

Гидратация мембран эритроцитов и их взаимодействие с высокодисперсным кремнеземом

В. В. Туров, Н. П. Галаган, И. В. Гриценко, **А. А. Чуйко**

Институт химии поверхности НАН Украины
Ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03680, Украина

E. mail: v_turov@ipnet.kiev.ua

Методом ^1H ЯМР-спектроскопии исследовано взаимодействие высокодисперсного кремнезема (ВДК) с препаратами мембран эритроцитов крови доноров. Определены и рассчитаны величины их гидратации при контакте с кремнеземом, межфазная энергия, концентрации сильно- и слабосвязанной воды. На основании полученных данных обсуждаются возможные механизмы действия ВДК, приводящие к гемолизу клеток.

Ключевые слова: ЯМР-спектроскопия, высокодисперсный кремнезем, эритроциты, мембраны, гидратация.

Введение. Последнее десятилетие ознаменовано бурным развитием нанотехнологии, предполагающей использованием высокодисперсных материалов с размером частиц менее 100 нм. По своим размерам наноструктуры занимают промежуточное положение между молекулярными (порядка ангстремов) и микроскопическими (порядка микрометров) объектами [1]. Их особенностью является наличие определенных физических, химических или биофизических характеристик, отличных от свойств молекулярных и микроскопических объектов. Предполагается, что использование наноматериалов в биологии и медицине позволит не только повысить эффективность исследований физико-химических характеристик клеток и биомолекул, но и разработать новые методы лечения и диагностики тяжелых заболеваний, основанные на применении наноразмерных средств доставки лекарственных препаратов, не вызывающих реакции отторжения организмом и специфически взаимодействующих с пораженными тканями.

При создании наноматериалов особый интерес представляют высокодисперсные оксиды кремния,

титана, алюминия, циркония и др. Наличие на их поверхности большого количества химически активных гидроксильных групп обеспечивает возможность модифицирования поверхности различными функциональными группами [2]. В результате могут быть синтезированы материалы с требуемыми гидрофобно-гидрофильными свойствами или специфичные к определенным химическим группам в биологических объектах [3].

Среди высокодисперсных материалов наиболее изучены медико-биологические свойства высокодисперсного кремнезема (ВДК, техническое название «аэросил»), широко используемого в фармацевтике как вспомогательное средство при изготовлении лекарственных препаратов [4, 5]. Он представляет собой синтетический аморфный диоксид кремния, состоящий из первичных частиц размером от 4 до 40 нм, легко образующих в водных суспензиях агрегаты и агломераты микронного размера. Частицы ВДК обладают большой удельной поверхностью (до 400 м²/г), что обеспечивает его высокие адсорбционные свойства по отношению ко многим типам органических молекул, белков, биополимеров, а также некоторых синтетических полимеров. В настоящее время разработаны методы

© В. В. ТУРОВ, Н. П. ГАЛАГАН, И. В. ГРИЦЕНКО,
А. А. ЧУЙКО, 2006

синтеза иммобилизованных на поверхности ВДК лекарственных и биологически активных веществ. Такие композитные наноматериалы являются своеобразным депо веществ, обратимо закрепленных на поверхности частицы, что позволяет использовать их как препараты пролонгированного действия. При этом снижается терапевтическая доза препарата и оптимизируется его концентрация в организме [3]. Перспективность использования наноматериалов для медицинских целей подтверждается и литературными данными на эту тему [5—7].

Высокодисперсные формы кремнезема широко используют не только в фармацевтике, но и в экспериментальной медицине для лечения гнойных инфекций, токсикозов, диареи и ряда других заболеваний [3, 8]. Свойства поверхности их наночастиц позволяют прогнозировать использование таких материалов и в гематологии.

Установлено [9, 10], что при взаимодействии частиц ВДК с эритроцитами реакция клеточных мембран зависит от концентрации наноматериала в биологической жидкости. При этом отмечено, что при повышении количества частиц ВДК в суспензии с эритроцитами имеется некоторый предел их концентрации, при котором происходят разрыв плазматической мембраны и, как следствие, гемолиз клеток. В присутствии ВДК с закрепленным на его поверхности белком этот процесс резко замедляется [10]. Поскольку белковые молекулы необратимо адсорбируются на поверхности частиц ВДК [3], можно предположить, что гемолиз происходит только при непосредственном контакте мембран с поверхностью кремнезема, а адсорбированные на его поверхности белковые молекулы экранируют клетки от непрямого контакта с активными центрами поверхности ВДК. Тем не менее, механизм гемолиза эритроцитов под воздействием ВДК недостаточно охарактеризован.

