

# О влиянии озона на сохранность эритроцитов человека, криоконсервированных в среде, содержащей декстран

И.А. МУСИНА

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

## About Ozone Effect on Integrity of Human Erythrocytes, Cryopreserved in Dextran-Containing Medium

I.A. MUSINA

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

В настоящее время активно исследуется влияние озона на биологические системы. Установлено, что действие озона имеет дозозависимый характер, причем при использовании его малых доз проявляются эффекты стимуляции биологических функций, а при превышении некоторой пороговой дозы – их ингибирование.

Цель работы – исследование возможности использования малых доз озона для повышения сохранности эритроцитов человека после криоконсервирования.

Эритроциты получали из донорской крови человека, трижды отмывая их от плазмы физиологическим раствором. Полученную эритроцитарную массу смешивали в объемном соотношении 1:1 с криозащитным раствором, содержащим глюкозу, сахарозу, хлористый натрий, ДМСО 7% и декстран 20%. После инкубирования в криозащитной среде при комнатной температуре образцы замораживали погружением в жидкий азот. Замороженные образцы оттаивали на водяной бане при 40°C и отмывали физиологическим раствором при 37°C. Две последующие отмывки проводили озонированным физиологическим раствором с концентрациями растворенного озона 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 мг/л. Контрольные образцы отмывали физиологическим раствором, не содержащим озон. Исследовали сохранность эритроцитов, замороженных в средах с аналогичным составом и концентрациями декстрана 5, 10 и 15%. Образцы отмывали физиологическим раствором с концентрацией растворенного озона 0,2 мг/л. Сохранность эритроцитов определяли по выходу гемоглобина на приборе СФ-4А.

Показано, что при некоторых оптимальных дозах озона повышается сохранность эритроцитов после криоконсервирования. После обработки озоном в дозах 0,2 и 0,3 мг/л она составила 95,04±0,43 и 93,15±0,32%, соответственно, а в контрольных образцах – 89,32±0,58%. В результате использования доз озона выше или ниже 0,2-0,3 мг/л отмечено снижение сохранности эритроцитов. Обработка озоном в дозе 0,2 мг/л способствовала также повышению сохранности клеток, замороженных в средах, содержащих 5, 10 и 15% декстрана, хотя сохранность таких клеток была значительно ниже, чем при замораживании в среде, содержащей 20% декстрана.

Таким образом, обработка криоконсервированных эритроцитов человека озоном в дозах 0,2-0,3 мг/л позволяет повысить сохранность данных клеток на 2-6%.

Nowadays ozone influence on biological systems has been actively investigated. Ozone effect has been established to have a dose-dependent character, moreover if using it under low doses the stimulation effects of biological functions are manifested, but their inhibiting occurs if to exceed a certain threshold dose.

The research was targeted to study the possibility of using low ozone doses to augment human erythrocyte integrity after cryopreservation.

Erythrocytes were derived from human donor blood, three-fold washed-out of plasma with physiological solution. Obtained erythrocyte mass was mixed in 1:1 volume ratio with cryoprotective solution, containing glucose, sucrose, sodium chloride, 7% DMSO and 20% dextran. Following incubation in cryoprotective medium at room temperature the samples were frozen by immersing into liquid nitrogen. Frozen samples were thawed on water bath at +40°C and washed out with physiological solution at 37°C. Two following washing-out procedures were performed using an ozonized physiological solution with 0.05; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4 mg/l dissolved ozone concentrations. Control samples were washed-out with ozone-free physiological solution. Integrity of erythrocytes, frozen in media of similar composition and 5, 10 and 15% dextran concentration were studied. Samples were washed-out with physiological solution with 0.2 mg/l dissolved ozone concentration. Erythrocyte integrity was determined by hemoglobin yield using SF-4A device.

Under certain optimal ozone doses the erythrocyte integrity was shown to augment after cryopreservation. After treating with 0.2 and 0.3 mg/l ozone it made 95.04±0.43 and 93.15±0.32%, correspondingly and in the control samples it was 89.32±0.58%. As a result of using higher or lower than 0.2-0.3 mg/l ozone doses there was noted a decrease in erythrocyte integrity. Treatment with 0.2 mg/ml ozone contributed to an increase in the integrity of cells, frozen in the media, containing 5, 10 and 15% dextran as well, although the integrity of these cells was significantly lower than during freezing in 20% dextran-containing medium.

Thus, the treatment of cryopreserved human erythrocytes with 0.2-0.3 mg/l ozone enables to augment these cells integrity by 2-6%.