

## ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.014.1

М. Ю. Скоркина, А. В. Муравьев

### Физиологические механизмы регуляции объема лимфоцитов в условиях гипотонической нагрузки

*Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки  
Российской Федерации, соглашение 14.В37.21.0214.*

С использованием метода гипосмотического набухания изучены физиологические механизмы регуляции объема лимфоцитов. Показано, что использование относительного мембранного резерва при изменении объема и формы клеток тесно связано с упруго-эластическими свойствами мембран. Увеличение жесткости лимфоцитов под влиянием адреналиновой нагрузки приводит к уменьшению использования относительного мембранного резерва как клетками, так и ядрами практически в два раза. Снижение жесткости мембран в условиях кальциевой нагрузки позволяет лимфоцитам использовать большие запасы мембранного бассейна при снижении осмолярности среды.

**Ключевые слова:** лимфоциты, модуль упругости, гипосмотическая нагрузка, мембранный резерв.

M. Ju. Skorkina, A. V. Muraviov

### Physiological Mechanisms of Regulation of Lymphocytes Amount in Conditions of Hypotonic Loading

The physiological mechanisms of the volume regulation are studied using the method of hypotonic swelling. It is shown that using membrane reserves in the processes of change volume and shape of cells is closely connected with the elastic properties of membrane. Increase of stiffness of lymphocytes under the adrenaline load leads to the decrease of the membrane reserves by cells and by nuclei practically in two times. Decrease of the stiffness of lymphocytes in the conditions of the calcium exposure allows the lymphocytes to use larger membrane reserves in the hypotonic load.

**Keywords:** lymphocytes, elastic modulus, hypotonic load, membrane reserves.

#### Введение

Трансформация физиологического состояния клетки в большинстве случаев сопровождается изменением ее объема. В частности, в ответ на осмотическое набухание активируются ключевые молекулярные механизмы регуляции клеточного деления [17], экспрессии генов и синтеза белка [16], апоптоза [12]. Морфологической основой в поддержании объемного гомеостаза выступает мембранный резерв клеток, одна часть которого представлена запасами плазмалеммы [14], а другая – внутриклеточным мембранным резервом [15]. Физиологические механизмы, регулирующие использование мембранного резерва, тесно связаны с активностью структур цитоскелета, определяющих упруго-эластические свойства клеток [22] и осуществляющих транс-

мембранный контроль над распределением и подвижностью белковых молекул [20]. Целью выполненного исследования было изучение физиологических механизмов, регулирующих использование мембранного резерва лимфоцитами при изменении их упруго-эластических свойств.

#### Материалы и методы исследования

В экспериментальной части работы использовали венозную кровь здоровых доноров (100 человек) в возрасте от 25 до 45 лет. Кровь получали путем венопункции. Для оценки потенциальных свойств лимфоцитов применяли динамическую пробу в виде осмотической нагрузки, позволяющей определить вовлечение мембранных резервов [8]. Получали суспензию лимфоцитов путем центрифугирования при 1500 об./мин, ко-

торую делили на три пробы по 10 мкл в каждой. К первой пробе добавляли 50 мкл аутологичной плазмы, ко второй – 50 мкл 0,4 % раствора хлорида натрия, к третьей – 50 мкл 0,9 % раствора хлорида натрия. Формировали однослойные суспензионные препараты из каждой опытной и контрольной проб, в которых через каждые 30 сек. в течение 10 мин., а затем дополнительно через каждые 15, 30 и 60 мин, регистрировали изображения лимфоцитов с помощью комплекса аппаратно-программной визуализации морфологических препаратов, анализа и регистрации оптических и морфологических показателей «ВидеоТест» (регистрационное удостоверение № 29/20010702/6102-04 от 16.02.2004 г.). На полученных изображениях измеряли габаритные размеры 100 лимфоцитов и их ядер. По установленным габаритным размерам вычисляли значения морфометрических индексов по следующим формулам [2, 3]:

$$\frac{V-4}{3(\pi r^3)} \quad (1)$$

$$S = 4\pi r^2, \quad (2)$$

где  $V$  – объем ( $\text{мкм}^3$ );

$S$  – площадь поверхности ( $\text{мкм}^2$ );

$r$  – радиус ( $\text{мкм}$ ).

