

Ю.В. Данилович, О.Ю. Чуніхін, Г.В.Данилович

## Тестування змін розмірів міоцитів матки за дії модуляторів її скоротливої активності методом фотонної кореляційної спектроскопії

*Із використанням фотонної кореляційної спектроскопії вивчено вплив речовин-модуляторів контрактильної активності гладеньких м'язів на розміри (діаметр) міоцитів матки щурів. Клітини візуалізувалися за допомогою лазерної конфокальної мікроскопії як об'єкти переважно овальної або близької до овальної форми. Діаметр міоцитів, оцінений за допомогою фотонної кореляційної спектроскопії, становив 7–10 мкм, що узгоджується із результатами, одержаними нами з використанням лазерної конфокальної мікроскопії. Показано, що такі міоконстрикторні агенти, як кальцієвий іонофор А-23187 (10 мкмоль/л) та інгібітори калієвих каналів (тетраетиламоній та 4-амінопіридин у концентрації 1 ммоль/л), призводять до зменшення діаметра клітин у середньому на 22, 12 і 24 % відповідно. За наявності оубабіну, який знижує скоротливу активність гладенького м'яза, спостерігається збільшення досліджуваного показника в середньому на 23 %. Отже, зменшення/збільшення діаметра міоцитів матки за дії вказаних речовин корелює із добре відомим в науковій літературі їх впливом на скорочення/розслаблення міометрії.*

*Ключові слова: фотонна кореляційна спектроскопія, міоцити, міометрія, міоконстриктори, оубабін.*

### ВСТУП

Скоротлива активність м'язового волокна супроводжується суттєвими змінами низки його фізико-хімічних характеристик, передусім електропровідності, осмомолярності міоплазми, її іонної сили та рН, температури, локального тиску, а також лінійних розмірів самого волокна [1, 5, 7]. Водночас інформація щодо змін об'єму міоцитів під час контрактильної активності доволі обмежена. З огляду на те, що скорочення м'яза багато в чому визначається структурно-функціональними особливостями окремих його волокон, дослідження волюметричних характеристик міоцитів здатне розширити наші уявлення стосовно клітинних механізмів узгодженої роботи м'язів.

Зміни об'єму клітин спостерігаються як за умови дії на них речовин-регуляторів, так і у разі впливу чинників патогенезу. Клітинний об'єм чутливий до широкого спектра

зовнішніх (внутрішніх) факторів, до яких відносяться створення анізоосмотичних умов, оксидативний/нітрозативний стрес, вплив концентрованих амінокислот, аміаку, гормонів тощо [14–16, 25, 26]. З огляду на це коло проблем стосовно осморегуляції клітинних функцій та її порушення, яке супроводжує виникнення патологічного стану, а також осмосигналінгу, як передумови осморегуляції, знайшли нині відображення в деяких роботах. Як приклад дослідницької активності в цій царині можна навести встановлення зв'язку між дією інсуліну і глютаміну на гепатоцити та збільшенням об'єму клітин, що супроводжується змінами у їхньому метаболізмі і генній експресії, причому роль осмосенсорів відіграють білки-інтегрини [14, 23]. У цьому разі в сигналізацію залучені MAP-кіназний месенджерний каскад (можливо, його Erk-підкаскад), а також G-протеїнзалежні та тирозинкіназні шляхи.

© Ю.В. Данилович, О.Ю. Чуніхін, Г.В.Данилович

Спричинену печінковою недостатністю енцефалопатію, яка супроводжується набряком мозку та підвищеним внутрішньочерепним тиском, багато авторів пов'язують із дією амонію на астроцити, що також супроводжується збільшенням їх об'єму [16, 26]. Наводяться докази того, що амоній посилює експресію та підвищує активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $2\text{Cl}^-$  – котранспортера, чому передуює оксидативна/нітрозативна модифікація останнього [16]. З іншого боку, продемонстровано, що астроцити у гіпоосмотичному середовищі мають підвищену активність  $\text{Ras/Raf/Erk}_{1/2}$  – сигнального шляху та характеризуються підвищенням концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозолі [23, 25]. Можна припустити, що зазначені біохімічні механізми лежать в основі осмосигналіngu гліальних клітин.

