

## АНОТАЦІЯ

*Чабаненко О.О.* Реакція еритроцитів ссавців на постгіпертонічний шок і видалення кріопротектору після заморожування. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії у галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню дії факторів кріопошкодження на еритроцити ссавців під час розморожування та на етапі видалення гліцерину (дегліцеринізація), а також розробці підходів, які дозволяють підвищити стійкість клітин із залученням амфіфільних сполук, що належать до різних класів поверхнево-активних речовин.

На даний час в Україні запаси донорської крові людини суттєво обмежені внаслідок зменшення кількості донорів, поширення захворювань, що передаються з кров'ю, та збільшення попиту на неї за умов надзвичайних ситуацій і проведення бойових дій. Кріоконсервування еритроцитів при низьких та наднизьких температурах дозволяє постійно мати їх у наявності продовж тривалого терміну. Останнім часом все більш приділяється увага пошуку шляхів модернізації існуючих методів довгострокового зберігання еритроцитів, а саме – на вдосконалення процедури дегліцеринізації.

Успіхи в цьому напрямку неможливі без проведення фундаментальних досліджень у напрямку поширення уявлень щодо механізмів кріопошкодження та кріозахисту клітин. Постгіпертонічний шок еритроцитів моделює вплив на еритроцити факторів, які діють на етапі розморожування, а також після перенесення у кров'яне русло клітин, кріоконсервованих під захистом проникного кріопротектору.

Використання амфифільних сполук, що належать до різних класів поверхнево-активних речовин, для дослідження особливостей розвитку постгіпертонічного гемолізу еритроцитів ссавців, які відрізняються білково-ліпідним складом їх мембран, дозволить сформуванню цілісного уявлення щодо механізму антигемолітичної дії амфифільних сполук за умов постгіпертонічного шоку. Амфифільні сполуки, що застосовувалися в роботі, характеризуються різним трансбішаровим розподілом у мембрані: неіонний децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозид та аніонний децилсульфат натрію вбудовуються в зовнішній моношар ліпідного бішару і викликають трансформацію клітин за типом дискоцит-ехіноцит; катіонні трифторперазин і хлорпромазин – у внутрішньому моношарі з супутньою зміною форми клітин за типом дискоцит-стоматоцит.

У дисертаційній роботі *вперше* показано антигемолітичну активність амфифільних сполук, які належать до різних класів поверхнево-активних речовин, за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів ссавців (людина, кролик, щур) за температури 0°C. Порівняльний аналіз ефективності амфифільних сполук за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів різних видів ссавців виявив наступне: для еритроцитів людини величини максимальної антигемолітичної активності усіх амфифільних сполук сумірні і знаходяться в діапазоні 60-70%; для клітин кролика більш ефективними є аніонний децилсульфат натрію та неіонний децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозид ( $AG_{\text{макс}}$  активність становила 71 та 72% відповідно), а для еритроцитів щура – катіонні хлорпромазин і трифторперазин ( $AG_{\text{макс}}$  активність – 81 і 84% відповідно). На підставі того факту, що амфифільні сполуки, які належать до різних класів поверхнево-активних речовин, проявляють антигемолітичну активність за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів, можна вважати, що для запобігання розвитку гемолітичної пори на етапі регідратації клітин важливою є наявність або відсутність заряду, а саме амфифільність сполук.

Для оцінки стану клітин, які збереглися після сумісної дії постгіпертонічного шоку і амфифільних сполук (при 0°C), використовували тест, пов'язаний з нагріванням еритроцитів до 37°C. *Отримані результати* свідчать, що еритроцити людини, які збереглися після сумісної дії постгіпертонічного шоку (0°C) і децилсульфату натрію (400 мкмоль/л), є стійкими до подальшого нагрівання (до 37°C), а після застосування трифторперазину (150 мкмоль/л) і децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозиду (600 мкмоль/л) – чутливими до підвищення температури. При цьому в присутності трифторперазину розвиток гемолізу еритроцитів спостерігається за температури 20°C і вище, а при використанні децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозиду – тільки за 37°C.

