

АНОТАЦІЯ

Струтинський В. Р. Чутливість міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії у щурів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія». – Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ, 2026.

Збереження фізіологічної функції матки ссавців є критичною умовою забезпечення репродуктивної здатності організму, важливою частиною якої є спонтанна скоротлива активність гладком'язових клітин (ГМК) міометрія. Одними із індукторів порушень функції матки є структурні компоненти бактеріальної стінки, зокрема ліпополісахариди грамнегативних бактерій, що значно пригнічують репродуктивну функцію тварин. Рецептори вродженого імунітету (Toll-подібні рецептори (TLR)) та канали тимчасового рецепторного потенціалу (TRP) розпізнають ліпополісахарид і запускають запальну відповідь. Остання супроводжується продукцією цитокінів, хемокінів і спричиняє інфільтрацію лейкоцитів у тканини матки та плаценти, що може спровокувати передчасні пологи та порушення імплантації. Підвищений оксидативний стрес, мітохондріальна дисфункція, зміни експресії білків та рецепторів, а також порушення метаболічної сигналізації під час запалення, індукованого ліпополісахаридом, ускладнюють функціонування матки та значно погіршують репродуктивну функцію ссавців. Важливою для підтримання останньої є фізіологічна скорочувальна здатність матки, одним із регуляторів якої є окситоцин. Ліпополісахарид змінює метаболічні сигнальні шляхи, пов'язані з активацією рецепторів окситоцину, діючи на скорочувальну здатність матки. Ймовірно, що збільшення чутливості міометрія до окситоцину залежить від щільності його рецепторів на мембранах ГМК. На сьогодні зміни окситоцинзалежної скоротливої активності міометрія матки в умовах

експериментальної ліпополісахаридіндукованої ендотоксемії, способи попередження та корекції її порушень вивчені недостатньо. Дослідження чутливості міометрія матки до окситоцину при експериментальній ендотоксемії дає цінну інформацію про репродуктивну фізіологію та можливі ускладнення під час перебігу вагітності. Пошук механізмів попередження та зменшення патогенного впливу ліпополісахариду на функцію матки є актуальним та важливим напрямком досліджень сучасної фізіології та медицини.

Метою роботи було дослідити чутливість міометрія матки щурів до окситоцину за показниками скоротливої активності та експресії окситоцинових рецепторів за умов ліпополісахаридіндукованої експериментальної ендотоксемії, а також оцінити ефективність фармакологічних підходів до попередження та корекції виявлених порушень.

У роботі використовували фізіологічні, молекулярно-генетичні, біохімічні та статистичні методи дослідження. До фізіологічних методів відносяться дослідження функціонального стану міометрія за різних експериментальних умов, проведені на установці для тензометричного вимірювання реакцій скорочення-розслаблення м'язових препаратів. Для визначення експресії генів були застосовані метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в реальному часі (Real-time) та зворотна транскрипція. Біохімічними методами визначали маркери оксидативного стресу та перекисного окиснення ліпідів, показники, що характеризують синтез оксиду азоту (активність ендотеліальної та індуцибельної NO-синтази), а також вміст сірководню у тканинах міометрія матки та плазмі крові щурів. У наших дослідженнях використано модель ліпополісахаридіндукованого імуніопосередкованого ушкодження, яка розроблена і запатентована у відділі імуніфізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України і застосована нами для щурів (Shepel et al., 2018; Патент України № 139296 від 26.12.2019). Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики комп'ютерних програм «Excel 2000» і «Origin 7.0».

В експериментах *ex vivo* показано, що ліпополісахарид збільшував амплітуду та тривалість спонтанних скорочень на 13 і 23% при його дії в

концентраціях 1,0 і 0,5 мкг/мл відповідно, а також тривалість циклу скорочення-пауза міометрія матки, площу під кривою скорочення та зменшував їх частоту з максимальним ефектом на 9,6%. Зміни максимальної швидкості скорочення і розслаблення міометрія ($+dF/dt_{\max}$ і $-dF/dt_{\max}$) при дії ліпополісахариду вказують на порушення цих процесів.

