

••• БІОХІМІЯ •••

УДК: 577.322.7

Влияние температуры на дезагрегацию тромбоцитов, вызванную грамицидином S
Адиб Халаф Фадел Ал-Амуш¹, В.П.Берест¹, Е.В.Хакл², Е.Э.Перский¹¹Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)²Mobious Genomics Limited, The Innovation Centre, University of Exeter, Rennes Drive, Exeter EX4 4RN, (UK)

При помощи метода турбидиметрии *in vitro* исследовано влияние полипептидного антибиотика грамицидина S на тромбоциты человека. При добавлении к проагрегировавшим клеткам грамицидин S вызывает распад агрегатов тромбоцитов. Активация и дезагрегация тромбоцитов при действии грамицидина S зависят от температуры, эта зависимость носит немонотонный характер. Выявлена зависимость взаимодействия грамицидина S с тромбоцитами от фазового состояния липидов плазматической мембраны клеток. Предложен метод изучения состояния липидного бислоя мембран клеток с использованием антибиотика грамицидина S.

Ключевые слова: *тромбоциты, грамицидин S, дезагрегация, температура.*

Введение

Изучение возможности системного использования высокоэффективных местных антибиотиков или их аналогов является одной из перспектив преодоления растущей устойчивости микроорганизмов к традиционным антибиотикам (Lee, Hodges, 2003). В случае с мембраноактивными провиомикробными препаратами речь идет о снижении их литической активности по отношению к клеткам организма хозяина с сохранением или увеличением антибиотической активности. Обычно литическую активность оценивают по концентрации вещества, способной вызывать гемолиз эритроцитов (Kondejewski et al., 2002). Изменение мембранной проницаемости цитотоксическими антибиотиками не является специфичным, поэтому литические концентрации последних могут вызывать нарушение функции и других клеток крови. Дисфункция лимфоцитов или тромбоцитов при системном применении мембранотропных противомикробных препаратов может иметь для организма не менее пагубные последствия, чем гемолиз эритроцитов. Представляет интерес изучение взаимодействия таких веществ с мембранами форменных элементов крови и выяснение возможных механизмов повышения их терапевтического индекса.

Для циклического полипептидного антибиотика грамицидина S, обладающего широким спектром антимикробной активности, но применяемого лишь местно ввиду своей высокой гемолитической активности, показана возможность создания его аналогов с пониженной гемолитической активностью (Kondejewski et al., 2002, 1999). Однако собственно гемолитическая активность грамицидина S (GS) исследована неполно, а его взаимодействие с клетками крови практически и вовсе не изучалось. Ранее мы изучили влияние грамицидина S на тромбоциты человека и их функциональную активность и показали, что GS вызывает набухание и активацию тромбоцитов, при добавлении к агрегированным тромбоцитам вызывает распад агрегатов тромбоцитов (Ал-Амуш и др., 2007).

Молекула грамицидина S построена из двух одинаковых пентапептидов, соединенных по типу «голова-хвост», и имеет две положительно заряженные свободные аминогруппы остатков L-орнитина. Молекула GS не имеет специфического белкового рецептора, она взаимодействует непосредственно с фосфолипидами мембран (Prenner et al., 1999). В начальный момент взаимодействия молекула GS фиксируется на мембране, связываясь электростатически посредством NH^{3+} -групп L-орнитина с отрицательно заряженными остатками фосфорной кислоты липидных молекул. Далее такой липид-грамицидиновый комплекс внедряется в мембрану. При этом важную роль играет гидрофобный участок молекулы GS, образуемый остатками Val и Leu, способный к гидрофобному взаимодействию с мембраной (Abraham et al., 2005).

GS взаимодействует сильнее с анионными, чем с цвиттерионными или незаряженными липидными мембранами, а также сильнее взаимодействует с более разупорядоченными и более жидкими липидными бислоями, чем с мембранами, которые более упорядочены и менее текучи (Lewis et al., 2003). Гемолитическая активность пептида в значительной степени определяется гидрофобностью неполярной поверхности молекулы, чем ниже гидрофобность, тем ниже

гемолитическая активность в ряду гомологов GS (Kondejewski et al., 1999). Высокая амфипатичность аналогов GS ведет к высокой гемолитической и низкой антимикробной активности (Kondejewski et al., 2002). Показано, что GS делает липидный бислои тоньше и вызывает отрицательное напряжение при искривлении монослоя липидов за счет образования инвертированных неламеллярных кубических фаз (Kiricsi et al., 2002).