Основываясь на более ранних исследованиях способности ВДК связываться с некоторыми компонентами поверхности репродуктивных клеток сельскохозяйственных животных [11], можно полагать, что на первой стадии наночастицы будут взаимодействовать не с собственно мембраной, а с так называемыми поверхностными белками и олигосахаридными структурами гликопротеинов или гликолипидов, составляющими рецепторную систему клетки. Исходя из этого при концентрациях, вызывающих гемолиз эритроцитов, заслуживают внимания две причины гибели клеток в присутствии

ВДК: 1) нарушение гомеостаза клетки при взаимодействии с поверхностью кремнезема наиболее удаленных от поверхности мембраны структурных элементов клеточных рецепторов; 2) необратимая сорбция на поверхности кремнезема мембранных белков, а затем фосфолипидных мембран. Поскольку поверхность клеток и частиц ВДК сильно гидратирована [12], в результате их взаимодействия следует ожидать значительной дегидратации системы клетка—поверхность, так как для осуществления прямого контакта из зазора клетка—частица должна быть удалена некоторая часть (до 50 %) связанной воды.

Если предположить, что структура частиц (клетки, частицы ВДК) в результате межчастичного взаимодействия не изменяется, то параметры взаимодействия можно определить по изменению концентрации связанной воды [12, 13]. Если дисперсные частицы не взаимодействуют между собой, то наблюдается максимально возможное для данной системы значение межфазной энергии. При взаимодействии частицы сближаются, а величина межфазной энергии уменьшается на величину, равную энергии межчастичных взаимодействий.

Следует отметить, что в клеточных объектах часть внутриклеточной воды является незамерзающей из-за наличия в цитоплазме низкомолекулярных веществ. Такая «объемная» незамерзающая вода также может вносить вклад в измеряемую величину межфазной энергии. Основной же интерес при изучении взаимодействий клетка—частица вызывает взаимодействие внешней поверхности клетки с частицами ВДК. Поэтому цель настоящей работы состояла в определении параметров взаимодействия частиц ВДК с клеточными мембранами (теньями) эритроцитов. Тем самым из рассмотрения исключали внутриклеточную воду, биополимерные продукты и структурные элементы клетки.

Материалы и методы. Эритроциты выделяли из эритроцитарной массы крови доноров (AB0), поставляемой Киевским центром переливания крови в стандартном стабилизаторе крови «Глюгицир», применяемом для хранения эритроцитов. Тени эритроцитов получали по несколько модифицированной методике, описанной в работе [14].

Клетки отмывали от консерванта трехкратным центрифугированием при 2000 об/мин в течение 5 мин в растворе 150 мМ NaCl, приготовленном на 5 мМ Na-фосфатном буфере при pH 7,4.

Соотношение объема клеток к объему раствора

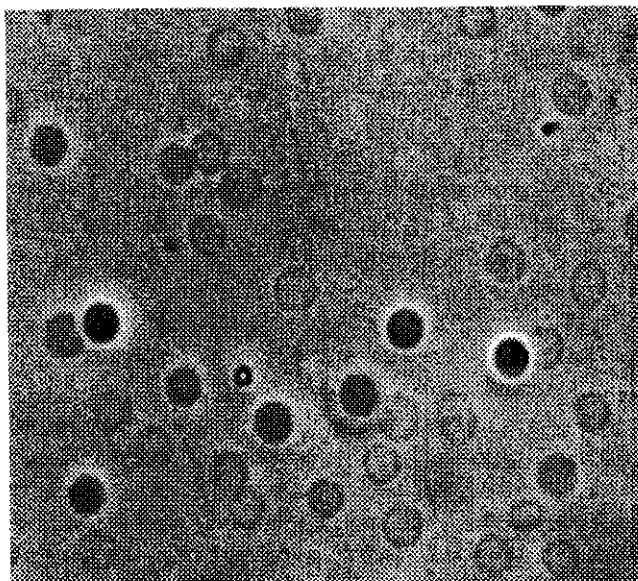
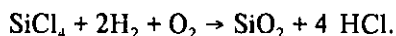


