

УДК 534.286

АКУСТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕМБРАН  
ЭРИТРОЦИТОВ

*Ф. И. Брагинская, Л. Я. Гендель, О. М. Зорина,  
К. Е. Круглякова, С. Х. Садыхова, О. А. Серышева*

Рассмотрено поглощение ультразвуковых волн в суспензиях эритроцитарных мембран («тени» эритроцитов) импульсным методом в диапазоне частот 12–68 МГц в зависимости от концентрации, рН, ультразвуковой обработки и других модифицирующих факторов среды. Полученные результаты показали, что поглощение ультразвуковой энергии обусловлено наличием структурной релаксации в использованном частотном диапазоне. На основе проведенного анализа высказано предположение, что наиболее вероятными механизмами обнаруженной структурной релаксации являются внутримембранные конформационные взаимодействия. Минимальные времена релаксации указанных равновесных перестроек составляют  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  с. Обработка «теней» эритроцитов кавитационным ультразвуком (интенсивность 4 Вт/см<sup>2</sup> излучающей поверхности, частота 750 кГц) приводит к изменению структуры мембраны, регистрируемому методом спинового зонда. Ультразвуковая фрагментация «теней» идет до некоторого критического предела и сопровождается частичной потерей мембранного белка. Нарушение конформационных взаимодействий в озвученных мембранах эритроцитов приводит к уменьшению коэффициента поглощения ультразвука в использованном диапазоне частот.

Изучение акустических свойств биологических объектов при различных физико-химических условиях среды дает возможность получать информацию о структурных и конформационных процессах, времена релаксации которых сравнимы с периодом ультразвуковых волн ( $10^{-6}$ – $10^{-9}$  с) [1–3]. Измеряемые при этом параметры, характеризующие структуру и механические свойства биомолекул и клеток, могут служить существенным дополнением к характеристикам, получаемым с помощью других физических и химических методов исследования. Значительный интерес в этой связи представляют биологические мембраны, в том числе мембраны эритроцитов — нативные и подвергнутые различным воздействиям. Применение акустических методов может быть полезным для понимания некоторых свойств биологических мембран. В настоящее время используется довольно большое число физических и биохимических методов для изучения свойств «теней» эритроцитов (изолированные препараты плазматических мембран эритроцитарных клеток) [4, 5], однако в литературе практически отсутствуют данные относительно их динамических и вязкоупругостных свойств. Накопленные к настоящему времени данные по анализу взаимодействия ультразвука с биомолекулами позволили выявить механизмы ультразвукового поглощения, которые связаны с гидратными и конформационными переходами, относительно вязким течением между частицами и средой, с внутримолекулярными взаимодействиями и т. д. [1–3].

Авторы исследовали акустические характеристики суспензий «теней» эритроцитов и их изменения в зависимости от концентрации и рН среды

и в результате влияния кавитационного ультразвука. Анализ полученных экспериментальных данных может быть полезным для выявления релаксационных процессов в биологических мембранах на ультразвуковых частотах.

Мы использовали препараты «теней» эритроцитов, свободные от примесей гемоглобина, которые получали из свежей цитратной бычьей крови методом ступенчатого осмотического лизиса [6]. Концентрацию препаратов «теней» эритроцитов мы определяли по содержанию мембранного белка (по Лоури). Содержание липидов, экстрагированных в смеси хлороформа и метанола, определялось весовым методом [7], качественный липидный состав теней эритроцитов, нативных и подвергнутых ультразвуковой обработке, анализировался методом тонкослойной хроматографии [7]. Экспериментально найденные соотношения белок — липид в исследованных препаратах составили 1,3—1,6.