Естественно, при изменении состояния липидного бислоя будет изменяться и взаимодействие с ним молекулы GS. Однако термотропное поведение мембран при действии GS было исследовано только для модельных систем (Krivanek et al., 2001) и оценивалось лишь по гемолитическому действию, например, выходу ионов или флуоресцентного красителя (Kondejewski et al., 1996). Не изучалось взаимодействие GS с нативными мембранами и не исследовались структурно-функциональные изменения клеток при действии GS. Поэтому, в данной работе мы изучили влияние температуры на дезагрегацию тромбоцитов человека под действием грамицидина S, а также попытались показать возможность исследования состояния липидного компонента мембраны с помощью антибиотика грамицидина S.

Объекты и методы исследования

В работе использовалась кровь 17 здоровых доноров обоих полов, стабилизированная глюкозоцитратным буфером в соотношении 1:4. Обогащенная тромбоцитами плазма (ОТП) выделялась путем центрифугирования цельной крови в течение 10 минут при 146 g. Образцы ОТП разводились бестромбоцитарной плазмой до концентрации тромбоцитов $2,5 \times 10^5 \text{ мм}^{-3}$.

Агрегация и дезагрегация тромбоцитов исследовались методом светорассеяния при разных температурах в области 4–45°C (Берест, Гаташ, 1998). В качестве индукторов агрегации использовались аденозиндифосфорная кислота (АДФ), адреналин, перекись водорода. Раствор грамицидина S в объемном соотношении ОТП:GS=11:1 добавляли к ОТП через 10 минут после начала агрегации тромбоцитов. Степень агрегации и дезагрегации тромбоцитов рассчитывали как максимальное изменение оптической плотности ОТП после добавления соответственно индуктора агрегации или грамицидина S; скорость агрегации и дезагрегации определяли по тангенсу угла наклона касательной к кинетической кривой изменения оптической плотности ОТП в процессе агрегации или распада агрегатов тромбоцитов соответственно. Касательную строили на полувысоте кинетической кривой.

В работе использовался медицинский препарат грамицидина S («Красфарма»). Также использовались следующие химические реактивы: аденозиндифосфорная кислота динатриевая соль (АДФ) и адреналин («Reanal», Венгрия), папаверин и никотиновая кислота («Фармахим»), H_2O_2 и CaCl_2 марки х.ч.

Результаты и обсуждение

Добавление грамицидина S к проагрегировавшим под действием индуктора тромбоцитам вызывает распад агрегатов тромбоцитов. Для всех использованных нами индукторов агрегации – АДФ, адреналина, H_2O_2 – общий вид зависимостей оптической плотности образца от времени был одинаков. Степень распада агрегатов тромбоцитов пропорциональна концентрации раствора GS (Ал-Амуш и др., 2007).

Дезагрегацию тромбоцитов под действием грамицидина S можно объяснить следующим образом. Молекула GS, встраиваясь в мембрану, нарушает липид-липидные и липид-белковые взаимодействия (Королев и др., 1988; Katsu et al., 1987) и, вероятно, вызывает упругое напряжение в мембране. Прочность белковых мостиков, соединяющих тромбоциты в агрегате, гораздо меньше прочности мембраны, так как в мембране действуют сильные гидрофобные силы (Coorssen, Rand, 1988), поэтому напряжение, вызванное встраиванием молекулы GS в мембрану, может сниматься за счет разрывов именно белковых (фибриногеновых) мостиков. При разрыве этих связей агрегаты будут распадаться, при этом количество рассеивающих центров будет увеличиваться, что должно привести к возрастанию оптической плотности (Latimer et al., 1977; Latimer, Wamble, 1982).

Связывание грамицидина с мембраной клетки – динамический процесс, состоящий из нескольких стадий и включающий электростатическое и гидрофобные взаимодействия. Эффективность и скорость встраивания GS в мембрану будет зависеть от подвижности липидов мембраны, от микровязкости липидного бислоя.