Об осморегуляторных реакциях клеток судили по показателю использования ими запасов мембранного резерва. Расчет относительного мембранного резерва осуществляли по формуле [9]:

$$MR = \frac{S_{0,4} - S_p}{V_p} \quad (3)$$

где  $MR$  – относительный мембранный резерв ( $\text{мкм}^{-1}$ );

$S_{0,4}$  – площадь поверхности клеток/ядер в 0,4 % растворе  $\text{NaCl}$  ( $\text{мкм}^2$ );

$S_p$  – площадь поверхности клеток/ядер в аутологичной плазме ( $\text{мкм}^2$ );

$V_p$  – объем клеток/ядер в аутологичной плазме ( $\text{мкм}^3$ ).

С целью изучения механизмов регуляции клеточного объема при развитии различных физиологических и патологических состояний в работе применен метод функциональных нагрузок, включающий инкубацию клеточных суспензий с адреналином, обзиданом, хлоридом кальция и верапамилом. Активацию  $\beta$ -адренорецепторов осуществляли путем инкубации 30 мкл лимфоцитов в

150 мкл среды Хенкса, содержащей  $10^{-9}$  ммоль/л адреналина, в течение 15 мин при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Блокаду  $\beta$ -адренорецепторов осуществляли путем инкубации 30 мкл лимфоцитов в 150 мкл среды Хенкса, содержащей  $10^{-9}$  ммоль/л обзидана, в течение 15 мин при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Кальциевую нагрузку моделировали путем инкубации 30 мкл лимфоцитов в 150 мкл среды Хенкса, содержащей  $10^{-6}$  ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ , в течение 15 мин при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Блокаду  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов осуществляли путем инкубации 30 мкл суспензии лимфоцитов в 150 мкл среды Хенкса, содержащей  $10^{-6}$  ммоль/л верапамила, в течение 15 мин при температуре  $37^\circ\text{C}$ . По окончании времени воздействия функциональных нагрузок пробы центрифугировали 5 мин при 1500 об./мин, надосадочную жидкость убирали. Полученную суспензию подвергали гипосмотической нагрузке, как описано выше.

В механизмах регуляции объема задействованы не только ион-транспортные системы биомембран, но также и элементы цитоскелета, которые могут модифицировать осмотическое поведение клетки [18], препятствуя свободному току воды [13]. Учитывая это, в проведенном исследовании оценены упруго-эластические свойства лимфоцитов в условиях гипосмотической и функциональных нагрузок. Жесткость мембран лимфоцитов измерена методом силовой спектроскопии (эластография) с использованием микроскопа Интегра Вита (НТ-МДТ, Зеленоград, 2009) согласно методике, описанной в публикации [7].

Полученные экспериментальные данные обработаны методом вариационной статистики. Достоверность различий определяли с использованием  $t$ -критерия Стьюдента.

### Результаты исследования и их обсуждение

В условиях гипотонической нагрузки длительность периода увеличения объема лимфоцитов здоровых доноров составила 360 сек., на 240-й сек. клетка максимально использовала мембранный резерв ( $\approx 36\%$ ), заложенный в складчатости ее плазмалеммы. Длительность периода восстановления объема лимфоцитов в гипотонической среде до значений изотонического раствора составила 60 сек. (в интервале с 390 по 450 сек. инкубации; рис. 1).

Объем ядра лимфоцитов был увеличен на протяжении всего времени инкубации в гипотонической среде. Не исключено, что установленный факт связан с деконденсирующим влиянием на хроматин гипотонических растворов [4]. Максимальное использование  $\approx 33\%$  резервной поверхности ядра отмечали на 240–270 сек. инкубации.

