

УДК: 591.111.1:577.352.462

**ВПЛИВ ФЕНІЛГІДРАЗИНУ НА ГІПЕРТОНІЧНИЙ СТРЕС ЕРИТРОЦИТІВ
ССАВЦІВ І АНТИГЕМОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ АМФІФІЛЬНИХ СПОЛУК**

Н. Єршова, О. Ніпот, С. Єршов, О. Шапкіна

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України
вул. Переяславська, 23, Харків 61015, Україна
e-mail: ershbas@gmail.com*

У роботі показано, що в умовах гіпертонічного стресу початковий рівень пошкодження еритроцитів досліджуваних видів ссавців значно відрізняється. Рівень лізису еритроцитів людини в 4,0 моль/л NaCl за 37 °C становить 90 %, клітин бика – 80 %, коня – 60 %. Зниження температури середовища до 0 °C істотно підвищує стійкість еритроцитів людини, бика і коня до гіпертонічного стресу.

Показано, що чутливість еритроцитів ссавців до гіпертонічного стресу за 37 °C після обробки фенілгідразином залежить від видової приналежності клітин. При цьому чутливість модифікованих еритроцитів людини і бика знижується, а еритроцитів коня – зростає. Чутливість еритроцитів кроля після модифікації вірогідно не змінюється. В умовах гіпертонічного стресу за температури 0 °C спостерігається підвищення рівня ушкодження модифікованих еритроцитів усіх досліджуваних видів ссавців.

Встановлено, що трифторперазин і додецил- β ,D-мальтозид виявляють високу захисну дію в умовах гіпертонічного стресу еритроцитів усіх досліджуваних видів ссавців, за винятком еритроцитів кролика. Трифторперазин має трохи вищу антигемолітичну активність (близько 80–90 %), ніж додецил- β ,D-мальтозид (70 %). Зниження температури експерименту до 0 °C зумовлює зменшення антигемолітичної активності трифторперазину і додецил- β ,D-мальтозиду.

Показано, що в умовах гіпертонічного стресу антигемолітична активність амфифільних сполук після модифікації еритроцитів ссавців фенілгідразином суттєво знижується.

Ключові слова: гіпертонічний стрес, фенілгідразин, амфифільні сполуки, еритроцити ссавців

Гіпертонічний стрес (ГС) – це модель, яку використовують з метою вивчення одного з основних чинників ушкодження клітин під час заморожування, а саме впливу висококонцентрованих розчинів солей, що утворюються в результаті кристалізації води у процесі кріоконсервування. Здійснюють ГС шляхом перенесення еритроцитів у гіпертонічне середовище за постійних значень температури, в результаті чого спостерігається пошкодження клітин.

Одним зі способів підвищення стійкості еритроцитів до зміни осмотичних умов середовища є застосування різних модифікаторів цитоскелету і мембрани клітини. Відомо, що обробка еритроцитів людини фенілгідразином призводить до деградації цитоскелет-мембранних білків і, в першу чергу, основного цитоскелетного білка спектрину [7, 15], а також змінює стан еритроцитарної мембрани [6, 22]. Застосування амфифільних сполук має значний модифікуючий вплив на клітинну мембрану [3–4, 24].

Відомо, що еритроцити досліджуваних ссавців значною мірою розрізняються складом цитоскелету і мембрани [8, 21, 25]. У даній роботі ми змінювали стан цитоскелет-

мембранного комплексу еритроцитів ссавців за допомогою фенілгідразину з метою дослідити вплив даної модифікації на чутливість еритроцитів людини, коня, бика і кроля до ГС, а також вивчити ефективність амфіфільних сполук у зазначених умовах.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були еритроцити людини, коня, бика і кроля, отримані з цільної крові, заготовленої на консерванті «Глюгіцир». Після видалення плазми еритромасу двічі відмивали центрифугуванням (за 1500 г протягом 3 хв) у 10-кратному об'ємі фізіологічного розчину (0,15 моль/л NaCl, 0,01 моль/л фосфатний буфер, рН 7,4). Всі середовища готували на 0,01 моль/л фосфатному буфері, рН 7,4.

