

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ВИСОКИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Завідувач кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики

доц. Нипорко Олексій Юрійович

Протокол № ____ засідання кафедри

від “ ____ ” _____ 20__ р.

**ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ЗМІНИ СКОРОЧУВАЛЬНОЇ
АКТИВНОСТІ ВІСЦЕРАЛЬНИХ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ ЗА
МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

Випускна кваліфікаційна робота бакалавра

студента спеціальності 091

Біологія

ОП «Біологія (високі технології)»

Григор'євої Владислави Станіславівни

Науковий керівник

професор кафедри молекулярної

біотехнології та біоінформатики

доктор біологічних наук

Цимбалюк Ольга Володимирівна

Оцінка захисту роботи

Анотація

Григор'єва В.С. Дослідження механізмів зміни скорочувальної активності вісцеральних гладеньких м'язів за метаболічного синдрому. – Випускна кваліфікаційна робота бакалавра за спеціальністю 091 Біологія ОП «Біологія (високі технології)».

У роботі проведено дослідження змін у функціональній активності вісцеральних гладеньких м'язів матки і товстого кишечника щурів за метаболічного синдрому, що був викликаний хронічним (протягом 6 місяців) гіперліпідним харчуванням. Встановлено, що розвиток метаболічного синдрому у щурів призводить до значного уповільнення наростання і спаду сили скорочення міометрія, а також до модифікації пейсмеркерної активності й зниження мобілізації іонів Ca^{2+} з ріанодин-чутливого пулу саркоплазматичного ретикулуму міоцитів товстого кишечника.

Також у роботі були досліджені викликані скорочення гладеньких м'язів матки і товстого кишечника за шляхами електро- і фармакомеханічного спряження за метаболічного синдрому. Визначено, що для міометрія характерним є збільшення швидкості надходження іонів Ca^{2+} з-за меж клітини через потенціалкервані Ca^{2+} -канали, тоді як для гладеньких м'язів товстого кишечника – порушення співвідношення у внесках інозитол-1,4,5-трифосфат-чутливого і ріанодин-чутливого пулів саркоплазматичного ретикулуму міоцитів.

Отримані результати можуть бути використані для створення і покращення ефективності лікарських препаратів, які могли б нівелювати негативний вплив метаболічного синдрому на скоротливу активність гладеньких м'язів матки і товстого кишечника.

Ключові слова: міометрій; гладенькі м'язи товстого кишечника; метаболічний синдром; тензометричний аналіз; механікокінетичні характеристики; спонтанні й викликані скорочення.

Abstract

Hryhorieva V. Investigation of the mechanisms of metabolic syndrome-associated changes in the contractile activity of visceral smooth muscles. – Bachelor's final qualifying work in the specialty 091 Biology of the educational program "Biology (high technologies)".

In the work, investigation of changes in the functional activity of the visceral smooth muscles of the uterus and large intestine of rats were carried out during the metabolic syndrome, which was caused by chronic (for 6 months) hyperlipidic diet. It was established that the development of metabolic syndrome in rats leads to a significant slowing down of the growth and decline of myometrial contraction force, and also to a modification of the pacemaker activity and a decrease in the mobilization of Ca^{2+} ions from the ryanodine-sensitive pool of the sarcoplasmic reticulum of large intestine's myocytes.

Induced contractions of the smooth muscles of the uterus and large intestine by means of electro- and pharmacomechanical coupling in metabolic syndrome were investigated. It was determined that the myometrium is characterized by an increase in the rate of influx of Ca^{2+} ions from outside the cell through potential-controlled Ca^{2+} channels, while the smooth muscles of the large intestine is characterized by a violation of the ratio of the contributions of inositol-1,4,5-triphosphate-sensitive and ryanodine-sensitive pools of the sarcoplasmic reticulum of myocytes.

The obtained results can be used for the creation and improvement of drugs that could neutralize the negative impact of the metabolic syndrome on the contractile activity of the smooth muscles of the uterus and large intestine.

Keywords: myometrium; smooth muscles of the large intestine; metabolic syndrome; tensometric analysis; mechanokinetic characteristics; spontaneous and induced contractions.

