

эритропоэтина, полученные при выделении, соединяли, концентрировали ультрафильтрацией, замораживали и хранили при  $-80^{\circ}\text{C}$ . На рисунке изображена хроматограмма, полученная при выделении эритропоэтина из лекарственного препарата.

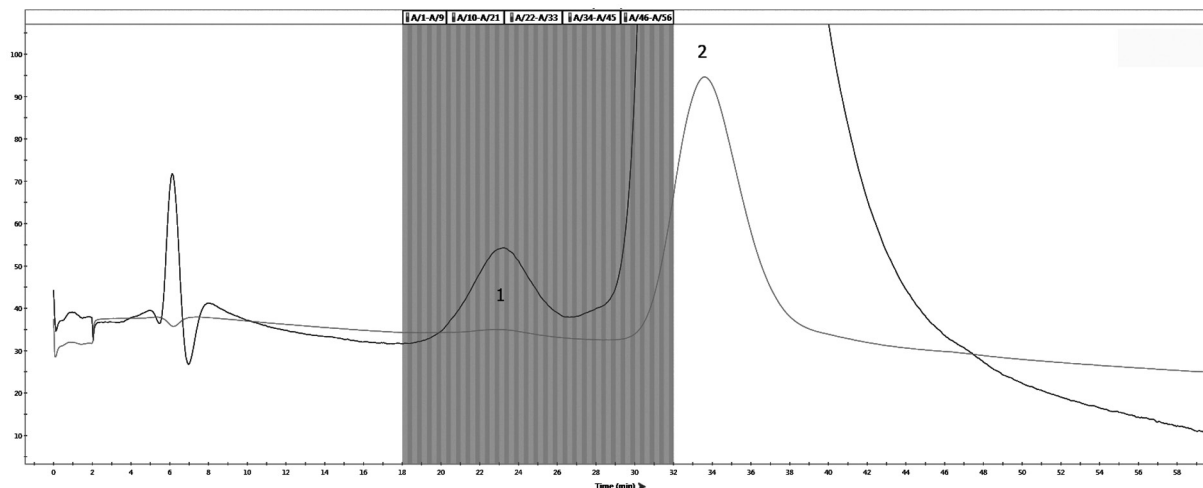


Рисунок – Хроматограмма выделения эритропоэтина из лекарственного препарата. Пик 1 – эритропоэтин человека, пик 2 – человеческий сывороточный альбумин

Контроль чистоты эритропоэтина проводили методом ВЭЖХ на сверхвысокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent 1290 Infinity LC System (Agilent Technologies, Inc., США) с использованием обращенно-фазной колонки BioBasic C8  $2,1 \times 150$  мм «Thermo» (США). Детекция соединений осуществлялась с помощью диодноматричного (DAD) детектора на длинах волн 214 и 280 нм.

В настоящей работе с использованием ионообменной хроматографии был разработан метод выделения эритропоэтина из лекарственного препарата, который содержит в качестве вспомогательного вещества значительное количество альбумина. Данный метод позволяет получить фракцию эритропоэтина из лекарственных препаратов с целью контроля его качества, а также может быть использован для дальнейших разработок подходов детекции генно-инженерного эритропоэтина в биологических образцах.

## МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧНОГО И РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ ЦИНКА НА ЭРИТРОЦИТЫ ЧЕЛОВЕКА

### MECHANISMS OF THE TOXIC AND REGULATORY ACTION OF ZINC IONS ON HUMAN ERYTHROCYTES

Ю. М. Гармаза

Y. Harmaza

ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»

г. Минск, Республика Беларусь

garmaza@yandex.ru

Institute of biophysics and cell engineering of National academy of sciences of Belarus,  
Minsk, Republic of Belarus

Изучены механизмы действия ионов цинка в физиологических, фармакологических и токсичных концентрациях на функционирование эритроцитов человека (редокс-баланс, жизнеспособность, перераспределение фосфатидилсерина в липидном бислое). Продемонстрирована связь цинкового гомеостаза с индукцией программируемой гибели эритроцитов и выявлено участие внутриклеточного лабильного пула  $\text{Zn}^{2+}$  в формировании защитных механизмов клеток при окислительном стрессе в норме и при развитии сахарного диабета II типа.

The mechanisms of zinc ions action in physiological, pharmacological and toxic concentrations on human erythrocytes functioning (redox-balance, viability, phosphatidylserine redistribution in lipid bilayer) were studied. The relationship of zinc homeostasis with the programmed erythrocytes death induction was demonstrated and the role of the intracellular labile zinc pool  $\text{Zn}^{2+}$  in the formation of protective mechanisms of cells under oxidative stress in the norm and under the development of diabetes mellitus type II was revealed.

**Ключевые слова:** ионы цинка, эритроциты человека, эриптоз, сахарный диабет, лабильный пул цинка, жизнеспособность клеток, окислительный стресс, металлотионеины.

*Keywords:* zinc ions, human erythrocytes, eryptosis, diabetes mellitus, labile pool of zinc, cell viability, oxidative stress, metallothioneins.

