фактора, влияющих на изменение структуры гема при добавлении ОМ к суспензии эритроцитов, которые способны изменить электронное состояние порфиринового кольца оксигемоглобина. Этими факторами являются изменение взаимодействия внутреннего ЭП мембраны эритроцита с порфириновым кольцом гема и изменение взаимодействия внутреннего ЭП мембраны эритроцита с ионом Fe^{2+}.

Рассмотрение имеющихся экспериментальных результатов по сдвигу полосы Соре при добавлении органических молекул к суспензии эритроцитов в рамках представлений об изменении внутреннего электрического поля. Экспериментально наблюдается суперпозиция влияния обоих факторов, которое может быть как однонаправленным, так и разнонаправленным по отношению к перераспределению электронной плотности порфиринового кольца, что может приводить к разным сдвигам полосы Соре. В частности, этой причиной можно объяснить разнонаправленный сдвиг полосы Соре при добавлении гуминовой кислоты для эритроцитов, выделенных из крови петуха и гуся [9]. Зависимость сдвига полосы Соре от вида гуминовой кислоты [9] можно объяснить тем, что разные кислоты, имея различающийся химический состав, по-разному деформируют поверхность эритроцита, вызывая разное как по величине, так и по направлению изменение его внутреннего электростатического поля.

В рамках обсуждаемой модели возможно непротиворечивое объяснение данных работ [10] и [11]. В этих работах было установлено, что добавление нитроглицерина в количестве $2\cdot10^{-8}$ М и $2\cdot10^{-5}$ М к суспензии эритроцитов [10] приводит к изменению положения максимума полосы Соре, а добавление нитроглицерина в количестве $2\cdot10^{-8}$ и $2\cdot10^{-5}$ М к растворам оксигемоглобина [11] не приводит к изменению положения максимума полосы Соре. Интерпретация этих данных в рамках представлений об изменении внутреннего ЭП такова. Отсутствие сдвига полосы Соре при добавлении молекул нитроглицерина к раствору оксигемоглобина не меняет параметров электрического поля, которые оказывают влияние на структуру оксигемоглобина, поскольку электрическое поле, в котором находятся молекулы

HbO_2, не изменяется относительно исходного. Напротив, при добавлении ОМ к эритроцитам поверхностный потенциал, т.е. электрическое поле, в котором находится HbO_2, благодаря адсорбции ОМ будет претерпевать изменения.

Представления о наличии ЭП внутри эритроцита позволяет также объяснить независимость сдвига полосы Соре от концентрации нитроглицерина при добавлении его к суспензии эритроцитов [10]. Добавление молекул нитроглицерина в количестве $2\cdot10^{-8}$ М уже достаточно для максимального искажения исходного ЭП поверхности эритроцита и дальнейшее увеличение концентрации практически не влияет на уже искаженную структуру электрического поля. Однако для окончательного понимания этого эффекта необходимо проведение более подробных экспериментов по изучению зависимости сдвига полосы Соре от концентрации ОМ, поскольку в настоящее время эксперименты проведены только для двух концентраций ОМ ([ОМ] = $2\cdot10^{-8}$ М и $2\cdot10^{-5}$ М).

В рамках предлагаемой гипотезы непротиворечиво объясняются наблюдаемые коротковолновые сдвиги полосы Соре при лизисе эритроцитов [6, 7]. В результате этого процесса молекулы оксигемоглобина претерпевают изменение исходного ЭП: в отсутствие лизиса молекулы HbO_2 находятся в поле мембранного потенциала, которое исчезает после лизиса.

Также экспериментальным свидетельством в пользу того, что электростатическое взаимодействие может непосредственно влиять на структуру гема в молекуле HbO_2 и следовательно на параметры полосы Соре, являются результаты работы [38]. В этой работе изучалось взаимодействие молекул оксигемоглобина с отрицательно заряженными и нейтральными фосфолипидами и было показано, что добавление заряженных фосфолипидов приводит к коротковолновому сдвигу полосы Соре и дублета на 545 и 575 нм. Однако при дополнительном добавлении ионов Ca^{2+} (была использована соль $CaCl_2$), которые образуют с фосфатной группой фосфолипидов контактную ионную пару, экранируя таким образом ее отрицательный заряд [39], наблюдаемые сдвиги заметно уменьшались. Интерпретация этих данных в рамках предлагаемых представлений не вызывает затруднений: электростатическое влияние на исходную структуру гемоглобина и следовательно на структуру гидрофобного кармана в глобине и положение иона Fe^{2+} при добавлении заряженных молекул фосфолипидов ослабевают при экранировке их кулоновского взаимодействия с эритроцитом. В результате изменения ЭП, вызываемые деформацией поверхности эритроцита заряженными фосфолипидами, уменьшаются. При добавлении незаряженных фосфолипидов влияние добавления ионов Ca^{2+} замечено не было. В рамках нашей гипотезы это объясняется тем, что изначально добавление нейтральных фосфолипидов не вызывало деформации поверхности эритроцита.

