БИОХИМИЯ
Т. 47, вып. 6 1982

УДК 612.111.117

ФАКТОРЫ СЛИЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПТИЦ: ВЛИЯНИЕ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА И ТЕМПЕРАТУРЫ НА СОСТОЯНИЕ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

БОЙКО Н. М., БОНДАРЕНКО В. А., БЕЛОУС А. М.

Охлаждение до 2° эритроцитов цыпленка, подвергнутых инкубации с диметилсульфоксидом (Me_2SO) в 39%-ной концентрации при 37°, сопровождалось освобождением гемоглобина. Инкубация эритроцитов с Me_2SO при 2° приводила к освобождению гемоглобина, причем эффект Me_2SO в этих условиях усиливался Ca^{2+}. Гипертонические концентрации NaCl и сахарозы ослабляли эффект Me_2SO при охлаждении эритроцитов. В то же время в отсутствие Me_2SO уровень холодового гемолиза эритроцитов возрастал при повышении тоничности среды. В этих условиях низкие концентрации Me_2SO (8—15%) оказывали защитный эффект. Обсуждаются механизмы влияния Me_2SO и температуры на структуру мембраны эритроцитов.

Слияние клеток [1, 2] либо липидных везикул с клетками [3] представляет собой сложный процесс, включающий несколько циклов реорганизации клеточной мембраны [2]. К факторам, способным вызвать слияние, относятся определенные виды вирусов [4—6], жирные кислоты [7], температура [8], некоторые липиды [9], а также вещества, оказывающие защитный эффект при замораживании, — криопротекторы [2, 10]. Эффективность криопротекторов, например диметилсульфоксида (Me_2SO) и полиэтиленгликоля (ПЭГ), в качестве агентов, способных вызвать слияние клеток и липидных везикул, установлена уже достаточно давно [8, 11, 12]. Вместе с тем вопрос о взаимосвязи механизмов, обеспечивающих сохранность структуры и функции клеток при температурном воздействии, и механизмов, вызывающих слияние, остается мало исследованным. До недавнего времени основное внимание уделялось влиянию криопротекторов на состояние среды замораживания [13]. Имеющиеся разрозненные работы, посвященные изучению мембранных эффектов криопротекторов [13, 14], носят скорее случайный, а не систематический характер. Гораздо более подробные и глубокие исследования проведены при выяснении механизмов индуцируемого криопротекторами слияния клеток [2, 8, 11, 12, 15]. Установлено, что криопротекторы способны изменять поверхностный заряд клетки [12] и влиять на характер распределения компонентов мембраны [16, 17]. Существует мнение, что реорганизация структуры мембраны под влиянием индукторов слияния связана с изменением состояния как мембранных белков и липидов, так и их микроокружения [2]. Следует отметить, что эффективные концентрации криопротекторов, используемые при замораживании биологических объектов и при активации слияния, различаются: в первом случае они составляют 10—20% [13], а во втором — 30—50% [8, 10]. В связи с вышеизложенным не исключено, что в основе обеих групп эффектов лежит какой-то общий механизм, однако в каждом случае его проявление определяется концентрацией и природой криопротектора. В настоящее время не совсем ясно, является ли стабилизация мембраны при замораживании с криопротектором изменением, которое можно понимать как укрепление ее структуры, или устойчивость связана с более высокой структурной лабильностью и пластичностью мембраны. В данной работе сделана попытка оценить направленность изменений, вызываемых Me_2SO в ядерных эритроцитах, как в условиях слияния, так и в условиях гипертонического холодового шока клеток—воздействия, которое влияет в первую очередь на структуру плазматической мембраны [18].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эритроциты, полученные из крови цыплят, отмывали дважды 0,15 М раствором хлористого натрия и однократно буфером, содержащим 70 мМ хлористый натрий и 75 мМ какодилат натрия, pH 6,7. Затем эритроциты ресуспендировали в указанном буфере до определенного гематокрита (8%).