Для здійснення ГС клітини переносили в розчин, що містить 4,0 моль/л NaCl, на 5 хв за температури 37 або 0 °С (кінцевий гематокрит 0,4 %). У роботі було використано неіонний амфіфіл додецил- β ,D-мальтозид і катіонний амфіфіл трифторперазин (Calbiochem, США). Амфіфільні сполуки додавали в гіпертонічне середовище в ефективних концентраціях перед внесенням у нього клітин [4].

Модифікацію цитоскелету еритроцитів фенілгідрaziном здійснювали за методикою [7]. Клітини в умовах постійного перемішування (гематокрит 5 %) інкубували у фізіологічному розчині (0,15 моль/л NaCl, 0,01 моль/л фосфатний буфер, рН 7,4), що містить фенілгідразин у концентрації 1 ммоль/л, за температури 37 °С протягом 10 хв. Потім еритроцити двічі відмивали фізіологічним розчином і використовували у подальшій роботі.

Кількість гемоглобіну, що вийшов у супернатант, визначали спектрофотометрично за довжини хвилі 543 нм. За 100 % приймали поглинання проби, в яку додавали детергент тритон X-100 у концентрації 0,1 %.

Значення максимальної антигемолітичної активності (АГ_{max}) амфіфільних сполук розраховували за формулою:

$$AG_{max} = \frac{k - a}{k} \times 100 \%,$$

де k – значення гемолізу еритроцитів за відсутності амфіфільних речовини; a – мінімальне значення гемолізу еритроцитів за наявності амфіфільних речовин.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою ANOVA тестів і критерію Манна-Уїтні [StatgraphWin]. Розбіжності між групами вважали статистично достовірними за $P_U < 0,05$.

Результати і їхнє обговорення

Для вивчення гіпертонічної чутливості еритроцитів ссавців клітини переносили в середовище, що містить 4,0 моль/л NaCl. Відомо, що в цьому середовищі за температури 37 °С спостерігається досить високий рівень лізису еритроцитів людини (80–90 %) [2, 4].

Видно, що в гіпертонічних умовах рівень гемолізу еритроцитів досліджуваних видів ссавців значно відрізняється (рис. 1). Так, рівень лізису еритроцитів людини в 4,0 моль/л NaCl за 37 °С становить 90 %, клітин бика – 80 %, коня – 60 %, кролика – 16 %.

За обробки клітин фенілгідрaziном їхня чутливість до гіпертонічного стресу за 37 °С залежить від видової приналежності клітин. За 37 °С модифікація еритроцитів людини і бика фенілгідрaziном зумовлюють зниження чутливості даних клітин до ГС. Для клітин коня спостерігається протилежний ефект. У разі еритроцитів кролика чутливість клітин після модифікації достовірно не змінюється.

На рис. 1 представлено дані про вплив фенілгідрaziну на ГС еритроцитів ссавців за температури 0 °С. Видно, що рівень лізису еритроцитів людини в 4,0 моль/л NaCl за 0 °С становить 57 %, клітин коня – 15 %, еритроцитів бика – 7 %, клітин кролика – 21 %.

Таким чином, за зниження температури середовища стійкість еритроцитів людини, бика і коня до ГС істотно зростає, що обумовлено щільнішою упаковкою мембранних ліпідів за низької температури, в результаті чого процеси ініціації дефектів і подальшого їхнього розвитку у клітинній мембрані утруднені.

Рівень пошкодження еритроцитів кроля в 4,0 моль/л NaCl не залежить від температури, що, ймовірно, пов'язано з високою стійкістю клітин даного виду до ГС, яка може бути обумовлена дуже високою проникністю мембран даного виду ссавців для води [9]. Крім того, якщо розташувати еритроцити досліджуваних видів ссавців у порядку збільшення відношення ХС/ФЛ (людина – 0,31, бик – 0,31, кінь – 0,36, кролик – 0,43) [13], то видно, що дане відношення має зворотну кореляцію з рівнем гіпертонічного гемолізу досліджуваних клітин.

В умовах гіпертонічного стресу за температури 0 °C спостерігається підвищення рівня гемолізу модифікованих еритроцитів усіх досліджуваних видів ссавців.

