

УДК: 577+618
DOI 10.17721/1728_2748.2020.83.24-28

В. Тараріна, студ.,
І. Суха, студ.,
Р. Лаврик, студ.,
О. Артеменко, канд. біол. наук,
О. Мороз, канд. біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ІОННІ КАНАЛИ В КОНТЕКСТІ ПОШУКУ МОЛЕКУЛЯРНИХ МІШЕНЕЙ РЕГУЛЯЦІЇ СКОРОТЛИВОСТІ МІОМЕТРІЮ

Нині багато жінок мають ускладнення пологів через слабку пологову діяльність, що часто загрожує як матері, так і дитині. З іншого боку, нерозв'язаною є проблема запобігання і терапії передчасних скорочень матки. У пропонуваній роботі розглянуто вплив іонних каналів як кінцевих ефекторів регуляторних каскадів на скоротливість міометрію. Досліджено участь TRPC4, TRPV4 та BKCa іонних каналів у скороченні міометрію з урахуванням того, що зміна іонних провідностей у плазматичній мембрані регулює спонтанні та агоніст-індуковані скорочення. На препаратах міометрію вагітних щурів із застосуванням тензометричного методу реєстрували амплітуду сили скорочень за умов активації вказаних іонних каналів їхніми селективними агоністами. Отримані результати дозволили розглядати (-)-енглерін А як стимулятор скорочень матки за недостатньої відповіді на окситоцин, оскільки він у концентрації 1 нМ зумовлює значуще збільшення сили скорочень, які статистично не відрізнялися від показників за дії окситоцину чи карбахоліну. Застосування агоніста в концентраціях 30–100 нМ викликало деяке пригнічення скоротливості. Виходячи з результатів дослідження ролі TRPV4 каналів, а саме зменшення сили скорочень гладеньких м'язів матки у відповідь на застосування селективного агоніста GSK1016790A (0,3 мкМ), автори припустили, що головний ефект активації цих каналів залежить від експресії та активності розташованих поруч кальцій-залежних кальсієвих каналів. Було виявлено, що застосування ліпосомальної форми кверцетину для активації BKCa каналів пригнічує збудливість клітин міометрію ефективніше, ніж ця сполука, розчинена у DMSO, що є перспективним для корекції передчасної або понаднормово частоти активності матки.

Ключові слова: скорочення матки; окситоцин; TRPC4; TRPV4; BKCa-іонні канали.

Вступ. Йони кальцію Ca^{2+} впливають майже на всі аспекти клітинного життя. Їх вважають універсальними внутрішньоклітинними месенджерами, що контролюють різноманітний спектр клітинних процесів, включаючи скорочення м'язів, серця та гладенької мускулатури, ріст нейронів і вивільнення нейромедіаторів [1]. Транспорт кальцію крізь іонні канали плазматичної мембрани гладеньком'язових клітин є одним із основних шляхів зміни цитозольної концентрації цього іону [2]. Особливу увагу приділяють каналам транзйентного рецепторного потенціалу (TRP), що експресуються в епітеліальних, нервових і гладеньком'язових клітинах (ГМК). У багатьох наукових роботах показано їх участь у регуляції судинного тону, моторики кишечника, скоротливості сечового міхура та матки, проте механізми активації цих каналів вивчені недостатньо [3]. Відсутність такої ключової інформації відкриває перспективу подальшої роботи в цьому напрямі, спрямовуючи її у фокус актуальних клінічних проблем. В акушерстві такою проблемою є передчасні пологи, зумовлені підвищеною збудливістю та скоротливістю міометрію. У контексті пошуку нових способів регуляції функції міометрію важливим вбачається дослідження участі TRPC4, TRPV4 та BKCa іонних каналів, які, будучи кінцевими ефекторними молекулами сигнальних шляхів, є зручною мішенню впливу на функцію, адже дозволяють оминати ті ланки регуляторного каскаду, які є причиною патологічної відповіді. Фармакологічний вплив на TRP канали може стати перспективним способом регуляції пологової активності. Тому для дослідження впливу на іонні канали в цьому контексті ми зосередились на вивченні зміни скоротливої активності міометрію при застосуванні селективного блокатора механочутливих TRPV4 іонних каналів у нормі та при гіпотонічному набряку тканини, за дії селективного агоніста рецептор-керованих TRPC4 іонних каналів та при активації BKCa каналів.