Инкубационная среда содержала 39%-ный диметилсульфоксид (Me_2SO), 2 мМ хлористый кальций и 10%-ный декстран 60С.

Эксперименты проводили в двух вариантах.

1. Суспензию эритроцитов инкубировали на водяной бане при температуре 37° в течение 10 мин, после чего в систему добавляли NaCl до конечной концентрации 1,2 М или сахарозу — до 0,86 М; смесь выдерживали при той же температуре еще 20 мин. После этого пробы выдерживали 10 мин при 0°.

2. Суспензию эритроцитов инкубировали 10 мин на ледяной бане. Пробы после создания условий гиперконцентрации сахарозой (0,86 М) или хлористым натрием (1,2 М) переносили на водяную баню (37°) на 20 мин, а затем 10 мин выдерживали при 0°.

Клетки осаждали центрифугированием при 1000 об/мин, степень гемолиза определяли спектрофотометрически в супернатанте при 540 нм.

Определение слияния эритроцитов проводили с помощью фазово-контрастной микроскопии [19]. Число клеток, степень агрегации подсчитывали в камере Горяева.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важных показателей изменений, происходящих в мембране на первых этапах слияния, является уровень агглютинации [2]. Мы провели сравнительное изучение влияния различных факторов на характер агрегации эритроцитов, причем показателем изменений служило возрастание числа клеток, включенных в агрегаты из 3 клеток и более (рис. 1). Кальций в используемой концентрации (2 мМ) не влияет на уровень агглютинации. Увеличение количества клеточных агрегатов наблюдается в присутствии декстрана. Наиболее выраженный эффект на агглютинацию клеток оказывал 39%-ный раствор Me_2SO, причем в его присутствии заметно влияние также и Ca^{2+}. При добавлении Me_2SO, Ca^{2+} и декстрана к эритроцитам наблюдали частичное их слияние (рис. 1, кривая *1*).

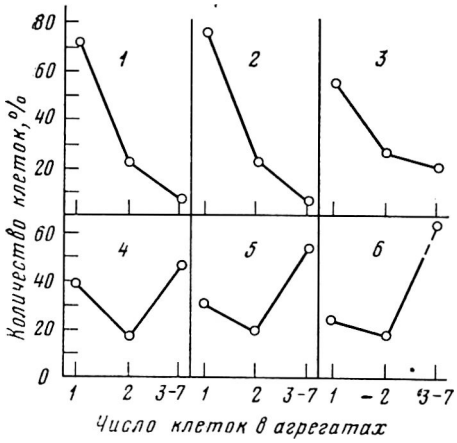

Рис. 1

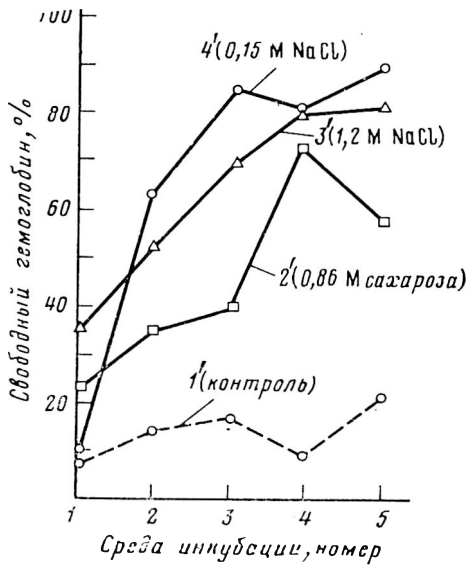

Рис. 2

Рис. 1. Изменение характера агглютинации эритроцитов под влиянием факторов слияния. *1* — контроль; *2* — Ca^{2+}; *3* — декстран; *4* — Me_2SO; *5* — Me_2SO+Ca^{2+}; *6* — Me_2SO+Ca^{2+}+декстран