Зміст

Перелік умовних позначень	6
Вступ.....	7
Розділ I. Огляд літератури	9
1.1. Основні характеристики гладенької мускулатури.....	9
1.1.1. Будова і регуляція скорочувальної активності міометрія.....	10
1.1.2. Будова, клітинний склад і регуляція скорочувальної активності гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту	12
1.2. Метаболічний синдром: зміни в організмі.....	14
1.2.1. Клінічне визначення і поширеність метаболічного синдрому	14
1.2.2. Патофізіологія метаболічного синдрому	15
1.2.3. Ускладнення, викликані метаболічним синдромом.....	18
Розділ II. Матеріали і методи досліджень.....	20
2.1. Метод тензометрії в ізометричному та ізотонічному режимах	20
2.2. Кінетичний аналіз спонтанних скорочень	21
2.3. Кінетичний аналіз викликаних скорочень	23
2.4. Визначення роботи і потужності спонтанних ізотонічних скорочень	24
2.5. Статистична обробка даних.....	25
Розділ III. Результати та обговорення.....	26
3.1. Дослідження впливу хронічного гіперліпідного раціону харчування на скоротливу активність міометрія щурів.....	26
3.1.1. Дослідження механокінетики спонтанних скорочень міометрія щурів	26
3.1.2. Дослідження механокінетики спонтанних ізотонічних укорочень міометрія щурів	28
3.1.3. Дослідження викликаних за шляхами електро- і фармакомеханічного спряження скорочень міометрія щурів.....	32
3.2. Дослідження впливу хронічного гіперліпідного раціону харчування на скоротливу активність товстого кишечника щурів	36

3.2.1. Дослідження механокінетичних параметрів спонтанних скорочень товстого кишечника щурів	36
3.2.2. Дослідження викликаних за шляхами електро- і фармакомеханічного спряження скорочень товстого кишечника щурів.	39
Висновки	43
Список використаних джерел	44

Перелік умовних позначень

АФК	–	активні форми кисню
АХ	–	ацетилхолін
ГКР	–	гіперкалієвий розчин
ГМК	–	гладеньком'язова клітина
ГМТ	–	гладеньком'язова тканина
ІР	–	інсулінорезистентність
ЛПВЩ	–	ліпопротеїни високої щільності
ЛПНЩ	–	ліпопротеїни низької щільності
МС	–	метаболічний синдром
НАЖХП	–	неалкогольна жирова хвороба печінки
НАСГ	–	неалкогольний стеатогепатит
НМШ	–	нормована максимальна швидкість
СР	–	саркоплазматичний ретикулум
ЦД	–	цукровий діабет
ІІ	–	інтерлейкіни
ІРЗ	–	інозитол-1,4,5-трифосфат
IRS-1/2	–	субстрат інсулінового рецептора-1/2
MLCK	–	кіназа легкого ланцюга міозину
MLCP	–	фосфатаза легкого ланцюга міозину
PG	–	простагладини
PLC	–	фосфоліпаза С
PSGL-1	–	P-селектин глікопротеїновий ліганд-1
TNF- α	–	фактор некрозу пухлин-альфа

Вступ

Стрімке збільшення випадків захворювань на метаболічний синдром (МС) серед усіх верств населення спричиняє значні проблеми для систем охорони здоров'я країн світу, оскільки МС підвищує імовірність розвитку цукрового діабету (ЦД) 2 типу і ряду серцево-судинних захворювань. Фактично більше 1,8 млн людей в Україні мають ЦД і цей показник невпинно зростає [1]. Переважна більшість таких випадків пов'язані з неправильним способом життя і наявністю шкідливих звичок. Встановлення основних механізмів впливу гіперліпідного харчування на функціонування організму, систем його органів, тканин і клітин є важливим для пошуку і розробки способів профілактики і лікування його негативних наслідків.

Вісцеральні гладенькі м'язи можна знайти у більшості систем органів людини. Наприклад, міометрій бере участь у забезпеченні виношування плоду, пологів, менструації, транспорті сперми. Будь-які порушення у скорочувальній активності гладеньком'язових клітин матки можуть стати причинами розвитку низки хвороб і патологій. Також робота гладеньком'язової тканини товстого кишечника забезпечує перистальтичні рухи для виведення калових мас і ефективного всмоктування води. Таким чином, визначення змін у функціонуванні гладенької мускулатури при МС є корисним для попередження розвитку і прогресування низки патологічних станів, що визначає **актуальність роботи**.

