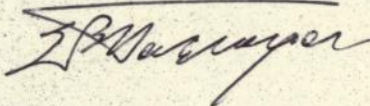


ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи



ПАТЕЛАРОС Стаматисос Вассилиос

ВЛИЯНИЕ ДЕГИДРАТАЦИИ И ДИВАЛЕНТНЫХ КАТИОНОВ
НА ОСМОТИЧЕСКУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ
ПРИ ПОСТГИПЕРТОНИЧЕСКОМ ЛАЗИСЕ

Об.00.13 - физиология человека и животных

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



00778823 (Z)

Диссертация является рукоп

Работа выполнена в Харьков

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор
Гондаренко Валерий Антонович

Официальные опоненты:

доктор биологических наук, профессор
Жегунов Геннадий Федорович
/Харьковский медицинский университет/кандидат биологических наук, с.н.с.
Древаль Владислав Иванович
/Харьковский государственный
университет/

Ведущая организация:

Харьковский НИИ медицинской
радиологии

Защита состоится "07" Октября 1994 г. в "15¹⁵" на засе-
дании специализированного совета К 053.06.07 Харьковского госу-
дарственного университета /310077, г. Харьков, пл. Свободы, 4,
аудитория 3-15/

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной
библиотеке Харьковского государственного университета.

Автореферат разослан "06" Сентября 1994 г.

Ученый секретарь
специализированного
ученого совета

Некрасова А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Известно, что клетки животного происхождения могут обратимо терять до 50 % свободной клеточной воды и гибнут при превышении этого критического уровня. [Бондаренко В.А., 1988]. Однако, как правило, гибель клеток происходит не при дегидратации, а при попытке вернуть их в нормальные изотонические условия, т.е. при регидратации. Такой тип повреждения получил название постгипертонического лизиса (ПЛ) [Zade-Oppen A.M., 1968-70] и встречается в процессе размораживания эритроцитов, консервированных в условиях низкой температуры [Lovelock J.M., 1953].

Механизмы, ответственные за повреждения эритроцитов при переходе из гипертонических условий в изотонические, и основные стадии этого процесса остаются неизвестными.

С другой стороны показано, что дивалентные катионы Ca^{2+} , Mg^{2+} и Zn^{2+} оказывают стабилизирующее влияние на мембрану при ее взаимодействии с рядом литических агентов, таких как вирус Senday, α -токсин, мелиттин и т.д. [Bashford C.L., 1986-89].

В связи с этим целью настоящей работы было изучить влияние катионов Ca^{2+} , Mg^{2+} и Zn^{2+} , входящих в состав среды регидратации, на ПЛ эритроцитов, регидратированных в изотонических средах различной ионной силы, после дегидратации в гипертонических растворах NaCl и сахарозы в разных диапазонах температуры и времени.

Задачи исследования. В соответствии с поставленной целью работы предполагалось решить следующие экспериментальные задачи:

1. Исследовать осмотическое поведение регидратированных эритроцитов в зависимости от факторов среды дегидратации и регидратации, таких как температура, время, осмолярность и ионная сила.

2. Исследовать влияние дивалентных катионов Ca^{2+} , Mg^{2+} и Zn^{2+} на уровень и динамику ПЛ эритроцитов, регидратированных в электролитных и неэлектролитных изотонических средах, в зависимости от момента действия катионов на эритроциты и от условий (температура, время, осмолярность) предварительной дегидратации клеток.

3. Изучить обратимость эффекта дивалентных катионов на ПЛ, а также определить изменение его уровня при обработке эритроцитов в стадии предварительной дегидратации различными концентрациями указанных катионов.

4. Исследовать объемные распределения эритроцитов на этапе регидратации, а также взаимосвязь между уровнем гемолиза и изменением объема регидратированных клеток, в зависимости от присутствия дивалентных катионов в среде регидратации и от условий гипертонической и изотонической инкубации клеток.