Відомо, що інкубація еритроцитів людини в розчині 1 ммоль/л фенілгідрозину протягом 10 хв призводить до руйнування α - і β -ланцюгів спектрину [7]. У роботі [12] методом гель-електрофорезу показано, що обробка еритроцитів фенілгідрозином призводить до появи численних перехресних зшивок молекул спектрину, актину і білка смуги 4.1. Інкубація еритроцитів із фенілгідрозином викликає також денатурацію гемоглобіну й агрегацію білка смуги 3 в еритроцитарних мембранах [13].

Припускають, що внаслідок окислення мембранних білків фенілгідрозином обмежується їхня рухливість, що надає мембрані жорсткості. У роботі [11] було показано, що фенілгідрозин викликає зменшення рухливості білків мембрани в результаті зв'язування денатурованого фенілгідрозином гемоглобіну з мембраною. Денатурований гемоглобін, переважно зв'язуючись з мембранними білками, призводить до порушення в'язко-еластичних властивостей мембрани. У роботі [22] методом ЕПР спектроскопії було показано, що обробка еритроцитів людини фенілгідрозином значно зменшує плинність мембранних ліпідів, причому зміни стосувалися гідрофобної частини мембрани.

Виявлені різноспрямовані зміни стійкості еритроцитів ссавців до ГС після обробки клітин фенілгідрозином, перш за все, можливо, пов'язані з відмінностями в білковому і фосфоліпідному складі досліджуваних еритроцитів [8, 21, 25].

Відомо, що в еритроцитах коня немає білка смуги 4.2 [8]. В еритроцитах людини даний білок є основним якірним білком, який забезпечує взаємозв'язок спектрину з цитоплазматичним доменом білка смуги 3 [1]. Отже, відсутність даного білка цитоскелета і модифікація еритроцитів коня фенілгідрозином може привести до істотних змін взаємодії білків цитоскелета з еритроцитарною мембраною, що проявляється в підвищенні рівня лізису модифікованих еритроцитів коня в умовах гіпертонічного стресу.

Під дією гіпертонічних розчинів у мембрані клітини ініціюються процеси, що призводять до активації або зародження мембранних дефектів. Підвищення стійкості модифікованих фенілгідрозином еритроцитів людини і бика до гіпертонічного стресу може бути пов'язано з тим, що фенілгідрозин сприяє підвищенню щільності упаковки мембранних ліпідів, а також зниженню плинності мембрани [11, 20], що, ймовірно, ускладнює процеси зародження дефектів і подальшого їхнього розвитку. Крім того, таке зниження чутливості модифікованих еритроцитів людини і бика до гіпертонічного впливу може бути обумовлено частковою полімеризацією білків цитоскелета й гемоглобіну під впливом фенілгідрозину [7], в результаті чого підвищується в'язкість цитоплазми клітини, що робить її більш стійкою до гіпертонічного стресу.

За зниження температури середовища інкубації до 0 °С модифікація еритроцитів усіх досліджуваних ссавців приводила до зниження їхньої стійкості до гіпертонічного впливу. Це може бути пов'язано з односпрямованою дією на клітину низької температури і фенілгидразину, а саме, зниженням плинності мембрани, підвищенням щільності упаковки мембранних ліпідів, а також зміною стану цитоскелета [1, 22]. Таким чином, за поєднання дії цих двох факторів у клітині відбуваються настільки сильні зміни, що вона втрачає здатність протистояти стресовим факторам.

Для вивчення впливу амфіфільних речовин на гіпертонічний стрес еритроцитів ссавців було отримано залежності гіпертонічного гемолізу клітин у середовищі, що містить 4,0 моль/л NaCl, від концентрації амфіфілів за 37 і 0 °С. У даній роботі використовували амфіфільні сполуки, що належать до різних класів поверхнево-активних речовин. Катіонні амфіфіли представлені похідним фенотіазину, трифторперазином (ТФП), неіонні амфіфіли – додецил- β , D-мальтозидом (ДМ).

Із отриманих залежностей рівня гемолізу від концентрації амфіфільної сполуки в середовищі інкубації було встановлено ефективні концентрації та розраховано антигемолітичну активність речовин в умовах ГС еритроцитів ссавців. Результати досліджень представлено в таблиці.