Проведення мікроскопічних досліджень дозволило простежити за поведінкою окремо взятих еритроцитів, які збереглися після сумісної дії постгіпертонічного шоку і амфифільних сполук (0°C), за умов підвищення температури. У разі використання трифторперазину у зразку за температур 4–12°C присутні еритроцити з ознаками стоматоцитозу. У процесі подальшого нагрівання зразку відбувається розвиток двох подій: клітини набувають ознак сферостоматоцитозу, а їх кількість у полі зору зменшується. При використанні децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозиду за 4–8°C в зразку спостерігаються округлі клітини, які з підвищенням температури (від 12 до 28°C) набувають ознак ехіноцитозу, а при подальшому підвищенні температури (37°C) з'являються тіні еритроцитів. Після використання аніонного децилсульфат натрію та підвищення температури незначно збільшується розмір клітин, але їх кількість не змінюється.

Результати вивчення чутливості еритроцитів людини, попередньо насичених гліцерином, до дії постгіпертонічного шоку показали, що постгіпертонічний гемоліз клітин залежить від використовуваної концентрації кріопротектору і температури експерименту. Виявлено, що у присутності гліцерину (у концентраціях 5, 10, 15%) за температури 37°C

підвищується рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів тільки у разі використання високої концентрації (15%) кріопротектору, тоді як за температури 0°C гліцерин викликає підвищення постгіпертонічного гемолізу в усьому концентраційному діапазоні. Рівні постгіпертонічного гемолізу еритроцитів у присутності гліцерину (15%) за температур 0 та 37°C суттєво відрізняються (38 та 93% відповідно) на відміну від контрольних клітин. Результати вивчення температурної залежності постгіпертонічного гемолізу еритроцитів, попередньо оброблених гліцерином (15%), показали різке зниження рівня гемолізу еритроцитів (приблизно в 3 рази) в температурному діапазоні 5-25°C.

Зважаючи на те що, рівень постгіпертонічного гемолізу еритроцитів визначається умовами середовища дегідратації, тому вивчали чутливість еритроцитів до дії постгіпертонічного шоку за умов використання комбінованих середовищ, які містять проникний гліцерин і непроникний хлорид натрію в різних співвідношеннях (загальна осмоляльність 2370 мОсм/л) на етапі дегідратації. У вищевказаних умовах гліцерин в концентрації 2-7% у складі комбінованих середовищ не викликав додаткового пошкодження еритроцитів порівняно з контролем (середовище дегідратації 7% NaCl), тоді як гліцерин в концентрації (11-15%) призводив до підвищення постгіпертонічного гемолізу еритроцитів за температури 37 і 0°C. Це свідчить про те, що розвиток постгіпертонічного гемолізу еритроцитів людини не визначається загальною осмоляльністю комбінованого середовища на етапі дегідратації.

Слід зазначити, що використання амфифільних речовин за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів, попередньо оброблених гліцерином (15%), дозволяє нівелювати раніше виявлену пошкоджувальну дію кріопротектору.

Гліцерин є проникним кріопротектором, тому після розморожування еритроцитів необхідний етап його видалення з клітин. У роботі після

насичення і врівноваження еритроцитів із кріоконсервантом на основі гліцерину (ЦНДІГПК 11<sub>4</sub>) суспензію еритроцитів швидко заморожували шляхом занурення в рідкий азот ( $-196^{\circ}\text{C}$ ). Після розморожування еритроцитів здійснювали процедуру видалення кріопротектору з клітин способом трикратного серійного центрифугування.

Вперше виявлено, що за умов дегліцеринізації еритроцитів людини, заморожених до  $-196^{\circ}\text{C}$  під захистом гліцерину (15%), трифторперазин, децилсульфат натрію та децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозид знижують рівень гемолізу клітин і проявляють при цьому високу антигемолітичну активність (42, 52 і 74% відповідно).