Рис. 2. Освобождение гемоглобина при охлаждении эритроцитов от 37° до 2° в присутствии Me_2SO (39%). Контроль — 10-мин инкубация при 37° с Me_2SO+20-мин инкубация при 37° после добавления 1,2 М NaCl или 0,86 М сахарозы. Среды: *1* — 0,15 М NaCl; *2* — 39%-ный Me_2SO; *3* — 39%-ный Me_2SO+Ca^{2+}; *4* — 39%-ный Me_2SO+декстран; *5* — 39%-ный Me_2SO+Ca^{2+}+декстран

Судя по характеру указанных изменений, механизм влияния декстрана и Me_2SO на агрегацию эритроцитов может быть различным. Известно, что декстраны способны адсорбироваться на поверхности эритроцитов [20], причем эффект декстрана на клетку может реализоваться несколькими путями. Один из них — увеличение дзета-потенциала, величина которого зависит как от концентрации декстрана, так и от его молекулярного веса [20], второй — изменение динамической вязкости суспензии, которая, как установлено, коррелирует со степенью агрегации [20]. По-видимому, конечный эффект влияния декстрана на процесс слияния связан с изменением электростатических свойств клеток, однако условием такого влияния является адсорбция полимера на мембране.

Me_2SO оказывает более выраженное влияние (рис. 1) на агрегацию эритроцитов, чем декстран. В данном случае была использована оптимальная (39%) для слияния клеток концентрация криопротектора [8, 11]. Механизм влияния Me_2SO на агрегацию клеток по всей видимости обусловлен дегидратацией области полярных головок фосфолипидов, как это было установлено при изучении влияния такого индуктора слияния как ПЭГ [21, 22]. На липидных и белковых монослоях структурные перестройки под влиянием Me_2SO проявляются в конденсации монослоя, что указывает на снижение поверхностного потенциала [23]. Подобный же эффект оказывают такие криопротекторы, как глицерин [24] и ПЭГ [12]. Не исключено, что действие Me_2SO связано с изменением характера асимметрии мембранных липидов [1].

Как известно, в условиях холодового шока (резкое охлаждение эритроцитов от 37° до 0°) мембрана эритроцитов претерпевает определенные изменения, что проявляется в формировании структурных дефектов и увеличении проницаемости [18]. Основной причиной указанных изменений, по-видимому, являются фазовые переходы мембранных липидов [18]. В данном случае мы использовали холодовый шок в качестве процедуры, способной не только «проявить» структурные изменения, возникающие в мембране под влиянием факторов слияния, но и выявить направленность действия Me_2SO, т. е. способность его снижать или углублять температурный эффект. Как видно из рис. 2, быстрое охлаждение эритроцитов в изотонической солевой среде (среда 1, кривая *4'*) не приводит к их повреждению (выходу гемоглобина). Резкое возрастание проницаемости мембраны наблюдалось при охлаждении с Me_2SO в 39%-ной концентрации, еще более увеличиваясь при добавлении к этой среде Ca^{2+} (рис. 2, кривая *4'*, среды 2 и 3). Если в классических экспериментах по холодовому шоку эритроцитов основным условием проявления температурных изменений мембраны было формирование гипертонических условий среды [18], то в данном случае холодовый гемолиз развивался в условиях солевой изотонии. Отсюда можно сделать вывод о наличии предсуществующих дефектов структуры мембраны, формирующихся при инкубации клеток с Me_2SO и Ca^{2+} при 37°, которые затем становятся участками инициации каналов либо зон утечки гемоглобина. По-видимому, основной механизм влияния Me_2SO и Ca^{2+} на мембрану клеток связан с изменением состояния ее липидной фазы. Как Ca^{2+}, так и Me_2SO, а также ПЭГ способны вызывать кооперативные изменения мембран [10, 25—28]. Возможно, что в основе механизма слияния, стимулируемого Me_2SO и Ca^{2+}, лежат изотермические переходы липидов из жидкокристаллического в конденсированное состояние [25]. Из анализа данных большинства экспериментов по изучению слияния клеток [8, 11, 25] становится очевидным, что мембранные эффекты Me_2SO не являются достаточными для слияния в отсутствие кальция. Это может быть связано с более избирательным действием ионов Ca^{2+} на локальные участки мембраны. Из рис. 2 видно, что наиболее выраженные изменения структуры эритроцитов происходят в присутствии Ca^{2+}. Можно также предположить, что Me_2SO модулирует структурные эффекты и содержание внутриклеточного Ca^{2+}. Однако в целом механизм действия Ca^{2+}, по-видимому, имеет сложный характер, включая его влияние на распределение липидов в мембранах, приводящее к образованию липидных доме-

