

УДК 577.322.75

ВЛИЯНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО ГИПОХЛОРИТОМ ОКИСЛЕНИЯ НА СТРУКТУРУ ФИБРИНОГЕНА, САМОСБОРКУ ФИБРИНА И ФИБРИНОЛИЗ

© 2024 г. Л. В. Юрина^{1*}, А. Д. Васильева¹, Е. Г. Евтушенко²,
Е. С. Гаврилина¹, С. И. Обыденный^{3,4}, И. А. Чабин^{3,5}, М. И. Индейкина¹,
А. С. Кононихин^{6,7}, Е. Н. Николаев^{6,7}, М. А. Розенфельд¹

¹Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук, Москва, Россия

²Химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³“Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева” Минздрава России, Москва, Россия

⁴Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук, Москва, Россия

⁵Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

⁶Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова Российской академии наук, Москва, Россия

⁷“Сколковский институт науки и технологий”, Москва, Россия

*E-mail: lyu.yurina@gmail.com

Поступила в редакцию 23.03.2023

После доработки 13.04.2023

Принята к публикации 20.04.2023

Статья посвящена изучению структурно-функциональных повреждений фибриногена, обработанного гипохлоритом HOCl в диапазоне его концентраций (10–100 мкМ). Методом тандемной масс-спектрометрии обнаружено 15 модифицированных аминокислотных остатков, демонстрирующих дозозависимую чувствительность к воздействию окислителя. Методами турбидиметрии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии показано, что окисление фибриногена под действием 25–100 мкМ HOCl приводит к образованию более плотного сгустка, отложенному началу полимеризации и уменьшению наклона полимеризационной кривой предположительно за счет конформационных изменений в молекуле белка. В то же время при низкой концентрации HOCl (10 мкМ) по меньшей мере шесть аминокислотных остатков уже значимо модифицированы (на 9–29%), но функционально такой окисленный белок не отличим от нативного. Предполагается, что обнаруженные аминокислотные остатки могут играть роль поглотителей активных форм кислорода, препятствующих нарушению функций фибриногена.

Ключевые слова: фибриноген, фибриновый гель, окисление, высокоэффективная жидкостная хроматография, тандемная масс-спектрометрия, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия.

DOI: 10.31857/S0207401X24040109 **EDN:** VEBMSO

ВВЕДЕНИЕ

Фибриноген (ФГ), гликопротеин с молекулярной массой 340 кДа, играет ключевую роль в формировании фибриновой сети и агрегации тромбоцитов. Недавние данные указывают на то, что при некоторых патологических состояниях окислительный стресс способствует образованию сгустков с аномальной структурой. Окисление ФГ способствует образованию плотного тромбогенного сгустка, устойчивого к плазминовому гидролизу [1]. Эта модифицированная фибриновая сеть

может в значительной степени способствовать развитию тромбов.

Хлорноватистая кислота (HOCl) является сильным окислителем, обладающим мощными антибактериальными свойствами, и продуцируется *in vivo* активированными лейкоцитами как часть системы иммунной защиты млекопитающих [2]. С другой стороны, HOCl задействована в процессах повреждения тканей, которые наблюдаются при широком спектре воспалительных заболеваний, включая атеросклероз, муковисцидоз,

болезнь почек и нейродегенеративные заболевания. Обычно при окислении белковых молекул под действием HOCl наблюдаются модификации аминокислотных остатков (АКО) Met, Cys, боковых цепей ароматических АКО (преимущественно Trp) и хлорирование боковых цепей Tyr [3].

