SCIENCE AND LIFE

Proceedings of articles the international scientific conference

Czech Republic, Karlovy Vary - Kyiv, Ukraine, 22 December 2017

Czech Republic, Karlovy Vary - Ukraine, Kyiv, 2017

UDC 001

BBK 72

N 81

Scientific editors:

Klimov Ivan Pavlovich, Doctor of Historical Sciences, Professor of the Department of Theory of State and Law and International Law, Institute of State and Law of Tyumen State University

Ignatko Irina Vladimirovna, Professor of Russian Academy of Sciences, Ph.D., Professor, Department of Obstetrics and Gynecology of the First Moscow State Medical University named I.M.Sechenov

Mantusov Vladimir Bad'minovich, Doctor of Economics, Professor, Head of the Russian Customs Academy

N 81

SCIENCE AND LIFE: Proceedings of articles the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary - Ukraine, Kyiv, 22 December 2017 [Electronic resource] / Editors prof. I.P.Klimov, I.V.Ignatko, V.B.Mantusov. – Electron. txt. d.. – Czech Republic, Karlovy Vary: Skleněný Můstek. – ISBN 978-80-7534-079-5.

Proceedings includes materials of the international scientific conference «SCIENCE AND LIFE», held in Czech Republic, Karlovy Vary-Ukraine, Kyiv, 22 December 2017. The main objective of the conference - the development community of scholars and practitioners in various fields of science. Conference was attended by scientists and experts from Armenia, Russia, Ukraine. At the conference held e-Symposium and conference "Medical and Pharmaceutical Forum 2017". International scientific conference was supported by the publishing house of the International Centre of research projects.

ISBN 978-80-7534-079-5 (Skleněný Můstek, Karlovy Vary, Czech Republic)

Articles are published in author's edition. Editorial opinion may not coincide with the views of the authors

Reproduction of any materials collection is carried out to resolve the editorial board

© Skleněný Můstek, 2017

СТІЙКІСТЬ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЕРИТРОЦИТІВ ПРИ ВИДАЛЕННІ ГЛІЦЕРИНУ

ЧАБАНЕНКО О.О.[1] СЄМІОНОВА К.А.[2] ШАПКІНА О.О.[1] ОРЛОВА Н.В.[1]

chabanenkoolena@gmail.com*, *semionovakate@gmail.com*, *oleinolsh@gmail.com*, *nataliaorlova1965@gmail.com

[1]*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України*

відділ кріоцитології

[2]*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна*

м. Харків, Україна

Наразі тривале зберігання клітин крові та її компонентів можливо в умовах кріоконсервування. Найбільш ефективним є метод низькотемпературного зберігання з використанням проникаючого кріопротектора гліцерину. Однак, перед перенесенням розморожених еритроцитів у кров'яне русло, гліцерин потребує видалення з клітин. Методика, що використовується для поетапного видалення гліцерину з еритроцитів людини, не є бездоганною, оскільки супроводжується загибеллю частини клітин. Постгіпертоничний шок еритроцитів (ПГШ) моделює фактори кріопошкодження, які діють на етапі розморожування еритроцитів, а також при перенесенні у кров'яне русло клітин, кріоконсервованих під захистом проникаючого кріопротектора.

Раніше була показана захисна дія хлорпромазину (ХПР) в умовах різних видів стресу еритроцитів ссавців [1, с. 2125-2130, 2, p. 78-84, 3, p. 7-17]. ХПР – це катіонне похідне фенотіазіну.

Мета роботи – вивчити стійкість клітин до постгіпертонічного шоку при 37 и 0ºС і на етапі видалення гліцерину з кріоконсервованих клітин в присутності ХПР.

Постгіпертонічний шок еритроцитів здійснювали перенесенням клітин з гіпертонічного розчину (1,75 моль/л NaCl) в ізотонічне середовище (0,15 моль/л NaCl) при 37 або 0ºС. Кінцевий гематокрит – 0,4%. ХПР додавали в ізотонічне середовище перед внесенням в нього еритроцитів. Заморожування суспензії клітин з гліцерином (15%) здійснювали шляхом швидкого занурення в рідкий азот (-196ºС). Для видалення гліцерину з відігрітих клітин використовували NaCl в концентрації 0,6 моль/л (одноразово) і 0,15 моль/л (дворазово) в присутності ХПР. Рівень гемолізу еритроцитів визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 543 нм. Значення максимальної антигемолітичної активності хлорпромазину розраховували за формулою [3, p. 9].