Научная новизна. Установлено, что ПЛ развивается не по коллоидно-осмотическому механизму, а обусловлен изменениями, происходящими внутри клеток в стадии дегидратации, которые ведут к снижению устойчивости мембраны к формированию гемолитических пор в этапе регидратации. Дивалентные катионы оказывают как активирующий (Ca^{2+} , Zn^{2+}), так и ингибирующий эффект на ПЛ путем взаимодействия со специфическими группами (сайтами), входящими в структуру гемолитической поры и регулирующими ее функционирование. Указанные сайты обладают различной специфичностью и сродством к катионам, а также нестабильной локализацией в клетке. Наличие активирующих сайтов является характерной особенностью для ПЛ. В случае ПЛ было обнаружено, что общая популяция эритроцитов в стадии регидратации подразделяется на три отдельные субпопуляции, обладающие разной чувствительностью к мембранным повреждениям и распределение которых варьирует в зависимости от условий инкубации клеток, а также от присутствия дивалентных катионов в среде регидратации. Установлено, что при ПЛ, в отличие от гипотонического гемолиза [Lake W., 1977, Godin V. 1976] и гемолиза, индуцированного экзогенными агентами [Bashford C.L., 1988] отсутствует прямая корреляция между уровнем гемолиза и степенью изменения объема эритроцитов.

Теоретическая и практическая значимость. Целесообразность исследования явления ПЛ заключается в том, что данный тип гемолиза является специфической и малоизученной моделью повреждения клетки, связанного с избыточной потерей внутриклеточной воды и изменениями физико-химических свойств цитоплазмы.

Понимание механизмов повреждения регидратированных эритроцитов позволит обосновать новые подходы к разработке методов низкотемпературной консервации эритроцитов, где регидратация является одним из этапов цикла замораживания - размораживания клеток.

Основные положения, выносимые на защиту.

I. ПЛ имеет эндогенное происхождение, обусловленное внутриклеточными изменениями, развивающимися в стадии дегидратации эритроцитов.

2. В структуру мембранных пор регидратированных эритроцитов входят специфические сайты, способные связываться с катионами Ca^{2+} , Mg^{2+} и Zn^{2+} , регулируя таким образом функционирование пор.

3. Изменение объема эритроцитов при ПЛ, а также их чувствительность к гемолизу определяются условиями инкубации клеток, а также воздействием дивалентных катионов на них.

Апробация работы. Материалы работы представлены на VI Украинском биохимическом съезде (Киев, 1992), на XX научно - практической конференции " Актуальные вопросы медицины " (Харьков, 1992), а также на научной конференции молодых ученых биологического факультета и НИИ биологии ХГУ (Харьков, 1992).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 работ.

Структура диссертации. Диссертационная работа складывается из введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, четырех глав с изложением результатов и их обсуждением, заключения и списка литературы, в который включены 144 работы иностранных авторов и 21 отечественных. Работа изложена на 184 страницах машинописного текста и в ее состав входят 40 рисунков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе были использованы эритроциты второй группы донорской крови.

Для исследования осмотического поведения эритроцитов при ПЛ клетки инкубировались в гипертонических растворах 1,5 М NaCl или 0,5 - 1,2 М сахарозы (гематокрит 10 %) при температуре от 0 до 37°C в течение 0; 15; 30 минут с последующим переносом в изотонические среды 0,15 М NaCl; 0,27 М сахарозы или 0,27 CaCl_2 , при $t = 18 - 20^\circ\text{C}$, где спектрофотометрическим измерением оптической плотности (ОП) ($\lambda = 720 \text{ Нм}$) определяли динамику ПЛ во времени и изменение формы клеток [Дегтярев А.В. 1990, I(англ) А. 1990].

Кроме того, клетки дегидратированные при таких же условиях, инкубировали в течение 5 мин в изотонической среде, после чего спектрофотометрическим методом ($\lambda = 415; 720 \text{ Нм}$) исследовали влияние катионов Ca^{2+} , Mg^{2+} (0,1 - 100 мМ/л) и Zn^{2+} (0,01 - 1 мМ/л) добавленных в изотоническую среду как до, так и после регидратации, на уровень и динамику ПЛ.

Для того, чтобы проверить обратимость эффекта ионов Ca^{2+} и Zn^{2+} на ПЛ в изотонические растворы вводили эквивалентные концент-

рации EDTA - хелатора катионов.

Применением ионофора А 23187 ($5 \mu\text{M}$) в сочетании с гипертонической обработкой эритроцитов ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} исследовали локализацию сайтов гемолитической поры.

