

Окисно-відновний баланс у тканині матки та плазмі крові щурів при ендотоксемії та дії екзогенного глутатіону

В.Р. Струтинський, Ю.П. Коркач, Л.А. Мись, Р.І. Янчій

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: strutvlad@gmail.com

Ліпополісахарид спричиняє системне запалення та окисний стрес, зміну метаболізму та експресії генів, порушує функцію багатьох органів, включаючи матку, та пригнічує репродуктивну здатність тварин. Через підтримання окисно-відновного гомеостазу глутатіон зменшує патогенний вплив ендотоксину. Водночас ліпополісахарид пригнічує ендогенний синтез глутатіону і, таким чином, може посилювати пошкодження. Метою нашої роботи було визначення впливу екзогенного глутатіону на показники окисного стресу та перекисного окиснення ліпідів, активність NO-синтази та вміст сірководню у тканинах матки та плазмі крові при ліпополісахаридіндукованій ендотоксемії у щурів. Ліпополісахарид вводили внутрішньоочеревинно у дозі 3 мг/кг за добу до виведення тварин із експерименту, глутатіон – 52 мг/кг двічі: за годину до ін'єкції ліпополісахариду, а також через добу. Показано, що при ендотоксемії у тканинах матки та плазмі крові значно посилювався окисний стрес (швидкість утворення супероксид-аніона та гідроксильного радикала, вміст пероксиду водню, малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів). Також спостерігалось підвищення активності індукцйбельної NO-синтази, що може ініціювати утворення дуже токсичного пероксинітриду. При цьому зменшувався вміст та активність таких важливих для нормальної функції органів та систем метаболічних регуляторів, як H_2S та конститутивна NO-синтаза. Введення тваринам глутатіону запобігало цим патогенним змінам, зменшуючи окисний стрес та індукцйбельний синтез оксиду азоту, і при цьому підвищуючи протективну активність конститутивної NOS. При цьому вміст H_2S у плазмі крові тварин з ендотоксемією при введенні антиоксиданта збільшувався майже втричі, перевищуючи його концентрацію у контрольних тварин. Отже, глутатіон підтримує окисно-відновний гомеостаз та оптимізує захисні системи організму, зокрема синтез оксиду азоту та сірководню, а також адаптаційні можливості за умов ендотоксемії, та є важливим протекторним фактором при запаленні.

Ключові слова: міометрій; гладкі м'язи; щури; запалення; оксидативний стрес; окситоциновий рецептор; KIR-канал; плазматична мембрана; експресія; NO; глутатіон; сірководень.

ВСТУП

Ліпополісахарид є основним компонентом зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій, який вивільняється внаслідок їх загибелі. Першою ланкою захисту від бактеріальної інфільтрації є вроджений імунітет. Для виявлення патогенів імунні клітини мають рецептори розпізнавання патерну (PRR), до яких відносяться рецептори вродженого імунітету (TLR4) і канали тимчасового рецепторного потенціалу за-

пускають запальну відповідь. Ця реакція супроводжується продукцією цитокінів, хемокінів і спричиняє інфільтрацію лейкоцитів у тканини органів, що може спровокувати їх дисфункцію і патологічні процеси. Ліпополісахарид є потужним поширеним в природі ендотоксином, котрий викликає системне запалення та окисний стрес, зміну метаболізму, експресії білків і рецепторів, продукції гормонів, гомеостазу іонів кальцію та скоротливої активності м'язів тощо [1–4]. Це може порушувати

функцію багатьох органів, включаючи матку, та пригнічувати репродуктивну здатність тварин. Одним із механізмів ендогенного захисту є трипептид глутатіон, що складається з глутамілу, цистеїну і гліцину, та може перебувати у відновленому (GSH) і окисненому (дисульфід глутатіону, GSSG) стані [5]. У відновленій формі він є донором електронів та має потужні антиоксидантні властивості, відіграє вирішальну роль у всіх основних фізіологічних процесах, забезпечуючи антиоксидантний захист через клітинні окисно-відновні реакції. Його участь у найважливіших фізіологічних процесах, таких як підтримання окисно-відновного балансу та зменшення окисного стресу, відбувається завдяки здатності інактивувати реактивні форми кисню, азоту та сірки [5, 6]. Глутатіон підтримує ефективне функціонування білкових систем, особливо мітохондріального ланцюга транспорту електронів, активності АТФази, іонних каналів, транспортерів, бере участь у регуляції метаболічної детоксикації, експресії білків, функції імунної системи, апоптозу та клітинного старіння [5–9]. Водночас введення ліпополісахариду знижує вміст глутатіону і, таким чином, може посилювати ліпополісахаридіндуковані пошкодження [10].

Метою нашої роботи було визначення впливу екзогенного глутатіону на показники окисного стресу та перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність NO-синтаз та вміст сірководню у тканині матки та плазмі крові щурів при ліпополісахаридіндукованій ендотоксемії.

