

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2023.6.18>

Влияние регулярной физической нагрузки на дзета-потенциал и белково-углеводное строение мембраны эритроцитов человека

К.В. Пыко, С.С. Осочук

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2023. – Том 22, №6. – С. 18-24.

The effect of regular physical activity on zeta potential value and protein-carbohydrate composition of the erythrocyte membrane in humans

K.V. Pyko, S.S. Osochuk

Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2023;22(6):18-24.

Резюме.

Цель – изучить влияние регулярной физической нагрузки на белково-углеводный состав мембраны эритроцитов и величину дзета-потенциала.

Материал и методы. Объектом исследования служили образцы крови 36 мужчин в возрасте (28,5±5 лет) с регулярной нормированной физической нагрузкой и 48 мужчин в возрасте (21,5±2 года), не имеющих регулярных физических нагрузок. В эритроцитах всех обследуемых определены величина дзета-потенциала (ζ-потенциал), содержание общих сиаловых кислот, общего белка, N-ацетилнейраминной кислоты (NeuAc) и N-гликолилнейраминной кислоты (NeuGc), белка полосы 3, гликофорина A (GPA), а также концентрация нейраминидазы в плазме крови.

Результаты. В составе мембран эритроцитов лиц с регулярной физической нагрузкой выявлено снижение содержания общего белка, общих сиаловых кислот, гликофорина A, NeuAc, NeuGc, однако удельный заряд в расчете на 1 нг NeuAc и NeuGc увеличился, а на 1 нг GPA был снижен. Содержание нормированных по белку сиаловых кислот и GPA было сниженным, белка полосы 3 увеличенным.

Заключение. Регулярная физическая нагрузка в значительной степени изменяет состав мембран эритроцитов, вероятно, делая её более функциональной за счет увеличения нормированного по сиаловым кислотам ζ-потенциала и роста удельного содержания белка полосы 3.

Ключевые слова: сиаловые кислоты, дзета-потенциал, эритроцит, гликофорин A, белок полосы 3, N-ацетилнейраминная кислота.

Abstract.

Objectives. To study the effect of regular physical activity on protein-carbohydrate composition of the erythrocyte membrane and zeta potential value.

Material and methods. Blood samples of 36 men aged 28.5±5 years with regular normalized physical activity and 48 men aged 21.5±2 years without regular physical activity served as the object of the study. The value of zeta potential (ζ-potential), the content of total sialic acids, total protein, N-acetylneuraminic acid (NeuAc) and N-glycolylneuraminic acid (NeuGc), band 3 protein, glycoporphin A (GPA), as well as the concentration of neuraminidase in blood plasma were determined in erythrocytes of all subjects.

Results. In the composition of erythrocyte membranes of individuals with regular physical activity a decrease in the content of total protein, total sialic acids, glycoporphin A, NeuAc, NeuGc was revealed, but the specific charge per 1 ng of NeuAc and NeuGc increased, and per 1 ng of GPA was decreased. Protein-normalized sialic acid and GPA content was decreased, that of band 3 protein – increased.

Conclusions. Regular exercise significantly alters the composition of erythrocyte membranes, probably, making it more functional by increasing sialic acid-normalized ζ-potential and increasing specific band 3 protein content.

Keywords: sialic acids, zeta potential, erythrocyte, glycoporphin A, band 3 protein, N-acetylneuraminic acid.

Введение

Являясь превалирующим клеточным элементом крови по количеству, эритроциты выполняют важнейшую функцию транспорта кислорода и углекислого газа, а также неспецифического транспорта ряда метаболически активных соединений. Неотъемлемым компонентом транспорта кислорода в ткани эритроцитами является их способность к поступлению в микроциркуляторное русло как интегральный показатель их метаболизма и структуры во многом определяющим, в том числе, и реологические свойства крови [1]. При детальном изучении было обнаружено, что проникновение в микроциркуляторное русло – это многофакторный процесс, на который влияет состав мембраны эритроцитов, целостность, а также функциональность эндотелия, химический состав и вязкость плазмы, окружающей эритроцит, вязкость цитоплазмы эритроцита.

