

ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ МОЛЕКУЛЫ АТФ НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПЛАЗМАЛЕММЫ ГРАНУЛОЦИТОВ

М.Ю. Скоркина¹, Т.С. Шевченко¹, В.В. Феттер¹,
О.В. Черкашина², М.Ю. Пальчиков¹

Поступила: 06.04.2020
Принята к печати: 20.08.2020
Опубликована on-line: 01.12.2020

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Медицинский институт, Белгород, Россия

² Белгородская областная клиническая больница им. Св. Иоасафа, Белгород, Россия

EXTRACELLULAR ATP MOLECULES EFFECTS THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF GRANULOCYTE PLASMA MEMBRANE

M.Yu. Skorkina¹, T.S. Shevchenko¹, V.V. Fetter¹, O.V. Cherkashina², M.Yu. Palchikov¹

¹ Belgorod State National Research University, Institute of Medicine, Belgorod, Russia

² Sv. Ioasaf Belgorod Region Hospital, Belgorod, Russia

e-mail: skorkina@bsu.edu.ru

Внеклеточная АТФ выступает ауто- и паракринным регулятором в механизмах межклеточной сигнализации, а также триггером, запускающим пуринергический сигнальный каскад. Цель работы состояла в изучении влияния внеклеточной АТФ на функциональные свойства (жесткость, потенциал поверхности, адгезивные свойства, осморегуляторные возможности мембраны) плазмалеммы и миграционную активность гранулоцитов в опытах *in vitro*.

В эксперименте использованы гранулоциты, выделенные из венозной крови здоровых людей. Опытные пробы инкубировали с аденозин-5-трифосфат динатриевой солью тригидратом в концентрации 10 μM , которая соответствует концентрации АТФ, высвобождающейся из клеток крови во время деформационного стресса в сосудах микроциркуляторного русла. С использованием метода атомно-силовой микроскопии измерены жесткость и потенциал клеточной поверхности, сила адгезии между эритроцитом и гранулоцитом, выполнены тесты с гипоосмотической нагрузкой и изучена миграционная активность гранулоцитов.

В результате эксперимента было установлено снижение жесткости и потенциала поверхности гранулоцитов соответственно на 53,2% и 32,5% ($p < 0,05$), увеличение силы адгезии между эритроцитом и гранулоцитом на 43,3% ($p < 0,05$) и миграционной активности клетки на 74,8% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Под влиянием внеклеточной АТФ в тестах с гипотонической нагрузкой использование мембранного резерва гранулоцитами было снижено на протяжении всего времени инкубации по сравнению с контролем.

Полученные данные указывают на ключевую роль внеклеточной АТФ в развитии воспаления в сосудистой стенке и могут быть учтены при разработке фармакологических регуляторных мишеней, направленных на восстановление эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: гранулоциты, АТФ, плазмалемма, жесткость, адгезия, миграция, заряд поверхности.

Введение

АТФ может выступать в качестве внеклеточной вазоактивной сигнальной молекулы, которая выступает регулятором артериального давления на уровне кровеносных сосудов [1], индуцируя ангиогенные сигналы эндотелиальными клетками [2]. Клетки высвобождают АТФ в ответ на механический стресс [3] или биогенную активацию [4]. Эффекты внеклеточной АТФ зависят от типа P2 рецепторов, представленных на клеточной поверхности [5], и наличия эктонуклеотидаз, гидролизующих АТФ [6]. Межклеточная молекула АТФ может сенсibilизировать или десенсibilизировать различные сигнальные пути, оказывая опосредованное влияние на функциональные свойства клеток [7]. Локализуясь во внеклеточном пространстве, АТФ участвует в передаче информации между клетками и инициации эндогенных тканевых сигналов, запускающих каскад реакций пуринергического пути [8].

Extracellular ATP is an auto- and paracrine regulator in the mechanisms of intercellular signaling. It is the trigger starting the purinergic signaling cascade also. The aim of this work to study the effect of extracellular ATP on the functional properties (rigidity, surface potential, adhesive properties and osmoregulatory capabilities of the membrane) of the plasma membrane and the migration activity of granulocytes in experiments *in vitro*.