На рис. 1 приведены фрагменты кривых распада агрегатов, иллюстрирующие начальную стадию изменения светопропускания образца ОТП при добавлении GS при различных температурах. Как видно из рис. 1, при низких температурах (4–8°C) добавление GS к ОТП через 9 минут после начала АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов вызывает незначительное увеличение светопропускания образца; через 45–90 с светопропускание начинает самопроизвольно уменьшаться. Подобное увеличение светопропускания может объясняться набуханием тромбоцитов

либо их агрегацией под действием GS при низких температурах. При 4–8°C степень агрегации тромбоцитов небольшая (Берест, Гаташ, 1998), однако после добавления индуктора многие тромбоциты сохраняют потенциальную способность к агрегации. Взаимодействуя с фосфатными группами фосфолипидов, GS образует липид-грамицидиновый комплекс, способный внедряться в гидрофобную область мембраны, что влечет за собой фазовое («видовое») обособление фосфолипидов и образование «жидкой» зоны нейтральных липидов (Островский и др., 1976; Королев и др., 1988). Так как гидрофобное взаимодействие ослабляется с уменьшением температуры, то процесс фазового обособления мембранных липидов может ускоряться при охлаждении мембраны. В работе (Островский и др., 1976) показано, что при уменьшении температуры от 37°C до 4°C адсорбция GS мембранами бактерий уменьшается на 10–15%. То есть даже при 4°C достаточное количество молекул грамицидина связывается с липидами мембран. После внедрения липид-грамицидинового комплекса происходит «замораживание» одних участков липидного бислоя и «разжижение» других, что как раз и является, по данным (Kozlov, Markin, 1984), необходимым условием для готовности мембран к агрегации. Кроме того, известна общебиологическая роль кластеризации белков и липидных рафтов в плазматической мембране различных клеток (Белицер и др., 1989; Michel, Vakovic, 2007). Возможно, что в данном случае GS выступает в роли «активатора» мембраны, переводящего последнюю в необходимое для агрегации состояние.

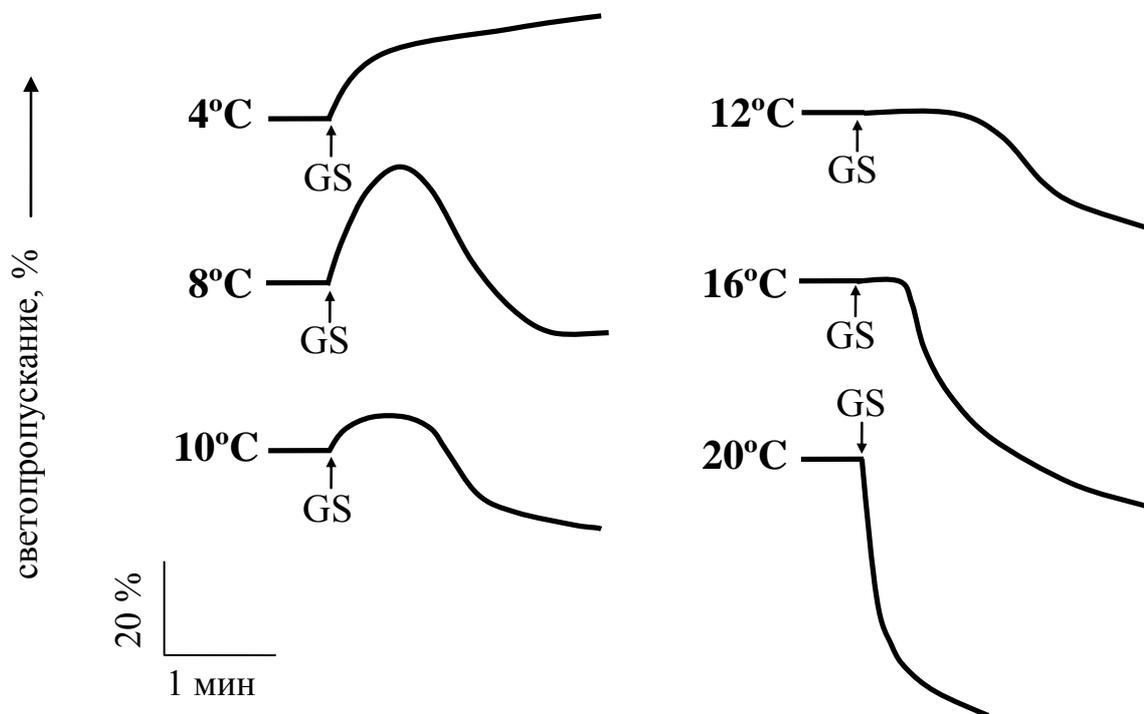


Рис. 1. Влияние подвижности липидов мембраны тромбоцитов на связывание GS с кровяными пластинками

