

Влияние малых доз озона на гипертонический лизис эритроцитов**Effect of Low Ozone Doses on Erythrocyte Hypertonic Lysis**

Регистрировали динамику гемолиза эритроцитов в гипертонических растворах с содержанием NaCl 0,25 М, 0,45 М, 0,85 М, 1 М и 2 М при температуре 4°C в течение 8 суток при добавлении в среду инкубации озона в дозах 0,16, 0,32 и 0,48 мг/л. В средах, содержащих озон в дозе 0,16 мг/л, гемолиз эритроцитов нарастал медленнее, чем средах с теми же концентрациями NaCl без добавок озона. После замораживания-оттаивания эритроцитов в криозащитной среде «Пропандиосахароль» наблюдалось замедление гемолиза при введении в суспензию оттаянных клеток озона в дозе 0,16 мг/л. Результаты объясняются модификацией мембран эритроцитов под действием малых доз озона.

Ключевые слова: гемолиз, эритроциты, озон, инкубация.

Реєстрували динаміку гемолізу еритроцитів в гіпертонічних розчинах з вмістом NaCl 0,25 М, 0,45 М, 0,85 М, 1 М і 2 М при температурі 4°C протягом 8 діб при додаванні в середовище інкубації озону в дозах 0,16, 0,32 і 0,48 мг/л. В середовищах, що містили озон в дозі 0,16 мг/л, гемоліз еритроцитів наростає повільніше, ніж в середовищах з тими ж концентраціями NaCl без добавок озону. Після заморожування-відтавання еритроцитів у криозахисному середовищі «Пропандіосахароль» спостерігалось сповільнення гемолізу при введенні в суспензію еритроцитів, що відтанули, озону в дозі 0,16 мг/л. Результати пояснюються модифікацією мембран еритроцитів під дією малих доз озону.

Ключові слова: гемолиз, еритроцити, озон, інкубація.

There was registered the dynamics of erythrocyte hemolysis in hypertonic solutions with 0.25, 0.45, 0.85, 1 and 2 M NaCl content at 4°C within 8 days when adding ozone in 0.16, 0.32 and 0.48 mg/l dose into the medium. In the media, containing ozone in 0.16 mg/l dose the erythrocyte hemolysis increased slower, than in those with similar NaCl concentrations free of ozone additives. After erythrocyte freeze-thawing in "Propandiosakharol" cryoprotective medium there was observed the hemolysis delay when introducing 0.16 mg/l ozone into the thawed cell suspension. Results are explained with modifying the erythrocyte membrane under low ozone dose effect.

Key-words: hemolysis, erythrocytes, ozone, incubation.

Целостность мембран – один из показателей сохранности клеток при криоконсервировании. Согласно [7, 10], сильным фактором повреждения клеточных мембран при замораживании является действие гиперконцентрированных растворов, образующихся при вымораживании основной массы воды. Причиной повреждения мембран считают также постгипертонический шок, возникающий в ходе оттаивания замороженных клеток [11]. Для исследования явлений осмотического стресса моделируется ситуация, имеющая место при замораживании биологических систем. В таких экспериментах клетки не замораживают, а переносят из среды инкубации в среду, существенно отличающуюся осмолярностью, и наблюдают за реакцией клеток на сильное изменение осмолярности [6].

В работах [1, 3] отмечено, что обработка суспензии эритроцитов озоном в определенных малых дозах (получивших название «терапевтические дозы») снижает вязкость липидного бислоя мем-

brane integrity is one of the cell preservation indices under cryopreservation. According to the papers [7, 10] the effect of hyper-concentrated solutions, formed under bulk water freeze-out, is a strong factor of cell membrane damage. Post-hypertonic shock, occurring under frozen cell thawing is also considered to cause a membrane damage [11, 12]. The situation, occurring during biological system freezing is modelled to investigate the osmotic stress phenomena. In these experiments the cells are not frozen but transferred from the incubation medium into that, substantially differed by osmolarity rate, and a cell response to its strong change is observed [6].

As noted in the papers [1, 3] the erythrocyte suspension treatment with low ozone doses (named as "therapeutic doses") reduces the membrane lipid bilayer viscosity. At the same time an increase in erythrocyte deformability, depending on the spectrin-actin network state is observed. The ozone effect results in a higher erythrocyte motility in capillaries and improvement of oxygen delivery to tissues [5].