In the experiment, the granulocyte subpopulation separated from the venous blood of healthy people was used. The experiment samples were incubated with adenosine-5-triphosphate disodium salt trihydrate in concentration 10 μM that matches of ATP concentration released from blood cells during deformation stress in the microvasculature vessels. The stiffness and surface potential of a cell, the adhesion force between erythrocyte and granulocyte was measured by using the method of atomic force microscopy, tests with hypoosmotic load were performed and the migration activity of granulocytes was studied.

As a result of the experiment, a decrease in stiffness and surface potential was found by 53.2% and 32.5% ($p < 0.05$) respectively, an increase the adhesion force between erythrocyte and granulocyte by 43.3 ($p < 0.05$) and migration activity of the cell by 74.8% ($p < 0.05$) compared with the control. In the hypoosmotic tests, the use of membrane reserve by granulocytes was decreased during whole time incubation compared with control under the influence of extracellular ATP.

Obtained data point out to a key role of extracellular ATP on inflammation development in the vascular wall and they are able to be taken into account during elaboration pharmacological regulatory targets aimed at the restoration of endothelium dysfunction.

Keywords: granulocytes, ATP, plasma membrane, stiffness, adhesion, migration, surface potential.

В частности известно, что АТФ стимулирует процесс хемотаксиса, образование активных форм кислорода гранулоцитами, синтез цитокинов иммунными клетками при развитии воспаления [9]. В связи с этим, актуальным остается вопрос о влиянии молекулы АТФ на свойства клеточной поверхности гранулоцитов.

Цель исследования состояла в изучении влияния внеклеточной АТФ на функциональные свойства (жесткость, потенциал поверхности, адгезивные свойства, осморегуляторные возможности мембраны) плазмалеммы и миграционную активность гранулоцитов в опытах *in vitro*.

Материал и методы

Влияние внеклеточной молекулы АТФ на функциональные свойства плазмалеммы гранулоцитов изучали

на образцах крови здоровых людей ($n=30$) в возрасте от 25 до 45 лет (18 женщин, 12 мужчин). Кровь отбирали путем венопункции в количестве 2 мл в вакуумные пробирки Vacuette K3E с сухим напылением ЭДТА K_3 (Greiner Bio-One, Австрия) в конечной концентрации 2,0 мг/1 мл образца крови на базе областной клинической больницы Белгорода с участием специализированного медперсонала. Исследование выполнено с соблюдением требований Хельсинской декларации, получено предварительное добровольное информированное согласие участников исследования в соответствии с рекомендациями, изложенными в Декларации по этическим принципам медицинских исследований, в которых участвуют люди, принятой 52 Генеральной Ассамблеей Всемирной Медицинской Ассоциации (Эдинбург, Шотландия, октябрь, 2000).

Гранулоциты получали с помощью центрифугирования цельной крови при 1500 об./мин. в течение 15 мин. Клетки отбирали и ресуспендировали в культуральной среде RPMI 1640 (ПанЭко, Россия). Каждую пробу делили на две части — контрольную и опытную (10^6 кл./мл). В опытных пробах моделировали экзогенную нагрузку с АТФ *in vitro*, добавляя 10,0 μ M аденозин-5-трифосфата динатриевую соль тригидрата (АТФ- $Na_2 \times 3H_2O$) (Sigma, США) к суспензии гранулоцитов. Контролем служила суспензия гранулоцитов в среде RPMI 1640 без добавления АТФ- $Na_2 \times 3H_2O$. Инкубацию всех проб проводили в течение 15 мин. при 37 °С.

После инкубации изучали функциональные свойства плазмалеммы гранулоцитов (жесткость, потенциал поверхности, силу межклеточной адгезии) с использованием атомно-силового микроскопа ИНТЕГРА ВИТА (АСМ, конфигурация на базе инвертированного оптического микроскопа Olympus IX-71) (NT-MDT, Россия).

Жесткость клеточной мембраны оценивали по числовым данным модуля Юнга, полученным при измерении на АСМ в режиме силовой спектроскопии [10]. Для сканирования применяли модифицированные АСМ-зонды, изготовленные на основе полимерных микросфер с радиусом закругления 5 мкм. Из каждой пробы сканировали по 20 гранулоцитов.

