

Антигемолитический эффект хлорпромазина при модификации цитоскелет-мембранного комплекса эритроцитов человека в условиях холодового шока

К.В. МАРКОВА¹, В.В. РАМАЗАНОВ²

¹Харьковский национальный университет им. В.Н.Каразина

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Anti-Hemolytic Effect of Chlorpromazine at Modification of Cytoskeleton-Membrane Complex of Human Erythrocyte Under Cold Shock Conditions

K.V. MARKOVA¹, V.V. RAMAZANOV²

¹V.N. Karazin Kharkov National University

²Institute for Problems of Cryobiology & Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

Известно, что изменение условий окружающей среды оказывает влияние на функциональные и структурные характеристики клеток. В условиях осмотического и температурного стресса эритроцитов человека происходят перестройки компонентов мембраны и/или цитоскелета относительно друг друга, а также нарушения белково-липидных связей. Чувствительность клеток к подобным стрессовым воздействиям можно направленно модифицировать.

На характер взаимодействия периферических белков с мембраной могут оказать влияние катионные амфибаты, к которым относится хлорпромазин (ХПР). Молекулярный механизм антигемолитического действия ХПР на данный момент не выяснен. Для раскрытия механизма его антигемолитического действия в условиях холодового шока эритроцитов человека мы использовали обработку модификаторами цитоскелет-мембранного комплекса. Эритроциты обрабатывали SH-реагентами: парахлормеркурийбензоатом (ПХМБ), иодацетамидом (ИАА), N-этилмалеимидом (N-ЭМ), а также 4,4-диизотиоцианстильбен-2,2-дисульфонатом (ДИДС). Для этого клетки, обработанные модификаторами, переносили в гипертонические среды различного состава (0,15 М NaCl + 0–0,9 М сахарозы) при 37°C, содержащие ХПР (в эффективной концентрации 100 мкМ), а затем подвергали действию гипертонического раствора 1,2 М NaCl (37°C) и охлаждению до 0°C.

Изучение холодового шока эритроцитов в присутствии ХПР позволило обнаружить антигемолитическую активность (АГА) данного вещества по отношению к клеткам (на уровне 53%). При модификации цитоскелет-мембранного комплекса защитное влияние ХПР в значительной степени снижается.

Уровень АГА ХПР зависит от модификатора, которым была обработана клетка на предварительных этапах.

Предварительная обработка эритроцитов ИАА снижает АГА ХПР в такой же степени, что и обработка ИАА/ПХМБ. Наибольшее угнетающее действие на АГА ХПР оказывает модификация ПХМБ и ДИДС, а наименьшее – N-ЭМ.

Скорее всего, действие ХПР имеет комплексный характер, оказывая влияние на липидные и белковые компоненты мембраны, тем самым изменяя связи между компонентами и их пространственное расположение. Полученные результаты позволяют предположить, что любая модификация цитоскелет-мембранных компонентов приводит к снижению пертурбирующей активности ХПР и, следовательно, его антигемолитической эффективности.

The change in environment is known to affect functional and structural parameters of cells. Under conditions of osmotic and temperature stress of human erythrocytes there are occurred the sterical rearrangements of the components of membrane and/or cytoskeleton, as well as the disorders in protein-lipid bonds. Cell sensitivity to similar stress effects may be target-modified.

Cation amphipates, which chlorpromazine (CPR) is referred to, may affect the character of interaction of peripheral proteins with membrane. Molecular mechanism of anti-hemolytic effect of CPR is not clear for now. To clear up the mechanism of its anti-hemolytic effect under cold shock effect we used the treatment with modifiers of cytoskeleton-membrane complex. Erythrocytes were treated with SH-reagents: parachloromercuribenzoate (PCMB), iodacetamide (IAA), N-ethyl maleimide (NEM), as well as 4,4-diisothiocyanstilbene-2,2-disulfonate (DIDS). For this aim the cells treated with the modifiers were removed into hypertonic media of different composition (0.15 M NaCl + 0–0.9 M sucrose) at 37°C, containing CPR (under effective concentration of 100 μM), and then were subjected to the effect of 1.2 M NaCl hypertonic solution (37°C) and cooling down to 0°C.

The study of cold shock of erythrocytes in CPR presence enabled the revealing of anti-hemolytic activity (AHA) for this substance in respect to the cells (at the level of 53%). During modification of cytoskeleton-membrane complex the protective effect of CPR significantly reduces.

The level of CPR AHA depends on the fact which modifier the cell was treated with at preliminary stages.

Pre-treatment of erythrocytes with IAA reduces the CPR AHA at the same rate as the one with IAA/PCMB. The most suppressing effect on CPR AHA is rendered by the modification of PCMB and DIDS, and the less influence is made by NEM.

The effect of CPR is likely of a combined character, affecting both lipid and protein components of membranes, thereby changing the bonds between the components and their spatial location. The findings enable the supposition that any modification of cytoskeleton-membrane components results in a reduction of perturbing activity of CPR and consequently its anti-hemolytic efficiency.