нов [29]. Из данных, полученных на модельных липидных мембранах, можно сделать вывод, что механизм слияния, по-видимому, не исчерпывается простой нейтрализацией [25—27] электрических зарядов мембраны. Причиной Ca^{2+}-индуцированного слияния может быть избыток свободной поверхностной энергии, обусловленный кривизной мембраны или трансмембранным осмотическим градиентом [30]. Однако в начальной фазе тенденция к слиянию проявляется в результате вызываемых Ca^{2+} изменений молекулярной упаковки и появления новых границ фаз в мембранах [26]. Наибольший интерес в связи с полученными нами данными представляет факт практически одинаковой направленности изменений в структуре мембраны, вызываемых Me_2SO и Ca^{2+}, с одной стороны, и сдвигом температур — с другой [26, 31]. Как температура [32], так Me_2SO и Ca^{2+} [26] способны привести к локальной конденсации липидного бислоя. Возникающий при этом структурный дефект экспонирует внутренний монослой мембраны к воде, что в условиях слияния облегчает проникновение ионов и других факторов слияния к внутренней поверхности мембраны и усиливает их действие [25—27]. В свою очередь при сдвиге температуры структурный дефект является зоной утечки внутреннего содержимого клетки [31]. Важно, что в обоих случаях конденсированные участки мембраны становятся нестабильными, причем нестабильность, по-видимому, имеет конформационную природу [27]. Одинаковая направленность изменений структуры под влиянием факторов слияния и температуры (имеется в виду температура, близкая к точке фазовых переходов липидов) предполагает возможность суммации указанных эффектов при понижении температуры. Как видно из рис. 3, подобное усиление изменений структуры при 2° характерно для всех сочетаний факторов (рис. 3, кривая *1′*). Тот факт, что указанные изменения наблюдали в условиях изотонии и без индукции холодового шока, указывает на более выраженный структурный «ответ» мембраны на действие факторов слияния при низкой температуре. Из экспериментов по изучению структурных изменений липосом вблизи температур фазовых переходов липидов [27] видно, что температура может быть основной причиной неустойчивого состояния мембраны, ведущего к слиянию. При определенном уровне нестабильности мембраны слияния становится энергетически выгодным процессом [27]. Слияние липидных везикул в этих условиях происходит независимо от присутствия активаторов слияния [33]. В то же время эффект Me_2SO на везикулах наиболее выражен вблизи температур фазовых переходов липидов [27]. Полученные нами данные (рис. 3) свидетельствуют, что модификация структуры эритроцитов наиболее выражена при совместном действии Me_2SO и других факторов (Ca^{2+}, декстран). Можно предположить, что изменение структуры клеток под влиянием факторов слияния развивается в определенной последовательности, начальным звеном которой является формирование дефектов структуры, а завершающим — стабилизация уже модифицированной мембраны. Механизм стабилизации не совсем ясен, однако имеются указания на то, что молекулы соединений, активирующих слияние, могут накапливаться по краевым участкам разрывов в мембране и стабилизировать структурные дефекты бислоя, создавая тем самым активированные зоны, по которым впоследствии происходит слияние [7]. Достаточно вероятно, что подобное явление может наблюдаться при глубоком охлаждении различных клеток с криопротекторами, когда избыточное взаимодействие с мембраной будет приводить к стабилизации не только нативных участков мембраны, но и дефектов структуры. О том, что структурные изменения, вызванные действием индукторов слияния и температуры, носят характер макроскопических дефектов, свидетельствуют наши данные о влиянии на эритроциты гипертонических концентраций NaCl и сахарозы (рис. 2 и 3). Если в обычных условиях холодового шока гипертония является фактором, резко увеличивающим уровень структурных нарушений при охлаждении (рис. 2 и 3; кривые *2′* и *3′*, среда 1), то в присутствии Me_2SO она приводит к снижению уровня гемолиза по сравнению с изотоническими условиями (рис. 2 и 3; кривая *4*).