Загальноприйнятою є точка зору, що зміни клітинного об'єму визначаються процесами транспорту води крізь плазматичну мембрану. Відповідно до цього, порушення іонного гомеостазу клітини, як наслідок дисфункції іонотранспортувальних систем, може призвести до руйнації осмобалансу між цитозолем та позаклітинним середовищем, що супроводжується акумуляцією міжклітинної води та зростанням клітинного об'єму [15]. Зокрема, в хондроцитах стабільність цього показника може підтримуватися за рахунок транспорту калію з клітини в умовах існування фізіологічнозначущих значень потенціалу спокою на мембрані [18]. В осморегуляції клітини особливе значення мають іонні транспортери і обмінники на кшталт  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $2\text{Cl}^-$ -котранспортера,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обмінників, а також неселективні катіонні канали та чутливі до об'єму осмолітичні аніонні канали [15, 16]. Функціональна активність електрозбудливих клітин, зокрема м'язових, супроводжується суттєвими змінами інтенсивності трансмембранних іонних струмів, які достатні для зміщення осмотичної рівноваги між цитозолем і позаклітинним середовищем, а, отже, впливають на клітинний об'єм. Наводяться окремі докази кореляції

між скоротливою активністю гладенького м'яза та змінами об'єму міоцитів [12]. Можлива наявність функціонального зв'язку між змінами об'єму міоцитів і структурою сарколеми, цитоскелетними білками, а також протеїнами контрактильного апарату [13, 19, 21] дає змогу припустити значення осмосигналіngu в регуляції скоротливої активності м'язів. Проте інформація стосовно впливу речовин, які здатні змінювати контрактильну активність міоцитів на їх об'єм майже відсутня у доступній нам науковій літературі.

Для вивчення скоротливої функції міоцитів ефективними виявилися різноманітні оптичні методи дослідження [9, 11, 21]. Подальша розробка таких підходів дасть можливість розширити уявлення про механізми функціонування м'яза на клітинному рівні. Контрактильна активність м'язової клітини супроводжується змінами її геометрії [12, 19], що буде впливати на оптичні характеристики клітин у суспензії, зокрема, показники світлорозсіювання [4, 6]. Зручним, швидким і відносно простим методом аналізу змін розмірів об'єктів, які знаходяться у броунівському русі, є фотонна кореляційна (лазерна кореляційна) спектроскопія. За допомогою цього методу аналізується інтенсивність розсіювання монохроматичного світла поверхнею об'єктів, які вивчаються, наслідком чого є одержання інформації щодо змін їх гідродинамічного діаметра (фактично розміру). Метод з високою ефективністю використовується в біології та медицині для вивчення формених елементів крові в нормі та при патології, оцінки ступеня набухання мітохондрій, яке спричинене відкриванням пори перехідної провідності, при дослідженні взаємодії антиген–антитіло, руху мікроорганізмів тощо [3, 4, 6]. Водночас у науковій літературі майже відсутня інформація стосовно застосування фотонної кореляційної спектроскопії для оцінки функціонального стану міоцитів.

Метою нашої роботи було: вивчити зміни розмірів свіжовиділених гладеньком'язових клітин матки (міометрія), які знаходяться у

суспензії, при дії на них речовин, що впливають на контрактильну активність.

## МЕТОДИКА

Виділення суспензії інтактних міоцитів з міометрія щурів. Суспензію гладеньком'язових клітин матки невагітних щурів, естрогенізованих за 16 год до забору тканини, одержували з використанням колагенази і соєвого інгібітора трипсину за допомогою методу Молларда та співавт. [20]. Загальну кількість клітин і кількість життєздатних клітин підраховували з використанням гемоцитометра (камери Горяєва).

Фотонна кореляційна спектроскопія. Контрольні виміри проводили в модифікованому фізіологічному середовищі Хенкса (розрахована концентрація кальцію становить 0,03 ммоль/л). Розміри міоцитів оцінювали за допомогою приладу ZetaSizer-3 ("Malvern Instruments", Великобританія) з корелятором Multi8 computing correlator type 7032 ce. Прилад облаштований гелій-неоновим лазером ЛГ-111 з довжиною хвилі 633 нм і потужністю 25 мВт. Розсіюване від суспензії міоцитів лазерне опромінення реєстрували протягом 1 хв п'ятиразово під кутом розсіювання 90°. Автокореляційну функцію обробляли за допомогою стандартної комп'ютерної програми PCS-Size mode v 1.61.