МЕТОДИКА

В експериментах використовували статевозрілих самок щурів лінії Вістар ($n = 21$) масою 200–250 г, віком 6–7 міс. Тварин утримували у віварії Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України в середовищі з нейтральною температурою

($22 \pm 2^\circ\text{C}$) та природним циклом день–ніч, вільним доступом до води та регулярним годуванням. Усі маніпуляції з тваринами проведено відповідно до Міжнародних принципів Європейської конвенції (Страсбург, 1986), Директиви Європейського Парламенту та Ради 2010/63/EU про захист тварин, які використовуються в наукових цілях (від 22 вересня 2010 р.), та схвалені Комітетом з біомедичної етики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (протокол № 3/23 від 1.11.2023 р.). У наших дослідженнях використано модель ліпополісахаридіндукованого імунноопосередкованого ушкодження, розроблену і запатентовану у відділі імунфізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, модифіковану нами для щурів [11, 12]. Тварин рандомізовано розподілили на три групи (по 7 щурів у кожній): 1-ша – контрольна, тваринам 2-ї групи вводили ліпополісахарид, 3-ї – глутатіон і ліпополісахарид. Ендотоксемию відтворювали внутрішньоочеревинним введенням ліпополісахариду («Sigma-Aldrich», США) у дозі 3 мг/кг за добу до виведення тварин з експерименту. Ін'єкцію глутатіону (Neraval, «Валартін-Фарма», Італія/Україна) робили внутрішньоочеревинно у дозі 52 мг/кг двічі: за годину до введення ліпополісахариду та через добу.

У гомогенатах матки та плазмі крові вимірювали біохімічні маркери оксидативного стресу: швидкість утворення супероксид-аніона ($\bullet\text{O}_2^-$) та гідроксильного радикала ($\bullet\text{OH}$), а також пули перекису водню (H_2O_2). Методи визначення біохімічних маркерів описано раніше [13]. Для оцінки утворення радикала супероксид-аніона використовували реакцію відновлення цитохрому *c* зі зміною поглинання при 550 нм після 30-хвилинної інкубації при 37°C . Кількість супероксиду визначали за допомогою молярного коефіцієнта поглинання $28\,000\text{ моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$. Швидкість генерації $\bullet\text{OH}$ визначали за окисненням дезоксирибози. Метод визначення H_2O_2

базувався на непрямій реєстрації його споживання в процесі окиснення йодиду (I^-) до трийодиду (I_3^-) за наявності надлишку лактопероксидази. Утворення I_3^- реєстрували спектрофотометрично при 353 нм, а його кількість визначали за допомогою молярного коефіцієнта поглинання 26 000 моль⁻¹·см⁻¹. Маркерами ПОЛ були пули дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіда (МДА). Вміст ДК визначали спектрофотометрично по поглинанню при 232 нм гептанових екстрактів проб. Вимірювання концентрації МДА базувалося на його реакції з 2'-тіобарбітуровою кислотою та утворенні триметинового комплексу у вигляді червоно-рожевого похідного (TBARS), який реєстрували спектрофотометрично при 532 нм. Активність NOS визначали методами, які адаптовані для спектрофотометричного вимірювання одного з продуктів реакції – L-цитруліну, а конститутивної NOS розраховували віднімаючи значення активності індукцйбельної NOS від загальної активності NOS. Для визначення вмісту H₂S до 0,5 мл 1%-го розчину ацетату цинку (Zn(CH₃COO)₂) додавали аліквоти проб та протягом 10 хв інкубували при температурі 37,5°C, а потім 0,5 мл 20 ммоль/л N, N-DPD (диметил-п-фенілендіамін) і 0,5 мл 30 ммоль/л розчину FeCl₃. Отриману суміш протягом 10 хв інкубували в темному (t = 4°C) місці. Після інкубації до суміші додавали 1 мл 10%-ї трихлороцтової кислоти і 5 хв центрифугували при 1,5 тис. об/хв. Оптичну щільність надосадової рідини вимірювали фотоелектроколориметрично при λ = 670 нм. Вміст H₂S розраховували на основі калібрувальної кривої NaHS. Вміст білка у зразках гомогенатів тканини матки визначали методом Лоурі.

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики комп'ютерних програм «Excel 2000» і Origin 7.0 («Microcall Inc.», США). Тест Шапіро-Уїлка використовували для аналізу нормальності розподілу. Порівняння між групами проводили однобічним дисперсійним аналізом one-way ANOVA з

допоміжним тестом Тьюкі HSD. Значення P < 0,05 розглядали як достовірні. Результати виражали M ± SEM.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У наших експериментах при ліпополісахаридіндукованій ендотоксемії у матці відбуваються процеси, що супроводжуються підвищенням показників окисного стресу та зменшенням захисних можливостей організму, що пов'язані з такими важливими для нормальної функції регуляторів метаболізму, як оксид азоту та сірководень. Як видно із рис. 1, біохімічні показники, що характеризують інтенсивність вільнорадикального окиснення, синтез сірководню та активність NOS у тканині матки щурів значно змінювалися при введенні ліпополісахариду. У них суттєво підвищувалися значення основних маркерів окисного стресу порівняно з контрольними тваринами. Зокрема, швидкість утворення $^{\bullet}O_2^-$ у тканині матки збільшувалася у 2,51 раза, вміст H₂O₂ – у 2,46 раза, швидкість генерації $^{\bullet}OH$ — у 5,65 раза, вміст МДА, як кінцевого продукту пероксидного окиснення ліпідів – у 2,61 раза, а ДК, як проміжних продуктів ПОЛ – у 4,03 раза (у всіх випадках P < 0,05, див. рис. 1–3).