Для здійснення ПГШ еритроцитів необхідні два послідовні етапи: дегідратація і регідратація клітин [4, с. 77]. Хлорпромазин в різних концентраціях вносили в середовище регідратації, що призвело до зниження рівня постгіпертоніческого лізису клітин. Захисний ефект ХПР спостерігався тільки при температурі 0°С (при 37°С ефект не виявлено). Найбільш ефективним ХПР був при використанні в концентрації 600 мкмоль/л, при який спостерігається мінімальне гемолітичне пошкодження еритроцитів. При цьому значення максимальної антигемолітичної активності становить 73 ± 6% ($p < 0,05$).

Гліцерин широко використовується для кріоконсервування еритроцитів. Оскільки цей кріопротектор є проникаючим, то перед трансфузією його необхідно видаляти з кріоконсервованих клітин. Це пов’язано з тим, що при перенесені еритроцитів, насичених гліцерином, в кров'яне русло реципієнта або ізотонічне середовище (0,15 моль/л NaCl), клітини руйнуються. Причиною

цього є більш висока швидкість входу води у порівнянні з виходом гліцерину з клітин: еритроцити набухають та лізують при досягненні критичного гемолітичного об'єму. За своєю суттю багатоступенева процедура видалення гліцерину з еритроцитів є «інструментом» для зниження рівня пошкодження клітин [5 с. 353].

У даній роботі ХПР у концентрації 600 мкмоль/л вносили до середовищ, які застосовувались для видалення гліцерину з клітин, на кожному з трьох етапів.

У таблиці представлені результати використання ХПР на етапах видалення гліцерину з суспензії кріоконсервованих еритроцитів. Після розморожування клітин рівень гемолізу не перевищував 7%.

Таблиця. Вплив хлорпромазину на рівень гемолізу еритроцитів людини (%) при видаленні гліцерину з кріоконсервованих клітин

Зразки еритроцитів	Середовище для видалення гліцерину		
	0,6 моль/л NaCl (1)	0,15 моль/л NaCl (2)	0,15 моль/л NaCl (3)
Контроль	2 ± 1	26 ± 5	4 ± 2
ХПР, 600 мкмоль/л	3 ± 1	9 ± 2	2 ± 1

Максимальний рівень ушкодження спостерігався при перенесенні клітин в перше ізотонічне середовище (гемоліз (26 ± 5)%). У присутності ХПР на етапах видалення гліцерину не спостерігалось додаткового гемолітичного пошкодження еритроцитів (таблиця). Навпаки, в тому випадку, коли спостерігалося значне пошкодження контрольних клітин (використання 2-го

середовища), ХПР знижував рівень гемолізу еритроцитів приблизно в 2,5 рази. Антигемолітична активність ХПР становила близько 70%.

В умовах ПГШ еритроцитів максимальний захисний ефект ХПР спостерігався при набагато вищих концентраціях сполуки, ніж при інших видах стресу [2, p. 84, 3, p. 17]. Ймовірно, що розмір мембранного дефекту, який сформувався на етапі дегідратації при ПГШ еритроцитів, є більшим, тому на етапі регідратації потрібна значна кількість амфіфільної речовини для запобігання формування гемолітичної пори.

В результаті проведеної експериментальної роботи встановлено, що в умовах ПГШ еритроцитів і при видаленні гліцерину з відігрітих клітин ХПР проявляє високу антигемолітичну активність (70%). Завдяки отриманим результатам можна припустити, що механізми захисної дії ХПР в вищезазначених умовах мають схожий характер.

Оскільки ХПР є представником великого класу амфіфільних сполук, можна зробити припущення, що модель ПГШ дозволить виявити інші сполуки з обширного ряду дифільних речовин, які будуть ефективними при видаленні кріопротектора з кріоконсервованих клітин.

Використана література:

1. Шпакова Н.М. Действие хлорпромазина на температурную и осмотическую чувствительность эритроцитов / Н.М. Шпакова, В.А. Бондаренко // Биохимия. – 1991. – Т. 56, № 1. – С. 2125-2130.

2. Effect of cationic and anionic amphiphilic compounds on hypertonic cryohemolysis of mammalian red blood cells / S.S. Iershov, N. A Pysarenko, N.V. Orlova, N. M. Shpakova // Fiziolohichnyi zhurnal. – 2007. – Vol. 53, № 6. – P. 78-84.

3. Hypotonic lysis of mammalian erythrocytes in chlorpromazine presence / E.A. Semionova, N.A. Iershova, N.V. Orlova, N.M. Shpakova // Eastern European Scientific Journal. – 2016. – №2. – P. 7-17.

4. Особенности проявления постгипертонического лизиса эритроцитов некоторых млекопитающих / Е.А. Семионова, Н.А. Ершова, С.С. Ершов и др.// Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2016. Т. 26, № 1. – С. 73-83.

5. Влияние глицерина на устойчивость эритроцитов человека к гипертоническому и механическому стрессу / Н. М. Шпакова, Н. В. Орлова, Е. Е. Нипот и др. // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Т. 2, № 3. – С. 352-355.