Методом спектроскопии импульсов сопротивления на установке типа Coulter [Akesson S.P., 1983] определяли объемные распределения эритроцитов и их теней в зависимости от условий гипертонической инкубации (время 15; 30 мин, $t = 0$; 37°C) и от концентрации катионов Ca^{2+} , Mg^{2+} и Zn^{2+} , входящих в состав среды регидратации клеток.

Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента-Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние условий дегидратации (температура, время, осмолярность) и ионной силы среды регидратации на осмотический отклик и уровень лизиса регидратированных эритроцитов.

Исследования показали, что повышение осмолярности (0,5-1,2 М) сахарозной среды дегидратации эритроцитов приводит к увеличению динамики ПЛ, выражающемуся в повышении амплитуды кривых ОП суспензии регидратированных клеток (рис. 1). При этом увеличение ионной силы среды регидратации добавлением NaCl (4 М) приводит к ингибированию гемолиза (рис. 1).

Обнаружено, что изменение тоничности электролитной среды регидратации до 0,35 М введением раствора 4 М NaCl (или KCl) приводит к восстановлению формы эритроцитов для клеток, предварительно дегидратированных в 0,5-0,7 М растворе сахарозы, и к трансформации в сфероциты в случае дегидратации в 0,8-1,2 М сахарозе. Процесс восстановления исходной формы клеток зависит от температуры, времени и степени дегидратации и постепенно редуцируется с увеличением этих факторов. Прямая зависимость между уровнем лизиса регидратированных клеток и параметрами гипертонической инкубации свидетельствует о том, что ПЛ обусловлен изменениями, происходящими в клетках на этапе дегидратации при уменьшении объема [Бондаренко В.А., 1988], ведущими к утрате мембранной устойчивости к повреждениям при регидратации.

Согласно другим данным [Pegg D.E., 1988], мембрана эритроцитов, прошедших через фазу лизиса, способна замыкаться и восстанавливать проницаемость, близкую к исходной. Это подтверждается

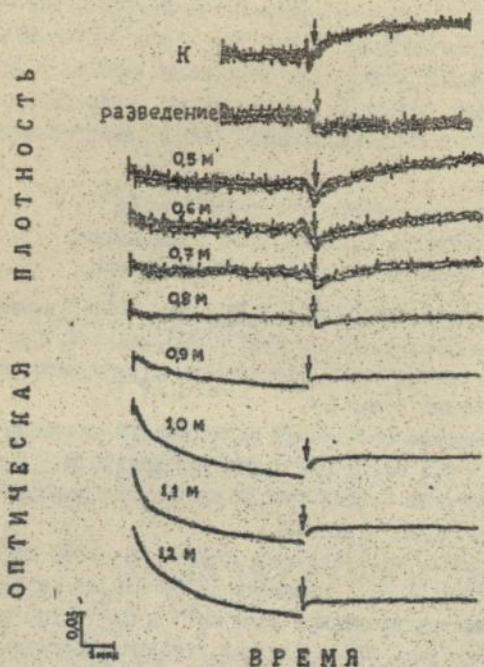


Рис. 1. Изменение оптической плотности суспензии эритроцитов при регидратации клеток в среде, содержащей 0,15 М NaCl после инкубации в гипертонических растворах сахарозы (0,5 - 1,2 М) при 37°C в течение 15 минут. Стрелками указаны моменты добавления в кювету концентрированного раствора 4 М NaCl до конечной концентрации его в среде 0,33 М.

Показан ответ контрольных эритроцитов на добавку 4 М NaCl и уменьшение светопоглощения при разведении тем же количеством физического раствора.

и нашими результатами, согласно которым регидратация в изотонической сахарозе сопровождается относительно быстрым прекращением критического набухания эритроцитов по сравнению с изотоническими растворами NaCl и ChCl, где этот процесс растянут во времени.

Последнее означает, что непроницаемость мембраны для молекул сахарозы восстанавливается раньше, чем для ионов Na^+ и хлоридов, имеющих меньший размер. При этом можно прийти к выводу о том, что восстановление исходной проницаемости мембраны эритроцитов происходит раньше в неэлектролитных, чем в электролитных средах.

Активация ПЛ эритроцитов ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} - главная особенность моделирующего воздействия дивалентных катионов в данном типе гемолиза.