В ранее проведенных работах нами были выявлены участки окислительных модификаций молекулы фибриногена при индуцированном окислении. Был проанализирован вклад этих модификаций в нарушение структуры и функции исследуемого белка [4–6]. Полученные данные демонстрировали способность молекулы ФГ сохранять структурную целостность функционально важных АКО при окислении. Это позволило нам сделать вывод о том, что структура ФГ адаптирована к действию активных форм кислорода (АФК), и предположить, что некоторые АКО выполняют функцию внутримолекулярных перекрестков АФК, не влияющих на биологическую функцию белка. Цель данной работы – выявление таких сайтов модификации с использованием низких концентраций окислителя. Также в рамках данной работы с помощью методов турбидиметрии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ) были исследованы кинетика формирования и статичная структура фибринового сгустка, а также кинетика плазминового гидролиза гелей в норме и при окислении.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы

Объединенный пул образцов донорской плазмы крови был получен от ФГБУ “НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева” Минздрава России. Фибриноген был выделен из цитратной плазмы крови методом глицинового осаждения [7] и обработан (1 мг/мл) HOCl с разными концентрациями (0, 10, 25, 50 и 100 мкМ) в течение 1 ч при температуре 37 °С. Реакцию останавливали путем добавления десятикратного избытка L-метионина [8–10].

Окислительные сайты выявляли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) на системе, состоящей из хроматографа Dionex Ultimate 3000 производства компании Thermo Fisher Scientific (USA), соединенного с масс-спектрометром TIMS TOF

Pro компании Bruker Daltonics, (USA) [11]. При подготовке проб образцы обрабатывались дитиотреитолом для восстановления дисульфидных связей с последующим алкилированием йодацетамидом и гидролизом трипсином (Promega, USA). Все эксперименты повторялись трижды. Триптические пептиды были идентифицированы с помощью программного обеспечения PEAKS Studio (V. 8.5, Bioinformatics Solutions Inc., Waterloo, On, Canada). Процент окислительной модификации АКО рассчитывали как количество пептидов, содержащих данную окисленную аминокислоту, нормированное на сумму всех форм пептида (окисленных и неокисленных), содержащих этот аминокислотный остаток. Каждый из АКО, чей прирост процента окисления по сравнению с контролем составлял не менее 1%, считался модифицированным.

Скорость полимеризации фибрина и изменения мутности сгустка при гидролизе оценивали в течение 1 ч на спектрофотометре при длине волны $\lambda = 350$ нм. Полимеризацию фибрина инициировали путем добавления к 200 мкл раствора ФГ (1 мг/мл) 50 мкл раствора тромбина (0.5 ед./мл) [12]. При измерении скорости гидролиза к смеси ФГ и тромбина добавляли 30 мкл плазминогена (0.1 мг/мл) и 2.5 мкл стрептокиназы (0.05 мг/мл) [13]. Все растворы были приготовлены в буфере, содержащем 44 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 5 мМ CaCl_2 , при pH 7.4.

Визуализацию статичной структуры фибринового сгустка, а также кинетики плазминового гидролиза гелей проводили методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии с использованием флуоресцентной метки флуоресцеин изотиоционата (ФИТЦ). В первом типе экспериментов использовали ФГ с добавкой ФИТЦ–ФГ, во втором – немеченый ФГ и ФИТЦ–плазминоген. Получение конъюгатов белков с ФИТЦ проводили в 0.1 М бикарбонатном буфере (pH 9.0) в течение 2 ч при (+4 °С) и постоянном перемешивании. Реакцию останавливали получасовой инкубацией с 30 мМ гидроксиламин гидрохлорида (pH 8.5). Для очистки конъюгата от непрореагировавшей метки смесь центрифугировали в течение 1 мин при 16000 g на микроцентрифужных колонках с Sephadex G-25. Степень мечения и концентрацию белка контролировали спектрофотометрически.