TRPC4 є одним із семи членів підродини TRPC (канонічних TRP) каналів, який активується $\text{G}\alpha\text{i-}$ та $\text{G}\alpha\text{q-}$ спряженими рецепторами і тирозинкіназами й серед іншого чинить вплив на скорочення ГМК. TRPC4 безпосередньо взаємодіє з рецепторами IP_3 , кальмодуліном, STIM1 , $\alpha\text{i2-}$ субодиницею G-білків і ліпід-зв'язуючим білком SESTD1 , який пов'язує кілька видів фосфоліпідів і є

важливим для ефективної рецептор-опосередкованої активації TRPC5 [4].

TRPV4 належать до ванілоїдної підродини родини TRP-каналів, до групи неселективних катіонних каналів, проникних для натрію, що активуються різними подразниками, включаючи теплу температуру, осмотичні зміни та ендогенні ліпіди, і експресовані в різних типах тканин [5]. Повідомляється про можливий вплив TRPV4 на скорочення гладенької мускулатури вагітної та невагітної матки [6, 7], але його точна роль досі невідома. Експресія TRPV4 каналу починає зростати на 18 день вагітності, це зумовлено його коекспресією з аквапорином AQP5 . Висловлено припущення, що знижена експресія AQP5 викликає гіпертонічний стрес, який активує TRPV4 і збільшує скорочення матки в день пологів [8].

ГМК матки мають широкий діапазон калієвих каналів, включаючи й залежні від кальцію канали великої провідності (BKCa) [9]. Їх експресія також зростає під час вагітності, механізмом чого у ГМК артерій є індуковане естрогеном деметилювання промотору $\text{BK}\beta 1$ [10]. В умовах спокою K^+ -провідність є основним фактором, що визначає потенціал мембрани незбудженої клітини, а також активація/інактивація K^+ -каналів впливає на хід потенціалу дії та реполяризації. Із цих причин активність K^+ -каналів зазвичай пов'язана зі спокоєм матки впродовж вагітності, а зміни в експресії – з початком пологів [11]. Установлено взаємодію TRPV4 каналів із BKCa у клітинах нейронів і гладеньких м'язах артерій [12].

Матеріали і методи. Для дослідження скорочень міометрію був відібраний матеріал нелінійних щурів на 18–22 день вагітності, який утримували у стандартних умовах віварію ННЦ "Інститут біології та медицини". Усі експерименти були виконані згідно із "Правилами проведення робіт із використанням експериментальних тварин". Це дослідження отримало експертний висновок Комісії з біоетики ННЦ "Інституту біології та медицини" (розпорядження № 35 від 19 квітня 2017 року).

Тканину було отримано під час операції, якій передувала евтаназія шляхом цервікальної дислокації. Міометрій був вилучений у результаті лапаротомії після виділення матки. Потім ми видалили децидуальний (внутрішній) шар матки. Цей матеріал відпрепарували в чашках Петрі з модифікованим розчином Кребса на

окремі смужки розміром 6 x 2 x 2 мм, на яких вимірювали силу скорочень тензометричним методом.

У роботі були використані: модифікований розчин Кребса; розчин Кребса зі зниженою осмолярністю 220 мОсмоль із такими концентраціями (ммоль/л): NaCl – 133(92), NaHCO_3 – 16.3, NaH_2PO_4 – 1.38, KCl – 4.7, MgCl_2 – 1.05, глюкоза – 11.5, CaCl_2 – 2.73, HEPES – 10). Також застосовували: окситоцин (Gedeon Richter, Угорщина) – 10 нмоль/л, селективний агоніст TRPV4 каналів GSK1016790A (Sigma, США) у концентрації 0,3 мкмоль/л та їхній блокатор HC067047 (Sigma, США) – 1 мкмоль/л, селективний агоніст TRPC4 каналів (-)-енглерін А (Sigma, США) – 1–100 нкмоль/л.

Дослідження скоротливої функції міометрію проводились методом тензометрії на кількох групах гладеньком'язових препаратів [13]. Приготовані смужки фіксували на гачках установки, один із яких з'єднали з мікрогвинтом, за допомогою якого задавали пасивний натяг 1,5 г, а інший – з емнісним датчиком сили. Після надання пасивного натягу смужки тканини залишали для стабілізації активності на 45 хв, після чого записували 15 хв контрольної спонтанної активності. Досліджувані речовини вносили до зовнішнього розчину безпосередньо в камеру. Температуру в камері підтримували в межах 36–38 °С.

Аналіз і статистичну обробку цифрових даних проводили в пакетах програм "Clampfit® 11.0.3", "Origin 9.5.1" та "R 4.0.0 Documentation". Показники амплітуди сили скорочень були нормалізовані (F/F_0) на значення спонтанних скорочень безпосередньо перед додаван-

ням речовин. Нормалізацію проводили з метою порівняти між собою показники, урахувавши особливості кожного окремого препарату, зокрема масу і площу фізіологічного перерізу.