Дивалентные катионы способны ингибировать лизис, вызванный литическими агентами [Bashford C.L., 1986 - 89], однако, при ПЛ катионы, входящие в состав среды регидратации, оказывают модулирующий эффект на гемолиз (рис. 2).

Ионы Ca^{2+} независимо от условий регидратации способны как активировать (0,01 - 0,1 мМ/л) так и ингибировать (0,3 - 1 мМ/л) ПЛ, и теряют активирующее влияние, если клетки ингибировались в электролитных (NaCl) средах (рис. 2А).

Ионы Ca^{2+} оказывают активирующий эффект (10 - 100 мМ/л) в неэлектролитных средах, а Mg^{2+} практически не влияет на ПЛ. Слабое ингибирующее влияние проявляют ионы Mg^{2+} и Ca^{2+} (100 мМ/л) в электролитных средах (рис. 2А). Подобный характер действия катионов на ПЛ, как в случае лизиса, индуцированного литическими агентами, свидетельствует о наличии в структуре гемолитической поры регидратированных эритроцитов специфических сайтов связывания с катионами, способных регулировать функционирование поры.

Наличие активирующих сайтов характерно для ПЛ и указывает на то, что при таком типе гемолиза эффект катионов не обусловлен экранирующим взаимодействием с заряженными компонентами поры, как в других видах гемолиза [Pasternak C.A., 1985]. Как блокирующие, так и активирующие сайты обладают наибольшим сродством связывания с ионами Zn^{2+} . Проявление активирующего эффекта ионами Zn^{2+} и Ca^{2+} в разных концентрациях и средах инкубации клеток свидетельствует о наличии специфических активирующих сайтов для Ca^{2+} и Zn^{2+} , од-

нако, ионы Mg^{2+} не способны связываться с указанными компонентами мембраны.

Ингибирующее влияние дивалентных катионов Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} на ПЛ эритроцитов.

Исследования показали, что добавление катионов в изотоническую среду, независимо от ее состава, после начала регидратации приводит к полному устранению активирующего эффекта. При этом все

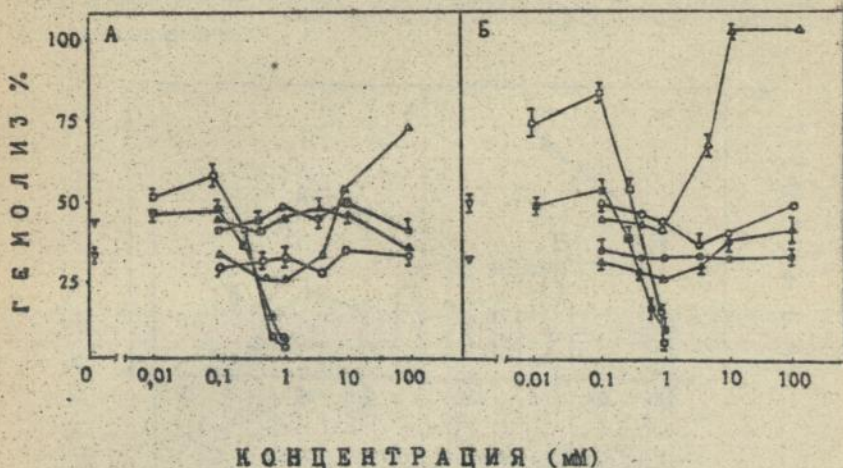


Рис. 2. Влияние дивалентных катионов Ca^{2+} (Δ \blacktriangle), Mg^{2+} (\circ \bullet) и Zn^{2+} (\square \blacksquare) на гемолиз эритроцитов, регидратированных в изотонических средах NaCl (А) и сахарозы (Б) в присутствии ионов после 15 мин инкубации при $37^{\circ}C$ в гипертонических растворах электролитов (1,5 М NaCl) - штрихованные символы или неэлектролитов (1,2 М сахарозы) - открытые символы. ∇ , \blacktriangledown - обозначают уровень лизиса при регидратации клеток в средах без катионов.

катионы Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} ингибируют гемолиз, а с увеличением времени добавления катионов блокирование ПЛ усиливается. Указанный эффект свидетельствует о том, что блокировочные сайты менее ионоспецифичны по сравнению с активирующими.