В связи с этим следует полагать, что тангенциальное давление на мембрану, создаваемое при осмотически индуцированном уменьшении объема клетки, ограничивает увеличение размеров структурных дефектов при сдвиге температуры. Подобный эффект гипертонических концентраций солей наблюдали, в частности, при охлаждении *E. coli* [34]. Фактически осмотическое уменьшение объема клетки является процессом, обратным присущему слиянию этапу набухания, когда для слияния необходимо предварительное увеличение объема клеток [35]. Предполагают, что набухание модифицирует латеральную подвижность липидов бислоя, и этот процесс изменяет структуру спектрин-актиновой решетки, ограничивающей в норме латеральную подвижность мембранных белков [36]. В этом случае возрастает вероятность экспансии микрослияний в дефектных зонах в тотальное слияние [36]. Следует, однако, отметить, что изменения фазового состояния липидов можно достичь и без сдвига температуры, например, обогащением эритроцитов холестерином. В этом случае вызванное холестерином разделение липидных фаз является причиной увеличения эффективности слияния [37]. Подобная однонаправленность структурно-фазовых превращений мембраны при охлаждении и изменений, вызываемых индукторами слияния, позволяет предположить, что сходные со слиянием процессы в секретирующих клетках могут быть причиной повышенной чувствительности их мембран к охлаждению. Некоторые данные подтверждают это предположение. Так, простое охлаждение до 0° клеток нейрогипофиза приводит к слиянию секреторных пузырьков с клеточными мембранами и друг с другом [38]. В присутствии Ca^{2+} охлаждение приводит не только к слиянию секреторных пузырьков, но и к освобождению в среду вазопрессина [38]. Сходные явления обнаружены на лизосомах [39].

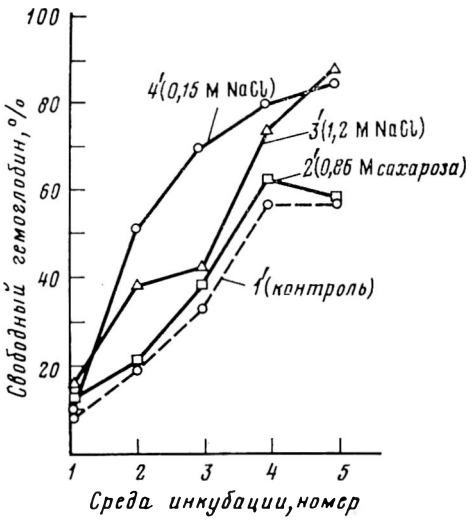

Рис. 3. Освобождение гемоглобина при охлаждении эритроцитов от 37° до 2° в присутствии 39%-ного Me_2SO после предварительной преинкубации клеток при 2°. Контроль — 10-мин инкубация с Me_2SO при 2°+ +20-мин инкубация при 37° с 1,2 М NaCl или 0,86 М сахарозой. Среды — см. подпись к рис. 2