Важную роль в поддержании формы и деформируемости эритроцитов, а также их проникновении в микроциркуляторное русло играют их мембранные гликопротеины: гликофорин А, белок полосы 3, формирующие поверхностный отрицательный заряд за счет сиаловых кислот и через изменение конформации доменов, регулирующих состояние цитоскелета эритроцита. Чем более ригидный эритроцит, тем хуже его способность к проникновению в капилляр и доставке кислорода [2]. Также критически важным для проникновения в микроциркуляторное русло является поддержание ζ -потенциала, который препятствует адгезии эритроцитов к эндотелию и агрегации эритроцитов. По данным различных исследований, физическая нагрузка по-разному влияет на деформируемость и агрегативность красных клеток крови, и это напрямую связано с уровнем подготовленности спортсмена, а также характером и длительностью нагрузки [3]. Хорошо известно, что ζ -потенциал образуется за счет моносахаридов семейства сиаловых кислот, которые входят в состав гликопротеинов мембраны. Основными сиаловыми кислотами мембран эритроцитов являются: синтезируемая эндогенно N-ацетилнейраминная кислота (NeuAc) и поступающая с пищей N-гликолилнейраминная кислота (NeuGc). Баланс между синтезом и распадом сиаловых кислот может представлять собой ключевую точку воздействия на ζ -потенциал, что может улучшить проникновение эритроцитов в микроциркуляторное русло. Ранее нами были

описаны особенности обмена сиаловых кислот, количество которых определяется, в том числе, активностью нейраминидазы как главного фермента деградации сиаловых кислот и потенциальной мишени для воздействия на ζ -потенциал. Однако в доступных источниках отсутствует информация о влиянии физической нагрузки на содержание нейраминидазы. Некоторые исследования указывают на изменения соотношения некоторых мембранных белков под влиянием физической нагрузки [4] и создаваемым ею оксидативным стрессом [5], однако в открытых источниках отсутствует информация об изменениях ζ -потенциала и факторов, его образующих.

Цель работы – изучить влияние регулярной физической нагрузки на белково-углеводный состав мембраны эритроцитов и величину ζ -потенциала.

Материал и методы

Группа обследуемых сформирована из 36 здоровых мужчин, не являющихся профессиональными спортсменами в возрасте ($28,5 \pm 5$ лет), индексом массы тела (ИМТ $25,3 \pm 1,8$), имеющих нормированную аэробную физическую нагрузку средней и высокой интенсивности, находящихся в схожих условиях по режиму дня и питанию.

Группа сравнения (контрольная) сформирована из 48 молодых людей в возрасте ($21,5 \pm 2$ года), ИМТ ($22,9 \pm 2,8$), без хронических заболеваний, не имеющих регулярную физическую нагрузку.

Критерии включения в исследование: мужской пол, возраст 20-35 лет, отсутствие клинически значимых отклонений по результатам лабораторных (ОАК, ОАМ, БАК), инструментальных (ЭКГ) и клинических методах обследования (сбор анамнеза, осмотр врача).

Критерии невключения: отягощенный аллергологический анамнез, онкология, аутоиммунные заболевания, вегетарианство, наличие острых инфекционных заболеваний, применение любых лекарственных средств менее чем за 2 недели до начала исследований, курение, прием кофеин-содержащих продуктов менее чем за 24 часа до исследования.

При проведении сравнения исследуемых показателей в зависимости от возрастной группы (юношеский и первый период зрелого возраста, согласно классификации В.В. Бунак, 1965) не было обнаружено статистически значимых раз-

личий определяемых показателей, что позволило объединить исследуемых в одну группу, независимо от их возраста, для дальнейшего анализа.