Поскольку блокирующее действие на ПЛ способны оказывать все

катионы как до (рис. 2), так и после начала регидратации, можно говорить о наличии единого блокировочного сайта в структуре гемолитической поры. Взаимодействие катионов Zn^{2+} с эквимоллярными концентрациями хелатора EDTA в разных моментах регидратации показало, что блокирующий эффект носит обратимый характер (рис. 3). При этом сохранение активирующей способности Zn^{2+} после действия EDTA свидетельствует о том, что константа связывания ($\log K$) Zn^{2+} с активирующими сайтами больше, чем с блокирующими.



Рис. 3. Влияние ионов Zn^{2+} и EDTA на гемолиз эритроцитов, инкубированных 15 мин в 1,2 М растворе сахарозы при $37^{\circ}C$ и регидратированных в изотонических средах NaCl (А) и сахарозы (В), содержащих ионы Zn^{2+} (\square), эквимоллярную смесь Zn^{2+} и EDTA (Δ) или когда эквимоллярное количество EDTA было добавлено через 1 мин после введения клеток в среду регидратации (\circ). Общее время регидратации клеток перед определением гемолиза составляет 5 мин.

Поскольку увеличение времени добавления катионов в среду регидратации привело к повышению блокирующего эффекта, можно заключить, что в процессе регидратации во время набухания клеток усиливается экспонирование блокирующих сайтов. Обработка эритроцитов в условиях гипертонии как активирующими, так и ингибирующими концентрациями ионов Ca^{2+} и Zn^{2+} в присутствии или без ионофора

А 23187 ($5 \mu\text{M}$), повышающего концентрацию ионов внутри клетки, устранила соответствующие эффекты при переносе клеток в изотоническую среду (рис. 4), свидетельствуя о том, что оба типа сайтов в условиях гипертонии локализованы внутри клетки, а лишь на этапе регидратации экспонируются на внешнюю поверхность клеточной мембраны. Поскольку активация ПЛ наблюдается только в случае изначального содержания катионов в составе изотонической среды, можно прийти к выводу о том, что экспонирование активирующих сайтов кратковременное.

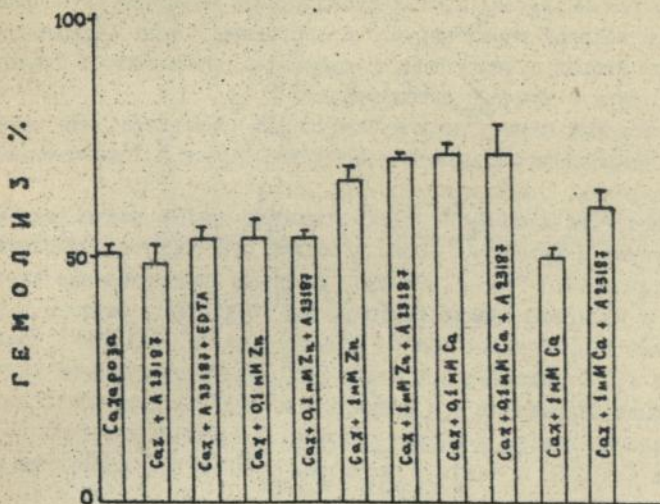


Рис. 4. Влияние Ca^{2+} , Zn^{2+} , EDTA и ионофора А 23187 на гемолиз регидратированных эритроцитов. Клетки инкубировались 15 мин в гипертонической сахарозе при 37°C в присутствии или отсутствии дивалентных катионов, 1 мМ EDTA или $5 \mu\text{M}$ А 23187 и переносились в изотонические растворы NaCl. Гемолиз измеряли после 5 мин инкубации клеток в изотонической среде.

Объемные распределения регидратированных эритроцитов и их теней при постгипертоническом лизисе в зависимости от условий дегидратации и регидратации и присутствия дивалентных катионов.

Исследование объемных распределений регидратированных эритроцитов показало, что в состав общей популяции эритроцитов входят три отдельные субпопуляции с различной чувствительностью к набуханию и лизису, в зависимости от условий гипертонической инкубации клеток. Первая субпопуляция обладает максимальной устойчивостью к регидратации, клетки которой практически восстанавливают свой изотонический объем без повреждения. Клетки второй субпопуляции набухают, но не гемолизуют. Третья субпопуляция наименее устойчива к ПЛ, клетки которой гемолизуют, превращаясь в тени. Чувствительность клеток второй субпопуляции к набуханию повышается с увеличением температуры и времени дегидратации.