Для измерения потенциала поверхности клеток суспензию клеток отмывали 10 мл изотоничного раствора хлорида натрия (ПанЭко, Россия) в течение 5 мин, фиксировали 0,25% раствором глутарового альдегида (MERCK, Германия) в течение 20 мин., дважды отмывали 10 мл изотоничного раствора хлорида натрия по 5 мин. и готовили препараты на обезжиренной металлической подложке. Потенциал поверхности гранулоцитов измеряли на АСМ в режиме зонда Кельвина. Сканирование осуществляли кантилеверами с токопроводящим титановым покрытием серии NSGO3/TiN (Nanoworld, США). Из каждой пробы сканировали по 20 гранулоцитов. Расчет потенциала поверхности и обработку полученных сканов проводили в программе Nova (NT-MDT, Россия).

Силу межклеточной адгезии измеряли на АСМ в режиме силовой спектроскопии в системе «эритроцит-гранулоцит», регистрируя силовые кривые с поверхности 20 клеток. Для сканирования конструировали биосенсорный чип, изготовленный на основе нативного эритроцита и типлесса CSG11 (Tipspano, США) [11]. Расчет данных осуществляли с помощью программного обеспечения Nova (NT-MDT, Россия).

Осморегуляторные свойства мембраны гранулоцитов изучали в тестах с гипоосмотической нагрузкой *in vitro*: суспензию лейкоцитов из каждой опытной и контрольной пробы делили на 2 части (по 0,5 мл) и к первой пробе добавляли 0,5 мл аутогенной плазмы,

а ко второй — 0,5 мл 0,45% гипотонического раствора хлорида натрия (гипоосмотическая нагрузка). В стерильные чашки Петри со стеклянным дном (Eppendorf, Германия) вносили 0,1 мл клеточной суспензии из соответствующих опытной и контрольной проб. Полученные суспензионные препараты микроскопировали, регистрируя изображения нативной суспензии лейкоцитов с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Nikon (TokyoByoke, Япония, 2011) через каждые 30 сек. Длительность гипоосмотической нагрузки составила 5 мин. Используя программное обеспечение Nis-Elements Documentation (ver. 2.32 TokyoByoke, Япония), на полученных изображениях измеряли диаметр 50 клеток из каждой пробы. На основе промеров диаметров рассчитывали объем клетки и мембранный резерв, заложенный в складчатости плазмалеммы и используемый клетками в регуляции объема клеток при гипоосмотической нагрузке, по формуле:

$$MP = \frac{S_r - S_n}{V_n},$$

где MP — мембранный резерв клетки, $\mu\text{м}^{-1}$;

S_r — площадь поверхности клетки в гипотонической среде, $\mu\text{м}^2$;

S_n — площадь поверхности клетки в аутогенной плазме, $\mu\text{м}^2$;

V_n — объем клетки в аутогенной плазме, $\mu\text{м}^3$.

Миграционную активность гранулоцитов оценивали в прямом капиллярном тесте под агарозой при жизнеспособности клеток не менее 95%. Жизнеспособность клеток определяли с помощью счетчика и анализатора жизнеспособности клеток Countress II Automated Cell Counter (Thermo, Life Technologies, США, 2019), добавляя к 1 мкл клеточной суспензии 5 мкл 0,4% раствора трипанового синего (Invitrogen, США). Количество мигрировавших клеток в 1 мкл среды считали в 25 больших квадратах сетки камеры Горяева под большим увеличением $\times 800$.

Статистический анализ

Результаты экспериментальных исследований обрабатывали методами вариационной статистики. Достоверность различий между контрольными и опытными пробами определяли с использованием *t*-критерия Стьюдента при $p < 0,05$ в случае нормального распределения признака и *U*-критерия Манна-Уитни при $p < 0,05$ для непараметрических данных. В работе приведены средние величины (M) и величины статистической ошибки средней (m).

Результаты

В пробах крови, проинкубированных с АТФ, было обнаружено снижение жесткости клеточной поверхности гранулоцитов на 53,2% ($p < 0,05$), снижение потенциала поверхности на 32,5% ($p < 0,05$), увеличение силы адгезии между эритроцитами и гранулоцитами на 43,3% ($p < 0,05$) и возрастание миграционной активности клеток на 74,8% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (табл. 1).