Розмір міоцитів досліджували методом фотонної кореляційної спектроскопії на лазерному кореляційному спектрометрі "ZetaSizer-3" ("Malvern Instrument", Великобританія), обладнаного He-Ne лазером ЛГН-111 (P = 25 мВт,  $\lambda = 633$  нм). Діапазон вимірювання приладу становить від 1 нм до 20 мкм. Робота цього спектрометра основана на аналізі кореляційних характеристик флуктуації інтенсивності динамічно розсіяного світла при проходженні лазерного променя через середовище. Вимірювання кореляційної функції флуктуацій інтенсивності розсіяного світла і інтегральної інтенсивності розсіювання дає змогу визначити коефіцієнт трансляційної дифузії дисперсних часток у

рідинах і за рівнянням Стокса-Ейнштейна визначити розподілення частинок у рідинах за розміром. Коефіцієнт трансляційної дифузії D частинок пов'язаний з тривалістю кореляції  $\tau_c$  співвідношенням:

$$Dq^2 = 1/\tau_c,$$

Хвильової вектор флуктуацій концентрації q описується виразом:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda_0} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right),$$

де n – показник заломлення середовища (рідини),  $\lambda_0$  – довжина хвилі випромінювання,  $\theta$  – кут розсіювання.

Використовуючи формулу Стокса-Ейнштейна, яка пов'язує розмір частинок з їх коефіцієнтом трансляційної дифузії і в'язкістю рідини, можна розрахувати розмір сферичних частинок:

$$d(H) = \frac{k_B \cdot T}{3\pi\eta D},$$

де  $k_B$  – стала Больцмана, T – абсолютна температура,  $\eta$  – зсувна в'язкість середовища, в якому суспендовані частинки, D – коефіцієнт трансляційної дифузії.

Реєстрацію та статистичну обробку лазерного випромінювання, розсіяного від водної (n = 1,33) суспензії міоцитів, проводили 5-разово протягом 60 с при +22°C під кутом розсіювання 90°.

Отримані результати вимірювань обробляли за допомогою сервісної комп'ютерної програми PCS-Size mode v1.61.

Зйомки неприкріплених до субстрату клітин з використанням лазерної конфокальної мікроскопії. Візуалізували міоцити в фізіологічному середовищі Хенкса із використанням потенціалчутливого зонда DiOC<sub>6</sub>(3) у концентрації 0,5 мкмоль/л. Забарвлені енергетизовані клітини досліджували на лазерному скануючому конфокальному мікроскопі LSM 510 META ("Carl Zeiss", Німеччина) [2] у режимі Multi Track. Збудження флуоресценції DiOC<sub>6</sub>(3) здійснювали на довжині хвилі 488 нм, а її реєстрацію – в діапазоні 505-530 нм (світлофільтр BP 505-530).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили із використанням пакета стандартних програм IBM PC, застосовуючи загальновідомі методи і критерій t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В 1 мл отриманої клітинної суспензії містилося в середньому  $6,6 \cdot 10^6$  міоцитів; кількість життєздатних клітин, яку визначали при фарбуванні клітинного препарату вітальним барвником трипановим синім, становила 90–95 % від їх загального вмісту. Розміри міоцитів у суспензії становили 7–10 мкм, що узгоджується із результатами, одержаними нами з використанням лазерної конфокальної мікроскопії, хоча у суспензії наявні також більші за розмірами утворення та об'єкти нетривіальної геометрії (рис. 1). Більшість неприкріплених до субстрату клітин мають округлу та близьку до овальної форму, що відповідає термодинамічному принципу мінімуму енергії. In vitro лише міоцити, які прикріплюються до субстрату та розпласкуються, набувають веретеноподібної морфології, характерної для гладеньком'язових клітин. Близька до сферичної форма міоцитів

у суспензії дає змогу використовувати метод фотонної кореляційної спектроскопії для оцінювання зміни їх розмірів. Переважання об'єктів видовженої форми або складної геометрії унеможливило б коректну рестрацію автокореляційної функції. Необхідно зазначити, що у складі міометриальної тканини міоцити об'єднані в пучки, формують щільні контакти і через рецептори інтегринів взаємодіють із білками позаклітинного матриксу [21, 24]. Це не дає змоги проаналізувати функціональну відповідь окремих клітин і вимагає проведення досліджень на міоцитах, одержаних за допомогою протеолітичних ферментів [21].