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

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

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-31-41, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: cryo@online.kharkov.ua

* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 3141, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

бран. При этом наблюдается увеличение деформативности эритроцитов, которая зависит от состояния спектрин-актинового сети и ее взаимодействия с липидным бислоем. Результатом действия озона являются более высокая подвижность эритроцитов в капиллярах и улучшение снабжения тканей кислородом [5].

На основании этих результатов можно предположить, что малые дозы озона будут способны увеличивать деформативность эритроцитов и повышать их устойчивость при криоконсервировании. Представляет интерес исследовать действие малых доз озона на эритроциты в условиях, моделирующих возникновение гиперконцентрированных растворов при замораживании и в реальных условиях замораживания-оттаивания клеток.

Цель работы – исследовать влияние озона на динамику гемолиза эритроцитов в гипертонических растворах с разной концентрацией NaCl от 0,15 до 2 М при 4°C без замораживания, а также после замораживания-оттаивания суспензии эритроцитов с криопротектором “Пропандиосахароль” [2].

Материалы и методы

В опытах использовали донорскую кровь человека. Центрифугированием крови в течение 5-10 мин при 800 g эритроциты отделяли от плазмы, далее клетки суспендировали в физиологическом растворе. Образцы клеток переносили из физиологического раствора в гипертонические с различной концентрацией NaCl. Каждую суспензию эритроцитов, перенесенных в гипертонический раствор, разделяли на несколько проб, в которые вводили различные дозы озона. Пробы выдерживали в холодильнике при температуре 4°C до 8 суток, периодически измеряя гемолиз эритроцитов. Контролем служили пробы суспензий эритроцитов, не содержащих озон.

Чувствительность эритроцитов к гипертоническому шоку оценивали спектрофотометрическим методом по выходу гемоглобина из разрушенных клеток и выражали в процентах по отношению к суммарному количеству гемоглобина в исходной суспензии клеток. Измерения проводили на спектрофотометре СФ-4А на длине волны 543 нм. Для определения 100%-го гемолиза эритроциты разрушали тритоном X-100 (0,1%).

Озон получали из газообразного кислорода (ГОСТ 5583-78). Использовали генератор озона с разрядником безбарьерного типа [3]. Требуемую дозу озона вводили в суспензию эритроцитов, добавляя в физиологический раствор с растворенным в нем озоном в известной концентрации. Для растворения озона физиологический раствор барботировали озono-кислородной смесью, причем для снижения скорости распада озона флакон с

Low ozone doses may be assumed as capable to increase the erythrocyte deformability and increase their resistance under cryopreservation. Of interest is to study the effect of low ozone doses on erythrocytes under conditions, modelling the occurrence of hyperconcentrated solutions during freezing and under real condition of cell freeze-thawing.

The research was targeted to study the ozone effect on dynamics of erythrocyte hemolysis under NaCl solutions with different concentration from 0.15 up to 2 M at 4°C without freezing, as well as after erythrocyte suspension freeze-thawing with “Propandiosakharol” cryoprotective solution.

Materials and methods

Human donor blood was used in experiments. Erythrocytes were separated from plasma with 5-10 min blood centrifugation at 800 g and suspended in physiological solution. Cell samples were removed out of isotonic solution into hypertonic one with different NaCl concentration. Each erythrocyte suspension, transferred into hypertonic solution was separated in several samples, where various ozone doses were introduced. Samples were kept in refrigerator at 4°C up to 8 days with a periodic measuring of erythrocyte hemolysis. Samples of ozone-free erythrocyte suspensions served as the control.

Erythrocyte sensitivity to hypertonic shock was spectrophotometrically evaluated by hemoglobin release out from destroyed cell and expressed as percentage in respect to its summary amount in initial cell suspension. Measurements were done in SP-4A spectrophotometer at 543 nm wavelength. In order to determine 100% hemolysis the erythrocytes were destroyed with X-100 triton (0.1%).

Ozone was procured from gaseous oxygen (5583-78 All-Union State Standard) using the ozonizer with a barrier-free arrester [3]. The required ozone dose was introduced into erythrocyte suspension, by adding in it a physiological solution with a dissolved ozone under certain concentration. To dissolve ozone the physiological solution was bubbled with ozone-oxygen mixture, moreover for reducing the rate of ozone decay the flask with physiological solution was placed into container with melting ice. The dissolved ozone concentration was spectrophotometrically measured with SPECORD UV VIS device by light absorption on 253.7 nm wavelength [4].