Водночас у тварин з ліпополісахаридіндукованою ендотоксемією відбувався перерозподіл активності cNOS і iNOS (див. рис. 1, 4). У щурів із запальними процесами значно підвищувалася у 3,72 раза (P < 0,05) активність iNOS та, навпаки, зменшувалася у 2,45 раза (P < 0,05) активність cNOS. Відомо, що значне зростання вмісту оксиду азоту внаслідок підвищення активності iNOS разом з підвищенням в умовах оксидативного стресу $^{\bullet}O_2^-$ створює передумови їх взаємодії та утворення дуже токсичного пероксинітриду. Отже, значне збільшення в наших експериментах утворення супероксиду та одночасне збільшення активності iNOS у тварин з ендотоксемією (див. рис. 1, 2, а, 4, а) сприяє утворенню пероксинітриду та ще

ум. од.

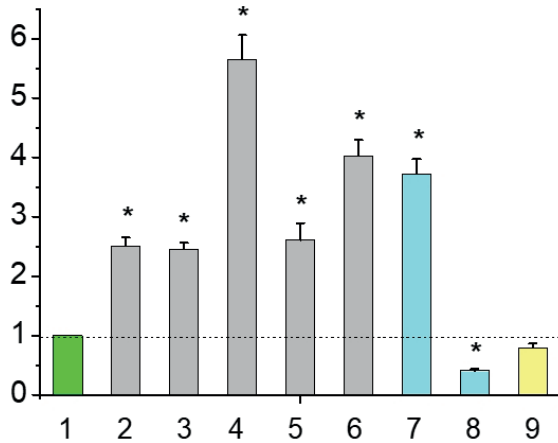


Рис. 1. Нормалізовані значення маркерів окисного стресу та перекисного окиснення ліпідів, активності NO-синтази та вмісту сірководню у тканині матки самиць щурів при ліпополісахаридіндукованої ендотоксемії: 1 – контроль (показники у контрольних тварин умовно прийняті за одиницю); подальші значення – показники у тварин з ендотоксемією: 2 – швидкість утворення супероксид-аніона; 3 – вміст пероксиду водню; 4 – швидкість генерації гідроксильного радикала; 5 – вміст малонового діальдегіда; 6 – вміст дієнових кон'югатів; 7 – активність індукційної NO-синтази; 8 – активність конститутивної NO-синтази; 9 – вміст сірководню. * $P < 0,05$ порівняно з контролем

більшому пошкодженню тканини матки та її дисфункції. В умовах ендотоксемії значно пригнічувалося утворення оксиду азоту протективною cNOS.

Щодо вмісту у тканині матки при ендотоксемії такого важливого ендогенного метаболічного регулятора, як H_2S , ми отримали тенденцію до його зменшення на 19,78% (див. рис. 1, 4). Це були дещо несподівані результати, оскільки відомо про підвищення експресії H_2S -синтезуючих ферментів, зокрема цистатіонін- γ -ліази, при запальних процесах [14]. Значне, майже у 6 разів, збільшення експресії мРНК генів, що кодують цистатіонін- γ -ліазу та у 2,5 раза – 3-меркаптопіруватсульфуртрансферази (3-МСТ) у тканині матки самиць щурів при ендотоксемії за таких самих умов експерименту було описано нами раніше [1]. H_2S є фізіологічним медіатором, який

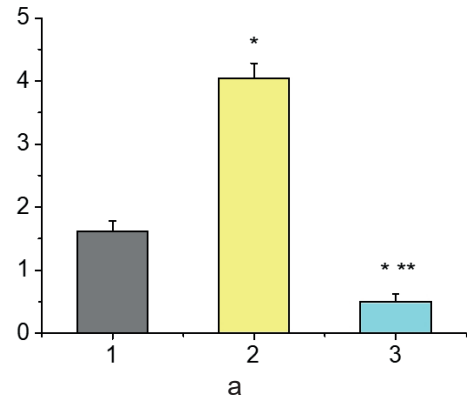
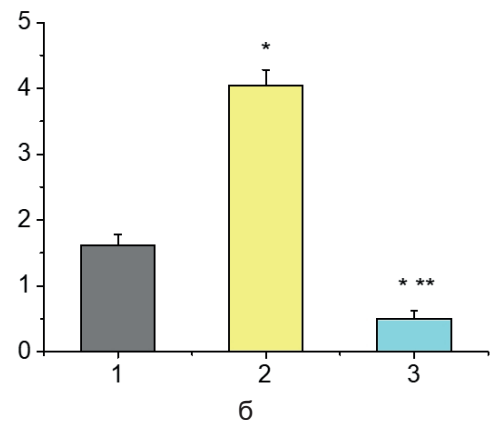
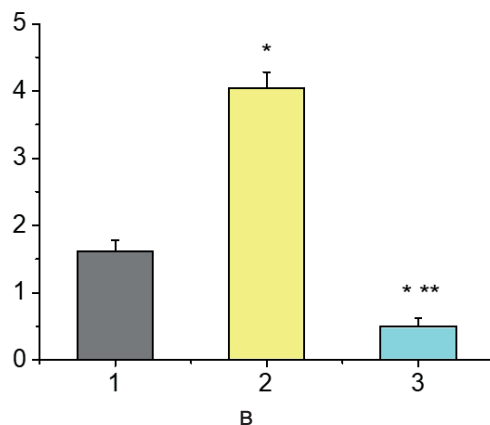
нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білканмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білканмоль·хв⁻¹·мг⁻¹ білка