Аналіз змін мод діаметра міоцитів протягом 10 хв (розміри, які найбільш часто зустрічаються в досліджуваному зразку) дає змогу припустити, що процеси осадження клітин чи їх злипання не відіграють суттєвої ролі для інтерпретації подальших дослідів, оскільки спостерігаються флуктуації навколо середнього значення досліджуваного показника (рис. 2).

Надалі вивчали вплив окремих модулаторів скоротливої активності міометрія, дія яких надійно тестована в тензометричних

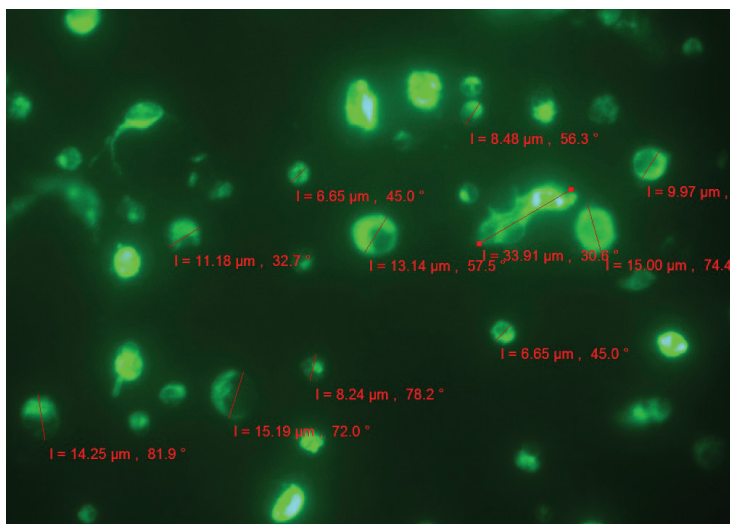


Рис. 1. Суспензія міоцитів, візуалізована із використанням лазерної конфокальної мікроскопії. Для візуалізації клітин використовували флуоресцентний барвник DiOC<sub>6</sub> (3). Зазначено розміри окремих об'єктів з відповідними кутами виміру

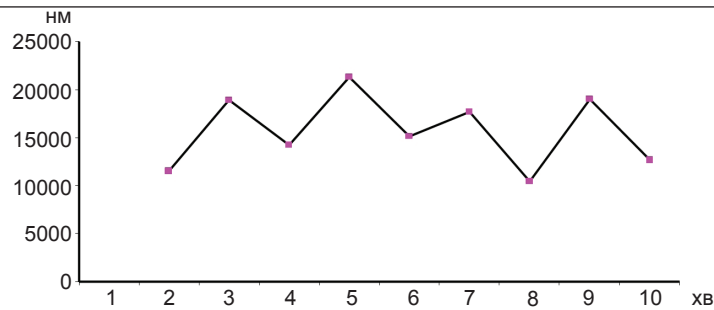


Рис. 2. Зміни мод діаметра міоцитів протягом 10 хв у середовищі із низькою концентрацією кальцію

дослідженнях, на розміри міоцитів. Встановили, що додавання  $\text{Ca}^{2+}$  (близько 3 ммоль/л) до суспензії міоцитів, які були преінкубовані в гіпокальцієвому фізіологічному розчині, зменшувало розміри клітин (рис. 3,а), що відповідає уявленням про „базальний” вхід катіона з позаклітинного середовища [17] і підвищення контрактильної активності матки у разі заміни гіпокальцієвого на нормальне середовище. Подальші дослідження проводилися при фізіологічних концентраціях  $\text{Ca}^{2+}$ . Обробка суспензії кальцієвих іонофором А-23187 [17] викликала суттєве зменшення їхнього діаметра (див. рис. 3,б), причиною якого може бути зміна геометрії міоцитів, індукована масованим входом  $\text{Ca}^{2+}$  з позаклітинного середовища й активацією скоротливого апарату. Широковживані інгібітори кальцієвих каналів, зокрема в міометрії, тетраетиламоній та 4-амінопіридин [10], очікувано знижували розміри міоцитів (див. рис. 3,в). Це знаходиться у відповідності із