Рис. 1. Микрофотография мембран (теней) эритроцитов в На-фосфатном буфере ($\times 900$)

составляло 1:10. При таком соотношении после третьего центрифугирования надосадочная жидкость становилась прозрачной. К осадку эритроцитов при охлаждении добавляли 20-кратный избыток охлажденного 5 мМ На-фосфатного буфера, pH 7,6. Окрашивание буфера свидетельствовало о происшедшем гемолизе, затем проводили центрифугирование жидкости при температуре 4 °С и 16000 об/мин в течение 20 мин. Надосадочную жидкость отбрасывали, а осадок теней эритроцитов промывали 6 раз при тех же режимах до полной прозрачности супернатанта.

Препараты сохраняли в замороженном состоянии в морозильной камере при температуре -15 °С. Для определения концентрации теней к их осадку добавляли некоторое количество того же буфера, затем отбирали аликвоту 0,5—1,0 мл в чашку Петри, высушивали ее при температуре 22 °С и взвешивали, 1 мл теней эритроцитов после высушивания составлял 7,5 мг сухого вещества. На рис. 1 приведена микрофотография теней эритроцитов.

ВДК — аэросил А-300 с удельной поверхностью 300 м²/г (г. Калуш, Украина) синтезирован высокотемпературным гидролизом SiCl₄ в пламени водородной горелки [16] по общей схеме



В дальнейшем порошок кремнезема прокалива-

ли при 400 °С в течение 2 ч для удаления остаточных количеств HCl и атмосферной воды. Суспензии ВДК готовили, интенсивно перемешивая сухой порошок в дистиллированной воде.

Спектры ЯМР снимали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения (Bruker WP-100 SY) с рабочей частотой 100 МГц и полосой пропускания 50 кГц. Температуру регулировали с точностью ± 1 °С, используя термоприставку Bruker VT-1000. Интенсивности сигналов определяли с точностью ± 10 %. Для предотвращения переохлаждения концентрацию незамерзающей воды измеряли при нагревании суспензий, предварительно охлажденных до температуры 210 К.

Параметры слоев межфазной воды определяли методом послойного вымораживания жидкой фазы с ¹H ЯМР регистрацией сигнала незамерзающей воды, подробно описанным в ряде публикаций [12, 13]. Метод основан на том, что при отсутствии в растворе низкомолекулярных веществ условием заморзания воды на межфазной границе наночастица—вода является равенство свободных энергий молекул адсорбированной воды и льда. Межфазная вода замерзает при температуре ниже 273 К. При этом понижение температуры заморзания межфазной воды (273 - T) определяется уменьшением свободной энергии воды, вызванным адсорбционными взаимодействиями. Тогда уменьшение свободной энергии воды в адсорбционном слое равно уменьшению с температурой свободной энергии льда ($\Delta G = G_0 - G$, где G₀ — свободная энергия льда при T = 273 К). Термодинамические функции льда табулированы с высокой точностью в широком диапазоне температур [16]. В соответствии с этими результатами свободная энергия льда с понижением температуры изменяется по линейному закону:

$$\Delta G = 0,036 (T - 273). \quad (1)$$

Если определить межфазную энергию системы дисперсная фаза/вода (γ_s) как суммарное понижение свободной энергии системы, обусловленное присутствием границы раздела фаз, то она может быть рассчитана как площадь, ограниченная кривой зависимости дифференциальной энергии Гиббса от концентрации незамерзающей воды $\Delta G(C_{ув})$:

$$\gamma_s = \kappa \int_0^{C_{ув}^{max}} \Delta G dC_{ув}. \quad (2)$$

В этом выражении C_{ув}^{max} — толщина слоя не-

замерзающей воды при $T \rightarrow 273$ К, а κ — размерный коэффициент. Когда поверхность границы раздела фаз известна, а межчастичные взаимодействия незначительны, величина γ_s равна поверхностной энергии, обычно измеряемой в мДж/м². В этом случае $\kappa = 55,6/S$ (где S — удельная поверхность дисперсной фазы). Для биообъектов величину γ_s относят к единице массы дисперсной фазы и измеряют в Дж/г. При этом константа $\kappa = 18^{-1}$.