Для статистичної обробки результатів обирали методи на підставі результатів тесту Шапіро – Уїлка на відповідність до нормального розподілу. У тих групах даних, де встановлено нормальний розподіл, використовували методи параметричної статистики (одновібірковий критерій Стюдента і критерій Стюдента для незалежних змінних). Дані експериментів, які мали розподіл, відмінний від нормального, аналізували, використовуючи методи непараметричної статистики, зокрема тест Вілкоксона та критерій Манна – Уїтні. Статистично значущими вважали відмінності за $P < 0,05$.

Результати та обговорення. Участь TRPC4 іонних каналів у регуляції скоротливості міометрію. За активації TRPC4 каналів селективним агоністом (-)-енглеріном А (ЕНА) реєстрували параметри скорочення гладеньком'язових препаратів міометрію вагітних щурів. Для порівняння інтенсивності ефекту брали класичний утеротонік, що застосовується у клінічній практиці – окситоцин, а також карбохолін, який чинить стимулюючий вплив на гладенькі м'язи у щурів. Карбохолін, окситоцин та ЕНА в концентрації до 10 нМ статистично значущо підвищують силу скорочень (рис. 1). ЕНА в концентрації 1 нМ підвищує амплітуду скорочень е середньому на 85 % ($P < 0,05$) від контрольного значення, тоді як окситоцин – на 140 % ($P < 0,05$).

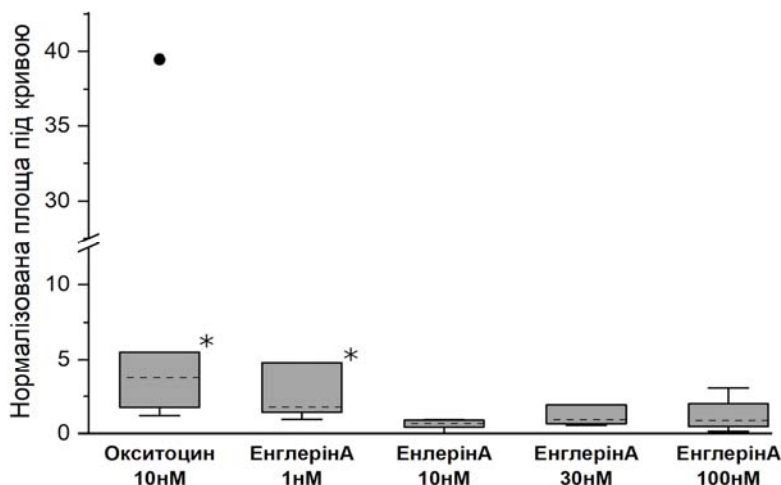


Рис. 1. Амплітуди сили скорочення за дії селективного агоніста TRPC4 іонних каналів (-)-енглеріну А у різних концентраціях: n = 9, Me, Q1, Q3. * – $P < 0,05$ щодо контролю

Проте треба зазначити, що статистичної різниці в дії порівняно з використаними утеротоніками не виявлено, тому такий вплив дозволяє розглядати ЕНА як альтернативний засіб для стимуляції скорочень міометрію й окреслює перспективу фармакологічного впливу на TRPC4 канали в терапії слабкості пологової діяльності.

За концентрації ЕНА 10 нмоль/л фазні скорочення, навпаки, були меншої амплітуди. Сила скорочень знижувалась у середньому на 22 %, проте статистичної значущості для цього ефекту не встановлено. Цю дію агоніста TRPC4 каналів можна пояснити відкриванням такої кількості каналів і входженням такої кількості катіонів, що одразу ж деполяризує плазматичну мембрану до величин потенціалу, несприятливих для відкривання потенціал-залежних Ca^{2+} -каналів L-типу і сприятливих для відкривання потенціал-залежних K^{+} -каналів. За цих умов зниження збудливості мембрани міоцита та зменшення входження кальцію ззовні скорочення не має можливості розпочатися або ж

розвиває суттєво меншу амплітуду. Для перевірки цих гіпотез необхідне проведення додаткових електрофізіологічних та кальційметричних досліджень на ізольованих клітинах міометрію для реєстрації вхідних і вихідних іонних струмів і встановлення динаміки концентрації внутрішньоклітинного кальцію при активації TRPC4 каналів агоністом у зазначеній концентрації.

Участь TRPV4 іонних каналів у регуляції скоротливості біометрію. TRPV4 канал характеризується як канал із багатьма активаційними властивостями, які дозволяють йому виконувати широкий діапазон функцій – від осморегуляції до термосенсibilізації.