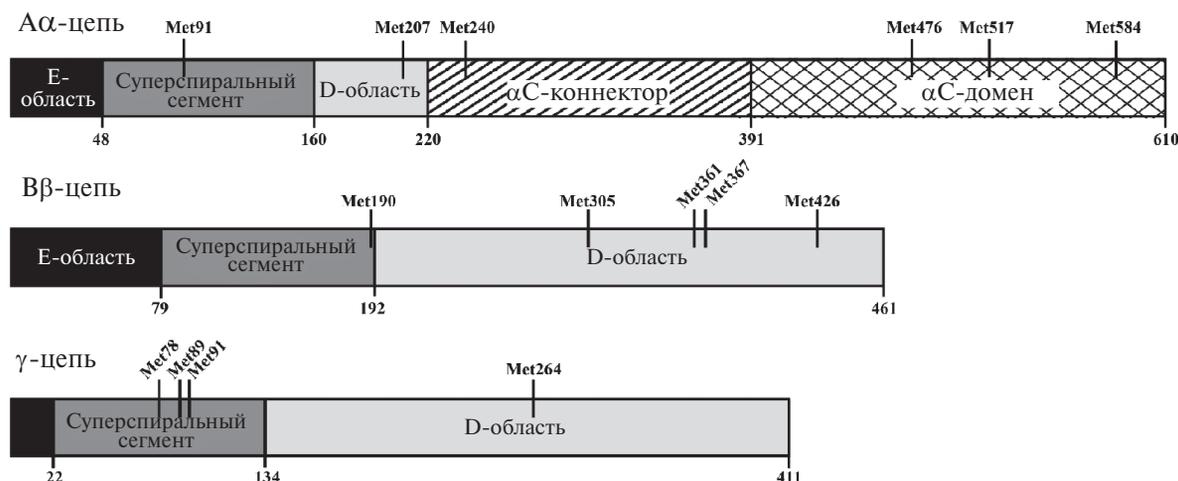


Рис. 1. Схематическое изображение полипептидных цепей фибриногена с отмеченными сайтами модификаций.

Для изучения статичной структуры фибринового геля к смеси немеченого и ФИТЦ-меченого ФГ соотношении (9 : 1) добавляли тромбин (5 нМ) и CaCl_2 (5 мМ), общий объем образца доводили до 60 мкл буфером 20 мМ HEPES с pH 7.4, содержащим 140 мМ NaCl, и инкубировали в течение 1 ч при +37 °С во влажной камере. Для получения микрофотографий использовали микроскоп Zeiss Axio Observer Z1 с конфокальным модулем CSU-X1M 5000 производства компании Carl Zeiss, Jena (Germany) с масляным объективом 100×.

Для визуализации кинетики гидролиза фибринового геля и распределения плазмينا в сгустке смешивали 3 мкМ ФГ, 5 мМ CaCl_2 , 5 нМ тромбина, 0.3 мкМ ФИТЦ–плазминогена и стрептокиназу (соотношение стрептокиназы к плазминогену 1 : 50 в финальном разведении) [14]. Общий объем образца доводили до 60 мкл буфером 20 мМ HEPES с pH 7.4, содержащим 140 мМ NaCl. Съемку сгустка проводили с интервалом в 30 с (отсчет времени от добавления тромбина) с использованием того же микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Методом масс-спектрометрии были проанализированы образцы нативного ФГ и обработанного гипохлоритом в следующих концентрациях 10, 25, 50 и 100 мкМ HOCl. Дозозависимый прирост окисления продемонстрировали 15 детектированных АКО: АαMet91, АαMet207, АαMet240, АαMet476, АαMet517, АαMet584, ВβMet190, ВβMet305, ВβMet361, ВβMet367, ВβMet426, γMet78, γMet94, γMet89, γMet264. Среди моди-

фикаций, обнаруженных в этих АКО, имеются случаи образования метионина сульфоксида и метионина сульфона вследствие присоединения одного (изменение монопольной массы составляет +15.99) или двух (+31.99) атомов кислорода к боковой цепи и отщепления метантиола от боковой цепи Met (–48.00), см. табл. 1. Модифицированные в результате индуцированного окисления АКО были обнаружены во всех трех полипептидных цепях и всех структурных областях молекулы ФГ (рис. 1), за исключением E-области.