Забор крови осуществлялся в одноразовые вакутайнеры с ЭДТА в утренние часы, натощак. Эритроциты отмывали в фосфатно-солевом буфере (5 мМ NaH_2PO_4 , 150 мМ NaCl) и ресуспендировали буфером Hepes 50 мМ с подсчетом количества клеток в камере Горяева. ζ -потенциал эритроцитов регистрировали в суспензии (1×10^6 клеток/мл) методом электрофоретического светорассеяния на анализаторе Zetasizer Nano ZS («Malvern Instruments», Великобритания). Измерения проводили в U-образной кювете с позолоченными электродами при pH 7.4 и температуре 25°C [6]. Выделение мембран эритроцитов проводили по методу Доджа фосфатно-солевыми буферами. Измерение концентрации белка в мембранах осуществлялась методом Лоури. Оценка содержания общего пула сиаловых кислот осуществлялась набором Сиалотест-100 (РФ). Из полученных клеточных мембран кислотным гидролизом (1М Трифторуксусная кислота в течение 4-х часов при 80°C) выделяли моносахариды: Neu5Ac и Neu5Gc. Для отделения пула сиаловых кислот пробы центрифугировали при 10000g 60 минут при температуре 21°C. Затем производили флуоресцентную маркировку моносахаридов в темных пробирках 90 минут при 56°C с помощью 120 мМ Трифторуксусной кислоты и раствора DMB (6.9 мМ DMB, 500 мМ β -меркаптоэтанол и 0,19% бисульфита натрия). Измерение концентрации Neu5Ac и Neu5Gc производилось методом ВЭЖХ с помощью аппарата Agilent. 1100, оборудованным колонкой HPLC Column ACE Equivalence, C18, 110 Å, 3 μm , 4.6 x 150 mm и флуоресцентным детектором. Температура колонки 40°C, настройки флуоресцентного детектора 373 нм возбуждение, 448 нм излучение. Подвижная фаза метанол/ацетонитрил/вода 6:8:86 готовилась в день проведения испытания и дегазировалась вакуумным насосом перед использованием. Для измерения инжескировали 10 мкл пробы при скорости потока 0,5 мл/мин. Полное время анализа составляло 40 минут. В качестве стандарта использовались меченные флуоресцентной меткой растворы Neu5Ac и Neu5Gc с концентрацией 60 мг/л. Для количественного анализа рассчитывали площадь интересующих пиков сиаловой кислоты, используя операционное программное обеспечение ВЭЖХ аппарата. Время удерживания Neu5Gc ожидалось на 5-8

минут после закола пробы, а Neu5Ac на 9-12 минут после инжескирования пробы [7]. Реальное время удерживания в исследовании для Neu5Gc оказалось на 5 минуте, а для Neu5Ac на 11 минуте.

Для определения содержания нейраминидазы, белка полосы 3 и гликофорина А использовали иммуноферментные наборы CUSABIO (Human Sialidase ELISA Kit), FineTest (Human band 3 ELISA Kit) и Cloud-Clone (ELISA Kit for Human Glycophorin A). Измерения производили на ИФА анализаторе Ф 300ТП (Беларусь).

Для предварительной обработки и статистического анализа данных был использован программный пакет R версии 4.2.2 (2022-10-31 ucrt). Для оценки распределения исследуемых признаков был применен критерий Шапиро-Уилка. В случае, если исследуемые признаки имели гауссовское распределение, для сравнения использовались параметрические методы, в противном случае - непараметрические методы. Парное сравнение проводилось с использованием критерия Стьюдента или критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Для множественного сравнения был применен ANOVA (с применением поправки Уэлча в случае гетерогенности дисперсий исследуемых признаков) или H-критерий Краскела-Уоллиса. Анализ post hoc выполнялся с использованием критерия Тьюки или критерия H-критерия Краскела-Уоллиса в модификации Данна с применением поправки на множественные сравнения по методу Бенджамини-Иекутиели. Статистически значимые различия считались при p-значении менее 0.05.