Существование первых двух субпопуляций показывает, что мембраны регидратированных клеток способны замыкаться и "запечатывать" возникшие дефекты, стабилизируясь при увеличенном объеме.

Известно, что ионы Mg^{2+} , слабо влияющие на ПЛ, такие как Na^+ и K^+ , участвуют в регуляции формы и объема эритроцитов, стабилизируя их [Duzganes N., 1988]. Однако, объемные распределения клеток, помещенных в гипертонические растворы Mg^{2+} (300 мМ), заранее регидратированных в присутствии Ca^{2+} (100 мМ) или Zn^{2+} (0,1 мМ) после инкубации в 1,2 М сахарозе при 0 или 37°C, показали, что механизмы этой регуляции нарушаются при дегидратации в 37°C, где появляются две субпопуляции клеток с разным объемом. Указанная особенность не наблюдается при 0°C, а также в растворах 300 мМ Na^+ и K^+ , где распределение клеток унимодальное.

Гистограммы объемных изменений регидратированных эритроцитов в присутствии как ингибирующих, так и активирующих концентраций Zn^{2+} и Ca^{2+} , в комплексе или без EDTA (рис.5) показывают, что объем набухшей субпопуляции клеток правый пик в случае действия активирующих концентраций Zn^{2+} (0,1 мМ) и Ca^{2+} (50 мМ) (кривые 3,7) мало отличается от такового в случае отсутствия катионов (кривая 2). Кроме того, присутствие блокирующего Zn^{2+} (1 мМ) не приводит к полному редуцированию набухшей субпопуляции (кривая 4).

Установленное отсутствие прямой зависимости между уровнем лизиса и степенью изменения клеточного объема свидетельствует о

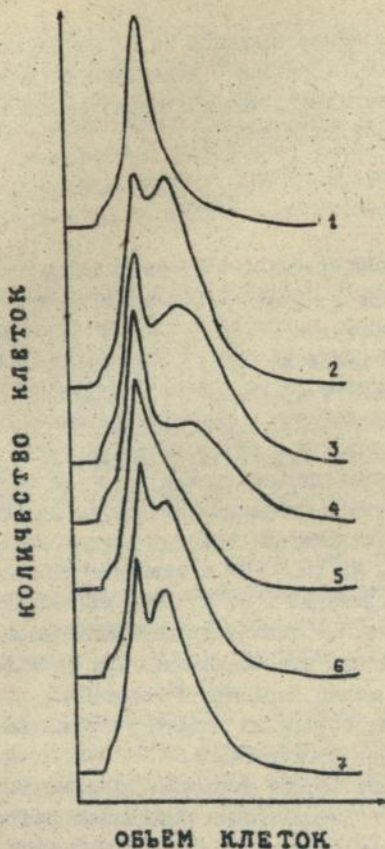


Рис. 5. Распределение по объему смешанной популяции регидратированных клеток и теней в изотоническом растворе NaCl в присутствии активирующих и блокирующих концентраций ионов Zn^{2+} и Ca^{2+} или EDTA после 15 мин инкубации эритроцитов в 1,2 М сахарозы при температуре $37^{\circ}C$. 1 - распределение контрольных эритроцитов; 2 - регидратированные эритроциты; 3, 4 - эритроциты, регидратированные в присутствии ионов Zn^{2+} в концентрации 0,1 мМ и 1 мМ соответственно; 5 - эритроциты, регидратированные в присутствии 1 мМ Zn^{2+} и 1 мМ EDTA, добавляемого через 1 мин после начала регидратации; 6 - то же, что и 5, но EDTA изначально входил в состав среды регидратации; 7 - эритроциты, регидратированные в присутствии 50 мМ Ca^{2+} .

том, что эффект влияния катионов на ПЛ не обусловлен объемными изменениями клеток, а связан с локальным их действием на мембрану, а также подтверждает, что коллоидно-осмотическое набухание не является главной причиной ПЛ.

ВЫВОДЫ

1. ПЛ эритроцитов обусловлен не коллоидно-осмотическим набуханием, а рождением в стадии регидратации клеток крупных мембранных дефектов или пор, непосредственно пронизываемых для гемоглобина. При этом увеличение объема регидратированных клеток является сопутствующим фактором, а не главной причиной лизиса эритроцитов.