Вперше показано, що ліпополісахарид при внутрішньоочеревинній ін'єкції щурам у дозі 3 мг/кг за добу до експерименту вірогідно посилював у 3,1 та 2,3 раза окситоциніндуковану амплітуду скорочень та базальний тонус ізольованих смужок міометрія матки, що асоціювалося зі збільшенням у 4,6 раза рівнів експресії мРНК окситоцинових рецепторів (*OXTR*) у тканині матки. При такій дозі введеного щурам ліпополісахариду значно інтенсифікувався окисний стрес, про що свідчило збільшення маркерів активних форм кисню та продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканині матки, а також у плазмі крові через розвиток мітохондріальної дисфункції, у тому числі. Зокрема, у тканині матки швидкість утворення супероксидних і гідроксильних радикалів збільшилася у 2,5 та 5,6 раза відповідно, вміст пероксиду водню – у 2,5 раза, дієнових кон'югатів та малонового діальдегіда – у 4 та 2,6 раза відповідно. При цьому у тканині матки значно збільшувалася у 3,7 раза активність індукцибельної NO-синтази і, навпаки, зменшувався у 2,5 раза конститутивний синтез оксиду азоту. Вперше показано, що за даної експериментальної моделі ліпополісахарид призводив до збільшення у 3,3 раза у тканині матки щурів експресії мРНК генів, що кодують антиоксидантний фермент каталазу, а також збільшував у 5,8 разів експресію H_2S -синтезуючого фермента цистатіонін- γ -ліази (*CSE*) та у 2,4 раза – Kir6.1-субодиницю АТФ-чутливих калієвих каналів (K_{ATP} -каналів). Експресія антиоксидантного фермента супероксиддисмутази була зменшена. Таким чином, ранні періоди дії ліпополісахариду характеризуються, з одного боку, розвитком окисного стресу зі значним впливом на функцію мітохондрій та асоційованим зі збільшенням експресії окситоцинового рецептора підвищенням скоротливої активності міометрія матки, а з іншого — активацією захисних процесів в організмі.

Вперше показано, що внутрішньоочеревинне введення глутатіону у дозі 52 мг/кг двічі за годину до введення ліпополісахариду та через добу дає змогу попередити значний патогенний вплив останнього та суттєво зменшити окситоциніндуковану скоротливу активність міометрія матки через зменшення у тканині матки експресії окситоцинових рецепторів. Амплітуда і частота скорочень, а також базальний тонус у цих щурів відновлювалися до контрольних значень. Глутатіон нормалізував експресію окситоцинових рецепторів, антиоксидантних та H₂S-синтезуючих ферментів, показники окисного стресу та активність NO-синтаз.

З іншого боку, активація флокаліном у міометрії матки K_{ATФ}-каналів значно зменшувала окситоциніндуковану скоротливу активність вже на тлі розвинутої ліпополісахаридіндукованої експериментальної ендотоксемії. Вперше показано, що фармакологічний активатор K_{ATФ}-каналів флокалін дозозалежно зменшував підвищену окситоцином скоротливу активність міометрія матки у щурів з експериментальною ендотоксемією, зокрема, приріст амплітуди окситоциніндукованих скорочень при додаванні флокаліну у концентрації 10 мкмоль/л зменшувався на 122%, частота скорочень – на 47%, а приріст базального тону – на 53%.

Отримані під час виконання дисертаційної роботи експериментальні результати та їх теоретичне обґрунтування щодо запобігання та зменшення патогенетичного впливу ліпополісахариду на репродуктивну функцію щурів мають важливе як практичне, так і теоретичне значення. Викладені в дисертаційній роботі результати досліджень свідчать про можливе застосування антиоксиданта глутатіону та активації K_{ATФ}-каналів при ендотоксемії для попередження порушень репродуктивної функції тварин та створення нових підходів для їх застосування в терапевтичних цілях. Важливим фактором цього є природний механізм підтримання фізіологічної функції матки та її захисту від пошкоджуючого впливу ендотоксинів, оскільки як глутатіон, так і K_{ATФ}-канали сарколемальних і мітохондріальних мембран є ендогенними механізмами захисту та регуляції гомеостазу. Теоретичне значення результатів дослідження полягає у використанні отриманих під час виконання дисертаційної роботи

результатів для подальших наукових досліджень та введенні нового матеріалу в освітній процес, зокрема, у спецкурсах та лекціях для навчання студентів відповідного профілю.