Следует отметить, что величина γ_s определена в изобарическом процессе замораживания—оттаивания, поэтому приходится пренебрегать ее зависимостью от температуры. Тем не менее, сопоставление межфазных энергий γ_s и теплот смачивания, измеренных методом микрокалориметрии, для ряда модифицированных кремнезёмов показали практически полное совпадение измеряемых величин [17]. Погрешность в измерении величины γ_s определяется точностью интегрирования, обычно она не превышает 15 %.

По зависимостям $\Delta G(C_{ин})$ могут быть рассчитаны толщины слоев сильно- и слабосвязанной воды. При этом под слабосвязанной понимают ту часть незамерзающей воды, свободная энергия которой лишь немного понижена адсорбционными взаимодействиями с поверхностью адсорбентов или биополимеров. Она замерзает при температуре, близкой к 273 К. Напротив, сильносвязанная вода может не замерзать даже при значительном охлаждении системы [13]. Толщины слоев каждого типа воды ($C_{ин}^s$ и $C_{ин}^w$ для сильно- и слабосвязанной воды) и соответствующие им максимальные величины понижения свободной энергии воды (ΔG_s и ΔG_w) могут быть получены экстраполяцией соответствующих участков зависимостей к осям абсцисс и ординат.

Максимальная (истинная) величина межфазной энергии регистрируется для бесконечно разбавленных коллоидных систем, когда не происходит перекрытия гидратных оболочек частиц дисперсионной фазы. При концентрировании появляется возможность для межчастичных взаимодействий, о величине которых можно судить по изменению концентрации связанной воды в системе. В соответствии с уравнением 2 межфазная энергия определяет суммарное понижение свободной энергии системы частица (клетка)—вода во всем слое межфазной воды, испытывающем возмущающее влияние со стороны границы раздела фаз.

Из условия термодинамического равновесия

при сближении частиц в результате концентрирования суспензии следует, что уменьшение взаимодействия типа частица—вода должно компенсироваться взаимодействием типа частица—частица. Тогда уменьшение межфазной энергии в результате межчастичных взаимодействий равно энергии межчастичных взаимодействий. Естественным ограничением такого подхода является обратимость процесса концентрирования (строение частиц не должно зависеть от концентрации).

Результаты и обсуждение. На рис. 2 представлена температурная зависимость формы спектров ¹H ЯМР незамерзающей воды при температуре $220 < T < 265$ К. Сигнал незамерзающей воды представляет собой синглет, полуширина которого с понижением температуры увеличивается от 0,5 до 10 м. д. Средняя величина химического сдвига равна 4,5 м. д., что соответствует таковой жидкой воды. Поскольку в растворе, кроме теней эритроцитов, содержится некоторое количество растворенных низкомолекулярных веществ (NaCl, компоненты буфера), незамерзающая вода может быть обусловлена не только гидратными оболочками биомакромолекул, но и водой в микрополостях, заполненных раствором, концентрация которого определяется законом Рауля [17]. Тем не менее, как показано в [19], при замораживании растворов в присутствии биополимеров растворенные вещества легко концентрируются в их гидратных оболочках, особенно если концентрация этих веществ не превышает 1—2 %. Поэтому можно считать, что и в случае замороженных теней эритроцитов объемная вода не вносит существенного вклада в измеряемую величину концентрации незамерзающей воды. Об этом, в частности, свидетельствует и большая ширина сигнала незамерзающей воды.

На рис. 3 приведены температурные зависимости концентрации незамерзающей воды и построенные на их основе в соответствии с формулой (1) зависимости дифференциальной энергии Гиббса от концентрации незамерзающей воды для суспензии теней эритроцитов (кривые 1), для 6 %-го геля SiO₂ (кривые 2) и геля SiO₂ с добавками разного количества теней эритроцитов (кривые 3—5). На зависимостях $\Delta G(C_{ин})$ можно выделить два участка, один из которых характеризуется слабым изменением величины ΔG в широком диапазоне изменения $C_{ин}$. Это та часть связанной воды, свободная энергия которой лишь немного понижена за счет взаимодействий с границей раздела фаз (слабосвя-