Значення максимальної антигемолітичної активності й ефективних концентрацій амфіфільних сполук за гіпертонічного стресу еритроцитів ссавців у середовищі, що містить 4,0 моль/л NaCl, за температури 37 і 0 °С ($M \pm m$, $n=6$)

Ссавці	АГ макс, %				$C_{AG\max}$, мкмоль/л			
	ДМ		ТФП		ДМ		ТФП	
	37 °С	0 °С	37 °С	0 °С	37 °С	0 °С	37 °С	0 °С
Людина	72±4	51±8	93±7	40±8	8±1	2±1	55±6	25±6
Кінь	72±4	16±4	84±5	79±6	9±1	–	40±5	20±3
Бик	70±4	–	84±6	–	14±3	–	50±3	–
Кролик	–	–	–	–	–	–	–	–

З таблиці видно, що за температури 37 °С ТФП має високу захисну дію в умовах ГС еритроцитів людини, коня та бика (близько 80–90 %). ДМ проявляє трохи меншу антигемолітичну активність (70 %) щодо всіх досліджуваних об'єктів, за винятком еритроцитів кролика.

Відсутність захисної дії амфіфільних сполук щодо еритроцитів кролика може бути пов'язана з високим вмістом холестеролу в мембранах еритроцитів даного виду [26], що ускладнює реорганізацію мембрани за вбудовування у неї амфіфілів.

Відомо, що амфіфільні сполуки підвищують стійкість еритроцитів людини до різних стресових факторів [3–5, 24]. Вбудовування екзогенних амфіфільних молекул у плазматичну мембрану еритроцитів супроводжується реорганізацією мембрани в результаті асиметричного вбудовування амфіфільних молекул у зовнішній і внутрішній моношари мембрани та перерозподілу ліпідів усередині одного і між двома моношарами мембрани [14, 16–18]. Багато досліджень [10, 23] показали, що амфіфіли впливають на трансбішаровий рух мембранних фосfolіпідів (фліп-флоп), тим самим викликаючи реорганізацію (пертурбацію) бішару. Отже, в основі захисної дії амфіфільних сполук може лежати їхня здатність вбудовуватися в еритроцитарну мембрану і пертурбувати її, що і запобігає розвитку гемолітичних пор.

За зниження температури середовища інкубації до 0 °С антигемолітична активність ТФП і ДМ в умовах ГС еритроцитів ссавців значно знижується, що може бути обумовлено ущільненням структури мембрани і зниженням дифузійної рухливості її компонентів за

низької температури, що призводить до зниження пертурбуючої дії амфіфілів і проявляється у зменшенні антигемолітичної активності речовин.

На рис. 2 представлено значення максимальної антигемолітичної активності ДМ в умовах ГС нативних і модифікованих фенілгідразином еритроцитів ссавців за 37 і 0 °С. Для еритроцитів бика представлено результати, отримані тільки за 37 °С, тому що за 0 °С початковий рівень гемолізу клітин дуже низький. З таким низьким рівнем пошкодження клітин перевірити антигемолітичну активність амфіфільних речовин неможливо. Видно, що обробка клітин людини, коня і бика фенілгідразином призводить до зниження захисної дії ДМ в умовах ГС.

Значення максимальної антигемолітичної активності ТФП для модифікованих еритроцитів ссавців представлено на рис. 3. Модифікація еритроцитів ссавців фенілгідразином різко знижує здатність ТФП захищати клітини від ушкодження в 4,0 моль/л NaCl.

Зменшення антигемолітичної активності речовин у результаті модифікації еритроцитів ссавців фенілгідразином, імовірно, обумовлено зниженням плинності мембранних ліпідів під дією фенілгідрозину. В таких умовах амфіфільним сполукам складніше вбудуватися і пертурбувати плазматичну мембрану, що призводить до зниження ефективності ДМ і ТФП.