Об'єкт дослідження – механокінетичні параметри функціональної активності вісцеральних гладеньких м'язів, а саме матки і товстого кишечника за метаболічного синдрому, індукованого гіперліпідним раціоном харчування.

Предмет дослідження – механізми модуляції скорочувальної активності гладеньких м'язів матки і товстого кишечника за метаболічного синдрому.

Для виконання роботи були використані **методи дослідження**, які включають методи тензометрії у ізометричному й ізотонічному режимах реєстрації; методи механокінетичного і термодинамічного аналізу; статистичні методи обробки даних.

Мета роботи – дослідити зміни у контрактильній діяльності гладеньких м'язів матки і товстого кишечника, що були викликані гіперліпідним режимом харчування; виявити основні механізми індукції патологій міометрія і гладенької мускулатури товстого кишечника на основі механокінетичного аналізу спонтанних і викликаних скорочень.

Для реалізації поставленої мети було визначено такі **завдання роботи**:

1. дослідити, як змінюються спонтанні скорочення вісцеральних гладеньких м'язів (матки і товстого кишечника) за МС;
2. перевірити, чи змінюються викликані (ацетилхоліном (АХ), окситоцином, K^+ -деполяризацією, кофеїном) скорочення гладенької мускулатури (міометрія і товстого кишечника) за МС;
3. встановити, чи змінюються робота і потужність вісцеральних гладеньких м'язів матки за метаболічного синдрому;
4. порівняти отримані механокінетичні параметри для спонтанних і викликаних скорочень гладенької мускулатури матки і товстого кишечника.

Розділ I

Огляд літератури

1.1. Основні характеристики гладенької мускулатури

Гладенька м'язова тканина (ГМТ) називається непосмугованою через відсутність у її структурі саркомерів, оскільки волокна міозину й актину формують листкові структури [2]. Міоцити, або гладеньком'язові клітини (ГМК), мають одне ядро і веретеноподібну форму (посередині клітина є широкою, тоді як на кінцях відбувається її звуження). У розслабленому стані ГМК довжина сягає 30–200 мкм. Плазмолема міоцита формує вигинання у міжклітинний простір – кавеоли з підвищеною концентрацією йонів Ca^{2+} [3].

ГМТ є поширеною у різних системах органів, а особливо у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) і сечостатевої системі органів [4]. Згідно з фізіологічними і структурними особливостями ГМТ поділяють на:

- 1) одно- і багатокомпонентні. Однокомпонентна ГМТ утворює синцитій, у якому клітини з'єднані між собою за допомогою щілинних контактів, що утворюють канали, для яких характерний низький електричний опір [5]. Таким чином, комунікація відбувається швидко і синхронно в межах тканини. У свою чергу для багатокомпонентної ГМТ характерно формування ГМК власного сигналу, що забезпечує покращений контроль за збудженням;
- 2) фазові і тонічні. Фазова ГМТ проявляє скорочувальну активність, що має ритмічний характер. Натомість тонічна ГМТ пристосована до підтримки тривалої скоротливої активності.

Найважливішою відмінністю ГМТ від скелетної і серцевої м'язової тканини полягає у більшій еластичності, здатності функціонувати в умовах більшого натягу і збереженні скорочувального тону протягом довгого часу. Потенціали дії в ГМК повільні, що пов'язано з тривалішим відкриттям кальцієвих каналів. До того ж скорочення ГМТ відбувається мимовільно, що

пов'язано з іннервацією її автономною нервовою системою, а також регуляцією за допомогою низки гормонів і нейромедіаторів [6].

У результаті механізм скорочення для ГМТ включає наступні етапи: відкриття потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу (деполяризація мембран або дія гормону чи нейромедіатора, які, наприклад, здатні активувати G-білок, далі фосфоліпазу C) [7]. У результаті каскаду цих взаємодій синтезується інозитол-1,4,5-трифосфат (IP3), який спричиняє надходження йонів Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулуму (CP). Наступними стадіями є зв'язування йонів кальцію з кальмодуліном; фосфорилування легкого ланцюга міозину відповідною кіназою (MLCK); зв'язування фосфорильованим міозином актину; спільний рух актину і міозину [8, 9]. Для переходу у фазу розслаблення фосфатаза легких ланцюгів міозину (MLCP) здійснює дефосфорилування міозину.