Erythrocytes were frozen by sample immersing into liquid nitrogen, metal and glass covers with splits between sample surface and cover wall were applied during freezing [2]. Erythrocytes were thawed on water bath at 37°C.

Results and discussion

The Fig. 1 presents the dependencies of erythrocytes hemolysis extent on their incubation time at 4°C

физиологическим раствором помещали в тающий лед. Концентрацию озона измеряли спектрофотометрическим методом на приборе Specord NV VIS по поглощению света на длине волны 253,7 нм. Данный метод применим для измерения концентрации озона как в газовой фазе, так и растворенного в жидкости [4].

Эритроциты замораживали погружением образцов в жидкий азот, применяя металлические и стеклянные чехлы с зазорами между поверхностью образца и стенкой чехла [2]. Эритроциты отогревали на водяной бане при 37°C.

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены зависимости степени гемолиза эритроцитов от времени их инкубации при 4°C в средах с разными концентрациями NaCl в присутствии озона в различных дозах.

Величина гемолиза остается близкой к нулю в течение некоторого времени с момента переноса клеток в новую среду инкубации. При отсутствии озона в средах, содержащих 0,15, 0,25 и 0,85 М NaCl, это время составляет 3-е суток, в средах с концентрацией 0,45 и 1 М NaCl – 2-е суток. В среде с концентрацией NaCl 2 М гемолиз эритроцитов наблюдается сразу после помещения клеток в среду инкубации и составляет 5%. В процессе экспозиции проб до 5 сут гемолиз с течением времени увеличивается во всех образцах.

Действие озона на динамику гемолиза эритроцитов (рис. 1) сильно зависит как от дозы озона, так и от осмолярности среды инкубации. В средах с концентрацией NaCl 0,15 и 0,25 М дозы озона 0,16 и 0,32 мг/л замедляют протекание гемолиза, а доза озона 0,48 мг/л приводит к его увеличению, уже начиная с момента помещения клеток в среду инкубации. В средах с концентрацией NaCl 45 и 0,85 М гемолиз еще в большей степени снижается при дозе озона 0,16 мг/л, однако доза озона 0,32 мг/л не приводит к замедлению гемолиза и результаты в пределах погрешности эксперимента совпадают с полученными для контрольных образцов. Доза озона 0,48 мг/л, как и в предыдущих опытах, приводит к сильному возрастанию гемолиза. Добавка озона в суспензию эритроцитов в оптимальной дозе (в данном случае 0,16 мг/л) замедляет лизис клеток в гипертонических средах.

Полученные данные свидетельствуют о том, что присутствие озона в дозах 0,16 и 0,32 мг/л в суспензии эритроцитов повышает устойчивость клеток к литическому действию гиперконцентрированных растворов солей. Повышение устойчивости клеток зависит от дозы озона и связано, по нашему мнению, с модифицирующим действием озона на клеточные мембраны.

in the media with different NaCl concentrations at ozone presence in different doses.

Hemolysis value was close to zero within some period after cell transfer into a next incubation medium. Under ozone absence in the media, containing 0.15, 0.25 and 0.85 M NaCl this time makes 3 days, in the media with 0.45 and 1M NaCl concentration it was 2 days. In the medium with 2M NaCl concentration the erythrocyte hemolysis is observed right after cell placing into incubation medium and makes 5%. During sample exposure up to 5 days the hemolysis increases with time in all the samples.

Ozone effect on erythrocyte hemolysis dynamics (Fig. 1) mostly depends on ozone dose and osmolarity rate of incubation medium. In the media with 0.15 and 0.25 M NaCl concentrations the 0.16 and 0.32 mg/l ozone doses inhibit hemolysis but that of 0.48 mg/l results in its rise starting from the moment of cell placing into incubation medium. In the media with 45 and 0.85 M NaCl concentration there is much more hemolysis decrease under 0.16 mg/l ozone dose but that of 0.32 mg/l does not result in hemolysis inhibition and the results within the limits of experiment error coincide with those obtained for the control samples. Ozone dose of 0.48 mg/l either in previous trials results in a strong hemolysis increase. Ozone adding into erythrocyte suspension in optimal dose (0.16 mg/l in this case) inhibits cell lysis in hypertonic media.

