

длиной волны 296 нм. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре Perkin Elmer (США).

Было показано, что малые дозы озона изменяют оптические характеристики белков плазмы крови и связывающую способность САЧ. При этом эффект действия озона является дозозависимым, а ответная реакция белков плазмы имеет нелинейный характер. После добавления к плазме ОФР в концентрациях 0,2-0,4 мг/л наблюдается снижение триптофановой флуоресценции белков плазмы, которое коррелирует со снижением поглощения белковых хромофоров в УФ-области. Положения же спектров флуоресценции и поглощения белков плазмы изменяются незначительно (0,5 нм). При концентрациях озона более 0,4 мг/л фиксируется волнообразный рост указанных параметров, которые, однако, не достигают первоначальных величин. Наблюдаемые изменения сходны с изменениями прямого рэлеевского рассеяния образцов под углом 90° и светорассеяния, измеренного на спаде спектров поглощения (400 нм), а также с изменениями уровня общего белка, САЧ и нуклеотидов плазмы. При содержании озона в плазме 0,2-0,4 мг/л индекс токсичности САЧ, отражающий степень его нагруженности токсичными лигандами (Г.Е. Добрецов, 1998), возрастает до $0,32 \pm 0,07$ и при дальнейшем повышении дозы колеблется в пределах 0,14-0,32. Однако индекс токсичности также обнаруживает нелинейность изменений в зависимости от примененной дозы озона.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при добавлении к плазме ОФР происходят дозозависимые конформационные изменения белков, в том числе САЧ, которые отражаются на его функциональных свойствах (способности связывать токсические лиганды).

Low ozone doses were shown to change optical characteristics of blood plasm proteins and HSA binding ability. At the same time ozone effect is dose-dependent and response of plasm proteins is of non-linear character. After adding OPS under 0.2-0.4 mg/l concentrations into plasm a decrease in tryptophan fluorescence of plasm proteins, correlating with the reduction of protein chromophore absorption in UV-range, is observed. But the positions of fluorescence spectra and plasm protein absorption slightly change (0.5 nm). At ozone concentrations more than 0.4 mg/l a wave-like growth in the mentioned parameters, although not getting the initial values, is recorded. Changes in a direct Rayleigh scattering of samples under 90° and light scattering, measured at the absorption spectra fall (400 nm), as well as those in total proteins level, HSA and plasm nucleotides are similar to the observed ones. At 0.2-0.4 mg/l ozone content in plasm the HSA toxicity index, reflecting the degree of its loading by toxic ligands (G.E. Dobretsov, 1998) increases up to 0.32 ± 0.07 and during following dose increase varies within 0.14-0.32 limits. However toxicity index also reveals the non-linearity of changes depending on the applied ozone dose.

The data obtained testify to the fact, that when adding OPS into plasm the dose-dependent conformational protein changes, including HSA, affecting its functional properties (ability to bind toxic ligands).

Динамика гиперосмотического лизиса эритроцитов человека в присутствии озона

И.А.БЕЛЫХ

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Dynamics of Human Erythrocyte Hyperosmotic Lysis in Ozone Presence

I.A. BELYKH

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

Гемолиз эритроцитов из донорской крови человека исследовали в присутствии озона в растворах: NaCl 0,15-4 моль/л при 4°C без замораживания и 0,15 моль/л после замораживания-оттаивания в криозащитных средах "Пропандиосахароль" и Glycerolyte 57 Solution (Baxter).

Чувствительность эритроцитов к гипертоническому шоку определяли по выходу гемоглобина в раствор и выражали в процентах по отношению к количеству гемоглобина в исходной суспензии клеток. Для определения 100%-го гемолиза эритроциты разрушали тритоном X-100 (0,1%). Озон получали электролизом из газообразного кислорода. Концентрацию озона измеряли спектрофотометрически по поглощению света на полосе Хартли (255 нм) на спектрофотометре SPECORD UV VIS.

В контрольных образцах, не содержащих озон, после помещения эритроцитов в среду инкубирования с концентрацией NaCl 0,15-2 моль/л (при 4°C) величина гемолиза некоторое время остается близкой к нулю и

There was investigated erythrocyte hemolysis from human donor blood in ozone presence in following solutions: 0.15-4 mol/l NaCl at 4°C without freezing and 0.15 mol/l NaCl after freeze-thawing in "Propan-diosakharol" and Glycerolyte 57 Solution (Baxter) cryoprotective media.

Erythrocyte sensitivity to hypertonic shock was determined by hemoglobin release and expressed in percents in respect of hemoglobin amount in initial cell suspension. To determine 100% erythrocyte hemolysis erythrocytes were destroyed with Triton X-100 (0.1%). Ozone was obtained by electrolysis from gaseous oxygen. Ozone concentration was spectrophotometrically measured by light consumption on Hartley band (255 nm) with SPECORD UV VIS spectrophotometer.