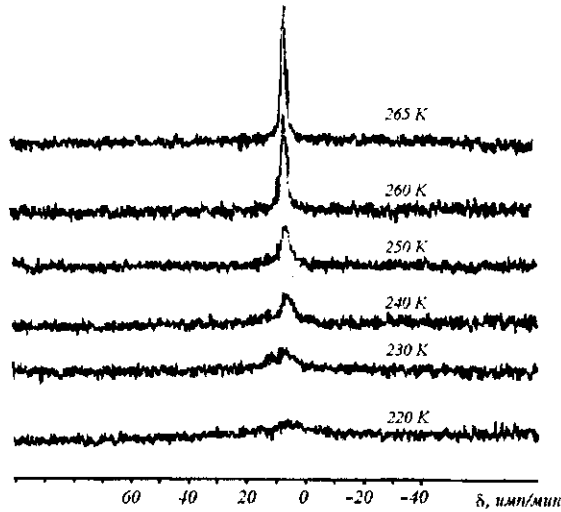


Рис. 2. Температурные зависимости формы спектров ^1H ЯМР незамерзающей воды

званная вода). Для второго участка характерно значительное изменение величины ΔG в относительно узком диапазоне изменений $C_{\text{ин}}$. Такая вода отвечает признакам сильносвязанной воды [13]. Характеристики разных типов связанной воды, а также величины межфазной энергии, рассчитанные в соответствии с формулой (2), приведены в таблице. Эти результаты хорошо согласуются с ранее проведенными исследованиями на дрожжевых клетках [20], но более высокие значения концентрации сильно- и слабосвязанной воды, полученные в экспериментах с эритроцитами, можно объяснить отличием в строении компонентов клеточной поверхности и разницей в удельной поверхности дрожжевых клеток и эритроцитов.

Как следует из данных таблицы, поверхность клеточных оболочек эритроцитов связывает большое количество воды. Она гидратирована даже сильнее, чем кремнезем в 6 % гелях. При этом концентрации сильно- и слабосвязанной воды для 1,5 % суспензии теней эритроцитов близки. Так как удельная поверхность клеток относительно мала (менее $10 \text{ м}^2/\text{г}$ [20]), следует предположить, что связанная вода образует на поверхности клеток полимолекулярную пленку. Вероятно, она полностью заполняет пространство между молекулами гликопротеинов, выступающих над поверхностью клеточной мембраны.

При попадании клеточных оболочек в концентрированный гель SiO_2 концентрация незамерзающей воды в системе резко уменьшается (таблица). Это свидетельствует об интенсивном взаимодейст-

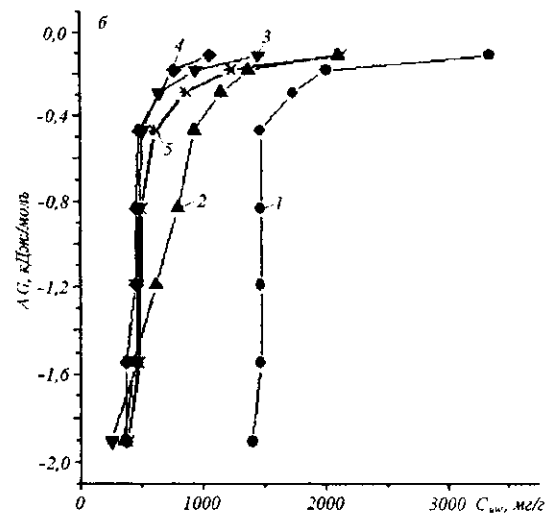
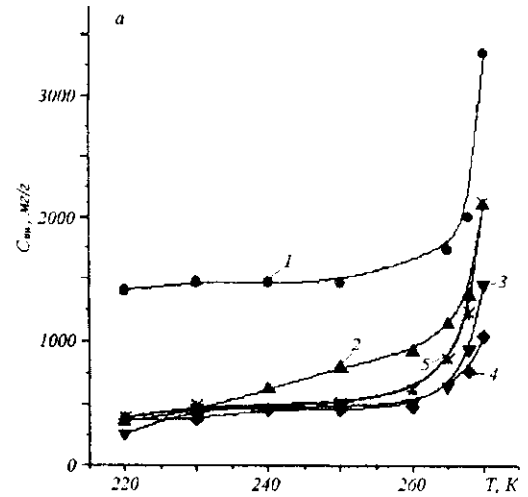