Таким чином, можна зробити висновок, що еритроцити ссавців значно відрізняються за чутливістю до ГС, що, на нашу думку, обумовлено відмінностями у складі їхніх мембран, а також проникністю мембрани для молекул води. Антигемолітична активність амфіфільних сполук зменшується в умовах ГС як за низької температури (0 °С), так і за модифікації еритроцитів ссавців фенілгідразином. В обох випадках показано зниження плинності еритроцитарних мембран [1, 22]. Це, ймовірно, призводить до зменшення здатності амфіфільних речовин вбудовуватися в мембрану і пертурбувати її, в результаті чого знижується їхня захисна дія.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гольцев А. Н. Актуальные проблемы криобиологии и криомедицины: Х.: Издательский дом «Райдер», 2012. 768 с.
2. Ніпот О.Є., Єршова Н.А., Шапкіна О.О. та ін. Вплив фенілгідрозину на чутливість еритроцитів ссавців до гіпертонічного шоку // Вісн. проблем біології і медицини. 2017. Вип. 4. Т. 3. С. 394–399.
3. Семіонова Е.А., Чабаненко Е.А., Орлова Н.В. и др. К вопросу о механизме антигемолитического действия хлорпромазина в условиях постгипертонического шока эритроцитов // Проблемы криобиологии и криомедицины. 2017. Т. 27. № 3. С. 119–229.
4. Шакова Н.М. Температурна та осмотична стійкість еритроцитів різних видів ссавців: автореф. дис. ... д-ра біол. наук. Х., 2014. 44 с.
5. Шакова Н.М., Семіонова К.А., Коваленко І.Ф. та ін. Морфологічні особливості температурної та осмотичної реакції еритроцитів за наявності хлорпромазину // Фізіол. журнал. 2017. Т. 63. № 5. С. 62–69.
6. Arduini A., Chen Z., Stern A. Phenylhydrazine-induced changes in erythrocyte membrane surface lipid packing // Biophys. Acta. 1986. Vol. 862. N 1. P. 65–71.
7. Arduini A., Storto S., Belfiglio M. et al. Mechanism of spectrin degradation induced by phenylhydrazine in intact human erythrocytes // Biochim. Biophys. Acta. 1989. Vol. 979. N 1. P. 1–6.
8. Baskurt O.K., Farley R.A., Meiselman H.J. Erythrocyte aggregation tendency and cellular properties in horse, human, and rat: a comparative study // Am. J. Physiol. 1997. Vol. 273. P. H2604–H2612.

9. *Benga G.* Comparative studies of water permeability of red blood cells from humans and over 30 animal species: an overview of 20 years of collaboration with Philip Kuchel // *Eur. Biophys. J.* 2013. Vol. 42. N 1. P. 33–46.
10. *Coreta-Gomes F.M., Vaz W.C., Moreno M.J.* Effect of Acyl Chain Length on the Rate of Phospholipid Flip-Flop and Intermembrane Transfer. [Електронний ресурс] // *J. Membr. Biol.* 2017. Режим доступу: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00232-017-0009-4>.
11. *Fukushima Y., Kon H.* On the mechanism of loss of deformability in human erythrocytes due to Heinz body formation: a flow EPR study // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1990. Vol. 102. N 2. P. 205–218.
12. *Fung L.W., Kalaw B.O., Hatfield R.M.* et al. Erythrocyte spectrin maintains its segmental motions on oxidation: a spin-label EPR study // *Biophys. J.* 1996. Vol. 70. N 2. P. 841–851.
13. *Garnier M., Pilardeau G., Boudia D.* Relationship between the intra-erythrocyte sodium composition and the membrane lipoprotein composition among different mammal species // *Comp. Biochem. Physiol.* 1984. Vol. 77A. N 2. P. 315–317.
14. *Hagerstrand H., Isomaa B.* Amphiphile-induced antihaemolysis is not causally related to shape changes and vesiculation // *Chem.-Biol. Inter.* 1991. Vol. 79. P. 335–347.
15. *Ijaz F., Hatanaka Y., Hatanaka T.* et al. Proper cytoskeletal architecture beneath the plasma membrane of red blood cells requires Ttl4 // *Mol. Biol. Cell.* 2017. Vol. 28. N 4. P. 535–544.
16. *Kawakami L.M., Yoon B.K., Jackman J.A.* et al. Understanding How Sterols Regulate Membrane Remodeling in Supported Lipid Bilayers // *Langmuir.* 2017. Vol. 33. N 51. P. 14756–14765.
17. *Lim H.W.G., Wortis M., Mukhopadhyay R.* Stomatocyte-discocyte-echinocyte sequence of the human red blood cell: Evidence for the bilayer-couple hypothesis from membrane mechanics // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. N 26. P. 16766–16769.
18. *Lorent J.H., Quetin-Leclercq J., Mingeot-Leclercq M.P.* The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells // *Org. Biomol. Chem.* 2014. Vol. 12. N 44. P. 8803–22.
19. *Low P.S., Waugh S.M., Zinke K.* et al. The role of hemoglobin denaturation and band 3 clustering in red blood cell aging // *Sci.* 1985. Vol. 227. N 4686. P. 531–533.
20. *Lucio C.F.J., Diez M.M.L., Jimenez A.* et al. *In vitro* effect of plasma during phenylhydrazine-induced erythrocyte oxidative damage // *Biomed. Biochim. Acta.* 1990. Vol. 49. N 5. P. 425–428.
21. *Matei H., Frentescu L., Benga Gh.* Comparative studies of the protein composition of red blood cell membranes from eight mammalian species // *J. Cell. Mol. Med.* 2000. Vol. 4. N 46. P. 270–276.
22. *Ogiso T., Ito Y., Iwaki M.* et al. Effect of phenylhydrazine-induced structural alterations of human erythrocytes on basic drug penetration // *Chem. Pharm. Bull.* 1989. Vol. 37. N 2. P. 430–434.
23. *Pantaler E., Kamp D., Haest C.W.M.* Acceleration of phospholipid flip-flop in the erythrocyte membrane by detergents differing in polar head group and alkyl chain length // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. Vol. 1509. P. 397–408.
24. *Semionova Y.A., Zemlyanskikh N.G., Orlova N.V., Shpakova N.M.* Antihemolytic Efficiency of Chlorpromazine under Posthypertonic Shock and Glycerol Removal from Erythrocytes after Thawing // *Probl. Cryobiol. Cryomed.* 2017. Vol. 27. N 1. P. 51–60.
25. *Virtanen J.A., Cheng K.H., Somerharju P.* Phospholipid composition of the mammalian red cell membrane can be rationalized by a superlattice model // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. Vol. 95. N 9. P. 4964–4969.