1.1.1. Будова і регуляція скорочувальної активності міометрія

Міометрій, або гладенькі м'язи стінки матки, розташований між внутрішнім (ендометрієм) і зовнішнім (периметрієм) шарами стінки матки [10]. Міометрій можна віднести до фазової однокомпонентної тканини.

Основу міометрія складають ГМК, або маткові міоцити, які формують синцитій для узгодженого і синхронного виконання функцій. Внутрішня частина міометрія, яка прилягає до ендометрія, проявляє здатність до перистальтичної й антиперистальтичної активності [11]. ГМК переважають у зовнішньому і внутрішньому шарах міометрія, тоді як його середній шар містить кровоносні й лімфатичні судини. У середньому шарі також містяться м'язові клітини зі спіральним і концентричним положенням [12]. Для більш ефективного скорочення і розслаблення матки внутрішній шар ГМК має концентричне розташування, а зовнішній – паралельне.

Маткові міоцити мають актин і міозин у співвідношенні 6:1 [10]. У складі ГМК матки є щільні тільця з великою кількістю α -актиніну, які

прикріплюють нитки актину і проміжних філаментів. Їхня сітка в саркоплазмі сприяє скороченню ГМТ матки [11].

Відстані між клітинами міометрія можуть сягати 2–4 нм за рахунок утворення щілинних контактів і об'єднання в групи від 10 до 50 клітин [13]. Середня довжина ГМК міометрія становить 50–150 мкм, проте під час вагітності у результаті гіпертрофії її розмір збільшується до 500 і більше мкм, а також збільшується кількість кровоносних і лімфатичних судин у середньому шарі [14]. Міометрій розтягується у цей період для того, щоб матка стала в декілька разів більшою і скорочувалася під час пологів скоординовано через збільшення виробництва окситоцину (так званий «ефект Фергюсона») [15]. Після пологів міометрій зменшується у розмірах, таким чином стискає кровоносні судини, щоб запобігти можливій значній крововтраті.

Фазовий характер роботи міометрія полягає в постійній підтримці тону спокую [2] з періодичними скороченнями [16]. Стан спокою у ГМТ матки підтримується Na^+/K^+ -насосом, проте все одно виникають повільні ритмічні коливання через зміни в співвідношенні іонів (Ca^{2+} , K^+ , Cl^- , Na^+) [2]. Для ініціації скорочення маткові міоцити використовують іони Ca^{2+} . Існує 2 механізми індукування вивільнення Ca^{2+} з СР:

- 1) вивільнення Ca^{2+} , індуковане агоністом або ІРЗ (шлях ПСР);
- 2) вивільнення Ca^{2+} , що є Ca^{2+} -індукованим через ріанодинові рецептори (шлях СІСР) [17].

Згідно з дослідженнями, основним шляхом індукування вивільнення іонів Ca^{2+} є ІРЗ-залежний шлях, що було доведено використанням тапсигарніну з метою блокування Ca^{2+} -помпи. Це призвело до зникнення спонтанних виходів іонів Ca^{2+} із СР [18, 19].

Процес фосфорилування регуляторного легкого ланцюга міозину-20 (MLC20) кіназою MCLK визначає тривалість скорочення і його амплітуду [20]. Важливими в опосередкуванні дії агоністів у ГМТ матки є рецептори, спряжені з G-білками (GPCRs). Наприклад, рецептори, спряжені з G_q -

білками, стимулюють скорочення за рахунок залучення фосфоліпази С (PLC), тоді як рецептори, спряжені з G_s -білками, спричиняють релаксацію ГМК матки через активацію аденілатциклази [21].

Процеси, які передують скороченню і розслабленню маткових міоцитів, схематично представлені на рисунку 1.1.