Рис. 2. Вплив глутатіону на показники окисного стресу у тканині матки самиць щурів при ендотоксемії: швидкість утворення супероксид-аніона (а) та гідроксильного радикала (б), вміст пероксиду водню (в): 1 – контроль; 2 – дія ліпополісахариду; 3 – дія ліпополісахариду та глутатіону. * $P < 0,05$ порівняно з контролем, *** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями у тварин, які отримували лише ліпополісахарид

бере участь у регуляції нервової, серцево-судинної, ниркової та шлунково-кишкової систем, а також модулює вазодилатацію, апоптоз та ангиогенез, має антизапальні та антиоксидантні властивості [15, 16]. Він синтезується з L-цистеїну та L-гомоцистеїну цистатіонін- γ -ліазою, цистатіонін- β -синтазою та цистеїнамінотрансферазою разом з 3-МСТ. Вірогідно зменшення вмісту H_2S у тканині матки при ендотоксемії можна пояснити його значною утилізацією для знешкодження активних форм кисню та азоту.

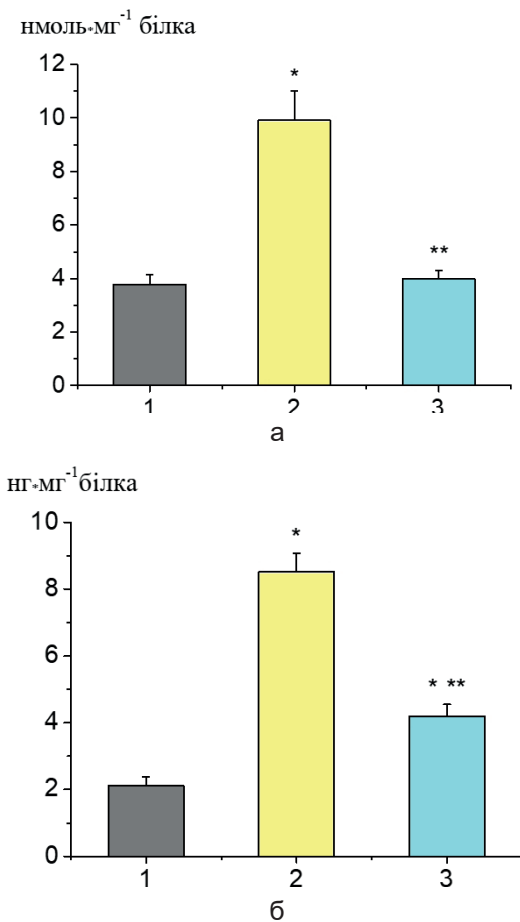


Рис. 3. Вплив глутатіону на показники перекисного окиснення ліпідів у тканині матки самиць шурів при ендотоксемії: вміст малонового діальдегіду (а) та дієнових кон'югатів (б): 1 – контроль; 2 – дія ліпополісахариду; 3 – дія ліпополісахариду та глутатіону. * $P < 0,05$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями у тварин, які отримували лише ліпополісахарид