Рис. 3. Температурные зависимости концентрации незамерзающей воды (а) и зависимости дифференциальной энергии Гиббса от концентрации незамерзающей воды (б) для суспензии теней эритроцитов: 1 — тени, 1,5 %; 2 — SiO_2 , 6 %; 3 — SiO_2 + 0,19 % теней; 4 — SiO_2 + 0,75 % теней; 5 — SiO_2 + 1,5 % теней

вии поверхности эритроцитов с кремнеземом. В соответствии с подходом, подробно изложенным в [13], дегидратация поверхности наноразмерных частиц в процессе их взаимодействия обусловлена удалением части связанной воды из межчастичного пространства. Следовательно, по уменьшению величины γ_s при добавлении к системе третьего компонента (в нашем случае теней эритроцитов) можно определить энергию взаимодействия клетка—поверхность SiO_2 .

На рис. 4 представлена зависимость $\gamma_s(C_{\text{теней}})$ при добавлении клеточного материала к гелю

Характеристики слоев связанной воды в водных суспензиях теней эритроцитов, содержащих 6 % масс кремнезема

Образец	Стеней, % масс	C^W , мг/г	C^S , мг/г	ΔG^W , кДж/моль	ΔG^S , кДж/моль	γ_S , Дж/г
Тени эритроцитов	1,5	1870	1480	0,3	-3	218
SiO ₂	0	1100	1000	0,3	-3	98
Тени эритроцитов + + SiO ₂	0,19	980	500	0,4	-3	67
	0,38	500	500	0,3	-3	66
	0,75	1600	500	0,3	-3	83
	1,5	1600	500	0,4	-3	85

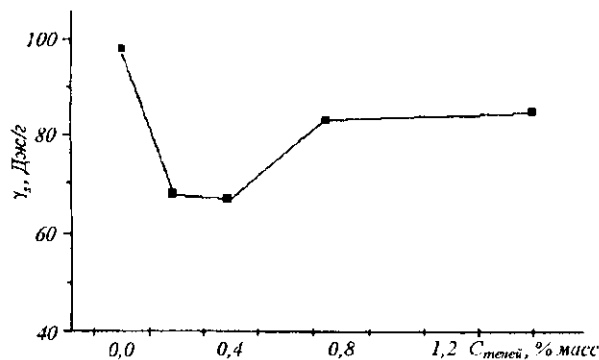


Рис. 4. Влияние концентрации мембран эритроцитов в суспензии на межфазную энергию в системе плазматическая мембрана—вода, содержащей 6 % масс кремнезема

кремнезема. Как видно из этого рисунка, при $C_{\text{стеней}} < 0,45$ % масс с ростом концентрации теней межфазная энергия кремнезем—вода уменьшается от 98 до 66 Дж/г. Еще больше изменение γ_S в случае добавления кремнезема к системе тени—вода. В соответствии с данными таблицы величина γ_S 1,5 % суспензии теней эритроцитов при включении в нее 6 % масс кремнезема уменьшается более чем вдвое. Относительный рост величины γ_S при дальнейшем увеличении концентрации клеток на рис. 5 связан с повышением общей концентрации связанной воды в системе. Минимум зависимости $\gamma_S(C_{\text{стеней}})$ отвечает наиболее полному связыванию теней эритроцитов с поверхностью кремнезема.

Максимальное взаимодействие кремнезема с клеточными мембранами наблюдается при соотношении масс теней эритроцитов и кремнезема, равном 1:20. Возможно, при этом происходит равномерное распределение клеточных мембран в объеме геля кремнезема. С ростом концентрации теней увеличивается вероятность межклеточных взаимодействий, для которых дегидратация поверхности клеток меньше, чем в случае взаимодействия клетка—кремнезем. Если принять площадь мембраны эритроцита равной 140 мкм² [21], а ее массы — 10⁻¹² г, можно заключить, что удельная поверх-

ность теней эритроцитов составляет $S = 140 \text{ м}^2/\text{г}$. Тогда для поверхности клеток из данных таблицы можно рассчитать поверхностную энергию эритроцитов. Как показано в [7], для получения величины поверхностной энергии, выраженной в мДж/м², константа k в формуле (2) равна $55,6/S$. Тогда γ_S (эритроцитов) равна 1560 мДж/г. Эта величина на порядок больше таковой для водных суспензий ВДК [13]. Большее значение γ_S свидетельствует о существовании толстого слоя связанной воды на поверхности эритроцитов, средняя толщина которого превышает 40 диаметров молекул воды. Вероятно, связанная вода заполняет все пространство между гликопротеинами клеточных рецепторов.