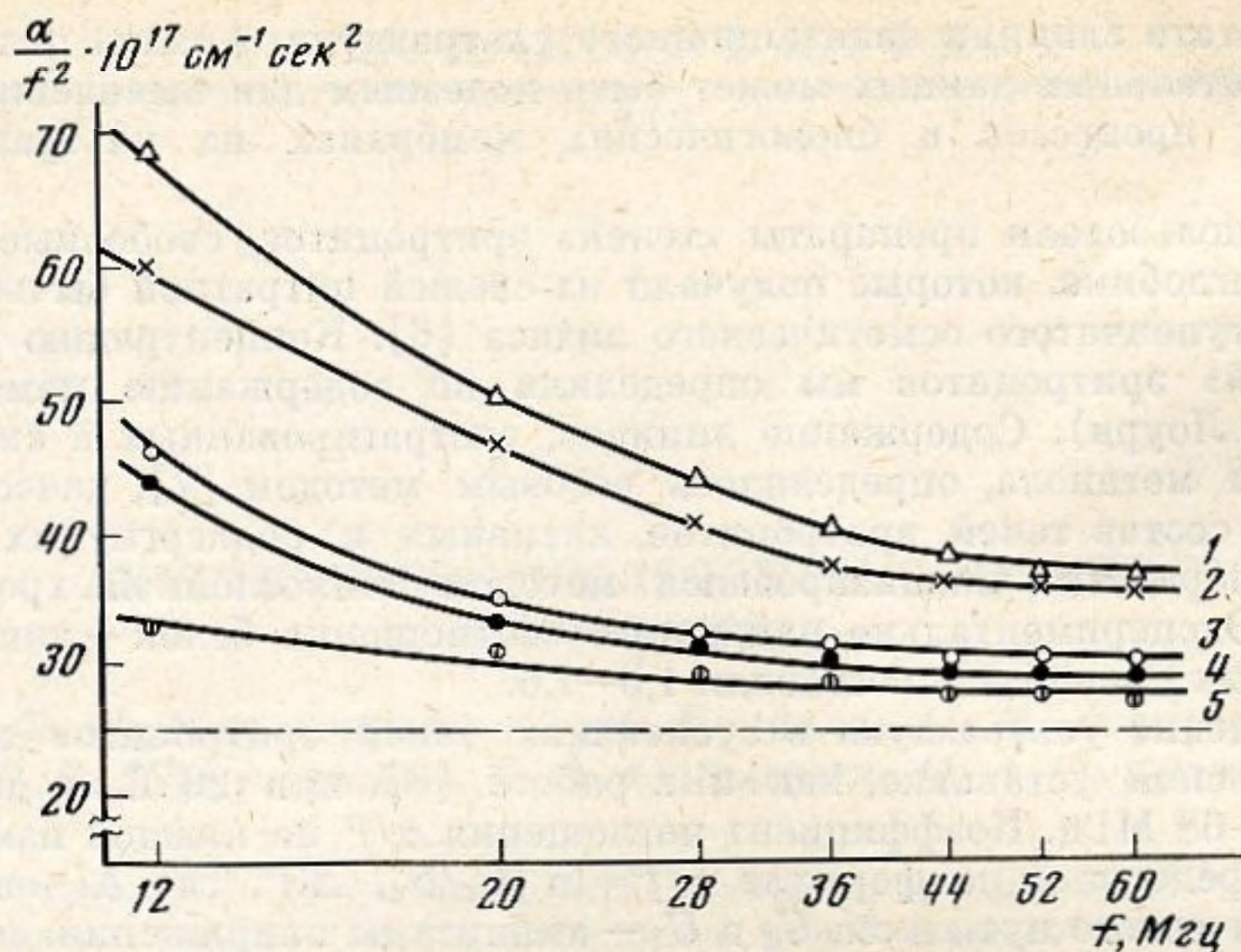
Поглощение ультразвука в суспензиях теней эритроцитов измеряли на импульсной установке, как и в работе [3], при  $20^\circ\text{C}$ , в диапазоне частот 12—68 МГц. Коэффициент поглощения  $\alpha/f^2$  на каждой измеряемой частоте определялся по формуле  $\alpha/f^2 = \ln(U_2/U_1)/\Delta l f^2$ , где  $\Delta l$  — приращение акустического пути в см,  $U_2$  и  $U_1$  — амплитуды напряжения, соответствующие разным толщинам исследуемой жидкости,  $f$  — частота. Погрешность измерений составляла  $\pm 3\%$ . Скорость распространения ультразвука в суспензиях ( $u$ , м/с) измерялась импульсно-интерферометрическим методом на частоте 20 МГц с использованием электронно-счетного частотомера; погрешность метода составляла  $0,01\%$ . В суспензиях «теней» эритроцитов измерялись кинематическая вязкость  $\eta_{\text{отн}}$  на вискозиметре Оствальда при  $T=20^\circ\text{C}$ , причем погрешность измерения времени истечения жидкости составляла  $\pm 0,1$  с, и плотность среды ( $\rho$ ) — пикнометрическим методом. Сдвиговую вязкость  $\eta_s$ , характеризующую относительное движение суспендированных частиц по отношению к растворителю, мы рассчитывали по формуле  $\eta_s = \eta_{\text{р-теля}} \frac{\tau_{\text{р-теля}}}{\tau_{\text{р-ра}} - \tau_{\text{р-теля}}}$ ;  $\partial\eta_s$  составляла

$\pm 0,00001$  пз. Так называемое классическое поглощение ультразвука мы рассчитывали по формуле  $(\alpha/f^2)_{\text{класс}} = \eta_s \cdot 8\pi^2/3\rho u^3$ . Исследуемые суспензии в объеме 5 мл подвергались воздействию кавитационного ультразвука с частотой 750 кГц; в качестве излучателя использовалась пьезокварцевая пластина диаметром 5 см и фокусным расстоянием излучателя 10 см, интенсивность составляла  $4 \text{ Вт/см}^2$  излучающей поверхности. Для анализа конформационных свойств теней эритроцитов использовался метод спинового зонда. В качестве спинового зонда мы применяли 2,2,4,4-тетраметил-5,6-бензо-1,2,3,4-тетрагидро-карболин-3-оксил. Зонд вводился в суспензию «теней» эритроцитов в виде раствора в этаноле (концентрация зонда  $5 \cdot 10^{-4}$  М, этанола  $\sim 3\%$ ). Спектры ЭПР регистрировались на радиоспектрометре РЭ1301 при температуре  $20^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ .

Наличие структурной релаксации в среде в исследуемой области частот определяется при исследовании поглощения ультразвука как функции частоты. На фиг. 1 представлены частотные зависимости коэффициента поглощения в суспензиях «теней» эритроцитов при различных концентрациях препаратов. При увеличении концентрации «теней» наблюдается увеличение коэффициента поглощения. Зависимость экспериментальных величин  $\alpha/f^2$  от частоты свидетельствует о наличии релаксационных процессов в исследуемой среде. Форма представленных на фиг. 1 кривых свидетельствует о широком спектре времен релаксации, как и в большинстве биологических жидкостей [1—3].

Минимальные времена релаксации обнаруженных в использованном диапазоне частот процессов оцениваются величинами порядка  $10^{-7}$ — $10^{-8}$  с.

Величина измеренного поглощения ультразвука могла быть обусловлена рассеянием вследствие гетерогенности суспензий «теней» и наложе-



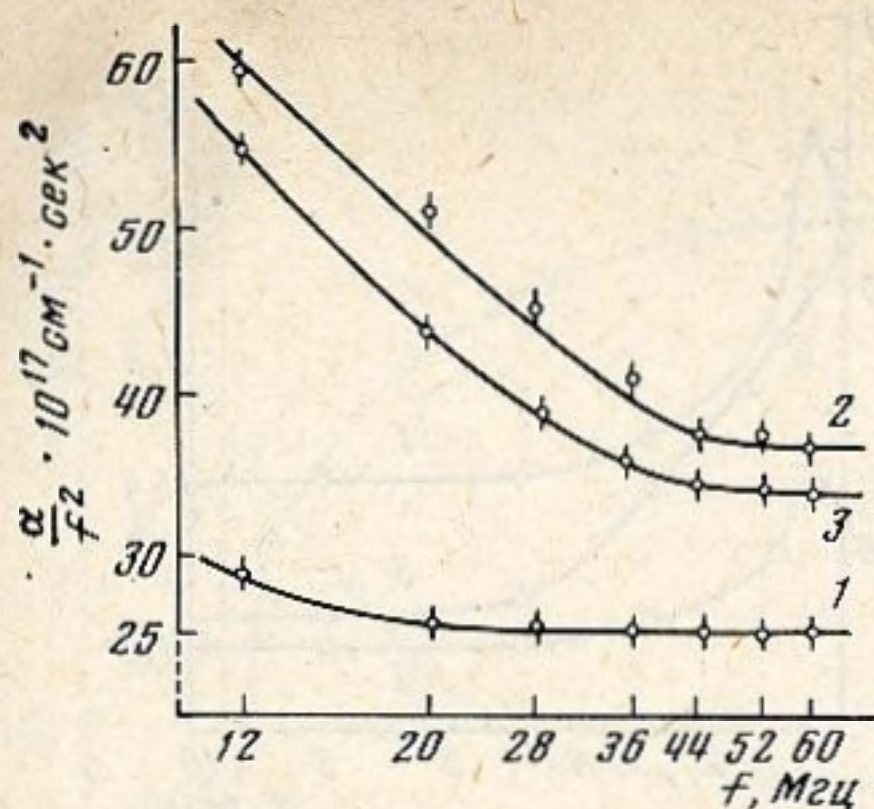
Фиг. 1. Частотные зависимости коэффициента поглощения ультразвука в суспензиях «теней» эритроцитов при  $T=20^\circ\text{C}$  при различных концентрациях препарата, с: 1 — 5 мг/мл; 2 — 4; 3 — 2,4; 4 — 2,25; 5 — 0,96 мг/мл