Результаты

Анализ содержания общих сиаловых кислот в мембране эритроцитов (табл. 1) показал статистически значимо более высокое их содержание в группе сравнения ($12,52 \pm 23,63$), чем в исследуемой группе ($4,64 \pm 0,22$) $p=0,001$.

Средняя концентрация NeuAc у исследуемой группы составляла ($31,36 \pm 9,90$), тогда как у лиц контрольной группы она составляла ($42,94 \pm 17,06$) $p=0,001$. Аналогично, средняя концентрация NeuGc в исследуемой группе составляла ($16,29 \pm 11,20$), в то время как у контрольной она составляла ($82,71 \pm 139,31$) $p=0,0377$. Таким образом, содержание общих сиаловых кислот у лиц с регулярной физической нагрузкой снижена за счет снижения содержания как NeuAc, так и NeuGc.

Таблица 1 – Уровень исследуемых показателей

Показатель	Контрольная	Исследуемая	p-значение
Нейраминидаза, нг/мл	0,50±0,38	0,53±0,48	0,8661
Белок полосы 3, нг/мл	1,77±0,25	1,72±0,28	0,3935
Гликофорин А, нг/мл	0,41±0,19	0,33±0,06	0,001
Белок общий, мг/мл	101,55±50,83	63,58±27	0,001
Сиаловые кислоты общие, моль/мл	12,52±23,63	4,64±0,22	0,001
Дзета-потенциал, мВ	-28,41±1,66	-28,37±1,93	0,9295
NeuAc, нг/мл	42,94±17,06	31,36±9,90	0,001
NeuGc, нг/мл	82,71±139,31	16,29±11,20	0,0377

Таблица 2 – Значения нормированных показателей

Показатель	Группа		p-значение
	Контрольная	Исследуемая	
ζ-потенциал / мг сиаловых кислот	-5,56±2,06	-6,12±0,54	0,0928
ζ-потенциал / мг NeuAc	-0,77±0,36	-1,00±0,37	0,001
ζ-потенциал / мг NeuGc	-1,5±0,9	-1,54±0,59	0,05
ζ-потенциал / белок полосы 3	-1,64±0,33	-1,69±0,31	0,294
ζ-потенциал / мг GPA	-18,52±5,79	-17,02±1,11	0,0407
Белок полосы 3 / мг белка	23,01±13,81	29,76±10,35	0,001
GPA / мг белка	2,89±1,48	2,1±1,02	0,001
Сиаловые кислоты/ мг белка	0,26±0,77	0,08±0,03	0,0029
NeuAc / мг белка	0,56±0,41	0,58±0,33	0,4458
NeuGc / мг белка	0,72±1,07	0,33±0,23	0,9228
NeuAc / NeuGc	1,97±1,32	1,84±0,74	0,5766
Нейраминидаза /сиаловые кислоты	9,13±8,27	9,86±10,48	0,2537
Нейраминидаза / NeuAc	1,41±1,38	1,79±1,73	0,1031
Нейраминидаза / NeuGc	2,99±2,88	2,47±2,81	0,8514

Анализ концентрации общего белка в мембранах эритроцитов показал, что значения у исследуемой группы (63,58±27,78) ниже, в то время как у контрольной она была более высокой (101,55±50,83) p=0,001.

Количественное определение концентрации гликофорина А в мембранах эритроцитов выявило статистически значимое снижение у лиц с регулярной физической нагрузкой (0,37±0,06) по сравнению с контрольной (0,49±0,19) p=0,001.

Несмотря на то, что содержание гликофорина А было снижено у лиц с регулярными физическими упражнениями, величина дзета-потенциала не отличалась от такового в контрольной группе, также отсутствовали отличия в содержании белка полосы 3. Концентрация нейраминидазы в сыворотке крови не показала статистически значимой разницы между группами.