стимуляцією цими речовинами транспорту  $\text{Ca}^{2+}$  в клітини внаслідок їх деполаризувальної дії на сарколему з подальшою активацією актоміозинового комплексу. Додавання до міоцитів специфічного інгібітора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази оуабаїну спричинило збільшення розмірів міоцитів (див. рис. 3,в), що корелює з даними тензометричних досліджень, де оуабаїн знижував скоротливу активність смужок гладенького м'яза [8].

Аналіз конкретного випадку розподілу діаметра клітин (рис. 4) свідчить, що підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  в середовищі до 3 ммоль/л призводить як до зниження кількості крупних об'єктів у суспензії, так і до появи більш дрібних, що може бути наслідком зменшення розмірів міоцитів.

Слід також зазначити, що односпрямовані зміни розмірів міоцитів, наприклад у середовищі з  $\text{Ca}^{2+}$  та 4-амінопіридином, звужують діапазон розподілу їхнього діаметра.

Згідно з результатами конфокальної зйомки, вплив досліджуваних речовин на розміри

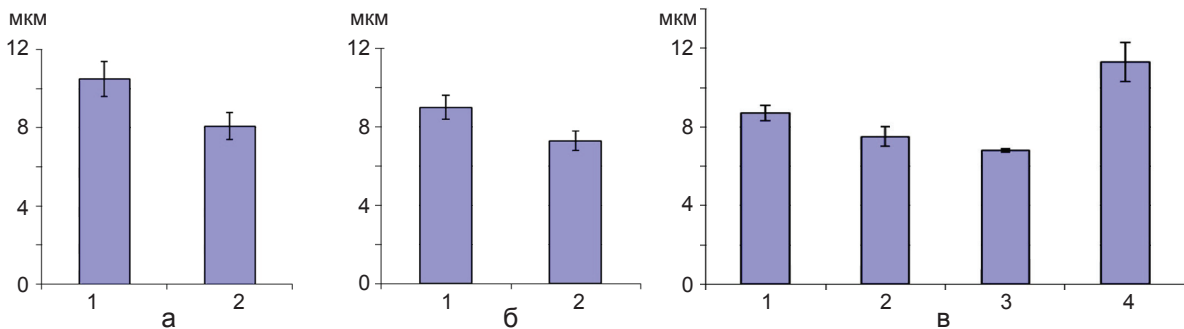


Рис. 3. Зміни діаметра міоцитів за дії речовин-модуляторів контрактильної активності: а – до гіпокальцієвого середовища (1 – контроль, 0,03 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ ), 2 – внесення 3 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ , б – 1 – контроль, 3 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ , 2 – внесення 10 мкмоль/л А-23187, в – 1 – контроль, 3 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$ , 2 – внесення 1 ммоль/л 4-амінопіридину, тетраетиламонію (3), 4 – 50 мкмоль/л оуабаїну.  $P \leq 0,05$  – відносно контролю