2. Мембранные дефекты у регидратированных эритроцитов имеют эндогенное происхождение и обусловлены внутриклеточными изменениями на этапе дегидратации, ведущими к утрате мембранной стабильности к устойчивости к повреждениям при регидратации.

3. Дивалентные катионы способны активировать (Ca^{2+} , Zn^{2+}) или ингибировать (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}) ПЛ в зависимости от состава сред дегидратации и регидратации и от момента их действия на регидратированные эритроциты, не только предотвращая формирование пор, но и вызывая блокирование уже созданных. При ПЛ эффективность ингибирования катионами можно выразить в отношении: $\text{Zn}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$, ингибирование носит обратимый характер и усиливается с увеличением ионной силы среды регидратации.

4. Модулирующий эффект дивалентных катионов на ПЛ обусловлен связыванием ионов с двумя типами мембранных сайтов, регулирующих функционирование гемолитических пор и отвечающих за активирование и ингибирование гемолиза. Установлено, что в структуру гемолитической поры входят два активирующих ионспецифических для Ca^{2+} и Zn^{2+} и один блокирующий сайт, способный связываться с различным средством со всеми катионами. Наибольшим средством к обоим типам сайтов обладают ионы Zn^{2+} , а ионы Mg^{2+} не способны связываться с активирующими сайтами, наличие которых является характерной особенностью для ПЛ.

5. В условиях гипертонической дегидратации оба типа сайтов локализованы внутри клетки и активируются лишь на этапе регидратации, при которой они экспонируются на внешней поверхности плазматической мембраны. При этом, экспонирование активирующих сайтов

ИЗДАНИЕ В СТЕФАНИИ
АН УКРАИНА

кратковременное, соответствующее времени увеличения объема регидратированных клеток.

6. В состав общей популяции регидратированных эритроцитов входят три субпопуляции, клетки которых обладают различной чувствительностью к ПЛ. Клетки как первой, так и второй субпопуляции при набухании не подвергаются гемолизу, однако, лишь эритроциты первой субпопуляции, максимально устойчивой к ПЛ, способны восстанавливать исходный уровень объема. Клетки третьей субпопуляции, наиболее чувствительной к ПЛ, в процессе набухания гемолизируются и превращаются в тени.

7. Установлено, что эквипирация клеток, регидратированных после дегидратации при 37°C в изотонических средах как в присутствии, так и в отсутствии активирующих концентраций Ca^{2+} (100 мМ) или Zn^{2+} (0,1 мМ), в гипертонических растворах Mg^{2+} (300 мМ) характеризуется особенностью, заключающейся в появлении двух субпопуляций клеток с разным объемом. Указанная особенность не проявляется в аналогичных гипертонических средах ионов Na^{+} и K^{+} , а также после дегидратации эритроцитов при 0°C .

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.

1. Пателарос С.В., Влияние двухвалентных катионов на постгипертонический лизис эритроцитов в разных средах регидратации // в сб.: Фундаментальные и прикладные проблемы криобиологии. - ИЖК и К АН Украины. - 1993. - с 96-101.

2 Пателарос С.В., Сынчикова О.П., Влияние дивалентных катионов на постгипертонический лизис эритроцитов крови человека // Сборник научных работ аспирантов ХГУ: естественные и физико-математические науки. Харьков: Изд-во "Основа" при ХГУ. 1992. - с 43-48.

3. Пателарос С.В., Сынчикова О.П., Влияние двухвалентных катионов на постгипертонический лизис эритроцитов крови человека // Тезисы докладов XIX научно-практической конференции молодых ученых и специалистов "Актуальные вопросы медицины". Харьков. - 1992. - с. 76.

4. Пателарос С.В. Физиология влияния дивалентных катионов на постгипертонический гемолиз эритроцитов человека // Материалы научной конференции молодых ученых биологического факультета и научно-исследовательского института биологии. Харьков, ХГУ. - 1994. - с. 29.

45865

АВ 30.802

Відповідальний за випуск В.А. Бондаренко

Підписано к печати 30.08.74, формат 60x84 1/16,
бумага для множительной техники, печать офсетная,
ротапринт, ОП КОУС, заг. 1335, тираж 100 экз.,безплатно
310002, г. Харьков, ул. Маршала Баканова, № 28