Однако при подсчете показателей, нормированных по белку и сиаловым кислотам (табл.

2), было выявлено, что удельное содержание GPA в отношении концентрации общих белков мембраны статистически значимо снижено у лиц с регулярной физической нагрузкой (0,97±0,01) при сравнении с контрольной группой (0,98±0,01) p=0,001.

Доля концентрации белка полосы 3 в общем пуле белков больше у лиц с регулярной физической нагрузкой (29,76±10,35), нежели у контрольной (23,01±13,81) p=0,001.

Удельный ζ-потенциал в расчете на суммарные сиаловые кислоты с ошибкой 9% был выше у лиц с регулярной физической нагрузкой (-5,56±2,06 и -6,12±0,54 соответственно, p=0,09), при этом нормированный по Neu5Ac и Neu5Gc ζ-потенциал был статистически значимо выше у лиц с регулярными физическими нагрузками (таблица 2 p=0,001 и 0,05 соответственно).

Удельный ζ-потенциал рассчитанный на содержание GPA, статистически значимо ниже у лиц с регулярной физической нагрузкой (p=0,04).

Анализ удельного ζ -потенциала, рассчитанного на содержание белка полосы 3, не показал статистически значимых отличий между группами ($p=0,294$).

Удельные показатели нейраминидазы к общему содержанию сиаловых кислот ($p=0,2537$), а также к каждой из них (NeuAc $p=0,1031$, NeuGc $p=0,8514$) не показал статистически значимых различий между группами.

Обсуждение

Физическая активность, по данным Thirupathi A. et al., 2021, усиливает оксидативный стресс, что приводит к различным изменениям в структурах мембран большинства клеток организма, в том числе эритроцитов. Поскольку эритроцит лишен аппарата синтеза белка, то это приводит к накоплению в нем структурных изменений. Причем влияние краткосрочного воздействия и длительного будет различным, а регулярная нагрузка неизбежно задействует адаптационные механизмы для поддержания функциональности красных кровяных клеток и организма в целом. В литературе имеются данные о влиянии оксидативного стресса на содержание сиаловых кислот в составе мембран эритроцитов при старении человека [8], возможно, выявленное нами снижение содержания сиаловых кислот также обусловлено ростом активности окислительных процессов, однако в литературных источниках отсутствует информация, объясняющая полученный результат. Вместе с тем, экспериментальные исследования на крысах, проведенные [9], показали, что физическая нагрузка снижает количество сиаловых кислот в мембранах эритроцитов, что подтверждает полученные нами результаты при обследовании людей.

Выявленное снижение содержания NeuAc, вероятнее всего, связано либо с уменьшением её синтеза, либо с ускорением её деградации. Вместе с тем, увеличение ζ -потенциала, рассчитанного на 1 нг NeuAc, свидетельствует о высоком вкладе карбоксильных групп в составе NeuAc при формировании отрицательного заряда [10]. Возможно, данная особенность обусловлена преобладающим количеством молодых форм эритроцитов (вышедших из костного мозга и находящихся в кровеносном русле менее 30 дней) [11]. Падение содержания NeuGc может быть отчасти обусловлено особенностями пищевого рациона лиц исследуемой группы в сравнении с группой сравнения [12]. Кроме того, снижение

абсолютного содержания NeuGc может обуславливаться более медленным ее встраиванием в состав мембраны, что было показано в модельном эксперименте [13]. Вместе с тем, рост удельного ζ -потенциала в расчете на эту кислоту, вероятно, обусловлен, как и в случае с NeuAc, повышенным обновлением пула эритроцитов у лиц с высокой физической нагрузкой.