Изменение свойств плазмалеммы под влиянием внеклеточной АТФ отразилось на способности гранулоцитов регулировать свой объем в условиях гипоосмотической нагрузки. В опытных пробах в гипотонической среде наблюдали фазу регуляторного сокращения объема в первые 60 сек. инкубации, затем клетка восстанавливала свой объем к 90 сек. до значений, характерных до инкубации (табл. 2). В интервале 120–150 сек. инкубации наблюдали фазу регуляторного сокращения объема

Таблица 1. Функциональные свойства поверхности гранулоцитов.

Параметр	Контроль, n=600	Опыт (АТФ), n=600
Модуль Юнга гранулоцитов, $\mu\text{Па}$	4,55 \pm 0,04	2,97 \pm 0,03*
Потенциал поверхности, мВ	-30,98 \pm 2,58	-45,87 \pm 1,44*
Сила адгезии в системе «эритроцит-гранулоцит», нН	30,7 \pm 0,5	54,2 \pm 0,7**
% мигрировавших гранулоцитов	10,4 \pm 0,2	41,3 \pm 0,8*

Примечание: * — статистически значимые различия между показателями по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$); ** — статистически значимые различия между показателями по U-критерию Манна-Уитни ($p < 0,05$); n — количество протестированных клеток.

Таблица 2. Объем гранулоцитов в тестах с осмотической нагрузкой in vitro.

Время, с	Контроль		Нагрузка с АТФ	
	V плазма, $\mu\text{мкм}^3$	V гипо, $\mu\text{мкм}^3$	V плазма, $\mu\text{мкм}^3$	V гипо, $\mu\text{мкм}^3$
0	484,4 \pm 8,1	652,4 \pm 12,4	602,2 \pm 12,2	752,7 \pm 15,9
30	493,9 \pm 8,7	669,9 \pm 13,6*	626,3 \pm 13,4*	751,7 \pm 18,3
60	517,4 \pm 8,8*	642,7 \pm 12,2*	612,1 \pm 12,6*	722,8 \pm 15,9*
90	514,4 \pm 8,9*	636,5 \pm 12,9*	616,9 \pm 12,8*	752,7 \pm 18,1
120	526,3 \pm 9,0*	613,2 \pm 11,3*	612,8 \pm 13,2*	729,4 \pm 16,7*
150	505,5 \pm 8,9*	626,8 \pm 12,3*	612,2 \pm 12,3*	728,4 \pm 15,3*
180	505,1 \pm 8,2*	623,8 \pm 12,6*	627,9 \pm 12,9*	740,2 \pm 17,8*
210	485,8 \pm 8,2	627,4 \pm 13,4*	599,7 \pm 11,1	714,1 \pm 16,2*
240	498,6 \pm 8,2	623,5 \pm 11,2*	620,2 \pm 11,7*	703,1 \pm 14,2*
270	484,0 \pm 8,1	622,4 \pm 12,3*	603,5 \pm 11,9	746,9 \pm 15,5
300	489,9 \pm 7,9	614,9 \pm 12,6*	596,3 \pm 12,4	719,8 \pm 15,7*

Примечание: * — статистически значимые различия между показателями в начале инкубации (0 сек.) и последующими временными интервалами по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$); V плазма — объем клетки в аутогенной плазме; V гипо — объем клетки в гипотонической среде.

клетки, которая сменилась коротким 30 сек. периодом регуляторного увеличения объема к 180 сек. В интервале 210–240 сек. был установлен 30 сек. период уменьшения объема, который длился до конца инкубации. В конечном итоге, к 300 сек. объем клетки был снижен и не восстановился до исходных значений (табл. 2).

В пробах с аутогенной плазмой под влиянием внеклеточной АТФ была установлена длительная фаза регуляторного увеличения объема клетки с 30 по 180 сек. инкубации. Через 210 сек. объем клетки возвращался к исходным значениям, к 240 сек. объем клетки вновь возрастал, и к концу инкубации (270–300 сек.) вновь возвращался к исходным значениям.

В контрольной группе проб в гипотонической среде наблюдали короткий период регуляторного увеличения объема в первые 30 сек. инкубации, который сменился длительной фазой регуляторного сокращения объема в период с 90 по 300 сек. инкубации. В контрольных пробах с аутогенной плазмой был установлен период регуляторного увеличения объема длительностью 120 сек. (с 60 по 180 сек. инкубации). К 210 сек. объем клетки восстановился почти до исходных значений и существенно не изменился до конца инкубации.