За допомогою останніх досліджень ми маємо уявлення про те, що цей канал може бути не тільки осмотично активований [14], а також стимулюватися за рахунок напруги зсуву [15] і метаболітів арахідонової кислоти [16]. Оскільки TRPV4 канал розповсюджений також у міометрії, то в наших дослідженнях ми мали за

мету дослідити активацію і роль цього каналу в регуляції скорочень міометрію.

Результати експериментів, які ми проводили на гладеньком'язових препаратах міометрію вагітних щурів, показали, що амплітуда сили окремих скорочень препаратів вагітної матки зменшувалась на 28,4 %

($P < 0,001$, рис. 2). В умовах гіпотонічного середовища (перфузія препаратів сольовим розчином із осмолярністю 220 мОсоль/л), коли TRPV4 канали активуються завдяки розтягненню плазматичної мембрани ГМК, препарати міометрію щурів демонстрували збільшення амплітуди сили скорочення на 60 % ($P < 0,05$).

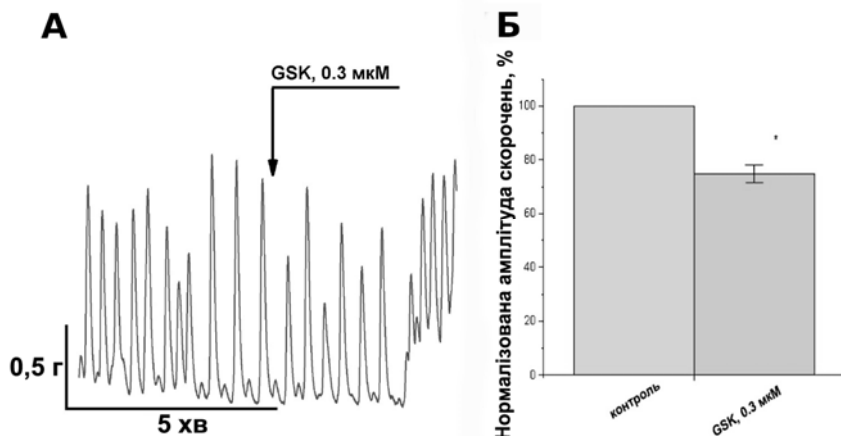


Рис. 2. Зміни скоротливості міометрію щурів за фармакологічної активації TRPV4 іонних каналів їх селективним агоністом GSK1016790A: А) репрезентативна крива скорочення;

Б) амплітуда сили скорочень, нормалізована на показник спонтанної активності, $n = 6$, $M \pm m$, * – $P < 0,05$ щодо контролю

Дещо інші результати на гладеньких м'язах сечового міхура отримали вчені з Університету Нагоя, які зареєстрували збільшення сили скорочення у відповідь на GSK [17]. Така розбіжність може бути зумовлена наявністю на мембранах ГМК цих двох органів інших механочутливих каналів, зокрема TREK, а також колокалізацією механочутливих кальційпроникних TRPV4 і кальцій-залежних калієвих каналів, які, активуючись за таких умов експерименту, можуть мати домінуючий вплив. Тому роль TRPV4 у скоротливості гладеньком'язового шару матки потребує детальнішого вивчення.

Роль ВКСа каналів у регуляції скоротливості біометрії. ВКСа у судинах утворюють важливу частину петлі негативного зворотного зв'язку, де збільшення внутрішньоклітинного Ca^{2+} стимулює скорочення і до того ж активує ці канали через Ca^{2+} -іскри, що спричиняє гіперполяризацію та вазодилатацію [18]. У гладеньких м'язах матки канали ВКСа наявні з відносно високою щільністю, а їхня велика провідність (~200 пС), як передбачається, може зіграти значну роль у регуляції

скорочень. Однак блокування цих каналів мало впливає на скорочення матки або сигналізацію кальцію за нормальних умов. Це може бути тому, що для міометрію не властиві Ca^{2+} -іскри, тобто ВКСа канали лише мінімально активуються у фізіологічних умовах. У багатьох збудливих клітинах ВК-канали локалізовані у плазматичних мембранних комплексах із потенціал-керованими Ca^{2+} -каналами; їхня активація через вхід Ca^{2+} спричиняє гіперполяризацію клітин, що запобігає подальшому надходженню Ca^{2+} , забезпечуючи тим самим негативний механізм регуляції зворотного зв'язку для регуляції концентрації Ca^{2+} у клітині [19]. Блокуючи ВКСа канали, можна запобігати гіперполяризації клітин, що, у свою чергу, підвищує їхню збудливість [20].