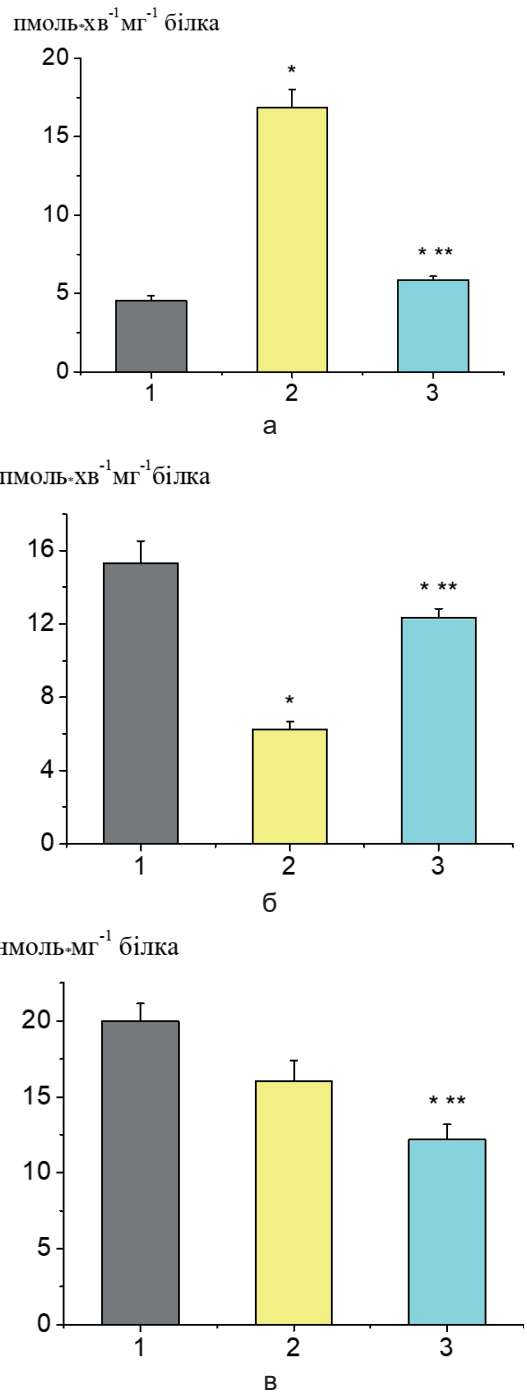


Рис. 4. Вплив глутатіону на активність індукційної (а) і конститутивної (б) NO-синтази та вміст сірководню (в) у тканині матки самиць шурів при ендотоксемії: 1 – контроль; 2 – дія ліпополісахариду; 3 – дія ліпополісахариду та глутатіону. * $P < 0,05$ порівняно з контролем, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями у тварин, які отримували лише ліпополісахарид

Показники окисного стресу, ПОЛ, активності NO-синтаз та вмісту сірководню у плазмі крові при дії ліпополісахариду та глутатіону (M ± m, n=7)

Показник	Контроль	Ліпополісахарид	Глутатіон і ліпополісахарид
Супероксидний радикал, нмоль·хв ⁻¹ мг ⁻¹ білка	2,9±0,18	5,21±0,04*	4,01±0,17**
Пероксид водню, пмоль·мг ⁻¹ білка	4,17±0,16	10,31±0,57*	5,36±0,21**
Гідроксильний радикал, нмоль·хв ⁻¹ мг ⁻¹ білка	1,12±0,01	2,31±0,04*	1,13±0,05**
Малоновий діальдегід, нмоль·мг ⁻¹ білка	1,35±0,05	2,87±0,21*	1,55±0,23**
Дієнові кон'югати, нг·мг ⁻¹ білка	1,89±0,2	4,91±0,04*	1,39±0,08*.*
NO-синтаза, пмоль·хв ⁻¹ мг ⁻¹ білка			
індуцибельна	2,27±0,05	9,19±0,33*	5,16±0,26*.*
коститутивна	13,65±1,28	8,04±0,13*	10,62±0,45*.*
Сірководень, нмоль·мг ⁻¹ білка	2,11±0,10	0,95±0,01*	2,74±0,11*.*

*P < 0,05 порівняно з контролем, **P < 0,05 порівняно зі значеннями у тварин, які отримували лише ліпополісахарид.

На тлі введення тваринам глутатіону у тканині матки достовірно знижувався вміст більшості маркерів окисного стресу. Зокрема, вміст H₂O₂ і МДА у тварин, яким разом з ліпополісахаридом вводили також глутатіон, зменшувався до фізіологічних значень (див. рис. 2, в, 3, а). Швидкість утворення *ОН у тканині матки таких тварин – у 1,65 раза (P < 0,05) порівняно з тваринами без введення цього антиоксиданта (див. рис. 2, б), а швидкість генерації супероксиду – у 8 разів (P < 0,05, див. рис. 1, а). Швидкість утворення *O₂⁻ у цих тварин була навіть у 3,22 раза меншою (P < 0,05), ніж у контрольних тварин (див. рис. 2, а). Вдвічі зменшувався (P < 0,05) у матці тварин після введення глутатіону вміст ДК (див. рис. 3б). Глутатіон відновлював у тканинах матки баланс активності cNOS і iNOS (див. рис. 4, а, б): активність iNOS була зменшеною у 2,89 раза (P < 0,05), а cNOS, навпаки, була збільшеною вдвічі (P < 0,05). Це вказує на позитивний, захисний вплив глутатіону в умовах системного запалення. Неочікуваним

при введенні цього антиоксиданта виявилось зменшення на 24% (P < 0,05) вмісту у тканині матки H₂S (див. рис. 4, в).

Біохімічні маркери оксидативного стресу та ПОЛ у плазмі крові змінювалися подібно до значень у тканині матки при введенні ліпополісахариду, вони значно збільшувалися щодо контролю (таблиця). Зокрема, швидкість утворення *O₂⁻ у плазмі крові при ендотоксемії збільшувалася у 1,8 раза (P < 0,05), *ОН – вдвічі (P < 0,05), а вміст H₂O₂ – у 2,47 раза (P < 0,05). Вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ ДК і МДА збільшувалися у 2,60 (P < 0,05) та 2,13 раза (P < 0,05) відповідно. Подібно до отриманих результатів у тканині матки, у плазмі крові тварин з ліпополісахаридіндукованою ендотоксемією також відбувався перерозподіл активності iNOS і cNOS (див. таблицю). У щурів із запаленням значно збільшувалася у 4,05 раза (P < 0,05) активність iNOS та, навпаки, зменшувалася у 1,70 раза (P < 0,05) cNOS. Вміст сірководню у них також зменшувався у 2,22 раза (P < 0,05) .