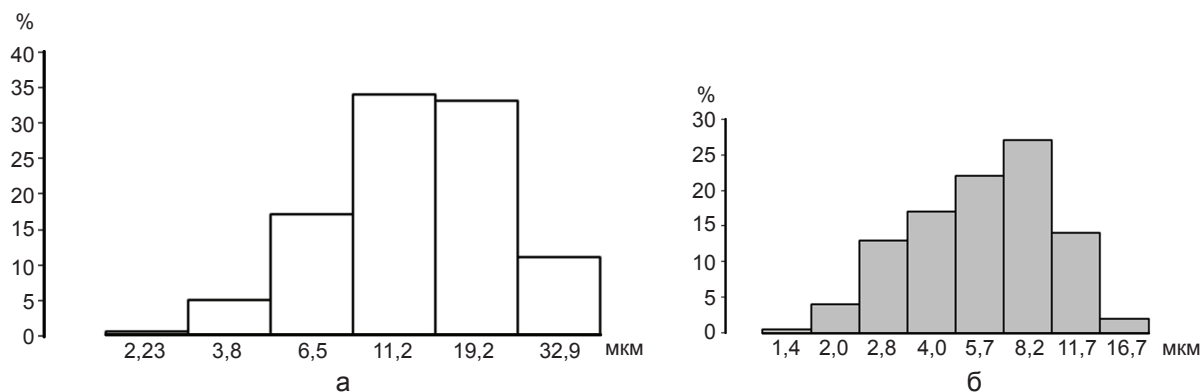


Рис. 4. Розподіл діаметра клітин в гіпокальцієвому середовищі (а) та за наявності 3 ммоль/л  $\text{Ca}^{2+}$  (б). За віссю абсцис – діаметр, за віссю ординат – розподіл клітин у зразку за розмірами (у відсотках). Представлений результат обробки результатів комп’ютерною програмою

міоцитів важко інтерпретувати як процеси вкорочення–подовження клітин. Зміни їхнього діаметра можуть бути пояснені з огляду на можливі перебудови цитоскелета, які спостерігаються за дії речовин-модуляторів скоротливої активності. Зокрема, показано, що їхній вплив супроводжується виникненням як евагінацій, так і інвагінацій поверхні міоцитів [19, 21]. При інтерпретації одержаних нами результатів слід також враховувати взаємодію актинових філаментів із плазматичною мембраною в гладеньком’язових клітинах [13]. Отже, не викликає сумніву, що впливи, які змінюють активність контрактильного апарату клітин міометрія, можуть призвести до відповідних змін в їх морфології. Так, показано, що скорочення клітин міометрія вагітних жінок супроводжується зменшенням об’єму міоцитів [12]. Широковідомим є зв’язок між  $\text{Cl}^-$ -каналами сарколеми, які регулюють динаміку клітинного об’єму, та скоротливою активністю [22].

Вірогідним поясненням зареєстрованих нами змін діаметра клітин може бути також суттєве порушення осмотичної рівноваги між міоплазмою та позаклітинним середовищем як наслідок змін у транспорті іонів на рівні сарколеми під дією речовин, що модулюють скоротливу активність.

Таким чином, в деяких випадках, зміни розмірів міоцитів, оцінені із використанням

фотонної кореляційної спектроскопії, корелюють із даними досліджень скоротливої активності, які одержані іншими методами. Проте при математичному їх аналізі та інтерпретації корелограм виникає низка питань, пов’язаних із високою гетерогенністю клітинної популяції за розмірами та нетривіальною геометрією міоцитів (еліпс, подвійний конус або більш складна форма).

Автори висловлюють подяку члену-кореспонденту НАН України, професору С.О. Костеріну за цінні рекомендації під час обговорення експериментальних результатів.

Робота виконана за підтримки програми наукових досліджень НАН України “Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій” № держреєстрації 0110U005971.

**Ю.В. Данилович, А.Ю. Чуніхін,  
Г.В. Данилович**

#### **ТЕСТИРОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ РАЗМЕРОВ МИОЦИТОВ МАТКИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ МОДУЛЯТОРОВ ЕЕ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МЕТОДОМ ФОТОННОЙ КОРРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ**

С использованием фотонной корреляционной спектроскопии изучено влияние веществ-модуляторов контрактильной активности гладких мышц на размеры (диаметр) миоцитов матки крыс. Клетки визуализировались с использованием лазерной конфокальной микроскопии как объекты преимущественно овальной или близкой к

овальной формы. Диаметр миоцитов, оцененный с помощью фотонной корреляционной спектроскопии, составлял 7–10 мкм, что соответствует результатам, полученным нами с использованием лазерной конфокальной микроскопии. Показано, что такие миоконстрикторные агенты, как кальциевый ионофор А-23187 (10 мкмоль/л) и ингибиторы калиевых каналов (тетраэтиламмоний и 4-аминопиридин в концентрации 1 ммоль/л), приводят к уменьшению диаметра клеток в среднем на 22, 12 и 24 % соответственно. В присутствии оубаина, который снижает сократительную активность гладкой мышцы, наблюдается увеличение исследуемого показателя в среднем на 23 %. Таким образом, уменьшение/увеличение диаметра миоцитов матки в присутствии указанных веществ коррелирует с хорошо известным в научной литературе их действием на сокращение/расслабление миометрия.