Поскольку размер эритроцитов равен 5—7 мкм [22], с каждой клеткой может взаимодействовать несколько частиц ВДК. Взаимодействие сопровождается резким уменьшением концентрации сильно-связанной воды (таблица). Установлено, что уже при концентрации кремнезема 1 % масс в суспензии с тенями эритроцитов (рис. 5) наблюдается изменение формы мембран и их конгломерация с частицами ВДК. Вероятно, в результате взаимодействия клетка—поверхность происходит необратимая адсорбция гликопротеинов, входящих в состав клеточных рецепторов, на поверхности кремнезема. По-видимому, этот процесс является основным и при взаимодействии живых клеток с поверхностью ВДК. Если площадь контакта клетка—частица слишком велика, возможны необратимые изменения в структуре клеточных рецепторов, приводящие к потере целостности клеточных мембран и разрыву клетки.

V. V. Turov, N. P. Galagan, I. V. Grytsenko, A. A. Chuiko

Hydratation of erythrocyte membranes and their interaction with ultrafine silica

Summary

The interaction of ultrafine silica (UFS) with membrane preparations of donor erythrocytes were investigated by method of ¹H

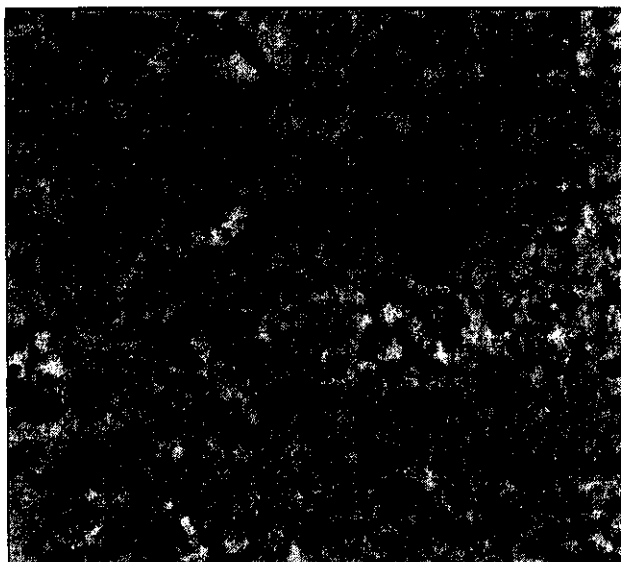


Рис. 5. Микрофотография суспензии теней эритроцитов, содержащих 1 % масс кремнезема, в 0,14 М NaCl ($\times 900$)

NMR spectroscopy. The values of their hydration in contact with silica, interphase energies, concentrations of weakly and strongly bound water were measured and calculated. Possible mechanisms of effect of UFS on cell hemolytic are discussed.

Key words: NMR spectroscopy, ultrafine silica, erythrocytes, membrane, hydration.

В. В. Туров, Н. П. Галаган, І. В. Грищенко, О. О. Чуйко

Гідратація мембран еритроцитів і їхня взаємодія з високодисперсним кремнеземом

Резюме

Методом ^1H ЯМР-спектроскопії досліджено взаємодію високодисперсного кремнезему (ВДК) з препаратами мембран еритроцитів крові донорів. Визначено і розраховано величини їхньої гідратації при контакті з кремнеземом, міжфазну енергію, концентрації сильно- і слабозв'язаної води. На основі отриманих даних обговорюються можливі механізми дії ВДК, що зумовлюють гемоліз еритроцитів.

Ключові слова: ЯМР-спектроскопія, високодисперсний кремнезем, еритроцити, мембрани, гідратація.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Нанотехнология в ближайшем десятилетии. Прогноз направления исследований / Под ред. М. К. Роко, Р. С. Уильямса, П. Аливиатоса (Пер. с англ.).—М.: Мир, 2002.—292 с.
2. Тертых В. А., Белякова Л. А. Химические реакции с участием поверхности кремнезема.—Киев: Наук. думка, 1991.—264 с.
3. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. академика НАН Украины А. А. Чуйко.—Киев: Наук. думка, 2003.—416 с.
4. Алюшин М. Т., Астраханова М. М. Аэросил и его применение в фармацевтической практике // Фармация.—1958.—17, № 6.—С. 73—77.