нием ряда структурных релаксационных процессов. С поглощением вследствие неомогенности связаны такие механизмы, как рассеяние ультразвука эритроцитарными частицами [8], относительное движение частиц и вязкой суспендирующей среды [9] и поглощение тепла [10]. Как было показано в цитируемых работах, при изучении акустических свойств цельных эритроцитов указанные механизмы не могут быть ответственны за поглощение ультразвука ни качественно, ни количественно. В нашем случае это подтверждается и тем, что рассчитанная величина классического поглощения, т. е. поглощения, обусловленного сдвиговой вязкостью среды, составила всего  $12,6 \cdot 10^{-17} \text{ см}^{-1} \cdot \text{с}^2$  для суспензии «теней» эритроцитов с коэффициентом поглощения, равным  $52,3 \cdot 10^{-17} \text{ см}^{-1} \cdot \text{с}^2$  ( $c=3 \text{ мг/мл}$ ,  $f=12 \text{ МГц}$ ,  $T=20^\circ\text{C}$ ).

Отметим, что сходный характер кривых частотных зависимостей поглощения ультразвука наблюдается в суспензиях «теней» эритроцитов и в мембранах эритроцитов, не полностью свободных от гемоглобина (фиг. 2, кривые 2 и 3). На всех частотах коэффициент поглощения в обоих препаратах отличается только по абсолютной величине, пропорциональной количеству гемоглобина. Это подтверждает предположение Карстенсена [11] о том, что поглощение ультразвука не зависит от того, находится ли гемоглобин в гомогенном растворе или в эритроцитарных клетках, т. е. в неомогенной среде.

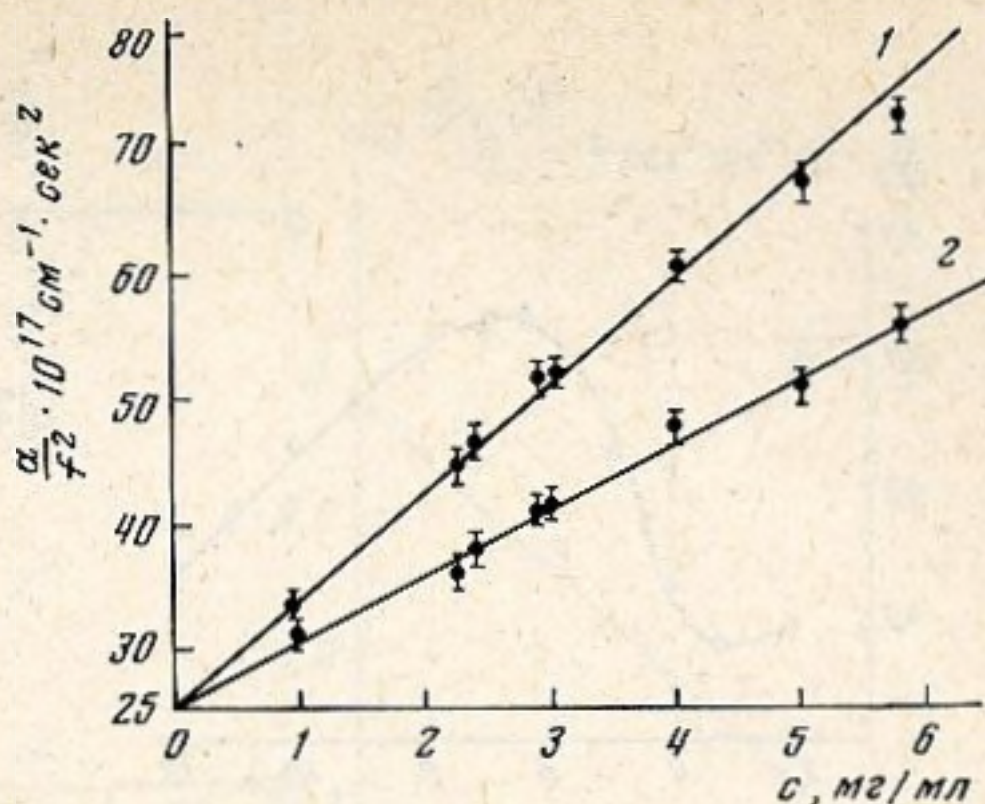
Рассмотрим возможности участия ультразвука в релаксации ряда внутри- и межмолекулярных процессов. В основе релаксации в исследуемых препаратах со временами  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  с могут лежать следующие процессы: а) взаимодействия частиц «теней» в суспензии; б) равновесные гидратные взаимодействия белково-липидный комплекс — вода; в) внутримолекулярные реакции ионизации в белковых компонентах «теней»; г) внутримембранные конформационные перестройки. Рассмотрим возможности каждого из указанных вкладов в наблюдаемые релаксационные эффекты на ультразвуковых частотах.