У наших дослідженнях застосування кверцетину, що є природним агоністом цих іонних каналів, практично не змінювало амплітуду сили скорочення препаратів міометрію щурів у передпологовому етапі вагітності (рис. 3 А).

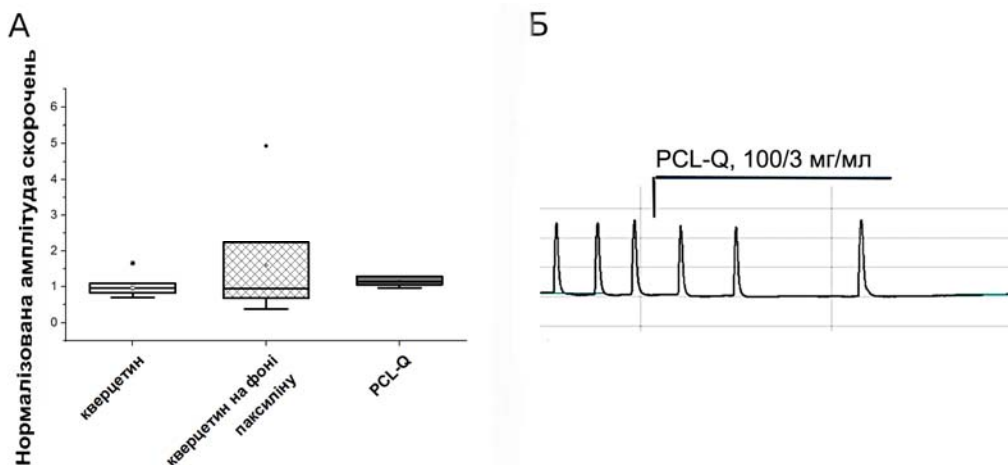


Рис. 3. Скоротливість міометрію за умов фармакологічного впливу на ВКСа канали:

А) сила скорочень при застосуванні природного агоніста кверцетину (3 мг/мл) у розчині та інкорпорованого в ліпосоми (PCL-Q, 100 мг/мл фосфоліпідів і 3 мг/мл кверцетину) на інтактних і перфузованих розчином паксиліну (3 мкМ) препаратах міометрію щурів; $n = 5-10$, Me, Q1, Q3; Б) репрезентативна тензометрична крива, що демонструє зменшення частоти піків скорочення на тлі застосування кверцетину, інкорпорованого в ліпосоми

Проте експерименти із додаванням до зовнішнього розчину ліпосомальної форми кверцетину показали тенденцію до збільшення сили скорочень і зниження їх частоти (рис. 3 Б). Відсутність дії кверцетину на тлі даного блокатора ВКСа каналів паксиліну підтвердила специфічність дії обраного агоніста. Таким чином, ліпосомальна форма кверцетину є перспективною з погляду засобу активації цих каналів.

Висновки. Безпосередня активація TRPC4 каналів екзогенним агоністом може розглядатися як спосіб стимуляції скорочень за ослабленої відповіді матки на окситоцин.

Зміна скоротливості міометрію за активації TRPV4 каналів, імовірно, залежить від локалізації каналу поруч із кальцій-чутливими калієвими каналами, що може зумовлювати пригнічення функціональної активності міоцитів.

Застосування ліпосомальної форми кверцетину активує ВКСа канали і, пригнічуючи збудливість міометрію, може бути перспективним методом для корекції передчасної або надто частої активності матки.

Подяки

Д-ру мед. наук, ст. наук. співроб. Соловйову А. І., Інститут фармакології та токсикології НАН України, за сприяння окремим дослідженням.

Дослідження частково підтримане грантом № 7Б-2018 ВЦП Київського національного університету імені Тараса Шевченка НАН України.