Ключові слова: міометрій; гладкі м'язи; щури; скорочення; запалення; оксидативний стрес; KIR-канал; плазматична мембрана; експресія; мРНК; мітохондріальна дисфункція; NO; ліпополісахарид; окситоцин; глутатіон.

SUMMARY

Strutynskyi V. R. Sensitivity of the uterine myometrium to oxytocin during experimental endotoxemia in rats. – Qualifying scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 09 "Biology" in the speciality 091 "Biology". – O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv, 2026.

Ensuring the physiological function of the mammalian uterus is critical for maintaining the organism's reproductive capacity, an important part of which is the spontaneous contractile activity of myometrial smooth muscle cells (SMCs). Disruption of reproductive function in women is an important and urgent medical and biological problem. One of the inducers of uterine dysfunction is the structural components of the bacterial wall, in particular, lipopolysaccharides from gram-negative bacteria, which significantly inhibit reproductive function in animals. Innate immune receptors (Toll-like receptors) and transient receptor potential (TRP) channels recognise lipopolysaccharide and trigger an inflammatory response. The production of cytokines and chemokines accompanies inflammation and causes leukocyte infiltration into uterine and placental tissues. This can trigger premature birth and implantation disorders. Increased oxidative stress, mitochondrial dysfunction, changes in protein and receptor expression, and disruption of metabolic signalling during

lipopolysaccharide-induced inflammation complicate uterine functioning and significantly impair mammalian reproductive function. Important for maintaining the latter is the physiological contractile ability of the uterus, which is regulated by oxytocin. Lipopolysaccharide alters metabolic signalling pathways associated with oxytocin receptor activation, affecting uterine contractility. The increase in myometrial sensitivity to oxytocin likely depends on the density of its receptors on the membranes of SMCs. To date, changes in oxytocin-dependent contractile activity of the uterine myometrium under lipopolysaccharide-induced experimental endotoxemia, methods for preventing and correcting its disorders have not been sufficiently studied. Studying how sensitive the uterine myometrium is to oxytocin under experimental endotoxemia can provide valuable insights into reproductive physiology and potential complications during pregnancy. The search for mechanisms to prevent and reduce the harmful effects of lipopolysaccharide on uterine function is an important and relevant area of research in modern physiology and medicine.

The work aimed to investigate the sensitivity of the rat uterine myometrium to oxytocin for contractile activity indicators and oxytocin receptor expression under lipopolysaccharide-induced experimental endotoxemia, and to assess the effectiveness of pharmacological approaches to preventing and correcting the identified disorders.

The work used physiological, molecular genetic, biochemical and statistical research methods. Physiological methods include studies of the functional state of the myometrium under various experimental conditions, using a device for strain gauge measurement of contraction-relaxation reactions of muscle preparations. Real-time polymerase chain reaction (PCR) and reverse transcription were used to determine gene expression. Biochemical methods were used to determine markers of oxidative stress and lipid peroxidation, indicators of nitric oxide synthesis (activity of endothelial and inducible NO synthases), and the content of hydrogen sulfide in uterine myometrial tissues and blood plasma of rats. Our studies used a model of lipopolysaccharide-induced immune-mediated injury, which was developed and patented in the Department of Immunophysiology of the O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of the NAS of Ukraine, and applied by us to rats (Shepel et al., 2018; Patent of Ukraine

No. 139296 dated 12/26/2019). The obtained results were processed using the variational statistics method of the computer programs "Excel 2000" and Origin 7.0.

In *ex vivo* experiments, it was shown that lipopolysaccharide increased the amplitude and duration of spontaneous contractions by 13 and 23% at its concentrations of 1.0 and 0.5 $\mu\text{g/ml}$, respectively, as well as the duration of the contraction-pause cycle, the area under the contraction curve, and reduced the frequency of contractions with a maximum effect by 9.6%. Changes in the myometrium maximum rate of contraction and relaxation ($+dF/dt_{\text{max}}$ and $-dF/dt_{\text{max}}$) under the action of lipopolysaccharide indicate violation of these processes.