Приведены типичные кривые изменения светопропускания ОТП при добавлении GS после завершения агрегации тромбоцитов (показаны начальные участки кинетических кривых дезагрегации тромбоцитов). Стрелками отмечены моменты добавления GS, числа у кривых – температура, при которой проводились измерения. Концентрация GS – 10^{-2} мг/мл. Агрегация тромбоцитов, предшествующая добавлению GS, вызывалась АДФ в концентрации 0,18 мг/мл.

При температурах 10–18°C добавление GS не вызывает увеличения светопропускания образца, но появляется лаг-период – промежуток времени (20–60 с) между добавлением GS и началом распада агрегатов, в течение которого светопропускание образца не изменяется. Авторами (Yonezawa et al., 1986) было проведено изучение влияния GS на протопласты при различных температурах, однако ни в данной работе, ни в ряде других исследований, посвященных GS, не говорится об отличии механизмов взаимодействия молекулы GS с липидами мембран при низких и высоких температурах. Также в литературе отсутствуют данные о зависимости конформации самой молекулы грамицидина S от температуры (в физиологическом интервале температур). По-видимому, обнаруженный лаг-период связан именно с различной скоростью взаимодействия молекулы GS с мембраной, которая определяется различной подвижностью липидов при разных температурах, а по

наличию и величине лаг-периода можно косвенно судить о подвижности липидов в мембранах тромбоцитов.

Так как каждый тромбоцит в агрегате связан с соседними клетками несколькими молекулами фибриногена (Shattil, 1997), то для полного отрыва тромбоцита от агрегата необходимо разорвать как можно большее число фибриногеновых связей (в предельном случае – все). Степень дезагрегации тромбоцитов определяется как степень распада агрегатов при действии GS, чем выше степень дезагрегации, тем большее число одиночных тромбоцитов оторвалось от агрегата. Поясним, в наших экспериментальных условиях (постоянное перемешивание в сдвиговом потоке 10 с^{-1}) разрушение агрегата происходит преимущественно за счет отсоединения отдельных тромбоцитов от поверхности большого агрегата (Гаташ и др., 1998). Грамицидин S, добавляемый после того, как агрегаты сформировались и в среде находятся крупные агрегаты, проникает внутрь клеточных агрегатов постепенно путем диффузии и, таким образом, встраивается вначале в мембраны клеток, расположенных на поверхности агрегата. Следовательно, степень дезагрегации тромбоцитов под действием GS пропорциональна количеству молекул GS, встроившихся в плазматическую мембрану тромбоцита. Как уже отмечалось, это встраивание происходит в два этапа – электростатическое взаимодействие заряженных NH_3^+ -групп с отрицательно заряженными фосфолипидами и затем гидрофобное взаимодействие, встраивание в липидный бислой и разделение полярных и неполярных липидов в мембране. Электростатические и гидрофобные взаимодействия по-разному зависят от температуры – электростатические ослабевают, а гидрофобные усиливаются при повышении температуры.

В табл. 1 представлены зависимости степени и скорости распада агрегатов тромбоцитов под воздействием грамицидина S от температуры. Из приведенных данных видно, что при низких температурах ($4\text{--}8^\circ\text{C}$) добавление GS к проагрегировавшим под действием индуктора тромбоцитам вызывает слабую агрегацию последних. С ростом температуры степень и скорость распада агрегатов тромбоцитов под действием GS увеличиваются. В области температур $33\text{--}37^\circ\text{C}$ степень распада агрегатов почти одинакова и практически не зависит от температуры. Так как степень и скорость распада агрегатов тромбоцитов под действием GS зависят от взаимодействия молекул GS с липидным компонентом мембраны, то подобное замедление роста ΔD может быть связано с достижением предельной (максимальной) подвижности липидов в мембране при 33°C . В этом случае резкое возрастание степени распада агрегатов при температурах выше $38\text{--}40^\circ\text{C}$ может объясняться отсутствием сшивающего действия мембранных белков. Однако более вероятным представляется предположение о том, что агрегаты тромбоцитов, образованные при этих температурах, более прочные. При температурах выше $37\text{--}38^\circ\text{C}$ степень распада агрегатов с температурой растет быстрее.