а) Влиянием взаимодействий «теней» в суспензиях следует пренебречь, так как на использованных частотах нами экспериментально получена линейная зависимость коэффициента поглощения от концентрации препаратов (по содержанию белка) в области 1–5 мг/мл (фиг. 3),



Фиг. 2

Фиг. 2. Частотные зависимости коэффициента поглощения ультразвука в суспензиях эритроцитарных препаратов: кривая 1 —  $\alpha/f^2$  в трис-буфере; кривая 2 —  $\alpha/f^2$  в эритроцитных мембранах, не отмытых от гемоглобина; кривая 3 —  $\alpha/f^2$  в «тенях» эритроцитов,  $c_{\text{теней}} = 3,5$  мг/мл,  $T = 20^\circ \text{C}$



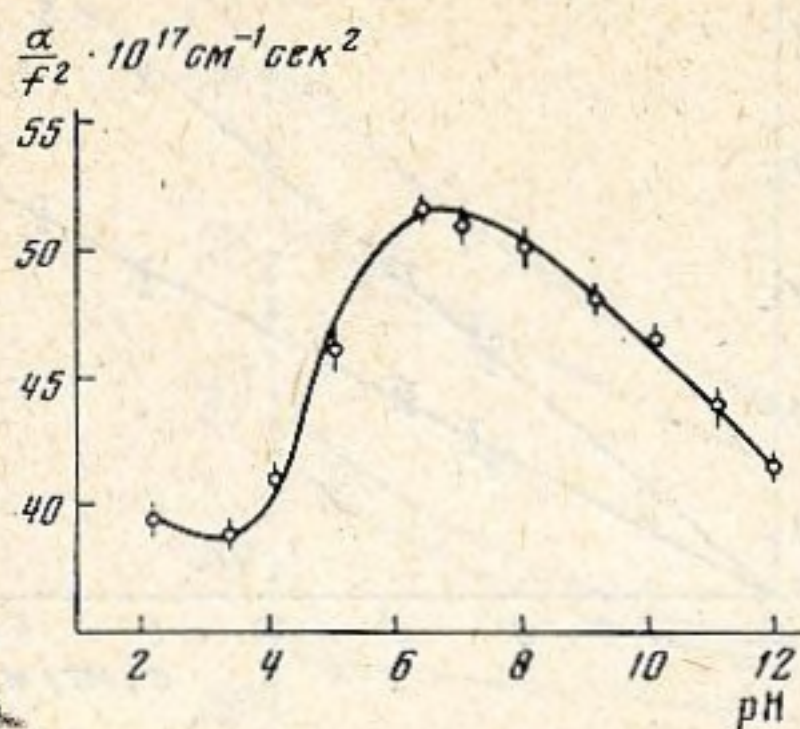
Фиг. 3

Фиг. 3. Зависимость коэффициента поглощения ультразвука на частотах 12 (1) и 20 МГц (2) от концентрации «теней» эритроцитов в суспензии

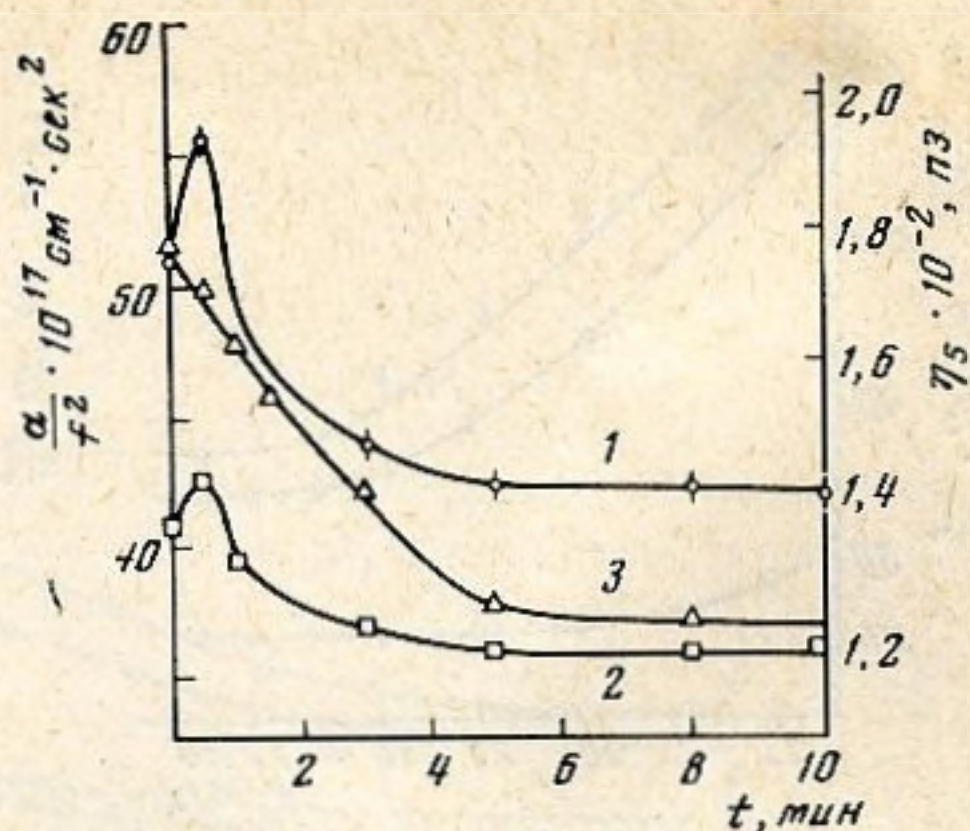
что позволяет исключить вклады вследствие взаимодействия между частицами «теней» в суспензиях.

б) Тени эритроцитов, как и другие биологические структуры в водных средах, связывают большое количество структурированной воды. Распространяющаяся ультразвуковая волна вызывает возмущение гидратного слоя вокруг макромолекулы или частицы, и это может приводить к релаксационному эффекту, как наблюдалось для других биологических жидкостей [1, 2]. Однако контрольные опыты с додецилсульфатом Na (ДДС) позволяют, по-видимому, в значительной степени исключить участие этих процессов в ультразвуковом поглощении «теней». ДДС, как известно, вызывает солюбилизацию «теней», что приводило в изученных случаях (1,9% ДДС на 2,9 мг мембранного белка в мл) к уменьшению сдвиговой вязкости от  $\eta_s = 0,017$  до 0,013 пз. Если процесс разрушения гидратной воды вокруг «теней» был бы однозначно связан с поглощением ультразвука, то должно было бы наблюдаться изменение формы кривых частотных зависимостей коэффициента поглощения суспензий мембран, солюбилизированных додецилсульфатом. Однако имеет место увеличение коэффициента поглощения ультразвука в исходной кривой частотной зависимости поглощения ультразвука в обработанных мембранах. Сходный эффект получен при действии обезвоживающего фактора этиленгликоля на поглощение ультразвука в суспензиях цельных эритроцитов [11].