При визначенні біохімічних маркерів у плазмі крові тварин з ендотоксемією, яким вводили глутатіон, було виявлено значне зменшення показників оксидативного стресу та ПОЛ (див. таблицю). Вміст H_2O_2 , ДК і МДА у цих тварин були меншими у 1,92, 3,53 і 1,85 рази ($P < 0,05$ для всіх), а швидкість утворення $\cdot O_2^-$ і $\cdot OH$ були меншими на 23% і вдвічі ($P < 0,05$ для обох) відповідно. Активність iNOS була меншою на 43,85% ($P < 0,05$). Водночас такі захисні ендогенні механізми, як активність cNOS і вміст H_2S , навпаки, були збільшені на 32,09% і майже у тричі ($P < 0,05$ для обох) відповідно (див. таблицю). Отримані результати свідчать про захисну роль глутатіону при патологічній дії ліпополісахариду. В експериментах Sun та співавт. [17] глутатіон гальмував продукцію NO у сироватці крові, вірогідно внаслідок зниження вмісту iNOS, а також зменшував експресію циклооксигенази-2 (COX-2) та фосфорилування p38 у стимульованих ліпополісахаридом перитонеальних макрофагах щурів. При цьому він пригнічував ліпополісахаридіндуковану системну запальну реакцію, попереджував гістологічні пошкодження легень і значно знижував смертність щурів [17]. В інших експериментах на моделі передчасних пологів у мишей, де введення ліпополісахариду викликало пологи протягом 17 год без виживання мишенят; одночасне з ендотоксином введення глутатіону відтермінувало початок пологів до 94 год і запобігло внутрішньоутробному дистресу плода, що дало можливість майже половині мишенят вижити [18].

Отже, наші результати показали значне збільшення показників оксидативного стресу, ПОЛ та перерозподіл синтезу оксиду азоту iNOS і cNOS у тканині матки самиць щурів за умов ліпополісахаридіндукованої ендотоксемії. Введення щурам екзогенного глутатіону значним чином запобігало цим патогенним змінам, чому могло сприяти не лише його антиоксидантна дія, але загальний вплив на регуляторні та захисні сигнальні

шляхи, зокрема на K_{ATP} -канали, системи оксиду азоту та сірководню тощо [8, 19]. Зокрема, добре відомо про протективні та антиоксидантні властивості не лише глутатіону, але і K_{ATP} -каналів та сірководню [20–22]. Більше того, введення тваринам екзогенного глутатіону підвищувало експресію субодиниць K_{ATP} -каналів Kir6.1, Kir6.2 і SUR1 у тканині серця та вміст H_2S у мітохондріях серця старих щурів, що може бути одним із сигнальних шляхів глутатіону щодо підвищення захисних можливостей [6, 8, 19]. Вірогідно, що корисним при патогенній дії ендотоксину можуть бути помірні фізичні тренування, що спонукають організм до запуску захисних і відновлювальних процесів, антиоксидантні механізми, включаючи значне підвищення синтезу ендогенного H_2S та експресії K_{ATP} -каналів, попереджують мітохондріальну дисфункцію та відкриття мітохондріальної пори [23, 24]. Водночас одним із антиоксидантних шляхів H_2S є підвищення вмісту ендогенного глутатіону та експресії K_{ATP} -каналів [8, 16]. При цьому сірководень і K_{ATP} -канали мають міорелаксуючі властивості на гладкі м'язи судин і міометрія матки, регулюючи її тонус під час перебігу вагітності та пологів [19, 25–27]. Отже, антиоксидантні властивості глутатіону та модуляція регуляторних та захисних сигнальних шляхів є важливим протекторним фактором в умовах системного запалення. Обмеженням досліджень представлених в цій статті є опис лише біохімічних результатів, що були отримані на моделі ліпополісахаридіндукованої ендотоксемії у самиць щурів, без даних, отриманих іншими методологічними підходами, які були опубліковані раніше [1, 3, 4, 26].

ВИСНОВКИ

Таким чином, при ліпополісахаридіндукованій ендотоксемії у тканині матки та плазмі крові значно збільшується вміст маркерів окисного стресу та патологічної за цих умов

активності iNOS і, навпаки, зменшується значення таких важливих для нормальної функції метаболічних та сигнальних регуляторів, як H₂S та активність cNOS. Введення тваринам глутатіону значним чином запобігало цим патогенним змінам, зменшуючи вміст маркерів окисного стресу та синтез оксиду азоту iNOS, і підвищуючи протективну активність cNOS. Отже, глутатіон підтримує окисно-відновний гомеостаз та оптимізує захисні системи організму, зокрема конститутивний синтез оксиду азоту та, можливо, сірководню, а також адаптаційні можливості, що свідчить про важливість його застосування при ендотоксемії для попередження порушень репродуктивної функції тварин.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

V.R. Strutynskiy, Y.P. Korkach, L.A. Mys, R.I. Yanchiy

REDOX BALANCE IN UTERINE TISSUE AND BLOOD PLASMA OF RATS DURING ENDOTOXEMIA AND THE ACTION OF EXOGENOUS GLUTATHIONE

Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv; e-mail: strutvlad@gmail.com