Увеличение удельного содержания белка полосы 3 может способствовать лучшей адаптации к физической нагрузке, поскольку этот белок отвечает за транспорт углекислого газа из тканей в эритроцит и из эритроцита в легкие и, таким образом, регулирует конформационные переходы гемоглобина в эффекте Вериги-Бора [14]. Кроме того, было показано в эксперименте на мышах, что повышенное гликозилирование белка полосы 3 является одним из адаптационных механизмов поддержания величины ζ -потенциала [15], а сам белок необходим для формирования цитоскелета, поскольку его удаление из эритроцита в экспериментах приводило к сфероцитозу и повышенному гемолизу. Такая точка зрения подтверждается и в работе [16], указывающей на то, что дефицит GPA не влияет на плотность заряда, а компенсируется повышенным гликозилированием белка полосы 3.

Химически существует несколько дериватов NeuAc, однако на данный момент отсутствуют данные относительно их вклада в поверхностный заряд, их процентное соотношение в составе гликопротеинов, а также влияния физической нагрузки на их синтез при созревании в красном костном мозге.

Возможно, изменение удельного ζ -потенциала связано и с продукцией различных дериватов NeuAc, которые могут вызвать изменения функциональной активности мембраны и всего эритроцита. Однако это предположение требует дополнительных исследований.

О возможной причине выявленных изменений говорится в работе, указывающей о смене циркулирующих эритроцитов на их молодые формы под влиянием физической нагрузки [17]. Полное удаление сиаловых кислот с поверхности эритроцита не влияет на их деформируемость, однако нет данных относительно возможности таких клеток проникать в микроциркуляторное русло и осуществлять эффективный транспорт кислорода. Ранние исследования [18] демонстрируют, что снижение содержания сиаловых кислот на поверхности эритроцитов служит триггером

для элиминации красных клеток из кровотока и способствует обновлению пула эритроцитов, что может наблюдаться у лиц из группы с повышенными физическим нагрузками.

Заключение

1. Регулярная физическая нагрузка снижает абсолютную концентрацию общего белка, сиаловых кислот, NeuAc, NeuGc и гликофорина А в составе мембран эритроцитов.

2. Удельный ζ -потенциал, рассчитанный на NeuAc и NeuGc, а также нормированное по общему белку содержание белка полосы 3 в составе мембран эритроцитов у лиц с регулярной физической нагрузкой больше, что может свидетельствовать о более высоком количестве молодых эритроцитов и активности переноса ими кислорода.

Литература

1. Erythrocytes Are Oxygen-Sensing Regulators of the Cerebral Microcirculation / H. S. Wei [et al.] // *Neuron*. – 2016 Aug. – Vol. 91, N 4. – P. 851–862.
2. Saldanha, C. Human Erythrocyte Acetylcholinesterase in Health and Disease / C. Saldanha // *Molecules*. – 2017 Sep. – Vol. 22, N 9. – P. 1499.
3. Fernandes, H. P. Electrical properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation / H. P. Fernandes, C. L. Cesar, M. L. Barjas-Castro // *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* – 2011. – Vol. 33, N 4. – P. 297–301.
4. Remigante, A. Band 3 protein function and oxidative stress in erythrocytes / A. Remigante, R. Morabito, A. Marino // *J. Cell. Physiol.* – 2021 Sep. – Vol. 236, N 9. – P. 6225–6234.
5. Effect of Different Exercise Modalities on Oxidative Stress: A Systematic Review / A. Thirupathi [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2021 Feb. – Vol. 2021. – Art. 1947928.
6. Monitoring of the Zeta Potential of Human Cells upon Reduction in Their Viability and Interaction with Polymers / O. Bondar [et al.] // *Acta Naturae*. – 2012 Jan. – Vol. 4, N