На рис. 2 и 3 видно, что сахароза (0,86 М) оказывает наиболее выраженный стабилизирующий эффект, особенно при инкубации эритроцитов в присутствии Me_2SO и Me_2SO+Ca^{2+}. Как известно, Ca^{2+}, накапливаясь в эритроцитах, трансформирует форму клеток из дисковидной в сферическую [39], что, по-видимому, затруднено в присутствии сахарозы. Представленные на рис. 2 и 3 данные относятся к экспериментам, в которых использовали концентрацию Me_2SO, эффективную при слиянии (39%). В этой концентрации, как показывают полученные результаты, Me_2SO оказывает дестабилизирующее влияние на структуру мембраны. Иная картина наблюдается при охлаждении эритроцитов с Me_2SO в более низких (8—15%) концентрациях (рис. 4). Подобное содержание Me_2SO соответствует области обычно применяемых в криобиологии концентраций этого криопротектора [13]. В этих концентрациях Me_2SO оказывает стабилизирующее влияние на мембрану. Указанный эффект более выражен при охлаждении в присутствии NaCl. Следует отметить, что при охлаждении эритроцитов с 0,86 М сахарозой эффект Me_2SO зависел от наличия в среде Ca^{2+}. При более низкой концентрации Me_2SO (8%) добавление Ca^{2+} снижает уровень холодового гемолиза, при более высокой (15%) — повышает. В присутствии декстрана увеличение кон-

центрации Me_2SO приводит к стабилизации мембраны в среде с сахарозой. Судя по данным [14], высокие концентрации сахарозы приводят к изменению состояния поверхности клетки, что, по-видимому, связано с воздействием на структуру цитоскелета. По этим же данным Me_2SO (12%) также изменяет состояние поверхности, причем предобработка криопротектором препятствует развитию нарушений в гипертонических условиях. Можно предположить, что состояние поверхности клетки и в конечном итоге результирующий эффект Me_2SO будут зависеть от характера влияния Ca^{2+} на мембрану. Действительно, при входе Ca^{2+} в

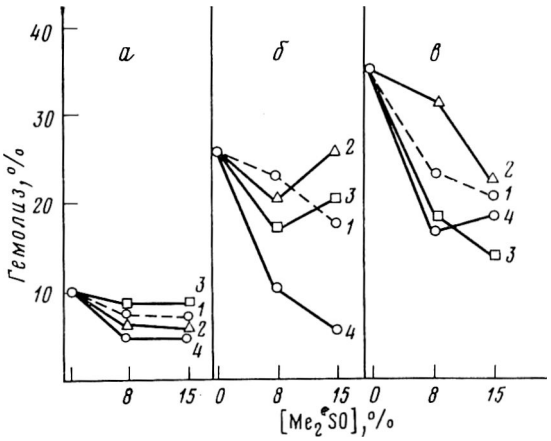

Рис. 4. Влияние Me_2SO (8—15%) на уровень гемолиза эритроцитов при охлаждении от 37° до 2°. *1* — Me_2SO; *2* — Me_2SO+Ca^{2+}; *3* — Me_2SO+Ca^{2+}+декстран; *4* — Me_2SO+декстран. *а* — 0,15 М NaCl; *б* — 0,86 М сахароза; *в* — 1,2 М NaCl

клетку на мембране «запускается» латеральное смещение белков, осуществляемое, возможно, с помощью элементов цитоскелета [40]. При концентрации Ca^{2+}, необходимой для слияния (1 мМ), это приводит к истощению прилегающих поверхностей мембран по мембранным белкам. Возможно, липидные бислои в отсутствие белков становятся нестабильными, что, как показано [40], может привести к везикуляции и отрыву пузырьков от мембраны. Очевидно, в эритроцитах основную роль в модуляции подвижности поверхности белков в присутствии Ca^{2+} и Me_2SO играет спектрин. Если учесть, что кластерирование белков эритроцитов примерно пропорционально степени слияния [5], тогда характер изменений структуры мембраны при повышении концентраций Me_2SO и Ca^{2+} можно объяснить различиями в состоянии спектрин-актинового комплекса, что связано с тем, что при повышении концентрации криопротектора увеличивается его способность активировать накопление Ca^{2+} в клетках [41].