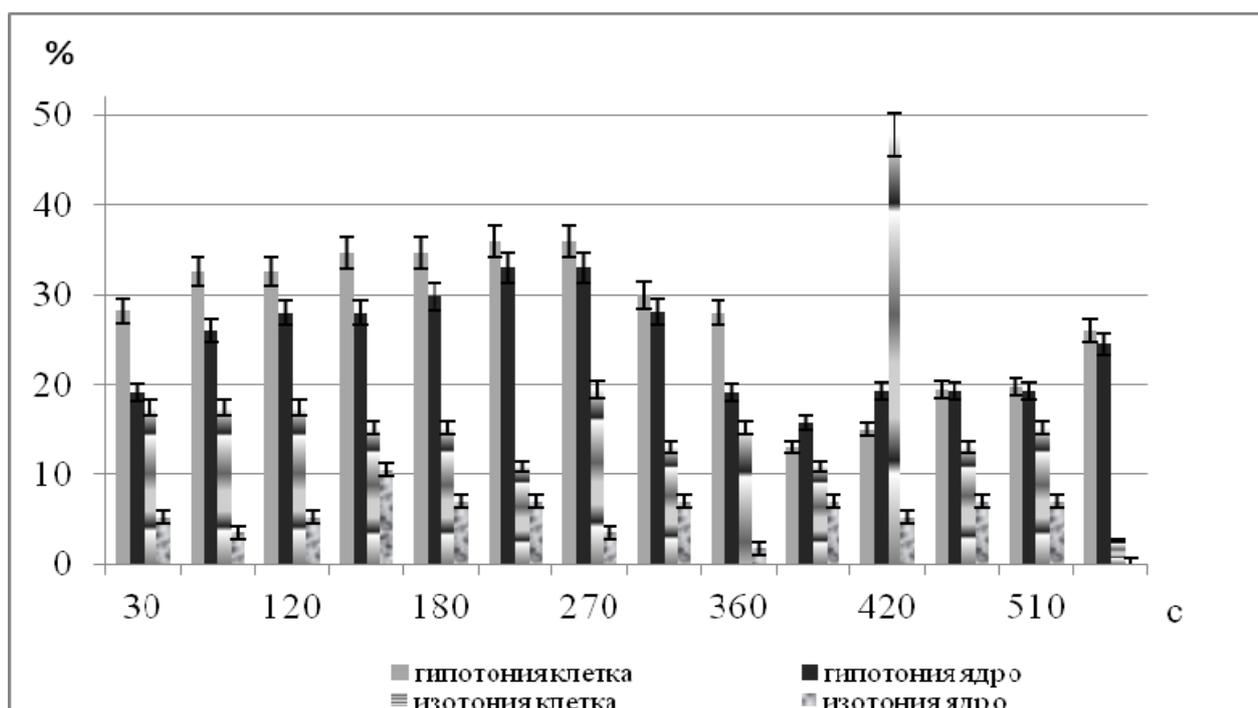


Рис. 1. Относительный мембранный резерв лимфоцитов, используемый в системе клетка-ядро в условиях гипо- и изотонической среды

В изотоническом растворе лимфоциты использовали до 48 % мембранного резерва на 420 сек. инкубации. Более интенсивное вовлечение мембранного резерва в регуляцию объема клетки в условиях изотонической среды по мере увеличения времени инкубации свидетельствует об изменении энергетического обмена клетки. Согласно данным литературы при помещении клеток в изоосмотическую среду набухание происходит тем интенсивнее, чем значительнее подавляется их дыхание, даже если осмолярность раствора соответствует осмолярности плазмы

[10]. В изотонической среде максимальный резерв, используемый ядром, составил  $\approx 10,5$  % и был задействован им на 150 сек. инкубации.

