

соотношении 1:1 с концентрацией пептидов 100 мкг/мл) и выполняли локальную криодеструкцию печени.

Состояние печени оценивали на 1, 3, 7, 14, 30-е сутки после экспериментальных воздействий методом определения активности аминотрансфераз АлАТ и АсАТ с помощью тест-систем АО "Реагент" (Днепропетровск), концентрации альбумина и общего билирубина в сыворотке крови крыс с помощью тест-систем "Симко" (Львов). Уровень перекисного окисления в сыворотке крови крыс оценивали по количеству продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой.

Анализ биохимических показателей сыворотки крови показал преимущества сочетанного применения криодеструкции и ксеноекстрактов паренхиматозных органов для восстановления функциональной активности печени, что проявляется в снижении активности аминотрансфераз и уровня билирубина, нормализации перекисных процессов и повышении концентрации альбумина в сыворотке экспериментальных животных.

with test-systems ("Reagent", Dnepropetrovsk), albumin concentrations and total bilirubin in rat blood serum using test-systems ("Simko", Lviv). Lipid peroxidation level in rat blood serum was determined by the amount of products, reacting with thiobarbituric acid.

Analysis of biochemical indices of blood serum showed the advantages of a combined application of cryodestruction and xenoextracts of parenchymatous organs to recover liver functional activity, that was manifested in a decrease in aminotransferase activity and bilirubin level, normalisation of peroxidation processes and an increase in albumin concentration in serum of experimental animals.

## **Исследование влияния озона на состояние гемоглобина в эритроцитах донорской крови в нормальных условиях и после гипотермического хранения**

И.А. Мусина

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

## **Investigation of Ozone Effect on Hemoglobin State in Donor Blood Erythrocytes in Norm After Hypothermic Storage**

I.A. MUSINA

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

В последние годы появилось много публикаций о влиянии малых доз озона на кислородтранспортную функцию крови в организме человека. Это свойство озона широко используется в озонотерапии.

Для криобиологии представляет интерес выяснить, проявляется ли указанное свойство озона на разных этапах криоконсервирования и каков по величине эффект его действия на эритроциты в сравнении с клетками в нормальных физиологических условиях.

Цель работы – исследование состояния гемоглобина донорской крови в нормальных физиологических условиях и после гипотермического хранения.

Для исследования использовали донорскую кровь человека со сроком хранения не более суток и кровь, находившуюся в течение 9 суток в холодильнике при 4°C. Готовили 10 проб каждого вида крови объемом 1,5 мл. В одну из проб крови каждого вида добавляли 0,5 мл физиологического раствора и использовали ее как контрольный образец. В каждую из оставшихся проб добавляли 0,5 мл физиологического раствора с различным содержанием растворенного озона. Суммарная концентрация озона в пробах крови составляла от 0,09 до 1,10 мг/л. Эритроциты из каждой пробы крови подвергали гемолизу в дистиллированной воде и полученный таким способом гемоглобин исследовали спектрофотометрическим методом на приборе Specord UV VIS в диапазоне длин волн 450-700 нм. Изучали также процессы термоденатурации гемоглобина на дифференциальном сканирующем калориметре ДАСМ-4.

Recently many publications on ozone effect in low doses on oxygen-transport blood function in human organism have been appeared. This property of ozone is widely applied in ozone therapy.

Of interest for cryobiology is to find out if the mentioned ozone property manifests at different cryopreservation stages and what is ozone effect value in comparison with erythrocytes under normal physiological conditions.

Work was aimed to investigate the state of donor blood hemoglobin under normal physiological conditions and after hypothermic storage.

Freshly collected human donor blood with storage term not more than a day and that, being in refrigerator at 4°C for 9 days was used for investigation. Ten 1.5 ml samples of each blood type were prepared. Into one of blood samples of each type we added 0.5 ml of physiological solution and it was used as the control sample. One added 0.5 ml of physiological solution with different content of dissolved ozone in each of the rest samples. Total ozone concentration in blood samples made from 0.09 to 1.10 mg/l. Erythrocytes from each blood sample underwent hemolysis in distilled water and obtained by such a way hemoglobin was spectrophotometrically investigated with Specord UV VIS device within 450-700 nm wavelength range. Hemoglobin thermodenaturation processes were studied with differentiated scanning calorimeter DASM-4 as well.