Порівняльний аналіз отриманих в роботі результатів свідчить про те, що як за умов моделі постгіпертонічного шоку, так і при видаленні гліцерину з розморожених еритроцитів усі амфифільні сполуки, незалежно від характеру їх трансмембранного розподілу, знижують рівень гемолізу та мають високу антигемолітичну активність. Оскільки захисний ефект амфифільних сполук виявлено у модельному експерименті та за умов заморожування-розморожування еритроцитів людини, можна підтвердити доцільність застосування моделі постгіпертонічного шоку для вивчення дії факторів кріопошкоджень на клітини.

На підставі отриманих результатів і аналізу літературних даних можна припустити, що як за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів, так і при дегліцеринізації клітин ефективність амфифільних речовин, швидше за все, обумовлена їх здатністю вбудовуватися в мембрану в місця формування дефектів, і у такий спосіб значно збільшувати критичний гемолітичний об'єм клітин і, як наслідок, запобігати їх руйнуванню.

**Ключові слова:** еритроцити ссавців, постгіпертонічний шок, постгіпертонічний гемоліз, гліцерин, дегліцеринізація, амфифільні сполуки.

## ANNOTATION

*Chabanenko O.O.* Response of mammalian erythrocytes to posthypertonic shock and cryoprotectant removal after freezing. – The qualifying scientific paper as a manuscript.

Thesis for the scientific degree of Doctor of Philosophy in 09 – Biology in specialty 091 – Biology. – Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis is devoted to research the effect of the factors of cryopreservation on mammalian erythrocytes during thawing and at the stage of glycerol removal (deglycerolization) and the development of approaches, improving the stability of cells involving amphiphilic compounds belonging to different classes of surfactant.

Currently the stocks of human donor blood in Ukraine are significantly limited by a reduced number of donors, spread of bloodborne diseases, and increased demand for blood due to emergencies and conducting the military operations. Cryopreservation of erythrocytes at low and very low temperatures allows their constant availability for a long term. Recently, more attention is paid to finding the ways to improve the existing methods of long-term storage of erythrocytes, namely, to boost the method of deglycerolization.

Progress in this area is impossible without fundamental research aimed at expanding the understanding of the mechanisms of cells cryodamage and cryoprotection. Posthypertonic shock of erythrocytes simulates the effect on them by the factors acting during the thawing stage, as well as during the transfer into the bloodstream of cells cryopreserved under the protection of a penetrating cryoprotective agent.

The usage of amphiphilic compounds belonging to different classes of surfactants in the study of the development of posthypertonic hemolysis of erythrocytes for different mammalian species, differing by protein-lipid

composition of their membranes, will provide a holistic notion of the mechanism of antihemolytic action of amphiphilic compounds under conditions of posthypertonic shock. The amphiphilic compounds used in this research are characterized with different transbilayer distribution in membrane, i.e.: nonionic decyl- $\beta$ , D-glucopyranoside and anionic sodium decyl sulfate are incorporated into the outer monolayer of the lipid bilayer and cause the transformation of discocyte-echinocyte; cationic trifluoperazine and chlorpromazine are done into the inner monolayer with accompanying change of the cells shape on the type of discocyte-stomatocyte.

In the thesis the antihemolytic activity of amphiphilic compounds belonging to different classes of surfactants under a posthypertonic shock of mammalian erythrocytes (human, rabbit, rat) at a temperature of 0°C was for the first time shown. Comparative analysis of the effectiveness of amphiphilic compounds under posthypertonic shock of erythrocytes of different mammalian species revealed the following: for human erythrocytes, the values of maximum antihemolytic activity of all amphiphilic compounds are comparable and were within range of 60-70%; for rabbit cells anionic sodium decyl sulfate and nonionic decyl- $\beta$ , D-glucopyranoside are more effective ( $AH_{max}$  activity was 71 and 72%, respectively), and for rat erythrocytes those were cationic chlorpromazine and trifluoperazine ( $AH_{max}$ %), i.e. 81 and 84%. Based on the fact that amphiphilic compounds belonging to different classes of surfactants exhibit an antihemolytic activity under posthypertonic shock of erythrocytes it can be assumed that to prevent the development of hemolytic pores at the rehydration stage not the presence or absence of a charge, but namely the amphiphilic features of compounds is important.