Жесткость элементов цитоскелета выступает одним из основных факторов, влияющих на использование лимфоцитами здоровых доноров резервных бассейнов плазмалеммы. Под влиянием адреналиновой нагрузки жесткость лимфоцитов увеличилась на 57 % ( $p < 0,05$ ), при этом в условиях блокады  $\beta$ -адренорецепторов – снизилась на 20 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем (табл.).

Таблица

Упруго-эластические свойства лимфоцитов здоровых доноров в условиях функциональных нагрузок

Пробы	Модуль Юнга, $\mu\text{Pa}$	Глубина погружения кантилевера, нм
Плазма (контроль)	$3,50 \pm 0,20$	$345,20 \pm 3,74$
Адреналин	$5,49 \pm 0,37^*$	$155,12 \pm 23,48^*$
Обзидан	$2,79 \pm 0,29^*$	$468,48 \pm 15,46^*$
Кальциевая нагрузка	$2,31 \pm 0,26^*$	$835,77 \pm 10,02^*$
Верапамил	$2,55 \pm 0,41^*$	$120,23 \pm 12,02^*$

\* – статистически достоверные различия между значениями в пробах с нагрузками по сравнению с контролем по критерию Стьюдента при  $p < 0,05$ .

В условиях кальциевой нагрузки жесткость лимфоцитов снизилась на 34 % ( $p < 0,05$ ), а в пробах с неселективным блокатором кальциевых каналов – верапамилом – на 27 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем (см. табл.). Снижение жесткости лимфоцитов под влиянием кальциевой нагрузки может быть связано с изменением агрегатного состояния белков цитоскелета, которые при увеличении экзогенного  $Ca^{2+}$  в среде, под влиянием актин-фрагментирующих белков виллина и гельзолина, переходят из состояния

геля в состояние золя [11]. Кроме того, ионы  $Ca^{2+}$  участвуют в активации полифосфатидинозитного цикла, что приводит к полимеризации актина [21] и стимулирует появление большого числа глобулярных выступов, наблюдаемых в эксперименте.

Увеличение жесткости лимфоцитов под влиянием адреналина приводит к уменьшению использования относительного мембранного резерва как клетками, так и ядрами практически в два раза (рис. 2).