It was shown for the first time that lipopolysaccharide, when injected intraperitoneally into rats at a dose of 3 mg/kg the day before the experiment, significantly enhanced the oxytocin-induced contraction amplitude and basal tone of isolated uterine myometrial strips by 3.1 and 2.3 times, respectively, which was associated with a 4.6-fold increase in the mRNA expression levels of oxytocin receptors (*OXTR*) in uterine tissue. At this dose of lipopolysaccharide administered to rats, oxidative stress was significantly intensified, as evidenced by an increase in markers of reactive oxygen species and lipid peroxidation products in uterine tissue, as well as in blood plasma, due to the development of mitochondrial dysfunction, among other things. In particular, in uterine tissue, the rates of formation of superoxide and hydroxyl radicals increased by 2.5 and 5.6 times, respectively; the content of hydrogen peroxide increased by 2.5 times; and the contents of diene conjugates and malondialdehyde increased by 4 and 2.6 times, respectively. At the same time, in uterine tissue, the activity of inducible NO synthase significantly increased by 3.7 times and, conversely, the constitutive synthesis of nitric oxide decreased by 2.5 times. It was shown for the first time that in this experimental model, lipopolysaccharide led to a 3.3-fold increase in the mRNA expression of genes encoding the antioxidant enzyme catalase in rat uterine tissue, and also increased the expression of the H₂S-synthesising enzyme cystathionine- γ -lyase by 5.8 times and the Kir6.1 subunit of ATP-sensitive potassium channels (K_{ATP} channels) by 2.4 times. At the same time, the expression of the antioxidant enzyme superoxide dismutase was reduced. This study showed for the first time that, in this experimental model, lipopolysaccharide led to a 3.3-fold increase

in the mRNA expression of genes encoding the antioxidant enzyme catalase in rat uterine tissue, and also increased the expression of the H₂S-synthesising enzyme cystathionine- γ -lyase by 5.8-fold and the Kir6.1 subunit of K_{ATP} channels by 2.4-fold. Thus, the early stages of lipopolysaccharide action are characterized, on the one hand, by the development of oxidative stress with a significant impact on mitochondrial function and an increase in the contractile activity of the uterine myometrium associated with an increase in oxytocin receptor expression, and on the other hand, by the activation of some protective processes in the body.

It has been shown for the first time that intraperitoneal administration of glutathione at a dose of 52 mg/kg twice an hour before and a day after the administration of lipopolysaccharide prevents the significant pathogenic effect of the latter and significantly reduces oxytocin-induced contractile activity of the uterine myometrium due to a decrease in the expression of oxytocin receptors in the uterine tissue. The amplitude and frequency of contractions, as well as basal tone in these rats, were restored to control values. Glutathione normalised the expression of oxytocin receptors, antioxidant and H₂S-synthesising enzymes, oxidative stress indicators, and NO synthase activity.

On the other hand, activation of K_{ATP} channels in the uterine myometrium by floccalin significantly reduced oxytocin-induced contractile activity even against the background of lipopolysaccharide-induced experimental endotoxemia. It was shown for the first time that the K_{ATP} channel pharmacological opener, floccalin, dose-dependently reduced the oxytocin-induced uterine myometrium contractile activity in rats with experimental endotoxemia. In particular, the increase in the amplitude of oxytocin-induced contractions when floccalin was added at concentrations of 10 μ mol/l was reduced by 122%, the frequency of contractions by 47%, and the increase in basal tone by 53%.

The experimental results obtained during the dissertation work and their theoretical justification of the prevention and reduction of the pathogenic effects of lipopolysaccharide on the reproductive function of rats have important practical and theoretical significance. The research results presented in the dissertation suggest that the antioxidant glutathione and K_{ATP} channel opening could be used to prevent

reproductive disorders in animals with experimental endotoxemia and create new therapeutic approaches. An important factor in this is the natural mechanism for maintaining the uterus's physiological function and protection, since glutathione and K_{ATP} channels are endogenous mechanisms that protect and regulate homeostasis. The theoretical significance of the research results lies in using the results obtained during the dissertation for further scientific research and introducing new material into the educational process, particularly special courses and lectures for students with a relevant profile.