в) В использованном диапазоне частот процессы структурной релаксации могли бы быть обусловлены реакциями ионизации заряженных групп мембранного белка, так как такого рода реакции имеют времена релаксации порядка  $10^{-8}$  с. На кривой потенциометрического титрования «теней» эритроцитов, приведенной в работе [12], выявляются ионизационные максимумы при рН 3,1 и 10,1, которые принадлежат  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -карбоксильным и  $\epsilon$ -аминогруппам белка «теней». Однако, в отличие от данных потенциометрического титрования зависимости поглощения ультразвука от рН среды (фиг. 4) носит экстремальный характер в нейтральной области рН. Приведенная на фиг. 4 зависимость поглощения в суспензиях «теней» от рН среды близка к аналогичной зависимости от рН спектров комбинационного рассеяния мембран эритроцитов при физиологических температурах [13]: интенсивность полос поглощения увеличивается с ростом рН до рН 7, не меняется при рН 7,0–7,4 и убывает при рН 7,5 и выше (как и на фиг. 4). Авторы цитируемой работы заключают, что наблюдаемые из-



Фиг. 4



Фиг. 5

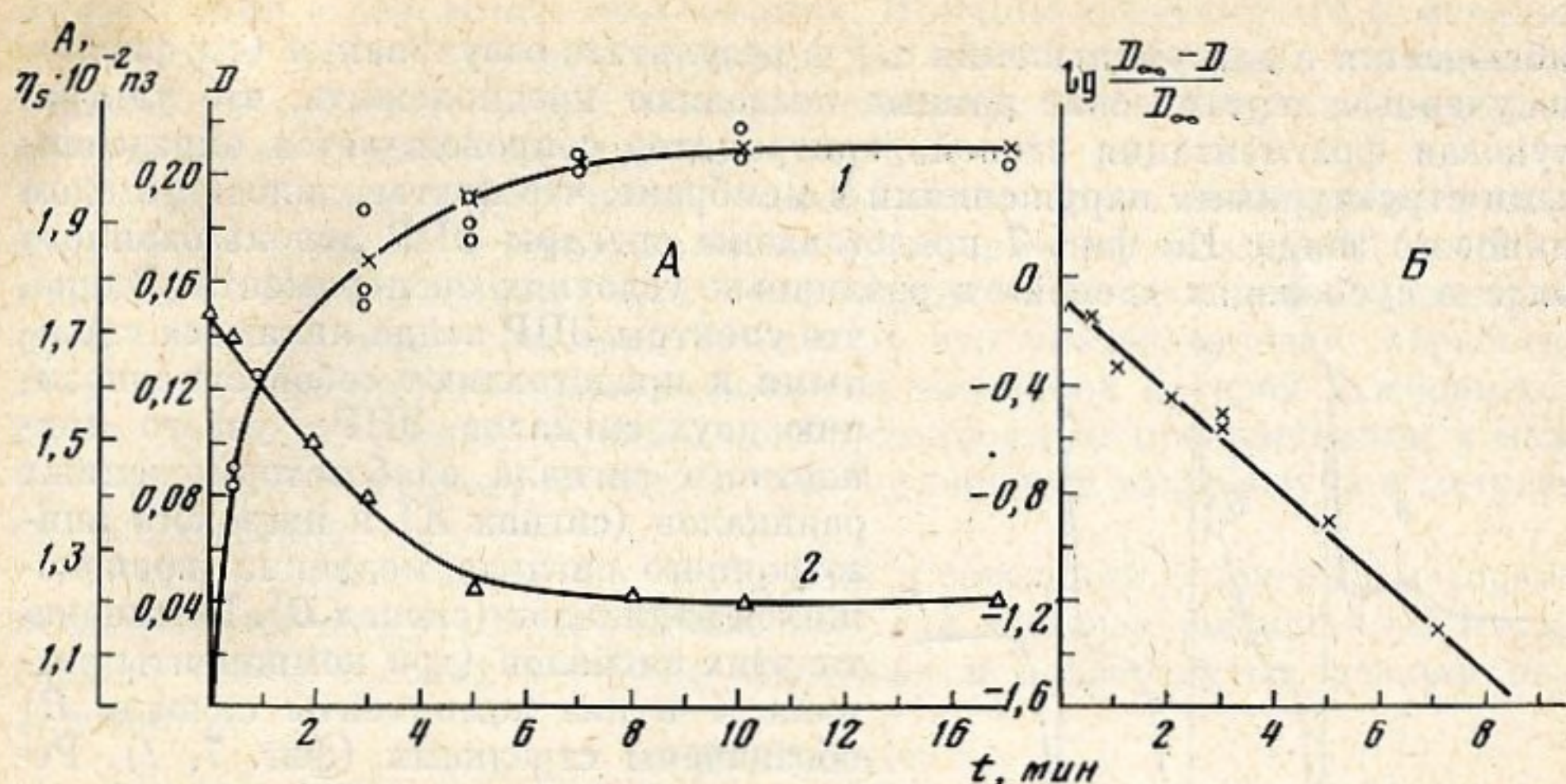
Фиг. 4. Зависимость коэффициента поглощения ультразвука в суспензиях «теней» эритроцитов от pH среды на частоте 12 МГц ( $c=3,05$  мг/мл,  $T=20^\circ\text{C}$ ;  $\Delta(\text{pH})=\pm 0,05$ )

Фиг. 5. Кривые зависимости коэффициента поглощения ультразвука ( $\alpha/f^2$ ) и сдвиговой вязкости ( $\eta_s$ ) «теней» эритроцитов от времени озвучивания: 1 — на частоте 12 МГц; 2 — на частоте 20 МГц; 3 —  $\eta_s(f)$  ( $c=2,9$  мг/мл,  $T=20^\circ\text{C}$ ,  $\Delta t=\pm 0,1$  с,  $\Delta(\alpha/f^2)=\pm 1 \cdot 10^{-17} \text{ см}^{-1} \cdot \text{с}^2$ ,  $\Delta\eta=\pm 0,00001$ )

менения при титровании обусловлены совместным фазовым переходом белковых гидрофобных аминокислотных остатков и ацильных цепей липидов.