The data obtained testify to the fact that 0.16 and 0.32 mg/l ozone dose in erythrocyte suspension increases a cell resistance to lytic effect of hyper-concentrated saline solutions. Augmentation of cell resistance depends on ozone dose and we believe it is associated to a modifying ozone effect on cell membranes.

Ozone effect on erythrocyte hemolysis dynamics in the medium with “Propandiosakharol” cryoprotectant at 4°C without freezing and after freeze-thawing was studied under real cryopreservation conditions. Ozone in 0.16 mg/l dose was added into erythrocyte suspension by introducing a portion of physiological solution with the known dissolved ozone concentration of about 10 mg/l. Under 0.16 mg/l dose according to the described above experiments the ozone contributes most of all to an increase in erythrocyte resistance to hypertonic lysis.

The Fig. 2 shows that erythrocyte hemolysis at ozone presence in 0.16 mg/l dose inhibits both in erythrocytes underwent no freezing and in those after freezing down to -196°C and following thawing. There was found-out that ozone adding into erythrocyte suspension before freezing did not cause the hemolysis inhibition after thawing. When introducing ozone into cells suspension after their thawing the hemolysis of frozen-thawed erythrocytes was established to inhibit. We believe that this ozone effect is associated to its action on erythrocyte membranes. Membrane is the initial target of ozo-