To assess the state of cells preserved after the combined action of posthypertonic shock and amphiphilic compounds (at 0°C), a test involving the heating of erythrocytes to 37°C was used. The findings testify that human erythrocytes, preserved after the combined action of posthypertonic shock (0°C)

and sodium decyl sulfate (400  $\mu\text{mol/L}$ ) are resistant to further heating (up to 37°C), and after usage of trifluoperazine (150  $\mu\text{mol/L}$ ) and decyl- $\beta$ ,D-glucopyranoside (600  $\mu\text{mol/L}$ ) they are sensitive to temperature rise. In the presence of trifluoperazine, the development of hemolysis of erythrocytes is observed at a temperature of 20°C and higher, and when using decyl- $\beta$ , D-glucopyranoside it is found only at 37°C.

Performed microscopic studies enabled to track the behavior of individual erythrocytes preserved after a combined action of posthypertonic shock and amphiphilic compounds (at 0°C) with temperature increase. When using trifluoperazine the sample have erythrocytes with the signs of stomatocytosis at temperatures of 4–12°C. In the process of further heating of the sample, two events are developing: the cells acquire the signs of spherostomatocytosis, and their number in the field of view is sharply reduced. When using decyl- $\beta$ ,D-glucopyranoside at 4–8°C the sample there are found roundish cells, which with the temperature increase (from 12 up to 28°C) acquire the signs of echinocytosis, and with a further temperature rise (37°C) the erythrocytes' ghosts appear. After using the anionic sodium decyl sulfate and the temperature rise, the cell size is slightly enhanced, but without changing the amount.

The results of studying the sensitivity of human erythrocytes, pre-saturated with glycerol, to the action of posthypertonic shock showed that posthypertonic hemolysis of cells depends on the used concentration of cryoprotective agent and temperature of the experiment. It was found that in the presence of glycerol (in concentrations of 5, 10, 15%) at a temperature of 37°C increased the level of posthypertonic hemolysis of erythrocytes only when using a high concentration (15%) of cryoprotective agent, while at a temperature of 0°C the glycerol causes an increased posthypertonic hemolysis throughout the concentration range. Levels of posthypertonic hemolysis of erythrocytes in the presence of glycerol (15%) at temperatures of 0 and 37°C strongly differ (38 and 93%, respectively) in contrast to the control cells. The results of studying the



temperature dependence of posthypertonic hemolysis of erythrocytes pre-treated with glycerol (15%) showed a sharp decrease in the level of hemolysis of erythrocytes (approximately 3 times) within the temperature range of 5–25°C.

Due to the fact that the posthypertonic hemolysis level of erythrocytes is determined by dehydration medium conditions, therefore we studied the sensitivity of erythrocytes under posthypertonic shock using the combined media containing penetrating glycerol and non-penetrating sodium chloride in various ratios (total osmolality 2,370 mOsm/L). Under the above conditions, 2-7% glycerol in the combined media did not cause additional damage of erythrocytes compared to control (dehydration medium 7% NaCl), while glycerol at a concentration (11-15%) led to an increased posthypertonic hemolysis of erythrocytes at 37 and 0°C. This suggests that the development of posthypertonic hemolysis of human erythrocytes is not determined by total osmolality of the combined medium at the dehydration stage.

It should be noted that the usage of amphiphilic compounds under conditions of posthypertonic shock of erythrocytes, pre-treated with glycerol (15%), allows the neutralization of the level the previously detected damaging effect of cryoprotective agent.

Glycerol is a permeable cryoprotective agent, so after thawing of erythrocytes, a stage of its removal from cells is necessary. In our work, after saturation and equilibration of erythrocytes with glycerol-based cryopreservative (CSRIHBT 11<sub>4</sub>), the erythrocyte suspension was rapidly frozen by immersion into liquid nitrogen (–196°C). After thawing of erythrocytes, the cryoprotective agent from the cells was removed by the method of three-fold serial centrifugation.

For the first time it was found that under deglycerolization of human erythrocytes frozen to –196°C under the protection of glycerol (15%), trifluoperazine, sodium decyl sulfate and decyl-β, D-glucopyranoside reduced

the level of hemolysis of cells and showed a high antihemolytic activity (42, 52 and 74% respectively).