Идентичность pH зависимостей спектров поглощения ультразвука и комбинационного рассеяния позволяет исключить вклады в поглощение за счет реакций ионизации и свидетельствует в пользу участия внутримембранных конформационных переходов белково-липидных комплексов в релаксации на ультразвуковых частотах ( $\Gamma$ ). Было показано, что равновесные конформационные взаимодействия могут также лежать и в основе релаксационных процессов в структуре липосом — модельных аналогов мембран — при исследовании механизмов поглощения ультразвука в дисперсиях фосфолипидов [14].

Для анализа участия в ультразвуковой релаксации конформационных взаимодействий в «тенях» эритроцитов нами была использована также обработка суспензий кавитационным ультразвуком. Известно, что действие интенсивного ультразвука не сводится только к механическим нарушениям биологических мембран; при этом происходят тонкие нарушения пространственных внутримембранных взаимодействий [15]. Влияние этих нарушений на величину поглощения ультразвука было проверено по данным измерений  $\alpha/f^2$  в озвученных суспензиях «теней» эритроцитов (экспозиция от 30 с до 15 мин, температура проб —  $5-8^\circ\text{C}$ ). На фиг. 5 приведены кривые зависимости коэффициента поглощения от продолжительности озвучивания. Видно, что величина  $\alpha/f^2$  убывает по мере озвучивания, достигая своего предельного значения через 5 мин после начала озвучивания. Аналогичная, примерно симбатная зависимость получена для изменения сдвиговой вязкости, обусловленного ультразвуковой фрагментацией «теней» (кривая 3). Отсутствие дальнейшего изменения вязкости при увеличении продолжительности озвучивания свидетельствует о том, что деструкция «теней» в ультразвуковом поле идет до некоторого предельного размера. Аналогичный результат был получен для измерения фотохемилюминесценции эритроцитарных мембран при их фрагментации ультразвуком с частотой 22 кГц с экспозицией 2 мин [16]. Можно предположить, что существует критическое число механических разрывов в «тенях» эритроцитов. Экспозиция, при которой оно достигается, зависит от интенсивности ультразвука. Разрывы «теней» в ультразвуковом поле могут иметь место в



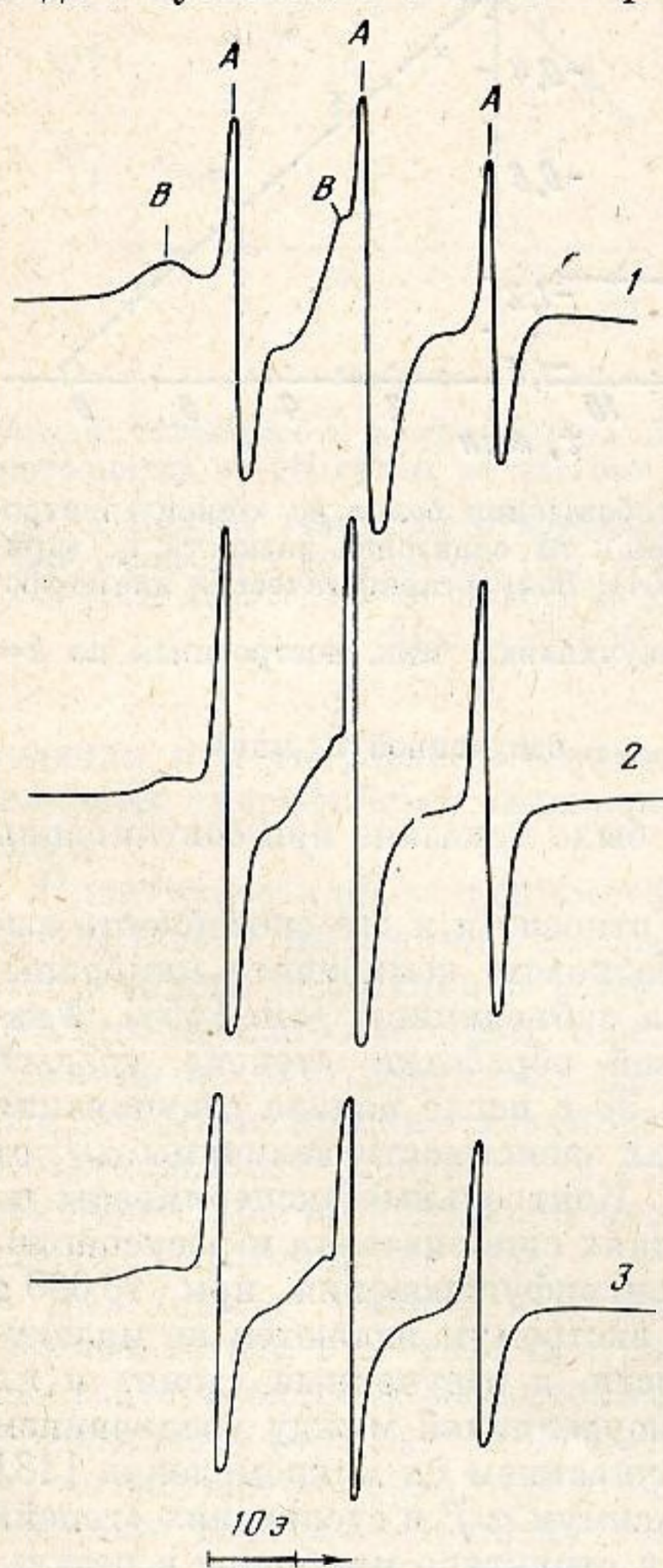
Фиг. 6. Кинетическая кривая зависимости высвобождения белка из «теней» эритроцитов по изменению  $D_{500}$  (кривая 1) и изменения их сдвиговой вязкости  $\eta_s$  (кривая 2) в зависимости от времени озвучивания (А); полулогарифмическая анаморфоза кривой 1 в координатах  $\lg \frac{D_{\infty} - D}{D_{\infty}} - t$  озвучивания, мин, построенная по  $k =$

$$= 0,20 \text{ мин}^{-1} \quad (D_{\infty} \text{ обозначено } D_{\text{суспензии, озвученной 10 мин}})$$

специфических точках мембраны, как это было показано при озвучивании микросомальных мембран в работе [17].