The shape of absorption spectrum for hemoglobin of ozone-free freshly collected blood, is typical for oxyhemoglobin.

Установлено, что форма спектра поглощения гемоглобина свежезабранной крови, не обработанной озоном, характерна для оксигемоглобина.

В оптическом спектре крови после гипотермического хранения в области поглощения гемоглобина регистрируется широкая размытая полоса без четко выраженных пиков поглощения, характерных для окси- или дезоксиформ. При добавлении озона в спектре все более проявляются полосы поглощения, характерные для оксигемоглобина. При дозе озона 0,26 мг/л спектр приобретает форму, полностью соответствующую оксигемоглобину. На основании сопоставления полученных результатов с известными результатами исследований состояния эритроцитов методом <sup>31</sup>P-ЯМР в данной работе делается вывод, что эффект уширения спектральных линий связан с неоднородностью по степени оксигенации эритроцитов крови, которая длительное время хранилась в гипотермических условиях.

Из термограмм тепловой денатурации следует, что озон в указанных выше дозах не приводит к существенным изменениям конформации молекул гемоглобина. Поэтому можно предположить, что действие малых доз озона на оксигенацию эритроцитов связано с влиянием на ферментативные системы и состояние 2,3-ДФГ.

Таким образом, полученные результаты показывают, что стимулирующее действие озона на состояние гемоглобина носит дозозависимый характер, и это явление может представлять практический интерес для криобиологии.

In optical spectrum of blood after hypothermic storage in the area of hemoglobin absorption a wide vague band without distinctly manifested absorption peaks, typical for oxy- or desoxy shapes is recorded. Typical for oxyhemoglobin absorption bands were progressively found after ozone adding. At 0.26 mg/l ozone dose the spectrum gets the shape, completely corresponding to oxyhemoglobin. Basing on comparing obtained results with the known investigation results of erythrocyte state using <sup>31</sup>P-NMR we conclude in this work, that the effect of spectral line widening is associated with heterogeneity by oxygenation extent of blood erythrocytes, which were stored under hypothermic conditions for a long time.

It proceeds from heat denaturation thermograms, that ozone under the mentioned above doses does not result in considerable changes of hemoglobin molecule conformation. Therefore we can suppose that the effect of low ozone doses on erythrocyte oxygenation is associated with the effect on enzyme systems and on 2,3-DPG state.

Thus, the results obtained show that stimulating effect of ozone on hemoglobin state has a dose-dependent character and this phenomenon can be of practical interest for cryobiology.

## **Температурозависимые переходы в мембране эритроцитов при воздействии модификаторов мембранных белков**

Я.О. Нардид, Л.В. Цымбал

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

## **Temperature-Dependent Transitions in Erythrocyte Membrane Under Effect of Membrane Protein Modifiers**

YA.O. NARDID, L.V. TSYMBAL

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

Перестройки динамической структуры биомембран, вызываемые изменением температуры, обусловлены модификацией конформационной динамики ее компонентов. Установлено, что природа этих переходов неспецифична, так как определяется изменениями вода-белок-липидных взаимодействий в мембранах. В настоящее время недостаточно исследованы структурно-функциональные свойства природных мембран при модификации основной части свободных липидов, а также при изменении конформации мембранно-связанных белков. Изучение при этом реакции мембраны на их структурную модификацию, возможно, позволит приблизиться к пониманию механизмов холодовой и осмотической чувствительности клеток. Известно, например, что окисление SH-групп мембранных белков вызывает существенные изменения их транспортных характеристик и проницаемость мембран. Глубокое изучение этой проблемы дает возможность более целенаправленно осуществлять подбор хими-

Rearrangements in dynamic structure of biomembrane, caused by temperature change, are stipulated by modification of conformation dynamics of its components. Nature of these transitions was established to be non-specific one, because it was determined by changes in water-protein-lipid interactions in membranes. Nowadays structural and functional properties of natural membranes when modifying the main part of free lipids, as well as when changing conformation of membrane-bound proteins, are poorly investigated. At the same time studying membrane reaction on their structural modification will possibly enable approaching to understanding the mechanisms of cold and osmotic cell sensitivity. For examples, SH-group oxidation of membrane proteins is known to cause considerable changes in their transport characteristics and membrane permeability. Profound studying of this problem enables more targeted selection of chemical compounds, capable to cause cryoprotective effect. The work was aimed to study the peculiarities of dynamic structure response of