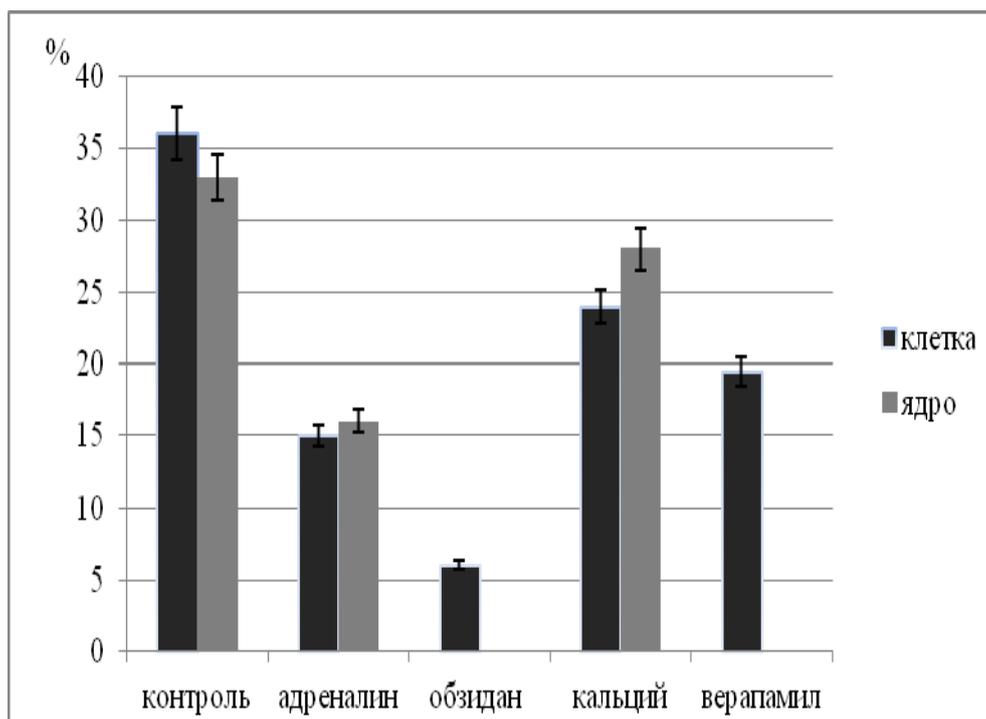


Рис. 2. Относительный мембранный резерв лимфоцитов (%), используемый в системе клетка-ядро в гипотонической среде

В условиях адреналиновой нагрузки максимальное использование относительного мембранного резерва клеткой ( $\approx 15\%$ ) наблюдали на 60 сек. инкубации, в то время как ядро вовлекало около 16 % внутриклеточного мембранного резерва на 30 сек. инкубации в гипотонической среде. Под влиянием обзидана максимальное использование резерва плазмалеммы ( $\approx 6\%$ ) клеткой наблюдали на 30 сек. инкубации в гипотонической среде, при этом ядро не участвовало в осморегуляторных реакциях (см. рис. 2).

Использование мембранного резерва лимфоцитами здоровых доноров под влиянием кальциевой нагрузки в гипотонической среде уменьшалось с увеличением времени инкубации. Максимальное вовлечение относительного

мембранного резерва в регуляции объема клетки ( $\approx 24\%$ ) наблюдали на 30 сек., в то время как ядром ( $\approx 28\%$ ) – на 120 сек. инкубации в гипотонической среде. В пробах с верапамилом использование  $\approx 19,5\%$  резерва лимфоцитами в гипотонической среде наблюдали на 30 сек. инкубации, при этом ядро не задействовало резервные структуры в регуляции объема (см. рис. 2).

Очевидно, что адреналиновая нагрузка, увеличив жесткость клеток, явилась лимитирующим фактором в использовании лимфоцитами значительной части поверхностного мембранного резерва при снижении осмолярности среды по сравнению с кальциевой нагрузкой. В литературе имеются данные о влиянии жесткости цитоске-

лета на размер резервуара мембраны. Показано, что при увеличении плотности микротрубочек, повышающих жесткость цитоскелета, величина доступного для использования мембранного резерва снижается [19]. Вместе с тем в параллельных опытах с использованием неселективного блокатора адренорецепторов обзидана и блокатора медленных кальциевых каналов верапамила, которые снизили жесткость лимфоцитов, величина используемого ими резерва в условиях гипотонической нагрузки была значительно снижена. При этом отсутствие осморегуляторных реакций в ядре связано со снижением внутриклеточного  $Ca^{2+}$  под влиянием обзидана [5] и верапамила [6], что влечет изменение фосфоинозитидного обмена в клетке [1]. Величина относительного мембранного резерва, задействованного в осморегуляторных реакциях, под влиянием верапамила составила  $\approx 19,5\%$ , а в пробах с обзиданом –  $\approx 6\%$ . Установленный факт, скорее всего, связан с химической природой верапамила и его влиянием на липидный компонент мембран.

Показано, что верапамил, встраиваясь в бислою на границе полярных/неполярных сайтов мембран, упаковывает жесткие структуры липидных цепей, что приводит к перемещению компонентов липидного слоя и стабилизации двухслойной системы [23].

Таким образом, осморегуляторные реакции лимфоцитов здоровых доноров носят циклический характер и состоят из чередующихся периодов регуляторного увеличения и уменьшения объема. Физиологический механизм, регулирующий использование мембранного резерва в осморегуляторных реакциях, направленный на снижение литического напряжения в мембране, зависит от жесткости клетки. Снижение жесткости мембраны лимфоцитов под влиянием кальциевой нагрузки позволило клеткам использовать большие запасы мембранного бассейна в условиях гипоосмотического набухания по сравнению с адреналиновой нагрузкой.