Таблица 1.
Температурные зависимости степени ΔD и скорости V дезагрегации тромбоцитов, вызванной GS в разных концентрациях

[GS], мкг/мл	Степень дезагрегации			Скорость дезагрегации	
	20	10	5,7	20	10
T, °C					
4	-0,06±0,01	-0,01±0,003	-0,05±0,01	0,02±0,01	0,00±0,003
8	0,04±0,01	0,03±0,01	-0,02±0,01	0,02±0,01	0,01±0,004
12	0,14±0,03	0,08±0,02	0,01±0,003	0,02±0,01	0,03±0,006
17	0,21±0,04	0,15±0,02	0,02±0,004	0,03±0,01	0,02±0,004
20	0,35±0,06	0,19±0,03	0,03±0,01	0,12±0,02	0,02±0,004
24	0,40±0,07	0,29±0,05	0,03±0,01	0,18±0,03	0,04±0,007
28	0,43±0,07	0,31±0,05	0,04±0,01	0,19±0,03	0,07±0,01
32	0,52±0,08	0,30±0,05	0,04±0,01	0,30±0,05	0,09±0,02
36	0,56±0,07	0,26±0,04	0,05±0,01	0,35±0,05	0,11±0,02
40	0,53±0,08	0,28±0,05	0,11±0,02	0,41±0,08	0,15±0,03
44	0,61±0,12	0,49±0,08	0,35±0,07	0,42±0,08	0,17±0,04
48	0,92±0,18	0,76±0,15	0,75±0,14	0,51±0,11	0,19±0,04

Концентрация GS в мкг/мл указана во второй строке таблицы. Агрегация тромбоцитов, предшествующая добавлению GS, вызывалась АДФ в концентрации 0,18 мг/мл. Приведены средние значения и среднеквадратические отклонения, усреднения проводили для группы из 5–7 доноров.

На графике зависимости степени распада агрегатов под воздействием GS от температуры для H_2O_2 -индуцированной агрегации (рис. 2) наблюдаются два линейных участка, причем излом соответствует области температур 23–26°C. После этой температуры степень распада агрегатов начинает расти быстрее при повышении температуры. В области 23–26°C происходит фазовый переход липидов в жидкокристаллическое состояние, что облегчает встраивание молекулы GS в бислой. Возможно, H_2O_2 , разрыхляя бислой, еще более облегчает проникновение GS в мембрану.

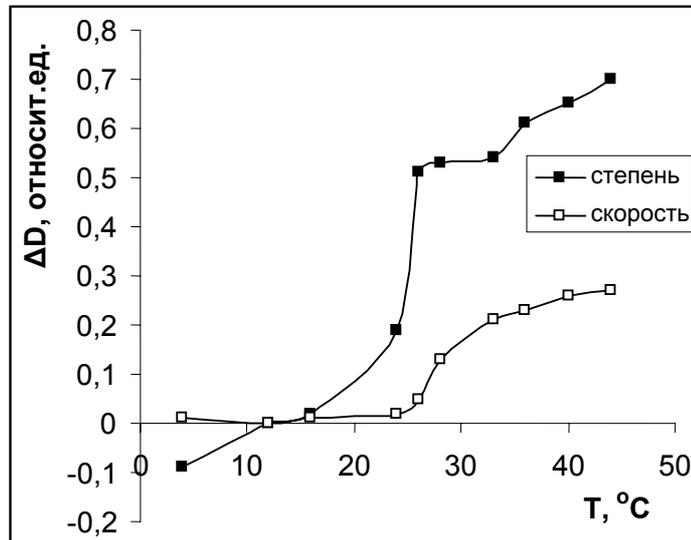


Рис. 2. Зависимости степени (■) и скорости (□) распада агрегатов тромбоцитов под действием GS от температуры

Концентрация GS – 10 мкг/мл. Агрегация тромбоцитов, предшествующая добавлению GS, вызывалась H_2O_2 в концентрации 2×10^{-4} моль/л.