Lipopolysaccharide, as endotoxin, causes systemic inflammation and oxidative stress, alters metabolism and gene expression, disrupts the function of many organs, including the uterus, and depresses the reproductive capacity of animals. By maintaining redox homeostasis, glutathione reduces the pathogenic effects of endotoxin. However, lipopolysaccharide inhibits endogenous glutathione synthesis, which can potentially increase damage. Our work aimed to determine the impact of exogenous glutathione on markers of oxidative stress and lipid peroxidation, nitric oxide synthases (NOS) activity, and hydrogen sulfide content in uterine tissues and blood plasma of rats with lipopolysaccharide-induced endotoxemia. Lipopolysaccharide was administered intraperitoneally at a dose of 3 mg/kg one day before removing the animals from

the experiment. Glutathione was injected intraperitoneally at a dose of 52 mg/kg twice: one hour before lipopolysaccharide administration and one day later. It has been shown that during endotoxemia, markers of oxidative stress (the rate of formation of superoxide anion and hydroxyl radical, the content of hydrogen peroxide, malondialdehyde, and diene conjugates) significantly increased in uterine tissues and blood plasma. An increase in the activity of inducible NO synthase was also observed, which creates the prerequisites for the formation of highly toxic peroxy nitrite. At the same time, a decrease in the content and activity of such metabolic regulators important for the normal function of organs and systems, such as H₂S and constitutive NOS, was observed. The administration of glutathione to animals prevented these pathogenic changes, reducing markers of oxidative stress and the synthesis of nitric oxide by inducible NOS, and increasing the protective activity of constitutive NO synthase. At the same time, the content of H₂S in the blood plasma of animals with endotoxemia upon administration of this antioxidant increased almost threefold, exceeding its concentration in control animals. Thus, glutathione supports redox homeostasis and optimises the organism's protective and regulatory systems (in particular, nitric oxide and hydrogen sulfide) and adaptive capabilities in conditions of endotoxemia, and is an important protective factor in conditions of systemic inflammation.

Key words: myometrium; smooth muscle; rats; inflammation; oxidative stress; oxytocin receptor; KIR channel; plasma membrane; expression; NO; glutathione; hydrogen sulfide.

REFERENCES

1. Strutynskiy VR, Mys LA, Yanchiy RI. The effect of glutathione on regulatory and protective signaling pathways during endotoxemia in the rat uterus. *Fiziol Zh.* 2026;72(1):53-60. [Ukrainian].
2. Bidne KL, Dickson MJ, Ross JW, Baumgard LH, Keating AF. Disruption of female reproductive function by endotoxins. *Reproduction.* 2018 Apr;155(4):R169-R181. doi: 10.1530/REP-17-0406.
3. Strutynskiy VR, Diachuk OI, Yanchiy RI. The effect of glutathione on oxytocin-induced contractile activity and basal tone of the rat uterine myometrium under conditions of endotoxemia. *Fiziol Zh.* 2025;71(2):77-83. [Ukrainian]. doi:10.15407/fz71.02.077.
4. Strutynskiy VR, Yanchiy RI. Effect of lipopolysaccharide on the contractility of the uterine myometrium of rats *ex vivo*. *Fiziol Zh.* 2025;71(4):38-45. [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz71.04.038.
5. Gasmi A, Nasreen A, Lenchuk L, Lysiuk R, Peana M, Shapovalova N, et al. An update on glutathione's biosynthesis, metabolism, functions, and medicinal purposes. *Curr Med Chem.* 2024;31(29):4579-4601. doi: 10.2174/0109298673251025230919105818.
6. Strutynska N, Goshovska Y, Mys L, Strutynskiy R, Luchkova A, Fedichkina R, Okhai I, Korkach Y, Sagach