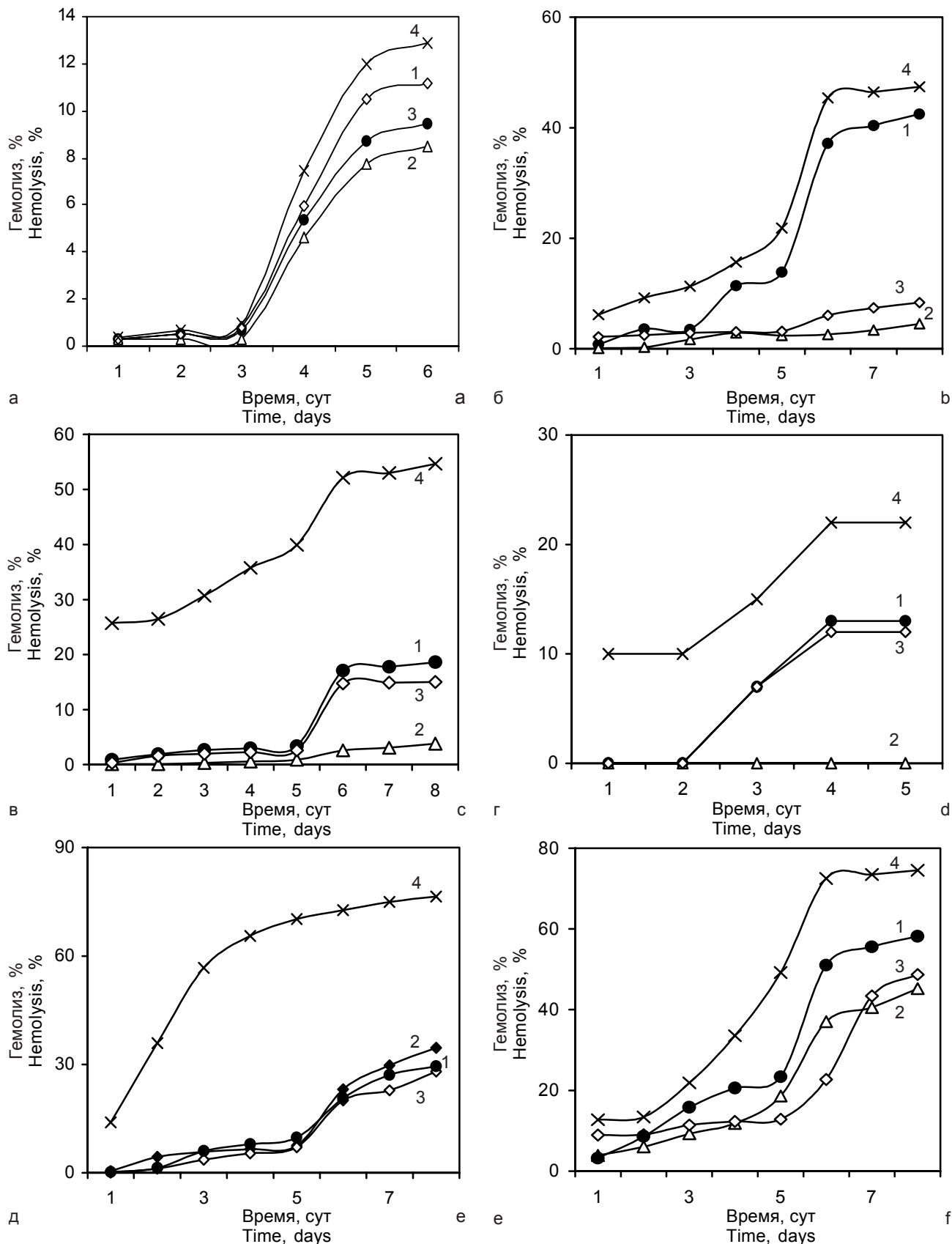


Рис. 1. Зависимости степени гемолиза эритроцитов от времени инкубации при 4 °С в присутствии озона в средах с различной концентрацией хлористого натрия, М: а – 0,15; б – 0,25; в – 0,45; г – 0,85; д – 1; е – 2. Дозы введенного озона в мг/л: 1 – контроль (без озона); 2 – 0,15 мг/л; 3 – 0,32 мг/л; 4 – 0,48 мг/л.

Fig. 1. Dependency of erythrocyte hemolysis extent on incubation time at 4°C at ozone presence in the media with sodium chloride different concentrations, М: а – 0,15; б – 0,25; в – 0,45; г – 0,85; д – 1; е – 2. Introduced ozone doses, mg/l: 1 – control (ozone free); 2 – 0.15; 3 – 0.32; 4 – 0.48.

В реальных условиях криоконсервирования исследовали влияние озона на динамику гемолиза эритроцитов в среде с криопротектором «Пропандиосахароль» при 4°C без замораживания и после замораживания-оттаивания. Озон в дозе 0,16 мг/л добавляли в суспензию эритроцитов путем введения порции озонированного физиологического раствора с известной концентрацией (обычно около 10 мг/л) растворенного озона. При дозе 0,16 мг/л, согласно описанным выше экспериментам, озон более всего способствует повышению устойчивости эритроцитов к гипертоническому лизису.

Как видно из рис. 2, гемолиз эритроцитов в присутствии озона в дозе 0,16 мг/л замедляется как в образцах, не подвергавшихся замораживанию, так и после их замораживания до -196°C и последующего оттаивания. При этом нами было отмечено, что добавление озона в суспензию эритроцитов перед замораживанием не вызывает замедления гемолиза после оттаивания. Установлено, что при введении озона в суспензию клеток после их оттаивания гемолиз деконсервированных эритроцитов замедляется. Мы считаем, что данный эффект озона связан с его действием на мембраны эритроцитов. Мембрана является первичной мишенью воздействия озона на клетку. В работах [8, 9, 13] было показано, что под действием озона происходит модификация клеточных мембран. Озон в малых дозах вызывает повышение деформабельности мембран, тогда как при высоких дозах она снижается [14]. Механизм действия озона на деформабельность мембран связывают с его влиянием на мембранные белки [16]. Липиды мембран в меньшей степени по сравнению с мембранными белками подвержены влиянию озона, особенно при малых его дозах, при которых наблюдается повышение деформабельности мембран [15]. Таким образом, влияние малых доз озона на повышение устойчивости эритроцитов к гипертоническому лизису и на замедление гемолиза эритроцитов после замораживания-оттаивания может быть объяснено модификацией мембранных белков и повышением деформабельности мембран эритроцитов под действием озона.

Выводы

В работе экспериментально показано, что озон в малых дозах может обладать модифицирующим действием по отношению к мембране эритроцитов, которое проявляется в повышении устойчивости эритроцитов к гипертоническому лизису и в снижении скорости гемолиза после замораживания-оттаивания. Это свойство озона может быть использовано при разработке протоколов криоконсервирования биологических объектов.

