

## Постгипертонический лизис эритроцитов человека в присутствии хлорпромазина

Е.А. Семионова<sup>1</sup>, Н.А. Ершова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

<sup>2</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Posthypertonic Lysis of Human Erythrocytes in Chlorpromazine Presence

E.A. Semionova<sup>1</sup>, N.A. Ershova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkiv National University

<sup>2</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine  
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

При отогреве замороженного биологического материала на клетки могут оказывать повреждающее действие различные факторы, особая роль среди которых отводится изменению осмоляльности среды. Модель постгипертонического лизиса (ПГЛ) позволяет изучать влияние данного фактора на эритроциты. Ранее был показан антигемолитический эффект хлорпромазина (ХПР) в условиях гипертонического шока, гипертонического криогемолиза и гипотонического лизиса эритроцитов человека [Орлова Н.В., Шпакова Н.М., 2006; Шпакова Н.М., 2014].

Цель работы – изучение влияния ХПР на чувствительность эритроцитов человека к действию ПГЛ. В работе использовали метод спектрофотометрии и световой микроскопии. Постгипертонический лизис осуществляли перенесением эритроцитов из среды дегидратации (1,45 моль/л NaCl) в среду регидратации (0,15 моль/л NaCl) при температурах 37 и 0°C. Клетки вносили в среды, содержащие ХПР на разных этапах эксперимента: дегидратации, регидратации и этапе, предшествующем действию ПГЛ (предобработка).

Показано, что уровень гемолиза эритроцитов, перенесенных из 1,45 в 0,15 моль/л NaCl, составляет ~70%. В условиях ПГЛ были получены зависимости гемолиза эритроцитов человека от концентрации ХПР (60–600 мкмоль/л). Для оценки эффективности ХПР были рассчитаны величины максимальной антигемолитической активности и значения эффективных концентраций. Хлорпромазин проявляет антигемолитический эффект в условиях ПГЛ при 0°C, но не при 37°C. Максимальная антигемолитическая активность ХПР в концентрации 600 мкмоль/л составляет 70%. С помощью световой микроскопии изучали влияние ХПР на эритроциты, которые были подвергнуты действию ПГЛ при 0°C. При использовании ХПР (600 мкмоль/л) было выявлено уменьшение количества клеток в результате нагревания образца (со скоростью 1 град/мин). При достижении температуры 24°C целые клетки в поле зрения отсутствовали. В том случае, когда использовали ХПР в концентрации 180 мкмоль/л, повышение температуры до 34°C не приводило к гибели клеток.

Для выяснения возможного механизма защитного действия ХПР (180 мкмоль/л) оценивали его эффективность в зависимости от присутствия на разных этапах эксперимента. Предобработка клеток ХПР не приводила к проявлению его антигемолитической активности. Максимальный антигемолитический эффект ХПР (70%) наблюдался в том случае, когда вещество присутствовало только на этапе регидратации.

Выявленный эффект повышения устойчивости эритроцитов человека к действию ПГЛ под влиянием ХПР может быть обусловлен особенностями встраивания и распределения его молекул в эритроцитарной мембране на этапе регидратации клеток при низкой температуре.

When thawing a frozen biological material the cells may be affected by different damaging factors, where a special role belongs to a change in medium osmolality. Model of posthypertonic lysis (PHL) enables studying this factor impact on erythrocytes. Previously there was demonstrated an antihemolytic effect of chlorpromazine (CPR) under hypertonic shock, hypertonic cryohemolysis and hypotonic lysis of human erythrocytes [Orlova N.V., Shpakova N.M., 2006; Shpakova N.M., 2014].

The research aim was to study the CPR effect on human erythrocyte sensitivity to PHL action. We used the spectrophotometry and light microscopy. Posthypertonic lysis was initiated by transferring erythrocytes from dehydration medium (1.45 mol/l NaCl) into rehydration one (0.15 mol/l NaCl) at 37 and 0°C. Cells were introduced into the CPR-containing media at different experimental stages: dehydration, rehydration and prior to PHL effect (pretreatment).

The hemolysis level of erythrocytes, transferred from 1.45 into 0.15 mol/l NaCl was ~70%. Under PHL conditions there were obtained the dependencies of human erythrocyte hemolysis on CPR concentration (60–600 μmol/l). To assess the CPR efficiency we calculated the maximum antihemolytic activity and CPR efficient concentrations. Chlorpromazine manifested an antihemolytic effect under PHL at 0°C, but not at 37°C. Maximum antihemolytic activity of CPR in concentration of 600 μmol/l was 70%. The CPR effect on the erythrocytes, subjected to PHL at 0°C was studied with light microscopy. A decrease in cell number was revealed as a result of sample heating (with 1 deg/min rate) when using CPR (600 μmol/l). When the temperature reached 24°C no undamaged cells were found in visual field. In case when CPR was used at 180 μmol/l concentration, the temperature increase up to 34°C did not result in cell death. To elucidate a possible mechanism of CPR protective action (180 μmol/l) we estimated its efficiency depending on the presence at different stages of experiment. CPR pretreatment of cells did not result in its antihemolytic activity manifestation. Maximum antihemolytic effect of CPR (70%) was observed when the substance was present at rehydration stage only.

The revealed effect of an increased resistance of human erythrocyte to PHL in the presence of CPR may be stipulated by the peculiarities of CPR incorporation and distribution of its molecules in erythrocyte membrane at rehydration stage under low temperature.