Анализируя динамику изменения мембранного резерва, задействованного гранулоцитами в регуляции объема, было установлено, что под влиянием внеклеточной АТФ вовлечение мембранных структур в регуляцию клеточного объема снижается на протяжении всего времени инкубации по сравнению с контролем (рис. 1).

В условиях экзогенной нагрузки АТФ вовлечение мембранного резерва гранулоцитами в регуляцию объема было снижено примерно в 1,4 раза на 30 и 210 сек. инкубации и в 1,2 раза на 270 сек. по сравнению с контролем. К концу инкубации достоверных различий в использовании мембранного резерва клетками в регуляции их объема установлено не было.

Обсуждение

В проведенном исследовании изучали функциональные свойства плазмалеммы гранулоцитов, их способность регулировать объем, а также миграционную активность клеток в условиях активации элементов пуринергического сигнального каскада. Смоделированная экзогенная нагрузка АТФ соответствовала физиологической концентрации (~10 μM), которую фиксируют при высвобождении АТФ во время деформационного стресса из клеток крови в сосудах микроциркуляторного русла [12].

Под влиянием внеклеточной АТФ снизились жесткость и заряд клеточной поверхности, увеличилась сила адгезии лейкоцитов. Основным фактором, определяющим упруго-эластические свойства клеточной поверхности, является архитектура подмембранного актинового цитоскелета. Мы полагаем, что в условиях экзогенной нагрузки с АТФ установленное снижение жесткости клеточной поверхности является результатом активации пуринергического сигнального каскада,

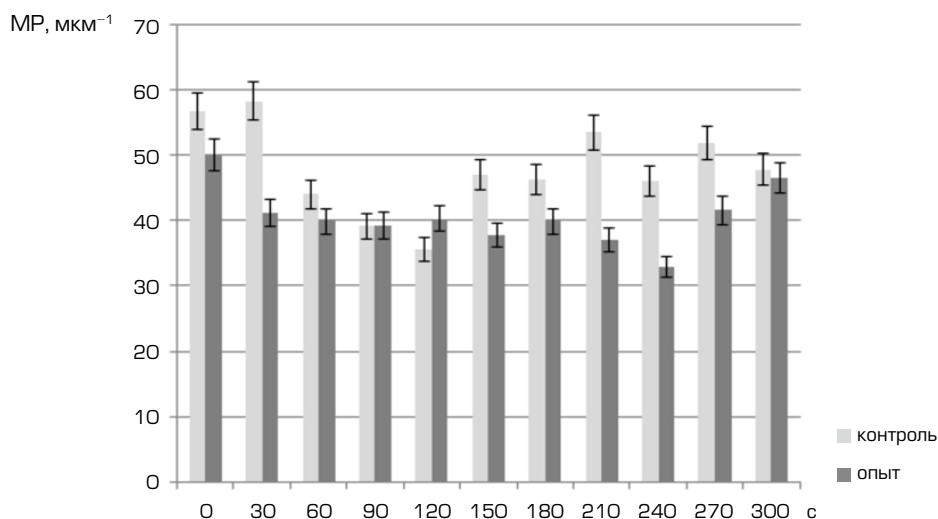


Рис. 1. Мембранный резерв, используемый гранулоцитами в гипотоническом тесте (in vitro): опыт — нагрузка с АТФ, контроль — интактная кровь; МР — мембранный резерв клетки, $\mu\text{м}^{-1}$; * — статистически значимые различия между показателями по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$)

запускаемого через рецепторы, имеющие высокое сродство для ионов Ca^{2+} . В литературе описаны семейства P2-рецепторов, которые индуцируют увеличение уровня внутриклеточного Ca^{2+} в нейтрофилах человека [13]. Рецептор P2X4, представляющий ионный канал, открывается в ответ на связывание с АТФ [14] и имеет высокую проницаемость для Ca^{2+} [15]. Кроме того, рецептор P2Y2, связанный с G-белком, при взаимодействии с молекулой АТФ, вызывает внутриклеточную мобилизацию Ca^{2+} [16]. Доказано, что активация пуринергических рецепторов способствует разборке полимеризованного актина [17] и снижению концентрации актин сшивающих белков [18]. Если предположить, что снижение жесткости клеточной поверхности тесно связано с реализацией внутриклеточного Ca^{2+} -каскада, то в условиях гипотонической нагрузки этот сигнальный путь будет запускать фазу регуляторного сокращения объема, что мы и наблюдали в эксперименте.