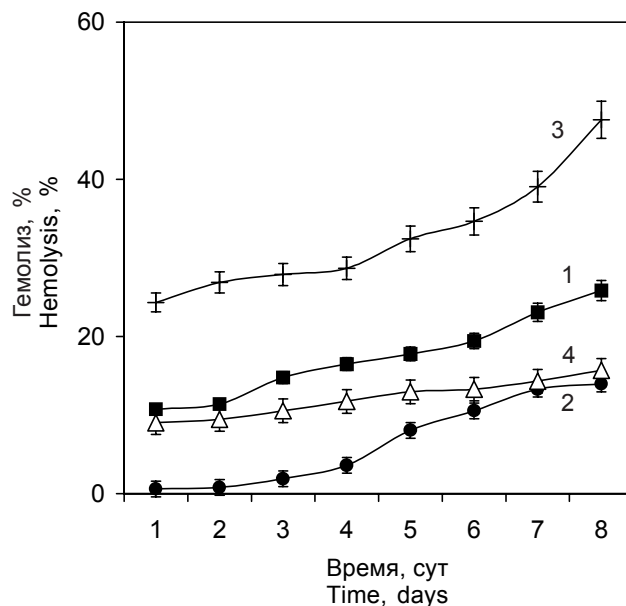


Рис. 2. Зависимость гемолиза эритроцитов от времени инкубации в среде «Пропандиосахароль» при температуре 4°C: 1 – без замораживания и добавления озона; 2 – без замораживания в присутствии озона в дозе 0,16 мг/л; 3 – после замораживания-оттаивания без добавления озона; 4 – после замораживания-оттаивания с добавлением озона к оттаянной суспензии в дозе 0,16 мг/л.

Fig. 2. Dependency of erythrocyte hemolysis on incubation time in “Propandiosakharol” medium at 4°C: 1 – without freezing and ozone adding; 2 – without freezing, at ozone presence in 0.16 mg/l dose; 3 – after freeze-thawing without ozone adding; 4 – after freeze-thawing with ozone adding into the thawed suspension in 0.16 mg/l dose.

ne effect on cell. As described in the papers [8, 9, 13] the modification of cell membrane occurs under ozone effect. Ozone in low doses causes the augmentation of membrane deformability, meanwhile it reduces under high doses [14]. Mechanism of ozone effect on membrane deformability is associated to its influence on membrane proteins [16]. Membrane lipids are subjected to ozone effect in a less extent compared to membrane proteins, especially under its low doses when an increase in membrane deformability is observed [15]. Thus, the effect of ozone low doses on a rise of erythrocyte resistance to hypertonic lysis and erythrocyte hemolysis inhibition after freeze-thawing may be explained by membrane protein modification and increase in erythrocyte membrane deformability under ozone effect.

Conclusions

Ozone in low doses was experimentally demonstrated as capable of having a modifying effect in respect to erythrocyte membrane, manifesting in an increase in erythrocyte resistance to hypertonic lysis and decrease in hemolysis rate after freeze-thawing. This ozone property may be used when developing protocols for biological object cryopreservation.

Литература

1. Бояринов Т. А., Соколов В. В. Озонированное искусственное кровообращение. – Н. Новгород, 1999.– 317 с.
2. Воротилин А. М. Криоконсервирование эритроцитов человека под защитой криопротекторов на основе низкомолекулярных диолов: Дис. ... докт. биол. наук.– Харьков, 1987. – 250 с.
3. Зинченко В. Д., Голота В. И., Сухомлин Е. А. и др. Лабораторное оборудование для применения озонных технологий в биологии и медицине // Пробл. криобиологии.– 2005.– Т. 15, № 4.– С. 712-718.
4. Киселева О. М., Куликов А. Г. Коррекция нарушений микрогемодинамики у больных диабетической ретинопатией под влиянием озонотерапии // Новгород. мед. журнал.– 2003.– С. 106.
5. Лунин В. В., Попович М. П., Ткаченко С. Н. Физическая химия озона.– М.: Изд-во МГУ, 1998 – 480 с.
6. Масленников О. В., Конторщикова К. Н. Озонотерапия. Внутренние болезни.– Н. Новгород.– 2003.– С. 24-26.
7. Панталер О. Р. Дослідження стійкості дегідратованих еритроцитів до дії осмотичного та механічного стресу: Автореф. дис. ... канд. біол. наук.– Харків, 1995.– 24 с.
8. Bayer R., Wasser G. Effects of oxidative stress on erythrocyte deformability // SPIE.– 1996.– Vol. 2678.– P. 333-341.
9. Giunta R., Coppola A., Luongo C. et al. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease// Ann. Hematol.– 2001.– Vol. 80, N12.– P. 745-748.
10. Lovelock J. E. The hemolysis of human red blood cells by freezing and thawing // BBA.– 1953.– Vol. 10, N1.– P. 414-424.
11. Mazur P. Cryobiology. The freezing of biological systems // Science.– 1970.– Vol. 169, N5135.– P. 939-949.
12. McGann L. E., Farrant J. Survival of tissue culture cells frozen by a two-step procedure to -196°C . II. Warming rate and concentration of dimethyl sulfoxide // Cryobiology.– 1976.– Vol. 13, N3.– P. 269-273.
13. Morgan D.L., Dorsey A.H., Menzel D.B. Erythrocytes from ozone-exposed mice exhibit decreased deformability // Fundam. Appl. Toxicol.– 1985.– Vol. 5, N1.– P. 137-143.
14. Morgan D.L., Furlow T.L., Menzel D.B. Ozone-initiated changes in erythrocyte membrane and loss of deformability// Environ. Res.– 1988.– Vol. 45, N1.– P. 108-117.
15. Mudd J.B., Dawson P.J., Santrock J. Ozone does not react with human erythrocyte membrane lipids //Arch. Biochem. Biophys.– 1997.– Vol. 341, N2.– P. 251-258.
16. Wrobel A., Gomulkiewicz J. Electron paramagnetic resonance studies of membrane fluidity in ozone-treated erythrocytes and liposomes// Biochem. Mol. Biol. Int.– 1999.– Vol. 47, N1.– P. 99-105.