Таким образом, анализ совокупности результатов экспериментальных и теоретических работ, в которых изучались электростатические свойства гемсодержащих молекул, позволяет сделать заключение, что представления о наличии изменения электростатического поля внутри эритроцита позволяют непротиворечиво объяснить сдвиги полосы Соре при добавлении ОМ к суспензии эритроцитов.

ВЫВОДЫ

1. Рассмотрены возможные варианты объяснения экспериментально наблюдаемых спектральных сдвигов максимумов полос Соре эритроцитарного оксигемоглобина при добавлении органических молекул к суспензии эритроцитов.

2. Показано, что объяснения, основанные на представлениях о парном взаимодействии и химических превращениях оксигемоглобина, не в состоянии объяснить спектральные изменения полосы Соре.

Показано, что непротиворечивым вариантом объяснения наблюдаемых спектральных сдвигов максимумов полос Соре эритроцитарного оксигемоглобина при добавлении органических молекул к суспензии эритроцитов являются представления о том, что добавляемые органические молекулы изменяют величину электрического поля внутри эритроцита. Это изменение приводит к деформации конфигурации гидрофобного кармана, в котором находится гем, и к изменению положения иона железа относительно плоскости порфиринового кольца. Суммарное действие этих двух независимых факторов влияет на электронные орбитали гема, что формирует сдвиги полосы Соре.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю признательность рецензенту за критические замечания и вопросы, ответы на которые позволили сделать работу значительно интересней.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. В. А. Левгов, С. А. Регирер и Н. Х. Шадрина, *Реология крови* (Медицина, М., 1982).
2. Г. М. Андреюк и М. А. Кисель. Биоорган. химия **23** (4), 290 (1997).
3. К. Н. Соловьев, Л. Л. Гладков, А. С. Старухин и др. *Спектроскопия порфиринов: колебательные состояния* (Наука и техника, Минск, 1985).
4. И. В. Яковец, И. В. Янковский, Л. И. Болотин и В. П. Зорин, Вестн. БГУ **1** (2), 39 (2015).
5. J. M. Berg, J. L.Tymoczko, G. J. Gattoand and L. Stryer, in *Biochemistry*, 8th edition (W. H. Freeman and Co, N.Y., 2015), pp. 191–214.
6. Н. Л. Векшин, М. С. Фролова, В. И. Ковалев и др., Биофизика **60** (1), 129 (2015).
7. Н. Л. Лаврик и Т. Н. Ильичёва, Биофизика **63** (5), 903 (2018).
8. O. Yu. Selyutina, N. E. Polyakov, D. V. Korneev, and B. N. Zaitsev, Drug Delivery **23**, 848 (2016).
9. N. L. Lavrik and T. N. Il'itcheva, in *Biophysical Chemistry*, Ed. by M. A. A. Khilid (Intech Open Publ., 2019), pp. 1–12.
10. Е. А. Калаева, В. Г. Артюхов, О. В. Путинцева и А. И. Полюбезьева, Эксперим. клинич. фармакол. **79** (9), 12 (2016).
11. В. Г. Артюхов, Е. А. Калаева, О. В. Путинцева и А. И. Полюбезьева, Биомед. химия **52** (3), 251 (2016).
12. Э. И. Насыбуллина, Дис. ... канд. биол. наук (Институт биохимии им. А.Н. Баха, М., 2017).
13. З. С. Токтамысова и Н. Х. Биржанова, Биофизика **35** (6), 1019 (1990).
14. G. B. Nash and H. J. Meiselman, Biophys. J. **43**, 63 (1983).
15. А. М. Черныш, Е. К. Козлова, В. В. Мороз и др., Общая реаниматология **14** (1), 29 (2018).
16. В. В. Мороз, А. М. Голубев, А. В. Афанасьев и др., Общая реаниматология. **8** (1), 3 (2012).
17. О. Ю. Селютина, Н. Э. Поляков, Д. В. Корнеев и Б. Н. Зайцев, Изв. РАН. Сер. хим. **5**, 1201 (2014).