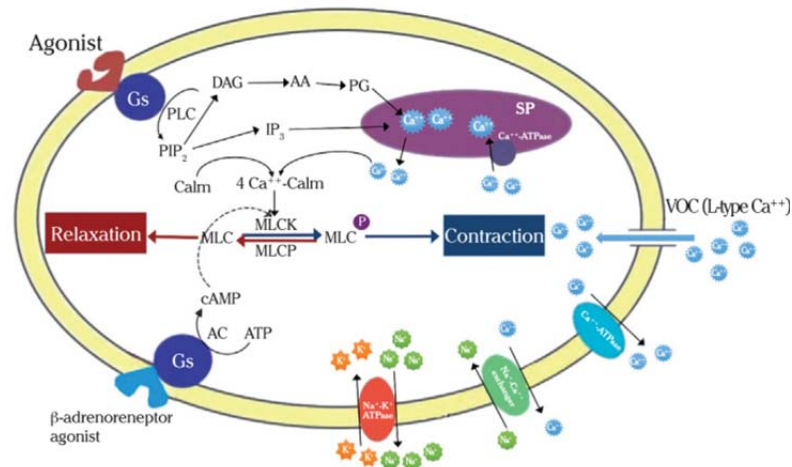


Рисунок 1.1 – Схематичне зображення каскаду взаємодій і перетворень, які спричиняють скорочення і розслаблення міоцитів матки [22]. Скорочення: G_s – G-білок, який стимулює аденілатциклазу, CalM – кальмодулін, PIP2 – фосфатидилінозитолдифосфат, DAG – діацилгліцерол, AA – арахідонова кислота, VOC – потенціалзалежні іонні канали

Розслаблення міоцитів матки відбувається за рахунок зниження концентрації йонів Ca^{2+} шляхом виведення його у позаклітинний матрикс чи повторного захоплення і накопичення в СР [23, 24].

Міометрій має клітини, які виконують функцію регуляції скорочень – телоцити. Такі клітини розташовуються на межі груп-пучків ГМК матки і за своїми властивостями нагадують інтерстиціальні клітини Кахаля (ICC), тобто виступають у ролі водіїв ритму в ГМТ матки [25, 26].

1.1.2. Будова, клітинний склад і регуляція скорочувальної активності гладеньких м'язів шлунково-кишкового тракту

Більша частина порожнистих органів ШКТ має м'язову стінку з ГМК, що формує два шари поздовжніх і кільцевих м'язів, які розділені між собою шаром клітин ентеральної нервової системи [27]. Окрім наявних робочих ГМК, які відповідають за скоротливу активність, до клітинного складу ГМК належать інтерстиціальні клітини Кахаля, які виконують роль пейсмекерів у передачі й модуляції сигналів [28], мастоцити, фібробласти і макрофаги [29].

ISS регулюють передачу сигналу від нейронів до робочих ГМК, використовуючи для цього щільні контакти [27]. Вони представляють собою клітини різної форми (найчастіше біполярної або зірчастої) з декількома відростками, які формують вторинні і третинні відростки. Виокремлено чотири популяції ISS:

- ISS міоентерального нервового плетива (ISS-MY або ISS-AP);
- ISS, розташовані в об'ємі шарів м'язів (ISS-IM), серед яких є ISS поздовжніх (ISS-LM) і кільцевих (ISS-CM) м'язів;
- ISS, розміщені під кільцевим шаром ГМК у тонкому кишечнику (ISS-DMP);
- ISS, які перебувають у безпосередньому контакті зі слизовою оболонкою (ISS-SM), що представлені у товстому кишечнику [30–32].

Для товстої кишки гризунів найбільш розповсюдженими є ISS-IM, ISS-MY та ISS-SM, тоді як для людини – ISS-MY й ISS-SM [33–36]. Усі типи ISS забезпечують ритми з унікальними характеристиками. У товстій кишці людини ISS-MY спричиняє 10–15 скорочень з низькою амплітудою за хвилину, а ISS-SM – 0,5–1,5 високоамплітудних скорочень за хвилину [34, 35].

Cl⁻-канали, активовані йонами кальцію (ANO1), експресуються у всіх популяціях ISS у ШКТ. Саме вони спричиняють регуляторну роль ISS [37]. Згідно з дослідженнями, у процесі формування і поширення повільних хвиль беруть участь EP як ініціатор, Cl⁻-канали, активовані йонами кальцію, як

модулятори плато для повільних хвиль, і кальцієві канали Т-типу, які впливають на поширення цих хвиль [38, 39].