Comparative analysis of obtained results in this work showed that both under the posthypertonic shock model and glycerol removal from thawed erythrocytes, all amphiphilic compounds, regardless of their transmembrane distribution, reduced hemolysis and had a high antihemolytic activity. Since the protective effect of amphiphilic compounds was found in a model experiment and under conditions of freeze-thawing of human erythrocytes, it is possible to confirm the expediency of using the posthypertonic shock model to study the effect of cryodamage factors on cells.

Based on the results and published reports' analysis, we can assume that both under posthypertonic shock of erythrocytes and deglycerolization of cells, the effectiveness of amphiphilic compounds is apparently stipulated by their ability to incorporate into the membrane at the sites of defect formation, and thereby significantly increase the critical hemolytic volume of cells and, as a consequence, prevent their destruction.

**Key words:** mammalian erythrocytes, posthypertonic shock, posthypertonic hemolysis, glycerol, deglycerolization, amphiphilic compounds.

**СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА  
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ  
Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати  
дисертації**

*Статті у фахових виданнях України*

1. Семионова ЕА, **Чабаненко ЕА**, Орлова НВ, Зубов ПМ, Шпакова НМ. К вопросу о механизме антигемолитического действия хлорпромазина в условиях постгипертонического шока эритроцитов. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2017; 27 (3): 219 – 29. (Scopus)
2. **Чабаненко ЕА**, Шапкина ОА, Орлова НВ, Шпакова НМ. Влияние глицерина на постгипертонический шок эритроцитов. Вісник проблем біології і медицини. 2018; 2 (143): 379 – 82.
3. **Чабаненко ЕА**, Орлова НВ, Шпакова НМ. Реакция эритроцитов на изменение температурно-осмотических условий среды в присутствии глицерина. Доповіді Національної академії наук України. 2019; (2): 84 – 9.
4. **Чабаненко ЕА**, Ершова НА, Орлова НВ, Шпакова НМ. Влияние амфифильных соединений на постгипертонический шок эритроцитов человека. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія». 2019; 33: 84 – 90.
5. **Чабаненко ОО**, Ершова НА, Орлова НВ, Шпакова НМ. Вплив децилсульфату натрію та хлорпромазину на постгіпертонічний шок еритроцитів ссавців. Біологія тварин, 2019; 21 (4): 84 – 90.
6. **Чабаненко ОО**, Орлова НВ, Шпакова НМ. Вплив сумісної дії проникального і непроникального компонентів середовища на розвиток постгіпертонічного лізису еритроцитів людини. Проблеми криобиології і криомедицини. 2020; 30 (3):236 – 46. (Scopus)

**Наукові праці, які засвічують апробацію матеріалів дисертації**

*Статті в збірках матеріалів конференцій*

7. **Чабаненко ОО**, Семіонова КА, Шапкина ОО, Орлова НВ. Стійкість кріоконсервованих еритроцитів при видаленні гліцерину. Science and life: Proceedings of article the international scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary - Kiev, Ukraine; 2017, с. 674 – 8.
8. **Chabanenko ОО**, Shapkina ОО, Orlova NV, Shpakova NM. Glycerol-based improvement of erythrocytes posthypertonic shock model. Modern methodologies, innovations and operational experience in the field of biological sciences; 2017 Dec 28; Lublin, Republic of Poland; 2017. p. 205 – 8.
9. **Чабаненко ЕА**, Ершова НА, Орлова НВ, Ершов СС, Шпакова НМ. Коррекция чувствительности эритроцитов млекопитающих к постгипертоническому шоку в присутствии децилсульфата натрия. Природничі науки: історія, сучасність, майбутнє, досвід ЄС: матеріали міжнародної науково-практичної конференції. м. Влоцлавек, Республіка Польща, Вересень 27–28.09. 2019 м. Влоцлавек, 2019. с. 143 – 6.