- V. Glutathione restores the mitochondrial redox status and improves the function of the cardiovascular system in old rats. *Front Physiol.* 2023 Jan 9;13:1093388. doi: 10.3389/fphys.2022.1093388.
7. Marí M, de Gregorio E, de Dios C, Roca-Agujetas V, Cucarull B, Tutusaus A, Morales A, Colell A. Mitochondrial glutathione: recent insights and role in disease. *Antioxidants (Basel).* 2020 Sep 24;9(10):909. doi: 10.3390/antiox9100909.
 8. Strutynskyi R, Strutynska N, Mys L, Goshovska Y, Korkach Y, Fedichkina R, Okhai I, Strutynskyi V, Sagach V. Glutathione upregulates the expression of katp channels and vasorelaxation responses and inhibits mptp opening and oxidative stress in the heart mitochondria of old rats. *Biomed Res Int.* 2023 May 24;2023:3562847. doi: 10.1155/2023/3562847.
 9. Martini H, Passos JF. Cellular senescence: all roads lead to mitochondria. *FEBS J.* 2023 Mar;290(5):1186-202. doi: 10.1111/febs.16361.
 10. Tomasi ML, Ryoo M, Yang H, Iglesias Ara A, Ko KS, Lu SC. Molecular mechanisms of lipopolysaccharide-mediated inhibition of glutathione synthesis in mice. *Free Radic Biol Med.* 2014 Mar;68:148-58. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.018.
 11. Shepel E, Grushka N, Makogon N, Sribna V, Pavlovych S, Yanchii R. Changes in DNA integrity and gene expression in ovarian follicular cells of lipopolysaccharide-treated female mice. *Pharmacol Rep.* 2018 Dec;70(6):1146-9. doi: 10.1016/j.pharep.2018.06.005.
 12. Method for modeling systemic endotoxemia in Albino mice. Patent of Ukraine No.139296 from December 26, 2019. [Ukrainian].
 13. Strutynska NA, Kotsiuruba AV, Budko AYU, Mys LA, Sagach VF. Mitochondrial dysfunction in the aging heart is accompanied by constitutive NO-synthases uncoupling on the background of oxidative and nitrosative stress. *Fiziol Zh.* 2016;62(2):3-11. [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz62.02.003.
 14. Cirino G, Szabo C, Papapetropoulos A. Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiol Rev.* 2023 Jan 1;103(1):31-276. doi: 10.1152/physrev.00028.2021.
 15. Mys L, Goshovska Y, Strutynska N, Fedichkina R, Korkach Y, Strutynskyi R, Sagach V. Pyridoxal-5-phosphate induced cardioprotection in aging associated with up-expression of cystathionine- γ -lyase, 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, and ATP-sensitive potassium channels. *Eur J Clin Invest.* 2022 Feb;52(2):e13683. doi: 10.1111/eci.13683.
 16. Corsello T, Komaravelli N, Casola A. Role of hydrogen sulfide in NRF₂- and sirtuin-dependent maintenance of cellular redox balance. *Antioxidants (Basel).* 2018; 7(10):129. doi: 10.3390/antiox7100129.
 17. Sun S, Zhang H, Xue B, Wu Y, Wang J, Yin Z, Luo L. Protective effect of glutathione against lipopolysaccharide-induced inflammation and mortality in rats. *Inflamm Res.* 2006 Nov;55(11):504-10. doi: 10.1007/s00011-006-6037-7.
 18. Hadi T, Bardou M, Mace G, Sicard P, Wendremaire M, Barrichon M, et al. Glutathione prevents preterm parturition and fetal death by targeting macrophage-induced reactive oxygen species production in the myometrium. *FASEB J.* 2015 Jun;29(6):2653-66. doi: 10.1096/fj.14-266783.
 19. Strutynskyi R, Strutynska N, Piven O, Mys L, Goshovska Y, Fedichkina R, Okhai I, Strutynskyi V, Dosenko V, Dobrzyn P, Sagach V. Upregulation of ATP-sensitive potassium channels as a potential mechanism of cardioprotection and vasorelaxation under the action of pyridoxal-5-phosphate in old rats. *J Cardiovascul Pharmacol Ther.* 2023 Jan-Dec; 28: 10742484231213175. doi: 10.1177/10742484231213175.
 20. Strutynskyi RB. Protective properties of opening ATP-sensitive potassium channels. *Fiziol Zh.* 2019;65(3):73-85 [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz65.03.073.
 21. Strutynskyi RB, Neshcheret OP, Tumanovs'ka LV, Rovenets' RA, Moïbenko OO. Cardioprotective effects of flokalin in experiments *in vivo*: influence on hemodynamic and myocardial lesions in ischemia-reperfusion. *Fiziol Zh.* 2009;55(5):9-16. [Ukrainian].
 22. Strutynskyi RB, Kotsiuruba AV, Neshcheret OP, Rovenets' RA, Moïbenko OO. The changes of metabolism in myocardium at ischemia-reperfusion and activating of the ATP-sensitive potassium channels. *Fiziol Zh.* 2012;58(1):13-26. [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz58.01.013.
 23. Strutynska N, Strutynskyi R, Mys L, Luchkova A, Korkach Y, Goshovska Y, Chorna S, Sagach V. Exercise restores endogenous H₂S synthesis and mitochondrial function in the heart of old rats. *Eur J Clin Invest.* 2022 Dec;52(12):e13829. doi: 10.1111/eci.13829.
 24. Strutynska NA. Modulation of expression of mitochondrial permeability transition pore components and ATP-sensitive potassium channels in the heart of old rats during exercise training. *Fiziol Zh.* 2025; 71(6): 103-11. [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz71.06.103.
 25. Xingji You, Zixi Chen, Huina Zhao · Chen Xu, Weina Liu, Qianqian Sun, Ping He, Hang Gu, Xin Ni. Endogenous hydrogen sulfide contributes to uterine quiescence during pregnancy. *Reproduction.* 2017 May;153(5):535-43. doi: 10.1530/REP-16-0549.
 26. Strutynskyi VR, Diachuk OI, Yanchiy RI. Activation of ATP-sensitive potassium channels suppresses excessive oxytocin-induced contractile activity in rat uterine myometrium under conditions of endotoxemia. *Fiziol Zh.* 2025;71(5):31-7. [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz71.05.031.
 27. Strutynskyi RB. The vasodilation effects of flokalin, a fluorine-containing K(ATP) channel opener. *Fiziol Zh.* 2010; 56(4):59-65. [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz56.04.059

Матеріал надійшов
до редакції 05.01.2026