Ключевые слова: фотонная корреляционная спектроскопия, размер миоцитов, миометрий, миоконстрикторы, оубаин.

**Yu.V. Danylovych, A. Ju.Chunikhin,  
G.V. Danylovych**

#### **INVESTIGATION OF THE CHANGES IN UTERINE MYOCYTES SIZE DEPENDING ON CONTRACTILE ACTIVITY MODULATORS BY PHOTON CORRELATION SPECTROSCOPY**

By using photon correlation spectroscopy the effect of contractile activity modulators of smooth muscle to the size (diameter) of rats uterine muscle cells was investigated. Cells were studied by using laser confocal microscopy as objects mostly oval or nearly oval form. The diameter of myocytes, assessed by photon correlation spectroscopy, was amounted 7-10  $\mu\text{m}$  which is consistent with the results obtained by using laser confocal microscopy. It is shown that the myoconstricted agents as  $\text{Ca}^{2+}$  ionophore A-23187 (10  $\mu\text{M}$ ) and  $\text{K}^+$ -channels inhibitors (tetraethylammonium and 4-aminopyridine in a concentration of 1 mM) leading to decrease the diameter of the cells by 22%, 12% and 24% in average respectively. The ouabain, that reduces contractile activity of smooth muscle, leads to increase this parameter up 23% from control. Thus, decreasing/increasing the diameter of uterine myocytes correlates with their well known influence on myometrium constriction/relaxation.

Key words: photon correlation spectroscopy, hydrodynamic diameter, myocytes, myometrium, myoconstrictors, ouabain.

*Palladine Institute of Biochemistry, National Academy of  
Science of Ukraine, Kyiv*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Березовский В.А., Колотилов Н.Н. Биофизические характеристики тканей человека. Справочник. – К.: Наук. думка, 1990. – 224 с.