Известно, что сжатие клетки и уменьшение ее объема связано с увеличением оттока K^+ и Cl^- [19]. В нейтрофилах повышение уровня Ca^{2+} увеличивает активность Ca^{2+} -активируемых K^+ -каналов и Cl^- -каналов, что приводит к сжатию клетки и развитию фазы регуляторного снижения объема [20]. Кроме того, дополнительный вклад в увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в гранулоцитах может принадлежать TRPV6-катионному каналу, который функционирует как механо-осмотический датчик в условиях гипотонической среды [21].

Функционирование объем-чувствительных белков тесно связано с миграционной активностью клетки, которая запускается пуринергическим сигнальным каскадом. В работе P. Stachon с соавт. (2016) в опытах in vivo доказана роль АТФ в миграции и адгезии нейтрофилов [22]. Имеются данные о том, что внеклеточная АТФ регулирует функцию селектина и миграцию нейтрофилов

посредством P2X7 рецептора [23]. В литературе представлены данные об усилении хемотаксиса нейтрофилов под влиянием внеклеточной АТФ посредством активации, опосредованной P2Y2 рецептором, передающим сигнал на mTOR сигнальный путь на лидирующем крае клетки [24]. Отмечается, что нейтрофильные эктонуклеотидазы гидролизуют АТФ до аденозина, который через A3-рецепторы также способствует миграции клеток. Хемотаксис нейтрофилов требует возбуждающих сигналов на лидирующем крае клетки и ингибирующих сигналов в противоположной части. Рецепторы P2Y2, а также A3-рецепторы, вносят вклад в возбуждающие сигналы лидирующего края клетки, в то время как аденозин, воздействуя на A2A-рецепторы, вносит вклад в ингибирующие сигналы в противоположной части клетки [25].

Таким образом, под влиянием внеклеточной АТФ было установлено снижение жесткости и потенциала поверхности плазмалеммы, усиление адгезивных свойств и миграционной активности гранулоцитов, снижение использования мембранного резерва клеткой в гипотонической среде. С точки зрения физиологии микроциркуляции выявленные изменения функциональных свойств плазмалеммы гранулоцитов в условиях запуска пуринергического сигнального каскада позволяют более «мягким» клеткам легче деформироваться в мелких сосудах. Отрицательный заряд и усиление адгезивных свойств плазмалеммы, на фоне увеличения миграционной активности, указывают на триггерную роль внеклеточной АТФ в развитии воспаления в сосудистой стенке.

Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-015-00032/20.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]:

- Lohman A.W., Billaud M., Isakov B.E. Mechanisms of ATP release and signaling in the blood vessel wall. *Cardiovasc. Res.* 2012; 95: 269–80.
- Gerasimovskaya E.V., Woodward H.N., Tucker D.A. et al. Extracellular ATP is a pro-angiogenic factor for pulmonary artery vasa vasorum endothelial cells. *Angiogenesis* 2008; 11: 169–82.
- Wan J., Forsyth A.M., Stone H.A. Red blood cell dynamics: from cell deformation to ATP release. *Integr. Biol. (Camb.)* 2011; 3: 972–81.
- Leal Denis M.F., Incicco J.J., Espelt M.V. et al. Kinetics of extracellular ATP in mastoparan 7-activated human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 2012; 1830: 4692–707.

- von Kügelen I., Harden T.K. Molecular pharmacology, physiology and structure of the P2Y receptors. *Adv. Pharmacol.* 2011; 61: 373–415.
- Leal C.A., Schetiger M.R., Leal D.B. et al. NTPDase and 5'-nucleotidase activities in platelets of human pregnant with a normal or high risk for thrombosis. *Mol. Cell. Biochem.* 2007; 304: 325–30.
- Ostrom R.S., Greforian C., Insel P.A. Cellular release of and response ATP as key determinants of the set-point of signal transduction pathways. *J. of Biol. Chem.* 2000; 275(16): 11735–9.
- Burnstock G. Blood cells: an historical account of the roles of purinergic signaling. *Purinergic signaling* 2015; 11: 411–34.