In ozone-free control samples after placing erythrocytes in incubation medium with 0.15-2 mol/l NaCl concentration (at 4°C) the hemolysis value remains for some time close to zero and hemolysis slightly increases in time. In the media, containing 0.15, 0.25 and 0.85 mol/l NaCl this time makes 3

гемолиз нарастает со временем слабо. В средах, содержащих 0,15, 0,25 и 0,85 моль/л NaCl, это время составляет 3 сут, в средах с концентрацией 0,45 и 1 моль/л NaCl – 2 сут. Далее наблюдается прогрессирующее увеличение степени гемолиза. В среде с концентрацией NaCl 2 и 4 моль/л гемолиз эритроцитов наблюдается сразу после помещения клеток в среду инкубирования. В первом случае он составляет 5%, а во втором – 40%. Далее в процессе инкубации до 5 сут гемолиз увеличивается во всех образцах. Действие озона на гемолиз эритроцитов сильно зависит как от дозы озона, так и от осмолярности среды инкубирования. В средах с концентрацией NaCl 0,15 и 0,25 моль/л дозы озона 0,16 и 0,32 мг/л вызывают замедление гемолиза, а доза озона 0,48 мг/л приводит к увеличению гемолиза непосредственно после помещения клеток в среду инкубирования. В средах с концентрацией NaCl 0,45 и 0,85 моль/л гемолиз еще в большей степени снижается при дозе озона 0,16 мг/л. При использовании озона в дозе 0,48 мг/л, как и в предыдущих опытах, происходит сильное возрастание гемолиза. После замораживания-оттаивания эритроцитов в дозе 0,16 мг/л способствует замедлению гемолиза.

Экспериментально обнаруженное повышение устойчивости эритроцитов к гиперосмотическому лизису под действием малых доз озона может представлять интерес при разработке протоколов криоконсервирования эритроцитов.

days and 2 days in those with 0.54 and 1 mol/l NaCl. Further a progressing increase in hemolysis extent is observed. In the medium with 2 and 4 mol/l NaCl concentration erythrocyte hemolysis is observed right after cell placing into incubation medium. In first case it makes 5% and 40% for second one. Then during incubation up to 5 days hemolysis increases in all samples. Ozone effect on erythrocyte hemolysis strongly depends on both ozone dose and osmolarity of incubation medium. In media with 0.15 and 0.25 mol/l NaCl concentrations the ozone doses of 0.16 and 0.32 mg/l cause hemolysis inhibition but ozone dose of 0.48 mg/l results in hemolysis augmentation since cells placing into incubation medium. In the media with 0.45 and 0.85 mol/l NaCl concentration hemolysis reduces in much greater extent at ozone dose of 0.16 mg/l. When using ozone in 0.48 mg/l dose as in previous trials, a strong hemolysis augmentation occurs. After erythrocyte freeze-thawing ozone in 0.16 ml/l dose contributes to hemolysis inhibition.

Experimentally revealed increase in erythrocyte resistance against hyperosmotic lysis under the effect of low ozone doses can be of interest when developing protocols for erythrocyte cryopreservation.

Жизнеспособность различных фракций суспензии клеток семенников при инкубации в растворах ДМСО

А.В. ПАХОМОВ, Г.А. БОЖОК

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Viability of Different Fractions of Testicular Cell Suspension at Incubation in DMSO Solutions

A.V. PAKHOMOV, G.A. BOZHOK

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

В связи с широким распространением в медицине методов коррекции иммуноэндокринного статуса организма, связанных с введением в организм клеток или фрагментов ткани эндокринных желез, клеток иммунной системы, паренхиматозных органов, эмбриональных или фетальных тканей, возникает проблема хранения донорских тканей и их тестирования на совместимость и стерильность. На основе методов криоконсервирования возможно создание банков культур для длительного хранения материалов. Возникает вопрос о применении различного материала после обработки криопротекторами и замораживания-отогрева, так как, вероятно, снижение жизнеспособности, функциональной активности фрагментов ткани или препаратов, содержащих несколько типов клеток.

Цель работы – исследование влияния на жизнеспособность клеток семенников взрослых крыс (СВК) растворов диметилсульфоксида (ДМСО) разной концентрации.

После коллагенизации и трипсинизации фрагментов СВК полученную клеточную суспензию разделяли в ступенчатом сахарозном градиенте. Полученные и отмывые фракции клеток помещали на час в среду RPMI

As the methods for an organism's immune-endocrine status correction, related to introduction into an organism of endocrine gland cells or tissue fragments, immune system cells, parenchymatic organs, embryonic or fetal tissues are widely spread in medicine, the problem for donor's tissues storing and their testing for compatibility and sterility arises. Basing on cryopreservation methods it is possible to establish banks for long-term material storage. The question about applying different materials after treating with cryoprotectants and freeze-thawing appears, because there is a probable decrease in viability, functional activity of tissue fragments or preparations, containing many types of cells.

The work was aimed to investigate the effect of dimethyl sulfoxide solutions of various concentrations on cell viability of testes of adult rats (TAR).

After TAR fragment collagenisation and trypsinization the obtained cell suspension was separated in a step sucrose gradient. The procured and washed-out cell fractions were placed for an hour in RPMI medium with 10% cattle serum, containing 5, 10 and 15% DMSO concentration. Incubation with solutions was performed at 2°C. Cell incubation in RPMI medium was also done for an hour at 37°C to study distant