1. – P. 78–81.
7. Paul, W. Metabolic Glycoengineering of Sialic Acid Using N-acyl-modified Mannosamines / W. Paul, H. Rudiger // *J. Vis. Exp.* 2017. Vol. 129. Art. e55746.
8. Mehdi, M. Erythrocyte sialic acid content during aging in humans: correlation with markers of oxidative stress / M. Mehdi, P. Singh, S. I. Rizvi // *Dis. Markers*. – 2012. – Vol. 32, N 3. – P. 179–186.
9. Adhesion of erythrocytes to endothelial cells after acute exercise: differences in red blood cells from juvenile and adult rats / A. T. Artmann [et al.] // *Physiol. Res.* – 2006. – Vol. 55, N 4. – P. 381–388.
10. Роль экстраклеточного Ca^{2+} в регуляции распределения и конформации гемоглобина в эритроцитах / О. В. Слатинская [et al.] // *Биол. мембраны*. – 2021. – Т. 38, № 3. – С. 199–208. doi: 10.31857/S0233475521030099
11. Restoring the youth of aged red blood cells and extending their lifespan in circulation by remodelling membrane sialic acid / Y.-X. Huang [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2016 Feb. – Vol. 20, N 2. – P. 294–301.
12. Schauer, R. Sialic acids as regulators of molecular and cellular interactions / R. Schauer // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2009 Oct. – Vol. 19, N 5. – P. 507–514.
13. Varki, A. N-glycolylneuraminic acid deficiency in humans / A. Varki // *Biochimie*. – 2001 Jul. – Vol. 83, N 7. – P. 615–622.
14. Exhaustive running exercise induce tyrosine phosphorylation of band 3 in rat erythrocytes / Y. Xiong [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem*. – 2013. – Vol. 32, N 4. – P. 1060–1071.
15. Glycophorin A requirement for expression of O-linked antigens on the erythrocyte membrane / N. Arimitsu [et al.] // *Genes Cells*. – 2003 Sep. – Vol. 8, N 9. – P. 769–777.
16. Anion exchanger 1 (band 3) is required to prevent erythrocyte membrane surface loss but not to form the membrane skeleton / L. Peters [et al.] // *Cell*. – 1996 Sep. – Vol. 86, N 6. – P. 917–927.
17. Supramaximal exercise mobilizes hematopoietic progenitors and reticulocytes in athletes / G. Morici [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2005 Nov. – Vol. 289, N 5. – P. R1496–R1503.
18. Human red blood cell aging: correlative changes in surface charge and cell properties / Y.-X. Huang [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2011 Dec. – Vol. 15, N 12. – P. 2634–2642.

Поступила 17.10.2023 г.

Принята в печать 20.12.2023 г.

References

1. Wei HS, Kang H, Rasheed I-YD, Zhou S, Lou N, Gershteyn A, et al. Erythrocytes Are Oxygen-Sensing Regulators of the Cerebral Microcirculation. *Neuron*. 2016 Aug;91(4):851-62. doi: 10.1016/j.neuron.2016.07.016
2. Saldanha C. Human Erythrocyte Acetylcholinesterase in Health and Disease. *Molecules*. 2017 Sep;22(9):1499. doi: 10.3390/molecules22091499
3. Fernandes HP, Cesar CL, Barjas-Castro ML. Electrical properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2011;33(4):297-301. doi: 10.5581/1516-8484.20110080
4. Remigante A, Morabito R, Marino A. Band 3 protein function and oxidative stress in erythrocytes. *J Cell Physiol*. 2021 Sep;236(9):6225-34. doi: 10.1002/jcp.30322
5. Thirupathi A, Wang M, Lin JK, Fekete G, István B, Baker JS, et al. Effect of Different Exercise Modalities on Oxidative Stress: A Systematic Review. *Biomed Res Int*. 2021 Feb;2021:1947928. doi: 10.1155/2021/1947928
6. Bondar OV, Saifullina DV, Shakhmaeva II, Mavlyutova II, Abdullin TI. Monitoring of the Zeta Potential of Human Cells upon Reduction in Their Viability and Interaction with Polymers. *Acta Naturae*. 2012 Jan;4(1):78-81.
7. Paul W, Rudiger H. Metabolic Glycoengineering of Sialic