Скорость полимеризации фибрина оценивали по изменению мутности при $\lambda = 350$ нм. (рис. 2а и табл. 2). При повышении концентрации окислителя HOCl наблюдаются отсроченное время начала полимеризации и уменьшение максимального наклона полимеризационной кривой, что свидетельствует о замедлении процесса гелеобразования. Также значительно снижается значение максимальной оптической плотности (на 9% при $[\text{HOCl}] = 25$ мкМ, на 46% при $[\text{HOCl}] = 50$ мкМ, и на 92% при $[\text{HOCl}] = 100$ мкМ), т.е. гель становится более прозрачным, что указывает на изменение его структуры.

При измерении мутности при гидролизе сгустка (рис. 2б и табл. 3), начиная с концентрации 25 мкМ HOCl, в образцах наблюдается снижение максимальной оптической плотности, при концентрации окислителя 50 мкМ происходит значительный сдвиг максимума оптической плотности кривой во времени в сторону увеличения. При концентрации HOCl 25 мкМ скорость снижается в 1.2 раза по сравнению с контролем, а при $[\text{HOCl}] = 100$ мкМ – в 3.2 раза.

Таблица 1. Обнаруженные детектированные модификации аминокислотных остатков (АКО) молекулы фибриногена и соответствующие изменения моноизотопной массы при концентрации HOCl 10, 25, 50 и 100 мкМ

АКО	Прирост количества пептидов, содержащих модифицированный АКО, %				Тип модификации	Изменение моноизотопной массы
	10	25	50	100		
А α -цепь						
Met91	2	5	8	39	+O; -CH ₃ SH	+15.99; -48.00
Met207	6	8	12	46	+O; -CH ₃ SH	+15.99; -48.00
Met240	5	6	10	38	+O; -CH ₃ SH	+15.99; -48.00
Met476	9	14	41	53	+O	+15.99
Met517	16	22	41	48	+O	+15.99
Met584	9,9	22	70	82	+O	+15.99
В β -цепь						
Met190	1	3	12	28	+O; -CH ₃ SH	+15.99; -48.00
Met305	2	5	11	30	+O; -CH ₃ SH	+15.99; -48.00
Met361	0	2	4	9	+O; +2O	+15.99; +31.99
Met367	17	15	39	70	+O	+15.99
Met426	0	0	6	12	+O	+15.99
γ -цепь						
Met78	0	0	3	19	+O	+15.99
Met89	1	2	7	12	+O	+15.99
Met94	29	43	63	71	+O	+15.99
Met264	12	28	27	27	+O	+15.99