#### Библиографический список

1. Авдонин, П. В. Рецепторы и внутриклеточный кальций [Текст] / П. В. Авдонин, В. А. Ткачук. – М. : Наука, 1994. – 288 с.
2. Выгодский, М. Я. Справочник по элементарной математике [Текст] / М. Я. Выгодский. – М. : Наука, 1974. – 416 с.
3. Головкин, С. И. Сравнительная характеристика мембранного резерва ядерных клеток крови позвоночных животных [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. н. / С. И. Головкин. – Ярославль, 2010. – 15 с.
4. Гольшев, С. А. Роль метилирования ДНК и посттрансляционных модификаций гистонов в организации и поддержании структуры гетерохроматиновых доменов (хромоцентров) [Текст] / С. А. Гольшев [и др.] // Цитология. – 2008. – Т. 50, № 11. – С. 972–982.
5. Кукис, В. Г. Клиническая фармакология  $\beta$ -адреноблокаторов [Текст] / В. Г. Кукис, Д. А. Сычев, Д. А. Андреев // Русский медицинский журнал. – 2005. – Вып. 13, № 14. – С. 932–938.
6. Светлый, Л. И. Фармакокинетика, фармакодинамика и клиническая эффективность современных блокаторов медленных кальциевых каналов [Текст] : автореф. дис. ... д-ра. мед. н. / Л. И. Светлый. – Москва, 2003. – 40 с.
7. Скоркина, М. Ю. Использование наномеханического сенсора для изучения морфофункциональных свойств лимфоцитов здоровых доноров и больных хроническим лимфобластным лейкозом [Текст] / М. Ю. Скоркина [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2012. – № 3. – С. 172–175.
8. Смирнова, Е. А. Устойчивость разных типов клеток к действию гипотонии [Текст] /
- Е. А. Смирнова // Цитология. – 1987. – Т. XXIX, № 1. – С. 47–53.
9. Федорова, М. З. Использование мембранного резерва лимфоцитами крови при деформации и в условиях гипотонии [Текст] / М. З. Федорова, В. Н. Левин // Биологические мембраны. – 2001. – Т. 18, № 14. – С. 306–311.
10. Финкинштейн, Я. Д. Осморегулирующая система организма высших животных [Текст] / Я. Д. Финкинштейн. – Новосибирск : Наука, Сиб. Отд-е, 1983. – 124 с.
11. Фултон, А. Цитоскелет : Архитектура и хореография клеток [Текст] / А. Фултон. – М. : Мир, 1987. – 120 с.
12. Широкова, А. В. Апоптоз. Сигнальные пути и изменение ионного и водного баланса клетки [Текст] / А. В. Широкова // Цитология. – 2007. – Т. 49, № 5. – С. 385–94.
13. Chen, J. Cytoskeletal dissociation of ezrin during renal anoxia: role in microvillar injury / J. Chen, R. B. Doctor, L.J. Mandel // Am J. Physiol. – 1994. – V. 267. – P. C784–C795.
14. Groulx, N. Membrane reserves and hypotonic cell swelling / N. Groulx, F. Bourdreaux, S. N. Orlov, R. Grygorczyk // J. Membr. Biol. – 2006. – V. 214. – P. 43–56.
15. Kageyama, K. The maximum and minimum water content and cell volume of human erythrocytes in vitro / K. Kageyama, Y. Onoyama, H. Kogawa, E. Gato, K. Tanolec // Biophys. Chem. – 1989. – V. 34. – P. 79–82.
16. Low, S. Y. Modulation of glycogen synthesis in rat skeletal muscle by changes in cell volume / S. Y. Low,

M. J. Rennie, P. M. Taylor // *J. of Physiology*. – 1996. – V. 495 (2). – P. 292–303.

17. McManus, M. L. Regulation of cell volume in health and disease / M. L. McManus, K. B. Churchwell, K. Strange // *New Engl. J. Medicine*. – 1995. – V. 333. – P. 1260–1266.