К особенностям действия ультразвука относится и его способность вызывать денатурационные изменения в белковом компоненте мембраны, предшествующие разрушению мембран на субъединицы (см. [15]). Указанную начальную стадию ультразвуковой обработки «теней» удалось выявить по измерению поглощения через 30 с после начала озвучивания на основе появления максимума на кривых зависимости величины  $\alpha/f^2$  от продолжительности озвучивания (фиг. 5). Контрольные эксперименты по измерению поглощения отдельно во фракциях супернатанта и ресуспендированного осадка, полученных после центрифугирования при 16 000 g 20 мин, показали, что ответственными за экстремум являются не молекулярные компоненты надосадочной жидкости, а озвученные «тени» и их частицы. По аналогии с установленной корреляцией между увеличением поглощения в растворах белков и разворачиванием их макромолекул [18] можно предположить, что отмеченный максимум  $\alpha/f^2$  в суспензиях «теней» отражает денатурационные превращения в структуре мембраны в результате начальной стадии ультразвуковой обработки. Электронно-микроскопический контроль препаратов «теней» эритроцитов, нативных и подвергнутых ультразвуковой обработке, показал, что во всех фракциях озвученных «теней» сохраняется характерная мембранная организация. Качественный состав липидов и фосфолипидов в озвученных в наших условиях «тенях» и их фрагментах не изменился. Белки озвученных «теней», так называемых «мини-теней» или везикул диаметром 250–600 Å, также существенно не отличаются от мембранных белков неозвученных «теней» по составу, определенному методом электрофореза в SDS-геле [19]. Однако наблюдается выход белка в надосадочную жидкость в результате озвучивания суспензий «теней» (фиг. 6). Как видно из фиг. 6, в использованных условиях нарастание отщепленного ультразвуком белка (по нарастанию оптической плотности  $D_{500}$  при определении белка в надосадочной жидкости) происходит до своего предельного значения. Дальнейшее увеличение экспозиции не приводит к выходу белка из «теней», что, возможно, также дает основание думать, что в изученных условиях ультразвуковая энергия разрывает мембраны эритроцитов до определенного размера, как

наблюдается и для уменьшения  $\alpha/f^2$  в результате озвучивания (см. фиг. 5). Полученные акустические данные позволяют предположить, что ультразвуковая фрагментация «теней» эритроцитов сопровождается определенными структурными нарушениями в мембране, что подтвердилось методом спинового зонда. На фиг. 7 представлены спектры ЭПР использованного зонда в суспензиях «теней» в различных условиях эксперимента. Видно,



Фиг. 7. Спектры ЭПР зонда, введенного в суспензию «теней» эритроцитов: кривая 1 — неозвученная суспензия, кривые 2 и 3 — суспензии, озвученные в течение 30 с и 5 мин соответственно ( $c=3,5$  мг/мл;  $T=20^\circ\text{C}$ )

что спектры ЭПР зонда являются сложными и представляют собой суперпозицию двух сигналов ЭПР — узкого триплетного сигнала слабозаторможенных радикалов (сигнал А) и широкого анизотропного сигнала медленно вращающихся радикалов (сигнал В). Компоненты этих сигналов (три компоненты сигнала А и две компоненты сигнала В) обозначены стрелками (фиг. 7, 1). Результаты ряда работ позволяют предполагать, что за сигнал А ответственны молекулы зонда, распределенные в водной среде в поверхностных полярных областях мембраны, а сигнал В принадлежит радикалам, внедренным во внутримембранное пространство [20]. Относительное содержание сигналов А и В в спектрах ЭПР зонда в суспензиях «теней» эритроцитов в отсутствие воздействий не изменяется по крайней мере в течение 60 мин, что дает возможность использовать его для характеристики солюбилизирующей способности данной мембранной системы.

Поведение зонда было изучено в озвученных препаратах «теней», из которых посредством отмывки в буферных растворах и последующим центрифугированием удалены белки, вышедшие из «теней» в результате ультразвуковой обработки. Озвученные, отмытые препараты ресуспендировали в объеме, равном исходному. Спектры зонда, введенного в эти системы, приведены на фиг. 7. Видно, что в озвученных в течение 30 с и 5 мин препаратах мембран (фиг. 7, 2 и 3) регистрируются спектры, характеризующиеся иным, чем в контроле, относительным содержанием сигналов А и В. Отчетливо наблюдается уменьшение доли сигнала В радикалов, внедренных во внутримембранное пространство. Это указывает на то, что ультразвуковая обработка приводит к снижению солюбилизирующей способности «теней» эритроцитов в отношении использованного зонда. Изменение же солюбилизирующей способности биомембран связано с изменениями их структурной организации, например, в результате развития патологического процесса [20]. Приведенные результаты показывают, что ультразвуковая фрагментация «теней» эритроцитов сопровождается пространственными нарушениями. Стерическая перестройка в системе белок — липид в мембранах эритроцитов в результате озвучивания выявлена также в работе [16] по изменению относительной интенсивности фотохемилю-

Очевидно, что спектры ЭПР зонда являются сложными и представляют собой суперпозицию двух сигналов ЭПР — узкого триплетного сигнала слабозаторможенных радикалов (сигнал А) и широкого анизотропного сигнала медленно вращающихся радикалов (сигнал В). Компоненты этих сигналов (три компоненты сигнала А и две компоненты сигнала В) обозначены стрелками (фиг. 7, 1). Результаты ряда работ позволяют предполагать, что за сигнал А ответственны молекулы зонда, распределенные в водной среде в поверхностных полярных областях мембраны, а сигнал В принадлежит радикалам, внедренным во внутримембранное пространство [20]. Относительное содержание сигналов А и В в спектрах ЭПР зонда в суспензиях «теней» эритроцитов в отсутствие воздействий не изменяется по крайней мере в течение 60 мин, что дает возможность использовать его для характеристики солюбилизирующей способности данной мембранной системы.