Список використаних джерел

1. Carafoli E. Why calcium? How calcium became the best communicator. // *E. Carafoli, J. Krebs // J. Biol. Chem.* – 2016. – Vol. 291(40). – P. 20849–57.
2. Babich L. H. Ca ion transport in smooth muscle mitochondria. // *L. H. Babich, S. H. Shlykov, S. O. Kosterin // Ukrainian biochemical journal.* – 2014. – Vol. 86. – P. 8–30.
3. Andersson K. E. Agents in early development for treatment of bladder dysfunction-promise of drugs acting at TRP channels? // *Expert Opin Investig Drugs.* – 2019. – Vol. 28(9). – P. 749–55.
4. Electron cryo-microscopy structure of the canonical TRPC4 ion channel. // *D. Vinayagam, T. Mager, A. Apelbaum et al. // Elife.* – 2018. – P. 7.
5. The Mechanosensitive Ion Channel TRPV4 is a Regulator of Lung Development and Pulmonary Vascular Stabilization. // *J. T. Morgan, W. G. Stewart, R. A. McKee, J. P. Gleghorn // Cell. Mol. Bioeng.* – 2018. – Vol. 11(5). – P. 309–20.
6. Ying L. A Role for the Transient Receptor Potential Vanilloid 4 Channel in Modulating Uterine Tone During Pregnancy. // *L. Ying, C. M. Alvira, D. N. Cornfield // A FASEB J.* – 2016. – Vol. 30(1 supplement). – P. 1012.4–1012.4.
7. Molecular and functional characterization of TRPV4 channels in pregnant and nonpregnant mouse uterus. // *V. Singh, M. Ram, K. Kandasamy et al. // Life Sci.* – 2015. – Vol. 122. – P. 51–8.
8. Ducca E, Csányi A, Szőke É, Pohóczky K, Hajagos-Tóth J, Kothencz A, et al. Significance of transient receptor potential vanilloid 4 and aquaporin 5 co-expression in the rat uterus at term. // *Heliyon.* – 2019. – Vol. 1;5(10).
9. Moroz O. F. Uterine Myocytes: Development, Structure and Function. In: L. V. Berhardt, editor. *Advances in Medicine and Biology.* Nova Science Publishers, Inc. – 2019. – P. 27–96.
10. Epigenetic upregulation of large-conductance Ca²⁺-Activated K⁺ channel expression in uterine vascular adaptation to pregnancy. // *M. Chen, C. Dasgupta, F. Xiong, L. Zhang // Hypertension.* – 2014. – Vol. 64(3). – P. 610–8.
11. Cox D. H. Modeling a Ca²⁺ channel/BKCa channel complex at the single-complex level. // *D. H. Cox // Biophys J.* – 2014. – Vol. 107(12). – P. 2797–814.
12. Treatment of hypertension by increasing impaired endothelial TRPV4-KC a2.3 interaction. // *D. He, Q. Pan, Z. Chen et al. // EMBO Mol Med.* – 2017. – Vol. (11). – P. 1491–503.
13. Contractility Measurements of Human Uterine Smooth Muscle to Aid Drug Development. // *S. Arrowsmith, P. Keov, M. Muttenthaler, C. W. Gruber // J. Vis. Exp.* – 2018. – Vol. 26. – № (6). – P. 356–69 (131).
14. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. // *W. Liedtke, Y. Choe, M. A. Marti-Renom et al. // Cell.* – 2000. – Vol. 103(3). – P. 525–35.
15. Gao X. Temperature-modulated Diversity of TRPV4 Channel Gating. // *X. Gao, L. Wu, R. G. O'Neil // J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278(29). – P. 27129–37.

16. Anandamide and arachidonic acid use epoxyeicosatrienoic acids to activate TRPV4 channels. // *H. Watanabe, J. Vriens, J. Prenen et al. // Nature.* – 2003. – Vol. 424(6947). – P. 434–8.

17. Functional coupling of TRPV4 channels and BK channels in regulating spontaneous contractions of the guinea pig urinary bladder. // *A. Isogai, K. Lee, R. Mitsui, H. Hashitani // Pflügers Arch – Eur. J. Physiol.* – 2016. – Vol. 468(9). – P. 1573–85.

18. Melnyk M. I. Liposomal quercetin potentiates maxi-K channel openings in smooth muscles and restores its activity after oxidative stress. // *M. I. Melnyk, D. O. Dryn, L. T. Al Kury et al. // J. Liposome Res.* – 2018. – P. 1–8.

19. Lorca R. A. Functional insights into modulation of BKCa channel activity to alter myometrial contractility. // *R. A. Lorca, M. Prabakaran, S. K. England // Front Physiol.* – 2014. – Vol. 5 JUL(July). – P. 1–12.

20. Zhou Y. Paxilline inhibits BK channels by an almost exclusively closed-channel block mechanism. // *Y. Zhou, C. J. Lingle // J. Gen. Physiol.* – 2014. – Vol. 144(5). – P. 415–40.