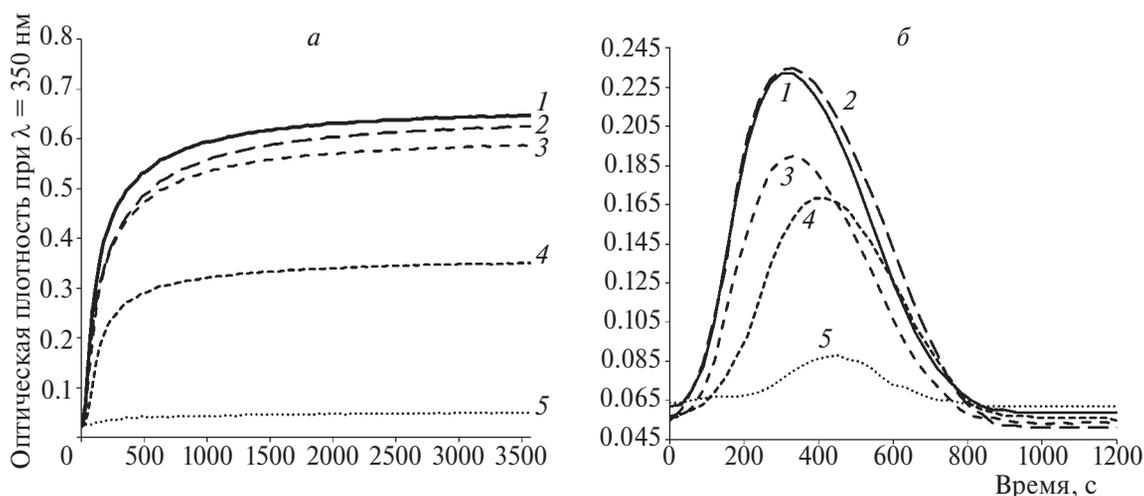


Рис. 2. Репрезентативные кривые катализируемой тромбином полимеризации фибрина (а) и фибринолиза (б) при следующих значениях $[\text{HOCl}]$ в мкМ: 1 – 0, 2 – 10, 3 – 25, 4 – 50, 5 – 100.

Полученные методом КЛСМ изображения фибринового геля из ФИТЦ-меченого фибриногена позволяют визуализировать изменения в статической структуре сгустка (рис. 3, левый столбец). Образцы гелей, полученных из нативного и обработанного 10 мкМ гипохлорита, не показали значительных различий в структуре. При $[\text{HOCl}] = 25$ и 50 мкМ отчетливо видно уплотнение геля и меньший размер гелевых пор по сравнению с

нативным образцом. При повышении концентрации HOCl до 100 мкМ не удалось получить фибриновые гели с выраженной структурой.

Для исследования методом КЛСМ кинетики гидролиза фибринового геля и распределения в нем плазмينا гель получали из немеченого ФГ. На первом этапе ФИТЦ-меченный плазмин(оген) связывается с волокнами фибрина, визуализируя

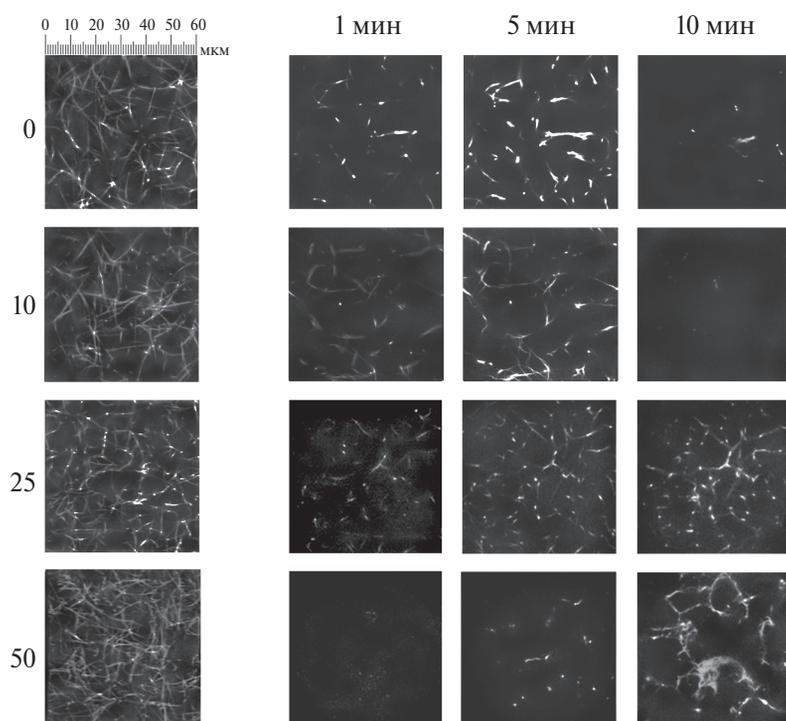


Рис. 3. Изменение статичной структуры фибринового сгустка (левый столбец; при концентрации НОСl 0, 10, 25, 50 мкМ) и динамика распределения плазмин(оген)а при фибринолизе (столбцы 2–4).