Поведение зонда было изучено в озвученных препаратах «теней», из которых посредством отмывки в буферных растворах и последующим центрифугированием удалены белки, вышедшие из «теней» в результате ультразвуковой обработки. Озвученные, отмытые препараты ресуспендировали в объеме, равном исходному. Спектры зонда, введенного в эти системы, приведены на фиг. 7. Видно, что в озвученных в течение 30 с и 5 мин препаратах мембран (фиг. 7, 2 и 3) регистрируются спектры, характеризующиеся иным, чем в контроле, относительным содержанием сигналов А и В. Отчетливо наблюдается уменьшение доли сигнала В радикалов, внедренных во внутримембранное пространство. Это указывает на то, что ультразвуковая обработка приводит к снижению солюбилизирующей способности «теней» эритроцитов в отношении использованного зонда. Изменение же солюбилизирующей способности биомембран связано с изменениями их структурной организации, например, в результате развития патологического процесса [20]. Приведенные результаты показывают, что ультразвуковая фрагментация «теней» эритроцитов сопровождается пространственными нарушениями. Стерическая перестройка в системе белок — липид в мембранах эритроцитов в результате озвучивания выявлена также в работе [16] по изменению относительной интенсивности фотохемилю-

минесценции в результате озвучивания. Причина структурных изменений может быть либо в прямой модификации белок-липидных компонентов «теней» ультразвуком, либо в косвенном повреждении этих взаимодействий за счет механических разрывов «теней».

Таким образом, в суспензиях «теней» эритроцитов обнаружены релаксационные процессы с минимальными временами релаксации  $10^{-7}$ – $10^{-8}$  с, возможно, обусловленные внутримембранными конформационными равновесными взаимодействиями. Показано, что ультразвуковая обработка «теней» эритроцитов, сопровождающаяся частичной потерей мембранного белка, приводит к определенным конформационным превращениям в мембранах, регистрируемым по изменению поглощения ультразвука и методом спинового зонда.

Метод ультразвуковой спектроскопии в сочетании с другими методами исследования может быть использован для анализа физико-химических свойств биологических мембран, нативных и подвергнутых разным воздействиям.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Dunn F.* Acoustic properties of biological materials in «Fundamental and applied aspects of nonionizing radiation», Pergamon Press, 1976, 21–36.
2. *Брагинская Ф. И.* Биофизические основы применения ультразвуковой спектроскопии для исследования нуклеиновых кислот и их производных. Труды Третьей Всесоюзной конференции по вопросам ультразвуковой спектроскопии, Вильнюс, 1976, 35–38.
3. *Брагинская Ф. И.* Изучение релаксационных процессов в водных растворах нуклеозидов методом ультразвуковой спектроскопии. Акуст. ж., 1974, 20, 5, 700–705.
4. *Конев С. В., Слобожанина Е. И., Черницкий Е. А.* Кооперативные структурные перестройки эритроцитарных мембран при взаимодействии их с гормонами. Докл. АН СССР, 1973, 208, 1, 239–242.
5. *Marinetti D. V., Love R.* Differential reaction of cell membrane phospholipids and proteins with chemical probes. Chem. and Phys. Lipids, 1976, 16, 4, 239–254.
6. *Dodge J. F., Mitchell C., Hanahan D. J.* The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes. Arch. Biochem. and Biophys., 1963, 100, 1, 119–123.
7. *Кейтс М.* Техника липидологии. М., «Мир», 1975.
8. *Hrazdira I.* Ultrasonic attenuation in biological media, Proceed. of the Xth Internat. Conference on Med. Biol. Eng., Dresden, 1973, 314.
9. *Epstein P. S., Carhart R. R.* The absorption of sound in suspensions and emulsions. I. Water Fog in Air. J. Acoust. Soc. America, 1953, 25, 3, 553–558.
10. *Kremkau F. W.* Macromolecular interactions in the absorption of ultrasound in biological material. Rochester, N. Y., 1972, 96–106.
11. *Kremkau F. W., Carstensen E. L., Aldridge W. G.* Macromolecular interaction in the absorption of ultrasound in fixed erythrocytes. J. Acoust. Soc. America, 1973, 53, 5, 1448–1451.
12. *Hallani C., Wrigglesworth J. M.* Calcium ion induced modifications of the charged groups in erythrocyte membranes. Bioch. Soc. Trans., 1973, 1, 2, 440–442.
13. *Verma S. P., Wallach D. F.* Erythrocyte membranes undergo cooperative pH-sensitive state transitions in the physiological temperature range. Evidence from Raman spectroscopy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1976, 73, 10, 3558–3561.
14. *Hammes G. G., Roberts P.* Ultrasonic attenuation measurements in phospholipid dispersions. Biochem. et biophys. acta, 1970, 203, 2, 220–227.
15. *Эльпинер И. Е.* Биофизика ультразвука, М., «Наука», 1973.
16. *Аксенцев С. Л., Нисенбаум Г. Д., Хохлов И. В., Конев С. В.* Кооперативные структурные переходы в эритроцитарных мембранах при ультразвуковой фрагментации. Биофизика, 1974, 19, 3, 543–544.
17. *Svensson H., Dallner G., Ernster L.* Investigation of specificity in membrane breakage occurring during sonication of rough microsomal membranes. Biochem. and biophys. acta, 1972, 274, 2, 447–461.
18. *Elpiner I. E., Braginskaya F. I., Zorina O. M.* Acoustic parameters of biopolymers, in the 7th Internat. Congress on Acoustics, Budapest, 1971, 153–156.
19. *Mark W., Cowden K., Chan Y., Lung V. A.* Changes in the protein profile of human erythrocyte ghost by sonication. Biophys. J., 1975, 15, 2, 208–242.
20. *Гендель Л. Я., Зорина О. М., Гуревич С. М., Ланкин В. З., Круглякова К. Е.* Изучение поведения стабильных иминоксильных радикалов (спиновых зондов) в биомембранах при злокачественном росте и алиментарном атеросклерозе. Сб. Свободно-радикальное окисление липидов в норме и патологии. М., «Наука», 1976, 90.