Различное влияние температуры на состояние мембран эритроцитов в присутствии Me_2SO, возможно, связано с изменением динамических параметров мембраны. Хотя в температурном интервале 0—15° не происходит индукции слияния, в клетках в этих условиях происходят определенные изменения, проявляющиеся прежде всего в увеличении ионной проницаемости [42]. Наиболее вероятно, что низкотемпературный барьер активации слияния связан с состоянием внутримембранных белков и липидов, а также элементов цитоскелета, что влияет на параметры латеральной диффузии [2].

Таким образом, полученные нами результаты указывают на различный характер влияния низких (криозащитных) и высоких (фузогенных) концентраций Me_2SO. В последнем случае наблюдается синергизм с действием охлаждения, что проявляется в повышении мембранной прони-

цаемости. Можно предположить, что в зависимости от концентрации Me_2SO в клетках формируются различные типы мембранной архитектуры с неодинаковой чувствительностью к сдвигу температуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lucy J. A.* Biochem. Soc. Trans., 1975, v. 3, № 5, p. 611—613.
2. *Kosower E., Kosower E. S., Wegman P.* Biochim. et biophys. acta, 1977, v 471, № 2, p. 311—329.
3. *Pagano R. E., Huang L.* J. Cell. Biol., 1975, v. 67, № 1, p. 49—60.
4. *Knutton S.* J. Cell. Sci., 1977, v. 28, p. 189—211.
5. *Asami A., Sekiguchi K.* J. Supramol. Struct., 1978, v. 9, № 3, p. 441—452.
6. *Fuchs P., Spiegelstein M., Haimsohn M., Gitelman J., Kohn A.* J. Cell. Physiol., 1978, v. 95, № 2, p. 223—233.
7. *Kantor H. L., Prestegard J. H.* Biochemistry, 1978, v. 17, p. 3592—3597.
8. *Ahkong Q. F., Cramp F. C., Fisher D., Howell J. I., Tampion W., Verinder M., Lucy J. A.* Nature New Biol., 1973, v. 242, № 120, p. 215—217.
9. *Quirk S. J., Ahkong Q. F., Botham G. M., Vos J., Lucy J. A.* Biochem. J., 1978, v. 176, № 1, p. 159—167.
10. *Lyman G. H., Papahadjopoulos D., Preisler H. D.* Biochim. et biophys. acta, 1976, v. 448, № 3, p. 460—473.
11. *Toister L., Loyter A.* J. Biol. Chem., 1973, v. 246, № 2, p. 422—432.
12. *Maggio B., Ahkong Q. F., Lucy J. A.* Biochem. J., 1976, v. 158, № 3, p. 647—650.
13. *Meryman H. T., Williams R. J., Douglas M. S. J.* Cryobiology, 1977, v. 14, № 3, p. 287—302.
14. *Pribor D. B.* Cryobiology, 1975, v. 12, № 4, p. 309—320.
15. *Knutton S.* J. Cell. Sci., 1979, v. 36, p. 61—62.
16. *Vandenburgh H. H.* Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 466, № 2, p. 302—314.
17. *De Groot C., Leene W.* Eur. J. Cell. Biol., 1979, v. 19, № 1, p. 19—25.
18. *Green F. A., Jung C. Y.* J. Membrane Biol., 1977, v. 33, № 3—4, p. 249—262.
19. *Volsky D., Loyter A.* Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 471, № 2, p. 243—259.
20. *Chien S., Simehon S., Abbott R. E., Kan K. M.* J. Colloid and Interface Sci., 1977, v. 62, № 3, p. 361—470.
21. *Knox R. J., Brooks D. E., Nordt F. J., Seaman G. V. F.* Biorheology, 1975, v. 12, № 2, p. 89.
22. *Blow A. M., Botham G. M., Fisher D., Goodal A. H., Tricock C. P. S., Lucy J. A.* FEBS Letters, 1978, v. 94, № 2, p. 305—310.