- Acid Using N-acyl-modified Mannosamines. *J Vis Exp*. 2017;129:e55746. doi: 10.3791/55746
8. Mehdi M, Singh P, Rizvi SI. Erythrocyte sialic acid content during aging in humans: correlation with markers of oxidative stress. *Dis Markers*. 2012;32(3):179-86. doi: 10.3233/DMA-2011-0871
 9. Artmann AT, Akhisaroglu M, Sercan Z, Resmi H, Kayatekin BM, Yorukoglu K, et al. Adhesion of erythrocytes to endothelial cells after acute exercise: differences in red blood cells from juvenile and adult rats. *Physiol Res*. 2006;55(4):381-8. doi: 10.33549/physiolres.930818
 10. Slatinskaya OV, Brazhe NA, Orlov SN, Maksimov GV. Role of extracellular Ca²⁺ in the regulation of hemoglobin distribution and conformation in erythrocytes. *Biol Membrany*. 2021;38(3):199-208. (In Russ.). doi: 10.31857/S0233475521030099
 11. Huang Y-X, Tuo W-W, Wang D, Kang L-L, Chen X-Y, Luo M. Restoring the youth of aged red blood cells and extending their lifespan in circulation by remodelling membrane sialic acid. *J Cell Mol Med*. 2016 Feb;20(2):294-301. doi: 10.1111/jcmm.12721
 12. Schauer R. Sialic acids as regulators of molecular and cellular interactions. *Curr Opin Struct Biol*. 2009 Oct;19(5):507-14. doi: 10.1016/j.sbi.2009.06.003
 13. Varki A. N-glycolylneuraminic acid deficiency in humans. *Biochimie*. 2001 Jul;83(7):615-22. doi: 10.1016/s0300-9084(01)01309-8
 14. Xiong Y, Li Y, Xiong Y, Zhao Y, Tang F, Wang X. Exhaustive running exercise induce tyrosine phosphorylation of band 3 in rat erythrocytes. *Cell Physiol Biochem*. 2013;32(4):1060-71. doi: 10.1159/000354506
 15. Arimitsu N, Akimitsu N, Kotani N, Takasaki S, Kina T, Hamamoto H, et al. Glycophorin A requirement for expression of O-linked antigens on the erythrocyte membrane. *Genes Cells*. 2003 Sep;8(9):769-77. doi: 10.1046/j.1365-2443.2003.00674.x
 16. Peters LL, Shivdasani RA, Liu SC, Hanspal M, John KM, Gonzalez JM, et al. Anion exchanger 1 (band 3) is required to prevent erythrocyte membrane surface loss but not to form the membrane skeleton. *Cell*. 1996 Sep;86(6):917-27. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80167-1
 17. Morici G, Zangl D, Santoro A, Pelosi E, Petrucci E, Gioia M, et al. Supramaximal exercise mobilizes hematopoietic progenitors and reticulocytes in athletes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005 Nov;289(5):R1496-503. doi: 10.1152/ajpregu.00338.2005
 18. Huang Y-X, Wu Z-J, Mehrishi J, Huang B-T, Chen X-Y, Zheng X-J, et al. Human red blood cell aging: correlative changes in surface charge and cell properties. *J Cell Mol Med*. 2011 Dec;15(12):2634-42. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01310.x

Submitted 17.10.2023

Accepted 20.12.2023

Сведения об авторах:

К.В. Пыко – аспирант кафедры общей и клинической биохимии с курсом ФПК и ПК, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
e-mail: pykokiril@gmail.com – Пыко Кирилл Владимирович;
С.С. Осочук – д.м.н., профессор, зав. научно-исследовательской лабораторией, Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Information about authors:

K.V. Pyko – postgraduate of the Chair of General & Clinical Biochemistry with the course of the Faculty for Advanced Training & Retraining, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University,
e-mail: pykokiril@gmail.com – Kirill V. Pyko;
S.S. Osouchuk – Doctor of Medical Sciences, professor, head of the research laboratory, Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University.