Использование GS в качестве индикатора изменений липидов мембраны имеет преимущество благодаря своей широкой применимости. Белки мембран клеток крови, в большинстве своем, специфичны для каждого вида клеток. Липиды же, в частности фосфолипиды, универсальны и (в разном количестве) входят в состав мембран всех клеток крови. Поэтому, на основании полученных результатов мы предполагаем, что GS может использоваться для определения состояния липидного бислоя мембран различных клеток.

Выводы

При помощи оптического метода установлено, что циклический полипептидный антибиотик грамицидин S вызывает распад агрегатов тромбоцитов человека. Получены зависимости степени и скорости распада агрегатов тромбоцитов под действием грамицидина S от температуры в области 4–45°C. Предполагается, что агрегаты тромбоцитов, образующиеся при 33–37°C, обладают повышенной прочностью. Скорость взаимодействия грамицидина S с мембраной клеток зависит от температуры и определяется подвижностью липидов мембраны. Показана возможность определения фазовых переходов липидов мембран клеток оптическим методом при помощи грамицидина S. Предложен метод изучения состояния липидного бислоя клеточных мембран с использованием антибиотика грамицидина S.

Список литературы

- Ал-Амуш Адиб Халаф Фадел, Берест В.П., Хакл Е.В. Активация и дезагрегация тромбоцитов *in vitro* при действии грамицидина S // Вестник проблем биологии и медицины. – 2007. – Вып.1. – С. 167–172.
 Белицер Н.В., Анищук М.Г., Позднякова Т.М., Горкун О.В. Ультраструктурные изменения тромбоцитов при АДФ-стимулируемой агрегации (в присутствии фибриногена) // Цитология и генетика. – 1989. – Т.23, №3. – С. 3–7.
 Берест В.П., Гаташ С.В. Залежність агрегації тромбоцитів від температури // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т.44, № 5–6. – С. 89–94.