5. Marcucci F., Lefoulon F. Active targeting with particulate drug carriers in tumor therapy: fundamentals and recent progress // Drug Discovery Today.—2004.—9.—Р. 219—228.
6. Ozkan M. Quantum dots and other nanoparticles: what can they offer to drug discovery? // Drug Discovery Today.—2004.—9.—Р. 1065—1071.
7. Sahoo S. K., Labhhasetwar V. Nanotech approaches to drug delivery and imaging // Drug Discovery Today.—2003.—8.—Р. 1112—1120.
8. Чуйко О. О., Пентюк О. О. Наукові принципи розробки лікарських препаратів на основі високодисперсного кремнезему.—Харків: Основа, 1998.—С. 35—51.
9. Gerashchenko B. I., Gerashchenko I. I., Bogomaz V. I., Pantazis C. G. Adsorption of aerosil on erythrocyte surface by flow cytometry measurements // Cytometry.—1994.—15.—Р. 80—83.
10. Грищенко І. В., Галаган Н. П., Осауленко В. Л. Створення нанокompозиту на основі ВДК і альбуміну та його дія на мембрани еритроцитів // Вісн. Одеськ. нац. ун-ту (Сер. Хімія).—2004.—9, Вип. 7.—С. 171—176.
11. Галаган Н. П. Клеточная поверхность и ее роль в контактных взаимодействиях с высокодисперсным кремнеземом // Кремнеземы в медицине и биологии / Под ред. А. А. Чуйко.—Киев; Ставрополь, 1993.—С. 212—240.
12. Туров В. В., Гунько В. М., Горбик С. П., Чуйко А. А. Влияние высокодисперсного кремнезема на фазовое равновесие в водных суспензиях, содержащих клетки и белки // Докл. НАН Украины.—2003.—№ 9.—С. 150—154.
13. Turon V. V., Gun'ko V. M., Leboda R., Brei V. V. A new method for determination of free surface energy and adhesion forces highly dispersed oxides // Mesoporous and Microporous Materials Fiz. Khim. Tekhnol. Poverkhn.—2001.—N 4—6.—Р. 112—138.
14. Dodge J., Mitchell C., Hanahan D. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes // Arch. Biochem. and Biophys.—1963.—100.—Р. 119—130.
15. White L. J., Duffy G. J. Vapor-phase production of colloidal silica // Ind. Eng. Chem, 1956.—51.—Р. 232—238.
16. Термодинамические свойства индивидуальных веществ / Под ред. В. П. Глушкова.—М.: Наука, 1978.—452 с.
17. Gun'ko V. M., Turon V. V., Bogatyrev V. M., Charmas B., Skubiszewska-Zieba J., Leboda R., Pakhovchishin S. V., Zarko V. I., Petrus L. V., Stebelska O. V., Tsapko M. D. Influence of the partial hydrophobization of fumed silica by hexamethyldisilazane on interaction with water // Langmuir.—2003.—19.—Р. 10816—10828.
18. Фролов Ю. Г. Курс коллоидной химии: Поверхностные явления и дисперсные системы.—М.: Химия, 1982.—400 с.
19. Туров В. В., Покровский В. А., Чуйко А. А. Влияние сывороточного альбумина на температуру образования эвтектик в бинарных растворах органических соединений // Биофизика.—1994.—39, № 6.—С. 988—992.
20. Туров В. В., Горбик С. П., Чуйко А. А. Влияние дисперсного кремнезема на связанную воду в замороженных клеточных суспензиях // Пробл. криобиологии.—2002.—№ 3.—С. 16—23.
21. Современное естествознание. Энциклопедия.—М.: Изд-во Дом Магистр-Пресс, 2000.—Т. 8.—С. 326.
22. Козлов М. М., Маркин В. С. Мембранный скелет эритроцита. Теоретическая модель // Биол. мембраны.—1986.—3, № 4.—С. 404—421.

УДК 543.429.23:544.72:576.314
Надійшла до редакції 20.04.05