26. *Wessels J.M., Veerkamp J.H.* Some aspects of the osmotic lysis of erythrocytes III. Comparison of glycerol permeability and lipid composition of red blood cell membranes from eight mammalian species // *Biochim. Biophys. Acta.* 1973. Vol. 291. N 1. P. 190–196.

Стаття: надійшла до редакції 02.11.17

доопрацьована 02.05.18

прийнята до друку 14.06.18

EFFECT OF PHENYLHYDRAZINE ON HYPERTONIC STRESS OF MAMMALIAN ERYTHROCYTES AND ANITHEMOLYTIC ACTIVITY OF AMPHIPHILIC COMPOUNDS

N. Yershova, O. Nipot, S. Yershov, O. Shapkina

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, NAS of Ukraine

23, Pereyaslavska St., Kharkiv 61016, Ukraine

e-mail: ershbas@gmail.com

In the research work the initial level of erythrocyte damage of the investigated mammals has been shown to be significantly differed under hypertonic conditions. The level of human erythrocyte lysis in 4.0 mol/l NaCl at 37 °C made 90 %, for bovine cells it was 80 % and 60 % for equine ones. During the medium temperature decrease down to 0 °C the resistance of human, bovine and equine erythrocytes did not rise significantly.

It has been demonstrated that sensitivity of mammalian erythrocytes to hypertonic stress at 37 °C after treatment with phenylhydrazine depended on the species of cells. Here-with the sensitivity of modified bovine and human erythrocytes was reduced and the equine ones increased. Sensitivity of rabbit erythrocytes after modification did not change statistically and significantly. Under hypertonic stress at temperature of 0 °C the rise in the damage rate of modified erythrocytes of all the investigated mammal species was observed.

Trifluoperazine and dodecyl- β ,D-maltoside has been established to manifest a high protective effect under hypertonic stress of erythrocytes for all the studied mammal species, excluding the rabbit erythrocytes. Trifluoperazine has a somewhat higher anihemolytic activity (about 80–90 %) if compared with dodecyl- β ,D-maltoside (70 %). When decreasing in experiment the temperature down to 0 °C the anihemolytic activity of trifluoperazine and dodecyl- β ,D-maltoside was strongly decreased.

It has been shown that under hypertonic stress anihemolytic activity of amphiphilic compounds after modification of mammalian erythrocytes with phenylhydrazine was strongly decreased.

Keywords: hypertonic stress, phenylhydrazine, amphiphilic compounds, mammalian erythrocytes