1.2. Метаболічний синдром: зміни в організмі

1.2.1. Клінічне визначення і поширеність метаболічного синдрому

Метаболічний синдром (МС) – це збірна назва для різних взаємопов'язаних розладів метаболічного походження, що є зворотним станом у разі своєчасних профілактики і належного лікування. У випадку розвитку таких патологічних станів, як резистентність до інсуліну (ІР), ендотеліальна дисфункція, гіперактивність тромбоцитів, окислювальний стрес, підвищений артеріальний тиск, дисліпідемія та вісцеральне ожиріння, МС підвищує імовірність атеросклерозу, ЦД 2 типу та ішемічної хвороби серця [40].

Рівень поширеності МС залежить від віку, статі, расового й етнічного походження, генетичної схильності. Близько 25% населення Європи, 20% населення Північної Америки та 28% населення Азії має ознаки МС [41]. Значне зменшення фізичних навантажень, переживання постійного стресу, надмірне споживання їжі з високим вмістом жиру і простих вуглеводів сприяє збільшенню випадків МС серед мешканців міст у порівнянні з мешканцями сіл (32% на противагу 28%) [42]. Дослідження з 2011 до 2016 року вказують на те, що найбільший приріст пацієнтів з ознаками МС був серед дорослих людей віком 20–39 років і серед дорослих людей латиноамериканського походження. Показники поширеності МС зросли з 16,2% до 21,3% та з 32,9% до 40,4% відповідно для кожної вищезгаданої групи [43]. Частота МС серед жінок є вищою (35%) за чоловіків (26%), що пояснюється використанням гормональних контрацептивів, настанням менопаузи і розвитком синдрому полікістозних яєчників [44].

Згідно з дослідженням 2009 року для мешканців Європи з метою постановки діагнозу МС рекомендовано використовувати критерії від

Американської кардіологічної асоціації (АНА) і Національного інституту серця, легень і крові (NHLBI):

- окружність талії, що перевищує 102 см і 88 см у чоловіків і жінок відповідно;
- артеріальний тиск вищий за 130/85 мм рт ст;
- рівень тригліцеридів натщесерце вищий за 150 мг/дл;
- рівень ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) натщесерце нижчий за 40 мг/дл і 50 мг/дл у чоловіків та жінок відповідно;
- рівень глюкози в крові натщесерце, що перевищує показник у 100 мг/дл [45].

У випадку, якщо хоча б три з п'яти критеріїв наявні в анамнезі пацієнта, лікарем може бути поставлений діагноз МС. Основною терапією при МС є зміна способу життя. У разі наявності ускладнень чи розвинених супутніх хвороб застосовують фармакотерапію.

1.2.2. Патолофізіологія метаболічного синдрому

На початку розвитку МС можна виокремити низку порушень у обмінних процесах: розвиток дисліпідемії (виникнення ліпідної «тріади»: гіпертригліцеридемія, підвищений рівень ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) і знижений рівень ЛПВЩ); надмірне відкладення жирової тканини в ділянці живота (центральне ожиріння); розвиток ІР. Також у жінок спостерігається збільшення частки вільних андрогенів у крові (зміни в індексі вільного тестостерону).

В основі розвитку МС лежать ІР, окислювальний стрес і запальні процеси. ІР характеризується зменшеною чутливістю тканин організму (м'язової і жирової) до дії інсуліну. У основі ІР лежить глікозилювання внутрішньоклітинного білка-транспортера глюкози типу 4 (GLUT-4) або зменшення його транслокації [46]. Гіперінсулінемія стимулює роботу

симпатичної нервової системи і ренін-ангіотензинової системи. Також ІР спричиняє підвищення концентрації вільних жирних кислот, які в печінці використовуються для синтезу тригліцеридів, ЛПНЩ та можуть включатися в процес глюконеогенезу; розщеплення ЛПВЩ; порушення транспорту холестерину. Підвищений рівень глюкози призводить до активації рецепторів ангіотензину I та II (Ang-I та Ang-II), що веде до розвитку гіпертонії [40].