Таблица 2. Характеристики кривой полимеризации фибрина

Концентрация НОСl, мкМ	Максимальная оптическая плотность при $\lambda = 350$ нм	Время начала полимеризации, с	Максимальный наклон кривой (полимеризация), $D_{350}, 10^{-3} \text{с}^{-1}$
0	0.65	17	3.4
10	0.63	17	3.3
25	0.59	23	2.7
50	0.35	25	1.8
100	0.05	33	0.1

Таблица 3. Характеристики кривой гидролиза фибринового геля

Концентрация НОСl, мкМ	Максимальная оптическая плотность при $\lambda = 350$ нм	Время начала полимеризации, с	Максимальный наклон кривой (гидролиз), $D_{350}, 10^{-3} \text{с}^{-1}$
0	0.23	330	0.53
10	0.24	330	0.53
25	0.19	330	0.43
50	0.17	390	0.4
100	0.09	450	0.17

структуру сети. С течением времени происходит гидролиз геля (рис. 3, столбцы 2–4). Нативный ФГ и обработанный 10 мкМ НОСl демонстрируют схожую динамику: визуализация фибриновой сети начинается уже с конца первой минуты, к 5-й минуте сеть визуализирована полностью, а к 10-й

минуте наблюдается почти полный ее гидролиз. Для ФГ, обработанного 25 и 50 мкМ окислителя, процессы визуализации геля и его гидролиза в существенной мере замедлены.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании молекулы фибриногена методом ВЭЖХ–МС/МС дозозависимую чувствительность к воздействию окислителя продемонстрировали 15 АКО. Ранее сообщалось, что метионины А α Met476, В β Met367 и γ Met78 наиболее склонны к воздействию НОС1 [1]. Десять из детектированных АКО, модифицированных ОС1⁻, наблюдали ранее при обработке гипохлоритом: А α Met91, А α Met207, А α Met476, А α Met517, В β Met367, В β Met426, γ Met78, γ Met94, γ Met89, γ Met264 [4].

Методом турбидиметрии было зафиксировано снижение значения максимальной оптической плотности сгустка и замедление процесса фибринолиза при концентрации окислителя 25–100 мкМ. Уменьшение мутности фибринового геля свидетельствует о повышении плотности сети за счет образования более тонких фибрилл. Известно, что фибриновые гели с приобретенной в результате окисления уплотненной структурой проявляют повышенную резистентность к плазминовому гидролизу [1]. Полученные данные были визуализированы и подтверждены методом КЛСМ. Все детектированные АКО, принадлежащие функционально значимым областям фибриногена [15–17], оставались незатронутыми окислением. На основе этого можно предположить, что изменения структуры фибринового сгустка, нарушения в процессе полимеризации и фибринолиза при окислении обусловлены конформационными перестройками в окисленном белке, а не являются следствием прямого повреждения функциональных участков молекулы.

Описанные выше функциональные нарушения не были обнаружены при обработке ФГ окислителем НОС1 с концентрацией 10 мкМ. Однако при анализе ВЭЖХ–МС/МС были детектированы 13 окислительных модификаций, среди которых А α Met476, А α Met517, А α Met584, В β Met367, γ Met94, γ Met264 были уже значимо модифицированы (прирост на 9, 16, 10, 17, 29 и 12% по сравнению с контролем соответственно). Мы предполагаем, что этот набор АКО может выполнять роль перехватчика АФК, предотвращая нарушения функции молекулы ФГ в результате окисления.

В работе использовали оборудование ЦКП ИБХФ РАН.