Reference

1. Carafoli E, Krebs J. Why calcium? How calcium became the best communicator. // *J Biol Chem.* 2016 Sep 30;291(40):20849–57.
2. Babich LH, Shlykov SH, Kosterin SO. Ca ion transport in smooth muscle mitochondria [Internet]. Vol. 86, Ukrainian biochemical journal. 2014 [cited 2020 Feb 26]. p. 18–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25816602>
3. Andersson KE. Agents in early development for treatment of bladder dysfunction-promise of drugs acting at TRP channels? // *Expert Opin Investig Drugs.* 2019 Sep 2;28(9):749–55.
4. Vinayagam D, Mager T, Apelbaum A, Bothe A, Merino F, Hofnagel O, et al. Electron cryo-microscopy structure of the canonical TRPC4 ion channel. // *Elife.* 2018 May 2;7.
5. Morgan JT, Stewart WG, McKee RA, Gleghorn JP. The Mechanosensitive Ion Channel TRPV4 is a Regulator of Lung Development and Pulmonary Vascular Stabilization. // *Cell Mol Bioeng [Internet].* 2018 Oct 16 [cited 2019 Apr 25];11(5):309–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30713588>
6. Ying L, Alvira CM, Cornfield DN. A Role for the Transient Receptor Potential Vanilloid 4 Channel in Modulating Uterine Tone During Pregnancy. // *FASEB J [Internet].* 2016;30(1 supplement):1012.4–1012.4. Available from: https://www.fasebj.org/doi/abs/10.1096/fasebj.30.1_supplement.1012.4
7. Singh V, Ram M, Kandasamy K, Thangamalai R, Choudhary S, Dash JR, et al. Molecular and functional characterization of TRPV4 channels in pregnant and nonpregnant mouse uterus. // *Life Sci [Internet].* 2015 Feb 1 [cited 2019 Jan 11];122:51–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25529150>
8. Ducca E, Csányi A, Szőke É, Pohóczky K, Hajagos-Tóth J, Kothencz A, et al. Significance of transient receptor potential vanilloid 4 and aquaporin 5 co-expression in the rat uterus at term. // *Heliyon.* 2019 Oct 1;5(10).
9. Moroz OF, Zholos A V. Uterine Myocytes: Development, Structure and Function. In: L.V. Berhardt, editor. *Advances in Medicine and Biology.* Nova Science Publishers, Inc.; 2019. p. 27–96.
10. Chen M, Dasgupta C, Xiong F, Zhang L. Epigenetic upregulation of large-conductance Ca²⁺-Activated K⁺ channel expression in uterine vascular adaptation to pregnancy. // *Hypertension.* 2014;64(3):610–8.
11. Cox DH. Modeling a Ca²⁺ channel/BKCa channel complex at the single-complex level. // *Biophys J.* 2014 Dec 16;107(12):2797–814.
12. He D, Pan Q, Chen Z, Sun C, Zhang P, Mao A, et al. Treatment of hypertension by increasing impaired endothelial TRPV4-KC a2.3 interaction. // *EMBO Mol Med.* 2017 Nov;9(11):1491–503.
13. Arrowsmith S, Keov P, Muttenthaler M, Gruber CW. Contractility Measurements of Human Uterine Smooth Muscle to Aid Drug Development. // *J Vis Exp [Internet].* 2018 Jan 26 [cited 2018 Mar 19];(131). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29443077>
14. Liedtke W, Choe Y, Marti-Renom MA, Bell AM, Denis CS, Sali A, et al. Vanilloid receptor-related osmotically activated channel (VR-OAC), a candidate vertebrate osmoreceptor. // *Cell [Internet].* 2000 Oct 27 [cited 2019 Apr 29];103(3):525–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11081638>
15. Gao X, Wu L, O'Neil RG. Temperature-modulated Diversity of TRPV4 Channel Gating. // *J Biol Chem [Internet].* 2003 Jul 18 [cited 2019 Jan 15];278(29):27129–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12738791>
16. Watanabe H, Vriens J, Prenen J, Droogmans G, Voets T, Nilius B. Anandamide and arachidonic acid use epoxyeicosatrienoic acids to activate TRPV4 channels. // *Nature [Internet].* 2003 Jul 24 [cited 2019 Jan 20];424(6947):434–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12879072>
17. Isogai A, Lee K, Mitsui R, Hashitani H. Functional coupling of TRPV4 channels and BK channels in regulating spontaneous contractions of the guinea pig urinary bladder. // *Pflügers Arch – Eur J Physiol [Internet].* 2016 Sep 6 [cited 2019 Jan 11];468(9):1573–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27497848>
18. Melnyk MI, Dryn DO, Al Kury LT, Zholos A V., Soloviev AI. Liposomal quercetin potentiates maxi-K channel openings in smooth muscles

and restores its activity after oxidative stress. J Liposome Res [Internet]. 2018 Apr 19 [cited 2019 Jan 29];1–8. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/08982104.2018.1458864>

19. Lorca RA, Prabakaran M, England SK. Functional insights into modulation of BKCa channel activity to alter myometrial contractility. Front Physiol. 2014;5 JUL(July):1–12.