2. Данилович Г.В., Данилович Ю.В., Горчев В.Ф. Порівняльне дослідження методами спектрофлуориметрії та протокової цитометрії поляризації плазматичної і внутрішньої мітохондріальної мембран гладеньком'язових клітин із використанням потенціалчутливого зонда  $\text{DiOC}_6(3)$  // Укр. біохім. журн. – 2011. – **83**, № 3. – С. 99–105.
3. Кандаурова Н.В., Чуніхін О.Ю., Бабіч Л.Г., Шликов С.Г., Костерін С.О. Модулятори трансмембранного кальцієвого обміну в мітохондріях змінюють їхній гідродинамічний діаметр // Там само. – 2010. – **82**, № 6. – С. 52–57.
4. Ключева А.В., Левчук Ю.Н., Набока Ю.Н. Фотон-корреляційна спектроскопія білків // Там само. – 2002. – **74**, № 5. – С. 12–26.
5. Костюк П.Г., Зима В.Л., Мірошніченко М.С., Шуба М.Ф. Біофізика. – К.: Обереги, 2001. – 544 с.
6. Лебедев А.Д., Левчук Ю.Н., Ломакин А.В., Носкин В.А. Лазерная корреляционная спектроскопия в биологии. – К.: Наук. думка, 1987. – 256 с.
7. Тугай В.А. Регуляторная роль протона в мембранных процессах мышечной клетки. – Там само, 1993. – 183 с.
8. Цимбалюк О.В., Онуфрийчук О.В., Веклич Т.О., Черенок С.О., Кальченко В.І., Мірошніченко М.С., Костерін С.О. Порівняльне дослідження впливу оубаїну і каліксарен біс-гідроксиметилфосфонові кислоти на активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФази та механокінетику процесу «скорочення-розслаблення» гладенького м'язу // Фізика живого. – 2006. – **14**, № 1. – С. 53–72.
9. Bazan C., Torres Borda D., Blomgren P., Paolini P. Image processing techniques for assessing contractility in isolated neonatal cardiac myocytes // Int. J. Biomed. Imaging. – 2011. – **2011**, Article ID 729732. – 9 p.
10. Brainard A.M., Korovkina V.P., England S.K. Potassium channels and uterine function // Semin. Cell Dev. Biol. – 2007. – **18**, № 3. – P. 332–339.
11. Delbridge L.M., Roos K.P. Optical methods to evaluate the contractile function of unloaded isolated cardiac myocytes // J. Moll. Cell Cardiol. – 1997. – **29**, № 1. – P. 11–25.
12. Dessouky D.A. Ultrastructural observations of the human uterine smooth muscle cells during gestation // Amer. J. Obstet. Gynecol. – 1976. – **125**, № 8. – P. 1099–1107.
13. Gunst S.J., Tang D.D. The contractile apparatus and mechanical properties of airway smooth muscle // Eur. Respir. J. – 2000. – **15**, № 3. – P. 600–616.
14. Haussinger D., Reinehr R., Schliess F. The hepatocyte integrin system and cell volume sensing // Acta Physiol. – 2006. – **187**, Is. 1-2. – P. 249–255.
15. Hoffman E.K., Dunham P.B. Membrane mechanisms and intracellular signalling in cell volume regulation // Int. Rev. Cytol. – 1995. – **161**. – P. 162–173.
16. Jayakumar A.R., Lin M., Moriyama M. Na-K-Cl cotransporter-1 in the mechanism of ammonia-induced astrocyte swelling // J. Biol. Chem. – 2008. – **283**, № 49. – P. 33874–33882.
17. Kosterin S.A., Burdyga Th.V., Fomin V.P., Grover A.K. Mechanism of  $\text{Ca}^{2+}$ -transport in myometrium. – In: Control of Uterine Contractility / Eds. R.E. Garfield, T.N.

- Tabb // London, Tokyo: CRC Press, 1994. – P. 129–153.
18. Lewis R., Asplin K.E., Bruce G. The role of the membrane potential in chondrocyte volume regulation // J. Cell Physiol. – 2011. – **226**, № 11. – P. 2979–2986.
  19. Maruyama I., Kobayashi M., Yoshida C., Momose K. Ultrastructure of single smooth muscle cells contracted by carbachol and calcium ion // J. Pharmacobiodyn. – 1987. – **10**, № 8. – P. 396–403.
  20. Mollard P., Mironneau J., Amedee T. Electrophysiological characterization of single pregnant rat myometrial cells in short-term primary culture // Amer. J. Physiol. – 1986. – **19**, № 1. – P. 47–54.
  21. Momose K. Isolation, configuration and contractile responses of single smooth muscle // Nihon Yakurigaku Zasshi. – 1993. – **101**, № 3. – P. 101–110.
  22. Remillard C.V., Yuan J.X. CLC-3: more than just a volume-sensitive Cl<sup>-</sup> channel // Br. J. Pharmacol. – 2005. – **145**, № 1. – P. 1–2.
  23. Schliess F., Sinning R., Fisher R. Calcium-dependent activation of Erk-1 and Erk-2 after hypo-osmotic astrocyte swelling // Biochem. J. – 1996. – **320**, Pt. 1. – P. 167–171.
  24. Shynlova O., Tsui P., Jaffer S., Lye S.J. Integration of endocrine and mechanical signals in the regulation of myometrial functions during pregnancy and labour // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2009. – **144**, № 1. – P. 2–10.
  25. Sinning R., Schliess F., Kubitz R., Haussinger D. Osmosignalling in C6 glioma cells // FEBS Lett. – 1997. – **400**, № 2. – P. 163–167.
  26. Stephan vom Dahl, Kircheis G., Haussinger D. Hepatic encephalopathy as a complication of liver disease // World J. Gastroenterol. – 2001. – **7**, № 2. – P. 152–156.

*Ин-т біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, Київ*  
*E-mail: danylovysh@biochem.kiev.ua*

*Матеріал надійшов до*  
*редакції 17.04.2012*