18. Mills, J. W. The cell cytoskeleton: possible role in volume control / J. W. Mills // *Current Topics Membrane Trans.* – 1987. – V. 90. – P. 75–101.

19. Raucher, D. Characteristic of a membrane reservoir buffering membrane tension / D. Raucher, M. Sheetz // *Biophysical J.* – 1999. – V. 77. – P. 1992–2002.

20. Sachs, F. Mechanosensitive ion channels in nonspecialized cells / F. Sachs, C.E. Morris // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* – 1998. – V. 132. – P. 1–77.

21. Shibasaki, Y. Massive actin polymerization induced by phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase in vivo / Y. Shibasaki, H. Ishihara, N. Kizuki, T. Asano, Y. Oka, Y. Yazak // *J. Biol. Chem.* – 1997. – V. 272. – P. 7578–7581.

22. Stossel, T. T. The cortical cytoplasmic actin gel / T. T. Stossel, P. A. Janmey, K. S. Zanner // *Cytomechanics* / ed. J. Bererter-Hahn, O. R. Andersen, W. E. Reif. – Berlin: Springer-Verlag, 1987. – P. 131–153.

23. Suwalsky, M. Structural affects of verapamil on cell membranes and molecular models / M. Suwalsky, M. Muñoz, S. Mennickent, C. P. Sotomayor, S. Bolognin, P. Zatta // *J. Chlin. Chem. Soc.* – 2010. – V. 55 (1). – P. 1–4.

### Библиографический список

1. Avdonin, P. V. Retseptory' i vnutrikletochny'y kal'tsiy [Tekst] / P. V. Avdonin, V. A. Tkachuk. – M. : Nauka, 1994. – 288 s.

2. Vygodskiy, M. Ya. Spravochnik po elementarnoy matematike [Tekst] / M. Ya. Vygodskiy'. – M. : Nauka, 1974. – 416 s.

3. Golovko, S. I. Sravnitel'naya harakteristika membrannogo rezerva yaderny'h kletok krovi pozvonochny'h zhivotny'h [Tekst] : avtoref. dis. ... kand. biol. n. / S. I. Golovko. – Yaroslavl', 2010. – 15 s.

4. Goly'shev, S. A. Rol' metilirovaniya DNK i posttranslyatsionnykh modifikatsiy gistonov v organizatsii i podderzhanii struktury geterohromatinovy'h domenov (hromotsentrov) [Tekst] / S. A. Goly'shev [i dr.] // *Tsitologiya*. – 2008. – T. 50, № 11. – S. 972–982.

5. Kukis, V. G. Klinicheskaya farmakologiya b-adrenoblokatorov [Tekst] / V. G. Kukis, D. A. Sychev, D. A. Andreyev // *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. – 2005. – Vyp. 13, № 14. – S. 932–938.

6. Svetyy, L. I. Farmakokinetika, farmakodinamika i klinicheskaya effektivnost' sovremenny'h blokatorov medlenny'h kal'tsiyevy'h kanalov [Tekst] : avtoref. dis. ... d-ra. med. n. / L. I. Svetyy. – Moskva, 2003. – 40 s.

7. Skorkina, M. Yu. Ispol'zovaniye nanomekhanicheskogo sensora dlya izucheniya morfofunktsional'ny'h svoystv limfotsitov zdorovy'h donorov i bol'ny'h khronicheskim limfoblastny'm leykozom [Tekst] / M. Yu. Skorkina [i dr.] // *Kletochny'ye tekhnologii v biologii i meditsine*. – 2012. – № 3. – S. 172–175.