9. Faas M.M., Sáez T., de Vos P. Extracellular ATP and adenosine the Yin and Yang in immune responses? *Mol. Aspect. Med.* 2017; 55: 9–19.
10. Скоркина М.Ю., Федорова М.З., Муравьев А.В. и др. Использование наномеханического сенсора для изучения морфофункциональных свойств лимфоцитов здоровых доноров и больных хроническим лимфобластным лейкозом. *Клет. техн. в биол. и мед.* 2012; 3: 172–5. [Skorkina M.Yu., Fedorova M.Z., Muravyov A.V. et al. Use of nanomechanic sensor for studies of lymphocytes from healthy donors and patients with chronic lymphoblastic leukemia. *Cell Technologies in Biology and Medicine* 2012; 3: 172–5].
11. Скоркина М.Ю., Шамрай Е.А., Сладкова Е.А. Измерение сил адгезии в системе «клетка-клетка» на основе технологий атомно-силовой микроскопии. *Клет. техн. в биол. и мед.* 2017; 4: 213–5. [Skorkina M.Yu., Shamray E.A., Sladkova E.A. Measuring of adhesive forces in the system of "cell-cell" based on the technology of atomic force microscopy. *Cellular technology in biology and medicine* 2017; 4: 213–5].
12. Mancuso J.E., Ristenpart W.D. A spike in mechanotransductive adenosine triphosphate release from red blood cells in microfluidic constrictions only occur with rare donors. *Microcircul.* 2018; 25: e12439.
13. Burnstock G., Boeynaems J.M. Purinergic signaling and immune cells. *Purinergic signaling* 2014; 10: 529–64.
14. North R.A. P2X receptors. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2016; 371(1700): pii 20150427.
15. Egan T.M., Khakh B.S. Contribution of calcium ions to P2X channel responses. *J. Neurosci.* 2004; 24(13): 3413–20.
16. Bredetean O., Tuluc F., Ciochină A.D. et al. Functional characteristics of nucleotide-receptors in human neutrophils. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.* 2005; 109(1): 191–9.
17. Goldman N., Chandler-Militello D., Langevin H. et al. Purine receptor mediated actin cytoskeleton remodeling of human fibroblasts. *Cell Calcium* 2013; 53(4): 297–301.
18. Yap B., Kamm R.D. Cytoskeletal remodeling and cellular activation during reformation of neutrophils into narrow channels. *J. Appl. Physiol.* 2005; 99: 2323–30.
19. Хаертдинов Н.Н., Лифанова А.С., Гиззатуллин А.Р. и др. Роль К (АТФ)-каналов в эффектах сероводорода на сократимость миокарда желудочка крысы. *Гены и Клетки* 2015; 4: 103–5 [Haertdinov N.N., Lifanova A.S., Gizzatullin A.R. Role of K(ATP)-channels in the hydrogen sulfide effects on ventricular myocardial contractility of rat. *Gens and Cells* 2015; 4: 103–5].
20. Hoffman E.K., Lambert L.H., Pedersen S.F. Physiology of cell volume regulation in vertebrates. *Physiol. Rev.* 2009; 89: 193–277.
21. Heiner I., Eisfeld J., Lückhoff A. Role and regulation of TRP channels in neutrophil granulocytes. *Cell Calcium* 2003; 33: 533–40.
22. Stachon P., Geis S., Peikert A. et al. Extracellular ATP induce vascular inflammation and atherosclerosis via purinergic receptor Y_2 in mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2016; 34: 1577–86.
23. Ley K., Laudanna C., Cynulsky M.I. et al. Getting to the site of inflammation the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7: 678–89.
24. Bao Y., Ledderose C., Graf A.F. et al. mTOR and differential activation of mitochondria orchestrate neutrophil chemotaxis. *J. Cell Biol.* 2015; 210: 1153–64.
25. Bao Y., Chen Y., Ledderose C. et al. Pannexin 1 channels link chemoattractant receptor signaling to local excitation global inhibition responses at the front and back of polarized neutrophils. *J. Biol. Chem.* 2013; 288: 22640–57.