*Тези наукових доповідей конференцій*

10. **Чабаненко ЕА**, Семіонова ЕА, Шпакова НМ. Эритроцит как объект криобиологических исследований. Матеріали II міжнародної науково-практичної інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії»; 2015 Листопад 12-13. Харків: НФаУ «Наука»; 2015, с. 383 – 4.
11. **Чабаненко ОО**, Семіонова КА, Орлова НВ, Шпакова НМ. Ефективність хлорпромазину в модельних експериментах і при видаленні гліцерину з кріоконсервованих еритроцитів. Матеріали VIII Всеукраїнської

науково-практичної конференції. «Біологічні дослідження – 2017», 2017 Березня 14–16; Житомир:ЖДУ ім. Івана Франка; 2017, с. 348 – 50.

12. **Чабаненко ЕА**, Шпакова НМ, Орлова НВ. Влияние хлорпромазина на устойчивость эритроцитов млекопитающих в условиях гипотонического шока. LXXI Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2017»; 2017. с. 220.

13. **Чабаненко ЕА**, Семионова ЕА, Шпакова НМ. Хлорпромазин и постгипертонический шок как модель повреждения криоконсервированных клеток при их отогреве. Проблемы криобиологии и криомедицины; 2017; 27 (2): 161. (Scopus)

14. **Чабаненко ЕА**, Ковалев ГА. Перспективы применения глицерина для профилактики контактных отморожений. Щорічні терапевтичні читання. Профілактика неінфекційних захворювань – пріоритет сучасної науки та практики; 2018 Квіт 20; Харків; 2018, с. 247.

15. **Чабаненко ЕА**, Шпакова НМ, Орлова НВ. Чувствительность эритроцитов человека к постгипертоническому шоку в присутствии глицерина. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2018; 28 (2): 183. (Scopus)

16. **Чабаненко ОО**, Шпакова НМ, Орлова НВ. Антигемолітична ефективність хлорпромазину та його вплив на структурно-динамічний стан мембран еритроцитів. Матеріали Тематичного VII з'їзду Українського біофізичного товариства; 2018 Жовт 29–31; Київ; 2018, с. 22.

17. **Chabanenko OO**, Orlova NV, Shpakova NM. Glycerol and posthypertonic shock of erythrocytes when varying medium temperature and osmolality. Cryobiology. 2018 Dec; 85: 179.

18. **Чабаненко ОО**, Єршова НА, Ніпот ОЄ, Єршов СС, Шапкіна ОО, Орлова НВ, та ін. Вивчення постгіпертонічного пошкодження еритроцитів людини у модельному експерименті з

використанням амфифільних сполук. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 100-річчю від дня народження академіка Л.Т. Малої «Ювілейні терапевтичні читання. Клінічна та профілактична медицина: Досвід та нові напрямки розвитку», 2019 Квіт 11–12; Харків, 2019, с. 266.

19. **Chabanenko O**, Yershova N, Orlova N, Shpakova N. Antihemolytic activity of amphiphilic compounds under conditions of posthypertonic shock of human red blood cells. 6<sup>th</sup> Ukrainian Congress for Cell Biology with international representation 2019 June 18–21; Yaremche, Ukraine, p. 42.

20. **Чабаненко О**, Єршова Н, Орлова Н, Шпакова Н. Роль гліцерину в розвитку постгіпертонічного лізису еритроцитів людини. 6<sup>th</sup> Ukrainian Congress for Cell Biology with international representation 2019 June 18–21; Yaremche, Ukraine, p. 61.

21. **Чабаненко ЕА**, Орлова НВ, Шпакова НМ. Постгипертонический лизис эритроцитов в комбинированных средах. Проблемы криобиологии и криомедицины. 2019; 29 (2): 154. (Scopus)

22. **Chabanenko OO**, Yershova NA, Shpakova NM. Effect of amphiphilic compounds on posthypertonic lysis of erythrocytes. Probl Cryobiol Cryomed. 2020; 30 (3): 286. (Scopus)

23. **Chabanenko O**, Yershova N, Shpakova N. Adequacy of posthypertonic shock model to real cryopreservation conditions during deglycerolization of erythrocytes. Cryobiology. 2020; 97: 276.