23. *Weiner N. D., Lu M. Y., Rosoff M.* J. Pharm. Sci., 1972, v. 61, № 7, p. 1098—1101.
24. *Cadenhead D. A., Demchak R. J.* Biochim. et biophys. acta, 1969, v. 176, № 4, p. 849—857.
25. *Papahadjopoulos D., Hui S., Vail W. J., Poste G.* Biochim. et biophys. acta, 1976, v. 448, № 2, p. 245—264.
26. *Papahadjopoulos D., Vail W. J., Pangborn W. A., Poste G.* Biochim. et biophys. acta, 1976, v. 448, № 2, p. 265—283.
27. *Papahadjopoulos D., Vail W. J., Newton G., Nir S., Jacobson K., Poste G., Lazo R.* Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 465, № 3, p 579—598.
28. *Tilcock C. P. S., Fisher D.* Biochim. et biophys. acta, 1979, v. 557, № 1, p. 53—62.
29. *Papahadjopoulos D., Poste G., Shaeffer B. E., Vail W. J.* Biochim. et biophys. acta, 1974, v. 352, № 1, p. 10—28.
30. *Miller Ch., Arvan P., Teljord J. N., Racker E.* J. Membrane Biol., 1976, v. 30, № 3, p. 271—282.
31. *Oku N., Nojima S., Inoue K.* Biochim. et biophys. acta, 1980, v. 595, № 2, p. 277—291.
32. *Lee A. G.* Progr. Biophys. and Mol. Biol., 1975, v. 29, № 1, p. 3—56.
33. *Sun S. T., Day E. P., Ho J. T.* Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 1978, v. 75, № 9, p. 4325—4328.
34. *Leder J.* J. Bacteriol., 1972, v. 111, № 2, p. 211—219.
35. *Knutton S.* J. Cell. Sci., 1979, v. 36, p. 73—84.
36. *Knutton S.* J Cell. Sci., 1979, v. 36, p. 85—96.
37. *Hope M. J., Bruckdorfer K. R., Hart C. A., Lucy J. A.* Biochem. J., 1977, v. 166, № 2, p. 255—263.
38. *Gratzl M., Dahl G., Russel K. T., Thron N. A.* Biochim. et biophys. acta, 1977, v. 470, № 1, p. 45—57.
39. *Volsky D. J., Loyter A.* J. Cell. Biol., 1978, v. 78, № 2, p. 465—479.
40. *Lawson D., Raff M. C., Comperts B., Fewtrel C., Gilula N. B.* J. Cell. Biol., 1977, v. 72, № 2, p. 242—259.
41. *Blow A. M. J., Botham G. M., Lucy J. A.* Biochem. Soc. Trans., 1978, v. 6, № 1, p. 387—394.
42. *Okada Y., Koseki I., Kim J., Maeda Y., Hashimoto T., Kanno Y., Matsui Y.* Exptl Cell Res., 1975, v. 93, № 2, p. 368—378.

Институт проблем криобиологии
и криомедицины АН УССР,
Харьков

Поступила в редакцию
3.IV.1981

SOME FACTORS OF AVIAN ERYTHROCYTE FUSION: CHANGES IN THE STATE OF PLASMA MEMBRANE INDUCED BY DIMETHYLSULFOXIDE AND TEMPERATURE

BOJKO N. M., BONDARENKO V. A., BELOUS A. M.

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine, Ukrainian SSR Academy of Sciences, Kharkov

Chicken erythrocytes cooled down to +2° were incubated with 39% dimethysulfoxide (Me_2SO) at 37°, eventually resulting in a hemoglobin release. Incubation of erythrocytes with Me_2SO at +2° was also accompanied by hemoglobin release; the effect of Me_2SO under these conditions was enhanced by Ca^{2+}. Hypertonic concentrations of NaCl and sucrose suppressed this effect upon erythrocyte cooling. At the same time in the absence of Me_2SO the level of cold hemolysis of erythrocytes increased as the tonicity of the medium rose. In this case low concentrations of Me_2SO (8—15%) exerted a protective effect. The mechanisms of action of Me_2SO and temperature on the structure of erythrocyte membrane are discussed.