Исследование было проведено при поддержке грантом Российского научного фонда № 21-74-00146.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Weigandt K.M., White N., Chung D. et al. // *Biophys. J.* 2012. V. 103. № 11. P. 2399. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.10.036>
2. Klebanoff S.J. // *J. Leukocyte Biology.* 2005. V. 77. № 5. P. 598. <https://doi.org/10.1189/jlb.1204697>
3. Hawkins C.L., Pattison D.I., Davies M.J. // *Amino Acids.* 2003. V. 25. № 3–4. P. 259. <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0016-x>
4. Yurina L.V., Vasilyeva A.D., Bugrova A.E. et al. // *Dokl Biochem Biophys.* 2019. V. 484. № 1. P. 37. <https://doi.org/10.1134/S1607672919010101>
5. Yurina L.V., Vasilyeva A.D., Indeykina M.I. et al. // *Free Radical Research.* 2019. V. 53. № 4. P. 430. <https://doi.org/10.1080/10715762.2019.1600686>
6. Васильева А.Д., Юрина Л.В., Азарова Д.Ю. и др. // *Хим. физика.* 2022. Т. 41. № 2. С. 51. <https://doi.org/10.31857/S0207401X220201455>
7. White N.J., Wang Y., Fu X. et al. // *Free Radical Biol. Med.* 2016. V. 96. P. 181. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.023>
8. Lau W.H., White N.J., Yeo T.W. et al. // *Sci Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 15691. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94401-3>
9. Шегалихин А.Н., Васильева А.Д., Юрина Л.В. и др. // *Хим. физика.* 2021. Т. 40. № 2. С. 66. <https://doi.org/10.31857/S0207401X21020151>
10. Вассерман Л.А., Юрина Л.В., Васильева А.Д. и др. // *Хим. физика.* 2021. Т. 40. № 11. С. 59. <https://doi.org/10.31857/S0207401X21110108>
11. Васильев Е.С., Карпов Г.В., Шартава Д.К. и др. // *Хим. физика.* 2022. Т. 41. № 5. С. 10. <https://doi.org/10.31857/S0207401X22050119>
12. Weisel J.W., Nagaswami C. // *Biophys. J.* 1992. V. 63. № 1. P. 111. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(92\)81594-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(92)81594-1)
13. Kaufmanova J., Stikarova J., Hlavackova A. et al. // *Antioxidants.* 2021. V. 10. № 6. P. 923. <https://doi.org/10.3390/antiox10060923>
14. Sakharov D.V., Nagelkerke J.F., Rijken D.C. // *Biol. Chem.* 1996. V. 271. № 4. P. 2133. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.4.2133>
15. Pechik I., Madrazo J., Mosesson M.W. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2004. V. 101. № 9. P. 2718. <https://doi.org/10.1073/pnas.0303440101>
16. Weisel J.W., Litvinov R.I. // *Fibrous Proteins: Structures and Mechanisms.* Cham: Springer Intern. Publ. 2017. V. 82. P. 405. https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0_13
17. Medved L., Weisel J.W. // *Thromb Haemost.* 2022. V. 122. № 8. P. 1265. <https://doi.org/10.1055/a-1719-5584>

THE EFFECT OF HYPOCHLORITE-INDUCED FIBRINOGEN OXIDATION ON THE PROTEIN STRUCTURE, FIBRIN SELF-ASSEMBLY AND FIBRINOLYSIS

L. V. Yurina^{a*}, A. D. Vasilyeva^a, E. G. Evtushenko^b, E. S. Gavrilina^a, S. I. Obydennyi^{c, d}, I. A. Chabin^{c, e}, M. I. Indeykina^a, A. S. Kononikhin^{f, g}, E. N. Nikolaev^{f, g}, M. A. Rosenfeld^a

^aEmanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Russia,

^bLomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry, Moscow, Russia,

^cDmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology of Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia,

^dCentre for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Moscow, Russia,

^eSechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia,

^fTalrose Institute for Energy Problems of Chemical Physics, N.N. Semenov Federal Center of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia,

^gSkolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

*E-mail: lyu.yurina@gmail.com

The article is dedicated to the structural-functional damage of fibrinogen treated with HOCl in the concentration range (10–100 μM). The MS/MS method detected 15 modified amino acid residues with a dose-dependent susceptibility to the oxidizing agent. Using turbidity measurements and confocal laser scanning microscopy, it has been shown that fibrinogen oxidation by 25–100 μM HOCl leads to the denser fibrin gel formation, as well as delayed polymerization onset and a decrease in the slope of the polymerization curve, presumably due to conformational changes of the protein. At lower HOCl concentration (10 μM), at least six amino acid residues were substantially modified (9–29%), but functionally such modified protein was not distinguishable from the native one. The detected amino acid residues are assumed to be ROS scavengers that prevent fibrinogen functions alteration.