- Гаташ С.В., Берест В.П., Воробейчик М.А. Математическая модель динамики агрегации тромбоцитов. Определение зависимости кинетических параметров от температуры // Вісн. Харк. ун-ту. – 1998. – №434. – Біофізичний вісн. – Вип.3. – С. 71–78.
- Королев П.Н., Булгакова В.Г., Полин А.Н. и др. Влияние грамицидина S на ионную проницаемость бислоиных липидных мембран // Научные доклады высшей школы, Биологические науки. – 1988. – №7. – С. 31–35.
- Островский Д.Н., Булгакова В.Г., Жукова И.Г. и др. Изменения липид-белковых взаимодействий в мембранах бактерий, обработанных грамицидином S // Биохимия. – 1976. – Т.41, вып.1. – С. 175–182.
- Abraham T., Lewis R.N.A.H., Hodges R.S., McElhane R.N. Isothermal titration calorimetry studies of the binding of the antimicrobial peptide gramicidin S to phospholipids bilayer membranes // Biochemistry. – 2005. – Vol.44. – P. 11279–11285.
- Coorssen J., Rand R.P. Effects of cholesterol on the structural transitions induced by diacylglycerol in phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine bilayer systems // Biochem. Cell Biol. – 1990. – Vol.68, №1. – P. 65–69.
- Katsu T., Kobayashi H., Hirota T. et al. Structure-activity relationship of gramicidin S analogues on membrane permeability // Biochim. Biophys. Acta. – 1987. – Vol.899, №2. – P. 159–170.
- Kiricsi M., Prenner E.J., Jelokhani-Niaraki M. et al. The effect of ring-size analog of the antimicrobial peptide gramicidin S on phospholipids bilayer model membranes and on the growth of *Acholeplasma laidlawii* B // Eur. J. Biochem. – 2002. – Vol.269. – P. 5911–5920.
- Kondejewski L.H., Farmer S.W., Wishart D.S. et al. Modulation of structure and antibacterial and hemolytic activity by ring size in cyclic gramicidin S analogs // J. Biol. Chem. – 1996. – Vol.271, №41. – P. 25261–25268.
- Kondejewski L.H., Jelokhani-Niaraki M., Farmer S.W. et al. Dissociation of antimicrobial and hemolytic activities in cyclic peptide diastereomers by systematic alterations in amphipathicity // Journal of Biological Chemistry. – 1999. – Vol.274, №19. – P. 13181–13192.
- Kondejewski L.H., Lee D.L., Jelokhani-Niaraki M. et al. Optimization of microbial specificity in cyclic peptides by modulation of hydrophobicity within a defined structural framework // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol.277. – P. 67–74.
- Kozlov M.M., Markin V.S. On the theory of membrane fusion. The adhesion-condensation mechanism // Gen. Physiol. Biophys. – 1984. – Vol.3, №5. – P. 379–402.
- Krivanek R., Rybar P., Prenner E.J. et al. Interaction of antimicrobial peptide gramicidin S with DMPC bilayer membranes: a densitometry and sound velocimetry study // Biochim. et Biophys. Acta. – 2001. – Vol.1510. – P. 452–463.
- Latimer P., Born G.V., Michal F. Application of light-scattering theory to the optical effects associated with the morphology of blood platelets // Arch. Biochem. Biophys. – 1977. – Vol.180, №1. – P. 151–159.
- Latimer P., Wamble F. Light scattering by aggregates of large colloidal particles // Appl. Opt. – 1982. – Vol.21, №13. – P. 2447–2455.
- Lee D.L., Hodges R.S. Structure-activity relationship of de-novo designed cyclic antimicrobial peptides based on gramicidin S // Biopolymers. – 2003. – Vol.71. – P. 28–48.
- Lewis R.N.A.H., Kiricsi M., Prenner E.J. et al. FTIR spectroscopic study of the interaction of a strongly antimicrobial but weakly haemolytic analogue of gramicidin S with lipid micelles and lipid bilayer membranes // Biochemistry. – 2003. – Vol.42. – P. 440–449.
- Michel V., Bakovic M. Lipid rafts in health and disease // Biol. Cell. – 2007. – Vol.99, №3. – P. 129–140.
- Prenner E.J., Lewis R.N.A.H., McElaney R.N. The interaction of the antimicrobial peptide gramicidin S with lipid bilayer model and biological membranes // Biochim. et Biophys. Acta. – 1999. – Vol.1462. – P. 210–221.
- Shattil S.J. Not just another pretty face: regulation of platelet function at the cytoplasmic face of integrin α IIb β 3 // Thromb. Haemost. – 1997. – Vol.78, №1. – P. 220–225.
- Yonezawa H., Okamoto K., Tomokiyo K., Izumiya N. Mode of antibacterial action by gramicidin S // J. Biochem. – 1986. – Vol.100, №5. – P. 1253–1259.

Вплив температури на дезагрегацію тромбоцитів, викликану граміцидином S
Адіб Халаф Фадел Ал-Амуш, В.П.Берест, О.В.Хакл, Є.Е.Перський

За допомогою методу турбідиметрії *in vitro* досліджено вплив поліпептидного антибіотика граміцидину S на тромбоцити людини. При додаванні до проагрегованих клітин граміцидин S викликає розпад агрегатів тромбоцитів. Активація та дезагрегація тромбоцитів при дії граміцидину S залежать від температури, ця залежність є немонотонною. Виявлена залежність взаємодії граміцидину S з тромбоцитами від фазового стану ліпідів плазматичної мембрани

клітин. Запропоновано метод вивчення стану ліпідного бішару мембран клітин з використанням антибіотика граміцидину S.

Ключові слова: *тромбоцити, граміцидин S, дезагрегація, температура.*

The effect of temperature on platelet disaggregation induced by gramicidin S
Adeeb Khalaf Fadel Alamoush, V.P.Berest, E.V.Hackl, Ye.E.Perskii

With the help of light-scattering technique in vitro effect of polypeptide antibiotic gramicidin S on human blood platelet has been studied. Gramicidin S causes platelet disaggregation when added after the aggregation agonist to the suspension of preliminary aggregated cells. Platelet activation and disaggregation caused by gramicidin S depends non-monotonously on temperature. Gramicidin S interaction with platelets appeared to depend on the phase state of cell membrane lipids. The method of studying of state of lipid bilayer of cell membranes with the help of gramicidin S is proposed.

Key words: *platelets, gramicidin S, disaggregation, temperature.*

Представлено Є.А.Гордієнком
Рекомендовано до друку В.А.Бондаренком