20. Zhou Y, Lingle CJ. Paxilline inhibits BK channels by an almost exclusively closed-channel block mechanism. J Gen Physiol. 2014;144(5):415–40.

Надійшла до редколегії 5.10.2020
Отримано виправлений варіант 5.11.2020
Підписано до друку 5.11.2020

Received in the editorial 5.10.2020
Received a revised version on 5.11.2020
Signed in the press on 5.11.2020

В. Тарарина, студ.,
И. Суха, студ.,
Р. Лаврик, студ.,
А. Артеменко, канд. биол. наук,
О. Мороз, канд. биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ИОННЫЕ КАНАЛЫ В КОНТЕКСТЕ ПОИСКА НОВЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИТЕЛЬНОСТИ МИОМЕТРИЯ

В наше время многие женщины имеют осложнения родов из-за слабой родовой деятельности, что часто угрожает как матери, так и ребенку. С другой стороны, не решена проблема предотвращения и терапии преждевременных сокращений матки. В предлагаемой работе рассмотрено влияние ионных каналов как конечных эффекторов регуляторных каскадов на сократимость миометрия. Исследовано участие TRPC4, TRPV4 и BKCa ионных каналов в сократимости миометрия с учетом того, что изменение ионных проводимостей в плазматической мембране регулирует спонтанные и агонист-индуцированные сокращения. На препаратах миометрия беременных крыс с применением тензометрического метода регистрировали амплитуду силы сокращений в условиях активации указанных ионных каналов их селективными агонистами. Полученные результаты позволили рассматривать (-)-енглерин А как стимулятор сокращений матки в случае недостаточного ответа на окситоцин, поскольку он в концентрации 1 нМ вызывал значимое увеличение силы сокращений, которые статистически не отличались от показателей при действии окситоцина или карбахолина. Применение агониста в концентрациях 30–100 нМ вызывало некоторое угнетение сократимости. Исходя из полученных результатов исследования роли TRPV4 каналов, а именно уменьшения силы сокращений гладких мышц матки в ответ на применение селективного агониста GSK1016790A (0,3 мкМ), авторы предположили, что главный эффект активации этого канала зависит от экспрессии и активности расположенных рядом кальций-зависимых калиевых каналов. Было обнаружено, что применение липосомальной формы кверцетина для активации BKCa каналов подавляет возбудимость клеток миометрия эффективнее, чем это соединение, растворенное в DMSO, что является перспективным для коррекции преждевременной или патологически частой активности матки.

Ключевые слова: сокращение матки; окситоцин; TRPC4; TRPV4; BKCa ионные каналы.

V. Tararina, stud.,
I. Sukha, stud.,
R. Lavryk, stud.,
O. Artemenko, PhD,
O. Moroz, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

ION CHANNELS IN A CONTEXT OF THE DEVELOPMENT OF NEW MOLECULAR TARGETS FOR REGULATION OF UTERINE CONTRACTIONS

Many women now have complications in childbirth due to poor labor, which often threatens both mother and fetus. Also, the problem of prevention and treatment of premature uterine contractions is unresolved. Therefore, in this work we investigated the influence of ion channels as the end stage effectors of the regulatory cascades in the contractility of myometrium. To better understand the participation of TRPC4, TRPV4 and BKCa ion channels in myometrial contractility, we conducted experiments, keeping in mind the fact that changes in ionic conductivity of the plasma membrane regulate spontaneous and agonist-induced contractions. On the myometrial preparations of pregnant rats using isolated tissue tensiometry, the amplitude of contractile force was recorded under the activation of these ion channels by their selective agonists. Obtained results allow us to consider (-) – englerin A as a way to stimulate uterine contractions in case of insufficient response to oxytocin, because at a concentration of 1 nM a significant increase in contraction force was developed and did not differ statistically from the response to oxytocin or carbacholin. The use of an agonist at concentrations of 30–100 nM causes some suppression of contractility. Based on the results describing the role of TRPV4 channels, namely the reduction of uterine smooth muscle contractions in response to their selective agonist GSK1016790A administration, we suggest that the main effect of activation of these channels depends on the expression and activity of adjacent calcium-dependent potassium channels. Our experiments found that the use of the liposomal form of quercetin to activate BKCa channels inhibits the excitability of myometrial cells more effectively than that dissolved in DMSO, which is promising for the correction of premature or excessive uterine activity.

Keywords: uterine contractions, oxytocin, TRPC4; TRPV4; BKCa ion channels.