Keywords: fibrinogen, fibrin gel, oxidation, HPLC-MS/MS, confocal laser scanning microscopy (CLSM).

REFERENCES

1. K. M. Weigandt, N. White, D. Chung, et al., *Biophys. J.* **103** (11), 2399–2407 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2012.10.036>
2. S. J. Klebanoff, *J Leukocyte Biology.* **77** (5), 598–625 (2005). <https://doi.org/10.1189/jlb.1204697>
3. C. L. Hawkins, D. I. Pattison, M. J. Davies, *Amino Acids.* **5** (3–4), 259–274 (2003). <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0016-x>
4. L. V. Yurina, A. D. Vasilyeva, A. E. Bugrova, et al., *Dokl. Biochem. Biophys.* **484** (1), 37–41 (2019). <https://doi.org/10.1134/S1607672919010101>
5. L. V. Yurina, A. D. Vasilyeva, M. I. Indeykina, et al., *Free Radical Res.* **53**(4), 430–455 (2019). <https://doi.org/10.1080/10715762.2019.1600686>
6. A. D. Vasilieva, L. V. Yurina, D. Y. Azarova, et al., *Russ. J. Phys. Chem. B* **16**, 118–122 (2022). <https://doi.org/10.1134/S1990793122010316>
7. N. J. White, Y. Wang, X. Fu, et al., *Free Rad. Biol. Med.* **96**, 181–189 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.04.023>
8. W. H. Lau, N. J. White, T. W. Yeo, et al., *Sci. Rep.* **11**(1), 15691 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94401-3>
9. A. N. Shchegolikhin, A. D. Vasilyeva, L. V. Yurina, et al., *Russ. J. Phys. Chem. B* **15** (1), 123–130 (2021). <https://doi.org/10.1134/S1990793121010279>
10. L. A. Wasserman, L. V. Yurina, A. D. Vasilieva, et al., *Russ. J. Phys. Chem. B* **15** (6), 1036 (2021). <https://doi.org/10.1134/S1990793121060105>
11. E. S. Vasiliev, G. V. Karpov, D. K. Shartava, et al., *Russ. J. Phys. Chem. B* **16** (3), 388–394 (2022). <https://doi.org/10.1134/S1990793122030113>
12. J. W. Weisel, C. Nagaswami, *Biophys. J.* **63** (1), 111–128 (1992). [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(92\)81594-1](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(92)81594-1)
13. J. Kaufmanova, J. Stikarova, A. Hlavackova, et al., *Antioxidants* **10** (6), 923 (2021). <https://doi.org/10.3390/antiox10060923>
14. D. V. Sakharov, J. F. Nagelkerke, D. C. Rijken, *J. Biol. Chem.* **271** (4), 2133–2138 (1996). <https://doi.org/10.1074/jbc.271.4.2133>
15. I. Pechik, J. Madrazo, M. W. Mosesson, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **101** (9), 2718–2723 (2004). <https://doi.org/10.1073/pnas.0303440101>
16. J. W. Weisel, R. I. Litvinov, *Fibrous Proteins: Struct. Mechan. Cham: Springer International Publishing*, **82**, 405–456 (2017). https://doi.org/10.1007/978-3-319-49674-0_13
17. L. Medved, J. W. Weisel, *Thromb Haemost.* **122** (8), 1265–1278 (2022). <https://doi.org/10.1055/a-1719-5584>