На сегодняшний день цинк ( $Zn^{2+}$ ) считается одним из жизненно важных микроэлементов организма человека. К основным факторам, обуславливающих его преимущества наряду с другими ионами металлов, можно отнести: отсутствие биологической окислительно-восстановительной активности; участие цинка в роли антиоксиданта и в качестве сильной кислоты Льюиса. Однако в научной литературе до сих пор широко обсуждается вопрос о количестве цинка, необходимого для нормального функционирования клеток. Известно, что его физиологическая концентрация в сыворотке крови человека составляет 2–15 мкМ, в то время как цитозольный свободный уровень в большинстве клеток чрезвычайно низкий (<1 нМ). Этот факт свидетельствует о существовании контроля свободного цинка внутри клетки, который чувствителен к различного рода патофизиологическим изменениям [1–2].

Цель работы – изучить связь цинкового гомеостаза с функционированием эритроцитов человека (в частности с индукцией программируемой гибели эритроцитов – эриптоза) и выявить участие внутриклеточного лабильного пула  $Zn^{2+}$  в формировании защитных механизмов клеток при окислительном стрессе в норме и при патологии.

Используя специфический ионофор, внутриклеточный и внеклеточный хелаторы для  $Zn^{2+}$ , продемонстрировано существование специфических рецепторов на поверхности эритроцитов и внутриклеточных депо, отвечающих за поддержание цинкового гомеостаза. В то же время было показано, что увеличение цитозольного пула лабильного  $Zn^{2+}$  свыше 100 нМ приводит к запуску процессов эриптоза, а цитотоксические эффекты цинка обусловлены внутриклеточными молекулярными механизмами, приводящими к выходу  $Zn^{2+}$  из клеточных депо.

Выявлена обратная зависимость между изменением внутриклеточного пула лабильного цинка и эстеразной активности эритроцитов при моделировании окислительного стресса, используя пероксид водорода *in vitro*. Это свидетельствует о прямом участии  $Zn^{2+}$  в запуске эриптоза и о том, что дисбаланс «прооксиданты / антиоксиданты» в пользу первых выступает в качестве триггера данного процесса. Установлено, что одним из механизмов, приводящих к высвобождению  $Zn^{2+}$  из внутриклеточных связывающих сайтов в эритроцитах человека при  $H_2O_2$ -индуцированном окислительном стрессе, может являться уменьшение количества небелковых тиольных групп за счет снижения уровня восстановленного глутатиона.

Оценка цитозольного пула лабильного цинка в эритроцитах периферической крови пациентов с сахарным диабетом II типа выявила снижение его количества, что, по-видимому, является индуктором в нарушении редокс-статуса клеток, проявляющееся в уменьшении концентрации восстановленного глутатиона и увеличении экспрессии цистеин-обогащенных низкомолекулярных белков металлотиионеинов.

Полученные результаты свидетельствуют о существовании в эритроцитах человека механизмов регуляции лабильного пула цинка и тонкой концентрационной грани между его «эссенциальными» и токсичными свойствами, нарушение которой может привести к запуску патологических процессов, что было продемонстрировано на примере сахарного диабета II типа в этиопатогенезе которого цинковый гомеостаз играет важную роль [3].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гармаза, Ю. М. Эссенциальность и токсичность цинка. Биофизические аспекты / Ю. М. Гармаза, Е. И. Слобожанина // Биофизика. – 2014. – Т. 59. – Вып. 2. – С. 322–337.
2. Гармаза, Ю. М. Металлотиионеины млекопитающих: структура и их биологическая роль / Ю. М. Гармаза, А. В. Тамашевский, Е. И. Слобожанина // Известия НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2016. – № 1. – С. 107–116.
3. Intracellular zinc in insulin secretion and action: a determinant of diabetes risk? / G.A. Rutter [et al.] // Proc. Nutr. Soc. – 2015. – V. 1. – P. 1–12.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ, ОБЛАДАЮЩИХ СТИМУЛИРУЮЩИМ ВЛИЯНИЕМ НА РОСТ И КАРОТИНОГЕНЕЗ У ДРОЖЖЕЙ *RHODOTORULA GLUTINIS* БИМ Y-253

### STUDY OF FACTORS THAT HAVE A STIMULATING EFFECT ON GROWTH AND CAROTENOGENESIS IN YEAST *RHODOTORULA GLUTINIS* BIM Y-253

**К. М. Герасимович<sup>1, 2</sup>, Н. В. Бесараб<sup>2</sup>, А. В. Кантерова<sup>2</sup>, Г. И. Новик<sup>2</sup>**  
**K. Gerasimovich<sup>1, 2</sup>, N. Besarab<sup>2</sup>, A. Kanterova<sup>2</sup>, G. Novik<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
info@iseu.by

<sup>2</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

<sup>1</sup> Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup> Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

С каждым годом всё больший интерес для науки и таких отраслей народного хозяйства, таких как химическая, пищевая промышленность, косметология и фармацевтика представляют каротиноиды, что тре-