Key words: myometrium; smooth muscle; rats; contractions; inflammation; oxidative stress; KIR channel; plasma membrane; expression; mRNA; mitochondrial dysfunction; NO; lipopolysaccharide; oxytocin; glutathione.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. **Струтинський ВР**, Дячук ОІ, Янчій РІ. Вплив глутатіону на окситоциніндуковану скоротливу активність і базальний тонус міометрія матки щурів за умов ендотоксемії. *Фізіол журн.* 2025; 71(2):77-83. doi: <https://doi.org/10.15407/fz71.02.077> Q4, SCOPUS. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку. Внески співавторів: Янчій Р.І. – керівництво дисертаційною роботою, Дячук О.І. – консультування).*
2. **Струтинський ВР**, Янчій РІ. Вплив ліпополісахариду на скоротливу функцію міометрія матки щурів. *Фізіол журн.* 2025; 71(4):38-45. doi: <https://doi.org/10.15407/fz71.04.038> Q4, SCOPUS. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку. Внески співавторів: Янчій Р.І. – керівництво дисертаційною роботою).*
3. **Струтинський ВР**, Дячук ОІ, Янчій РІ. Активація АТФ-чутливих калієвих

- каналів пригнічує надмірну окситоциніндуковану скоротливу активність міометрія матки щурів за умов ендотоксемії. *Фізіол журн.* 2025; 71(5):31-37. <https://doi.org/10.15407/fz71.05.031> Q4, SCOPUS. (Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку. Внески співавторів: Янчій Р.І. – керівництво дисертаційною роботою, Дячук О.І. – консультування).
4. **Струтинський ВР**, Мись ЛА, Янчій РІ. Вплив глутатіону на регуляторні та захисні сигнальні шляхи при ендотоксемії у матці щурів. *Фізіол журн.* 2026; 72(1):53-60. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz72.01.053> Q4, SCOPUS. (Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку. Внески співавторів: Янчій Р.І. – керівництво дисертаційною роботою, Мись Л.А. – консультування та допомога в проведенні експериментів).
5. **Струтинський ВР**, Коркач ЮП, Мись ЛА, Янчій РІ.. Окисно-відновний баланс у матці та плазмі крові щурів при ендотоксемії та дії екзогенного глутатіону. *Фізіол журн.* 2026; 72(2):40-48. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz72.02.040> Q4, SCOPUS. (Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку. Янчій Р.І. – керівництво дисертаційною роботою, Коркач Ю.П. і Мись Л.А. – консультування та допомога в проведенні експериментів).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. **Струтинський В. Р.**, Янчій Р. І. Вплив ліпополісахариду на скоротливу функцію міометрія матки. Матеріали ІХ Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охорона здоров'я України», присвяченого 100-річчю української патологічної фізіології. Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р., 2024: 201–203.
2. **Струтинський В. Р.**, Янчій Р. І. Вплив ліпополісахариду на спонтанну

скоротливу активність ізольованих смужок матки. Матеріали науково-практичної конференції «XXIII читання ім. В.В. Підвисоцького», м. Одеса, 16-17 травня 2024 року.

3. **Струтинський В. Р.,** Струтинський Р. Б., Янчій Р. І. Вплив активації K_{ATP} каналів на окситоциніндуковану скоротливу активність міометрія матки щурів із експериментальною ендотоксемією. Тези доповідей Міжнародної конференції з нейронаук та Наукових читань, присвячених вісцеральній фізіології та патофізіології «NeuroConference 2024», 19-21 листопада 2024 року на базі Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. *Fiziol Zh.* 2024; 70(5, Supl.): 104-105. Q4, SCOPUS
4. **Струтинський В. Р.,** Янчій Р. І. Глутатіон попереджує ліпополісахаридіндуковане підвищення експресії окситоцинових рецепторів та ефектів окситоцину на скоротливу функцію міометрія матки. XXIV–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції (15-16 травня 2025 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2025. – 220 с.
5. **Струтинський В. Р.,** Дячук О. І., Мись Л. А., Янчій Р. І. Скоротлива активність міометрія матки щурів за умов ендотоксемії модулюється експресією окситоцинових рецепторів та АТФ-чутливими калієвими каналами. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «БАБЕНКІВСЬКІ ЧИТАННЯ: ВІД МОЛЕКУЛЯРНИХ МЕХАНІЗМІВ ДО ТЕРАПІЇ», присвяченої пам'яті академіка Георгія Овксентійовича Бабенка, 80-річчю Івано-Франківського національного медичного університету, м. Івано-Франківськ, 30-31 жовтня 2025: 167-168.