8. Smirnova, Ye. A. Ustoychivost' razny'h tipov kletok k deystviyu gipotonii [Tekst] / Ye. A. Smirnova // *Tsitologiya*. – 1987. – T. XXIX, № 1. – S. 47–53.

9. Fedorova, M. Z. Ispol'zovaniye membrannogo rezerva limfotsitami krovi pri deformatsii i v usloviyah gipotonii [Tekst] / M. Z. Fedorova, V. N. Levin // *Biologicheskiye membrany*. – 2001. – T. 18, № 14. – S. 306–311.

10. Finkinshteyn, Ya. D. Osmoreguliruyushchaya sistema organizma vy'sshih zhivotny'h [Tekst] / Ya. D. Finkinshteyn. – Novosibirsk : Nauka, Sib. Otd-ye, 1983. – 124 s.

11. Fulton, A. Tsitoskelet : Arhitektura i horeografiya kletok [Tekst] / A. Fulton. – M. : Mir, 1987. – 120 s.

12. Shirokova, A. V. Apoptoz. Signal'ny'ye puti i izmeneniye ionnogo i vodnogo balansa kletki [Tekst] / A. V. Shirokova // *Tsitologiya*. – 2007. – T. 49, № 5. – S. 385–94.

13. Chen, J. Cytoskeletal dissociation of ezrin during renal anoxia: role in microvillar injury / J. Chen, R. B. Doctor, L.J. Mandel // *Am J. Physiol.* – 1994. – V. 267. – P. C784–C795.

14. Groulx, N. Membrane reserves and hypotonic cell swelling / N. Groulx, F. Bourdreault, S. N. Orlov, R. Grygorczyk // *J. Membr. Biol.* – 2006. – V. 214. – P. 43–56.

15. Kageyama, K. The maximum and minimum water content and cell volume of human erythrocytes in vitro / K. Kageyama, Y. Onoyama, H. Kogawa, E. Gato, K. Tanolec // *Biophys. Chem.* – 1989. – V. 34. – P. 79–82.

16. Low, S. Y. Modulation of glycogensynthesis in rat skeletal muscle by changes in cell volume / S. Y. Low, M. J. Rennie, P. M. Taylor // *J. of Physiology*. – 1996. – V. 495 (2). – P. 292–303.

17. McManus, M. L. Regulation of cell volume in health and disease / M. L. McManus, K. B. Churchwell, K. Strange // *New Engl. J. Medicine*. – 1995. – V. 333. – P. 1260–1266.

18. Mills, J. W. The cell cytoskeleton: possible role in volume control / J. W. Mills // *Current Topics Membrane Trans.* – 1987. – V. 90. – P. 75–101.

19. Raucher, D. Characteristic of a membrane reservoir buffering membrane tension / D. Raucher, M. Sheetz // *Biophysical J.* – 1999. – V. 77. – P. 1992–2002.

20. Sachs, F. Mechanosensitive ion channels in nonspecialized cells / F. Sachs, C.E. Morris // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* – 1998. – V. 132. – P. 1–77.

21. Shibasaki, Y. Massive actin polymerization induced by phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase in vivo / Y. Shibasaki, H. Ishihara, N. Kizuki, T. Asano, Y. Oka, Y. Yazak // *J. Biol. Chem.* – 1997. – V. 272. – P. 7578–7581.

22. Stossel, T. T. The cortical cytoplasmic actin gel / T. Stossel, P. A. Janmey, K. S. Zanner // Cytomechanics / ed. J. Bererter-Hahn, O. R. Andersen, W. E. Reif. – Berlin: Springer-Verlag, 1987. – P. 131–153.

23. Suwalsky, M. Structural affects of verapamil on cell membranes and molecular models / M. Suwalsky, M. Muñoz, S. Mennickent, C. P. Sotomayor, S. Bolognin, P. Zatta // J. Chlin. Chem. Soc. – 2010. – V. 55 (1). – P. 1–4.