18. О. И. Тюнина и В. Г. Артюхов, Бюл. эксперим. биологии и медицины **165**, 803 (2018).
19. M. Laberge, Biochim. Biophys. Acta **1386** 305 (1998).
20. P. Geissinger, B. E. Kohler, and J. C. Woehl, Phys. Chem., **99** (45), 16527 (1995).
21. P. M. De Biase, D. A. Paggi, F. Doctorivich, et al., J. Am. Chem. Soc. **131** (44), 16248 (2009).
22. R. Schweitzer-Stenner, J. Phys. Chem. B, **112** (33), 10358 (2008).
23. C. Pelletti, A. Monorchio, and A. Rogovich, 38th Eur. Microwave Conf., Vols. 1–3 (2008).
24. S. Franzen, L. J. Mooreand, and G. Boxer, J. Phys. Chem. B, **103** (16), 3070 (1999).
25. А. Р. Зарицкий, Г.В. Зайцева, В. И. Грачёв и М. Н. Кириченко, Радиоэлектроника. Наносистемы. Информац. технологии **8** (1), 91 (2016).
26. M. Drobizhev, P. R. Callis, R. Nifosì, et al., Sci. Rep. **5**, 12223 (2015). DOI: 10.1038/Srep13223
27. Е. Л. Пиротти, Радиоэлектроника и информатика **1**, 107 (1997).
28. Y. S. Tarahovsky, E. N. Musafarov, and Y. A. Kim, Mol. Cell. Biochem. **314** (1–2), 65 (2008).
29. А. А. Ананян, Н. П. Милютина, А. А. Плотников и В. В. Внуков, Сб. науч. трудов VI Съезда биофизиков России (Сочи, 2019), т. 1. с. 37.
30. О. Ю. Селютина, И. Е. Апанасенко, А. Г. Шилов и др., Изв. РАН. Сер. хим. **1**, 129 (2017).
31. O. Yu. Selyutina, I. E. Apanasenko, A. V. Kim, et al., Colloids Surf. B **147**, 459 (2016).
32. Е. А. Черницкий и А. В. Воробей, *Структура и функции эритроцитарных мембран* (Наука и техника, М., 1981).
33. Б. Н. Постникова и Е. А. Шеховцова, Биохимия **83** (2), 267(2018).
34. Ya. A. Ermakov, Biochemistry **56**, 5437 (2017).
35. А. Ю. Лоскутова, А. А. Девяткин и В. В. Ревин, Сб. науч. трудов VI Съезда биофизиков России (Сочи, 2019), т. 1. с. 182.
36. О. Ю. Селютина, Дис. ... канд. ф.-м. наук (Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, Новосибирск, 2017).
37. Е. А. Липунова и М. Ю. Скоркина, *Физиология крови* (Белгород, 2007).
38. Г. М. Андреюк и М. А. Кисель, Биохимия **64** (8), 1034 (1999).
39. S. G. A. McLaughlin, G. Szabo, and G. Eisenman, J. Gen. Physiol. **58**, 667 (1971).

On the Nature of the Spectral Shift of the Soret Band of Erythrocyte Oxyhemoglobin when Organic Molecules Are Added to Erythrocyte Suspension

N.L. Lavrik

Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 630090, Novosibirsk, Institutskaya ul. 3

Possible hypotheses to explain the experimentally observed shifts in the maxima of the bands of erythrocyte oxyhemoglobin with the addition of organic molecules to the suspension of erythrocytes are considered. It was shown that hypotheses based on the direct interaction of oxyhemoglobin with organic molecules, the chemical transformation of oxyhemoglobin and changes in the structure of the primembrane oxyhemoglobin are unable to explain the spectral changes in the Soret band. The hypothesis that the added organic molecules, adsorbed onto the surface of erythrocytes, change the magnitude and gradient of the electrostatic field inside the erythrocyte turned out to be consistent. As a result of these changes, there may be a deformation of the structure of the hydrophobic pocket in which the heme is located and a change in the position of the iron ion relative to the plane of the porphyrin ring. Shifts in the Soret band are a consequence of these changes.

Keywords: Soret band, oxyhemoglobin, erythrocyte surface, organic molecules, electrostatic field of erythrocyte membrane