References

1. Boyarinov T.A., Sokolov V.V. Ozonised artificial blood circulation.– N. Novgorod, 1999.– 317 p.
2. Vorotilin A.M. Cryopreservation of human erythrocytes under cryoprotectants based on low molecular diols: Thesis of doctor of biol. sciences.– Kharkov, 1987.– 250 p.
3. Zinchenko V.D., Golota V.I., Sukhomlin E.A. et al. Laboratory equipment to apply ozone technologies in biology and medicine // Problems of Cryobiology.– 2005.– Vol. 15, N4.– P. 712-718.
4. Kiseleva O.M., Kulikov A.G. Correction of disorders in microhemodynamcis in patients with diabetic retinopathy under ozone therapy effect // Novgorod. Med. Zhurnal.– 2003.– P.106.
5. Lunin V.V., Popovich M.P., Tkachenko S.N. Physical chemistry of ozone.– Moscow: Publishing House of Moscow State University, 1998.– 480 p.
6. Maslennikov O.V., Kontorschikova K.N. Ozone therapy. Internal diseases.– N. Novgorod, 2003.– P. 24-26.
7. Pantaler O.R. Study of dehydrated erythrocyte resistance to the effect of osmotic and mechanic stress: Author's abstract of thesis of candidate of biol. sciences.– Kharkov, 1995.– 24 p.
8. Bayer R., Wasser G. Effects of oxidative stress on erythrocyte deformability // SPIE.– 1996.– Vol. 2678.– P. 333-341.
9. Giunta R., Coppola A., Luongo C. et al. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease// Ann. Hematol.– 2001.– Vol. 80, N12.– P. 745-748.
10. Lovelock J. E. The hemolysis of human red blood cells by freezing and thawing // BBA.– 1953.– Vol. 10, N1.– P. 414-424.
11. Mazur P. Cryobiology. The freezing of biological systems // Science.– 1970.– Vol. 169, N5135.– P. 939-949.
12. McGann L. E., Farrant J. Survival of tissue culture cells frozen by a two-step procedure to -196°C . II. Warming rate and concentration of dimethyl sulfoxide // Cryobiology.– 1976.– Vol. 13, N3.– P. 269-273.
13. Morgan D.L., Dorsey A.H., Menzel D.B. Erythrocytes from ozone-exposed mice exhibit decreased deformability // Fundam. Appl. Toxicol.– 1985.– Vol. 5, N1.– P. 137-143.
14. Morgan D.L., Furlow T.L., Menzel D.B. Ozone-initiated changes in erythrocyte membrane and loss of deformability// Environ. Res.– 1988.– Vol. 45, N1.– P. 108-117.
15. Mudd J.B., Dawson P.J., Santrock J. Ozone does not react with human erythrocyte membrane lipids //Arch. Biochem. Biophys.– 1997.– Vol. 341, N2.– P. 251-258.
16. Wrobel A., Gomulkiewicz J. Electron paramagnetic resonance studies of membrane fluidity in ozone-treated erythrocytes and liposomes// Biochem. Mol. Biol. Int.– 1999.– Vol. 47, N1.– P. 99-105.

Поступила 29.11.2005

Accepted in 29.11.2005