Через хронічний окислювальний стрес у β -клітинах підшлункової залози, що виникає внаслідок порушення балансу між виробництвом активних форм кисню (АФК) і молекул з антиоксидантними властивостями, значно зменшується виробництво запальних цитокінів, а саме фактора некрозу пухлин- α (TNF- α) й інтерлейкінів (IL-1 β , IL-6, IL-10) [46]. Натомість жирова тканина здатна секретувати ряд адипокінів (лептин, TNF- α , IL-6, IL-8, інгібітор-1 активатора плазміногену (PAI-1), адипсін, хемерин, резистин тощо), які у надлишку можуть викликати ускладнення. Наприклад, TNF- α викликає ІР в адипоцитах за рахунок зниження транскрипційної активності гена, що кодує GLUT-4, і зниження активності тирозинкінази та, як наслідок, зниження кількості субстрату інсулінового рецептора 1 (IRS-1) [47, 48]. Також TNF- α стимулює секрецію лептину, концентрація якого прямо корелює з кількістю жирової тканини в організмі [49].

На рівні систем органів МС включає в себе розвиток ендотеліальної дисфункції. Показники поширеності ендотеліальної дисфункції становлять 33–58% [50], що визначається за рівнями розчинної молекули міжклітинної адгезії-1 (sICAM-1), розчинної молекули адгезії судинних клітин-1 (sVCAM-1) і Е-селектину. Зниження біодоступності NO, зменшення вазодилатації і стани прозапальної й протромботичної активності супроводжують розвиток ендотеліальної дисфункції. Підвищений стан вазоконстрикції пов'язаний з дисбалансом між факторами, що розслабляють ендотелій (NO, простагліцин (PGI₂)) і факторами, що викликають його скорочення (тромбоксан А₂ (TxA₂), ендотелін-1 (ET-1)) [51]. У результаті підвищується проникність

ендотеліального бар'єру судин, збільшується проліферація і міграція ГМК судин і стимулюється адгезія лейкоцитів.

Підвищений рівень глюкози в крові призводить до глікозилювання ендотелію судин, що робить їх меншими в діаметрі. Надлишкова кількість АФК призводить до окиснення макромолекул і викликає загибель клітин через апоптоз за рахунок вивільнення цитохрому с [52]. Оскільки підвищена концентрація адипокінів, насамперед лептину і ІЛ-6, призводить до стимулювання роботи симпатичної нервової системи і посилення вазоконстрикції, артеріальний тиск зростає.

У пацієнтів з МС тромбоцити є гіперактивними, що призводить до посиленої вазоконстрикції. Це пов'язано з підвищеною кількістю рецептора тромбоцитарного глікопротеїну-6 (GP-VI) на поверхні тромбоцитів. У результаті активації рецептора відбувається посилення фосфорилування внутрішньоклітинних білків. Глікація білків на поверхні тромбоцитів призводить до посилення адгезії тромбоцитів [53]. Надмірна активація й адгезія тромбоцитів є причинами формування тромбів, утворення бляшок у судинах і розвитку атеросклерозу.

Важливою для індукування запальних реакцій у пацієнтів з надлишковою вагою є взаємодія між Р-селектин глікопротеїновим лігандом-1 (PSGL-1) і Р-селектином, яка дозволяє здійснювати рекрутинг лейкоцитів у місця запалення [54]. У результаті взаємодії PSGL-1/Р-селектин (та/або Е-селектином) на ендотеліальних тканинах і тромбоцитах відбувається рух лейкоцитів вздовж клітин ендотелію з подальшим стабільним закріпленням і трансміграцією у вісцеральну жирову тканину. Після приєднання лейкоцитів до Р-селектину також виділяється мієлопероксидаза (МРО), яка викликає порушення передачі сигналу адипонектину [55]. Адипонектин є адипокіном, секреція якого стимулюється інсуліном. Відповідно зменшення його експресії призводить до порушення в регуляції енергетичного гомеостазу й стимуляції додаткового переміщення лейкоцитів у жирову тканину [56].

Надлишкове виробництво ІЛ-6 адипоцитами призводить до активації внутрішньоклітинної янус-кінази 2 (JAK2), що підвищує активність перетворювача сигналу і активатора транскрипції 3 (STAT3) [57]. Такий каскад взаємодій впливає на експресію супресорів цитокінових сигналів 1 і 3 (SOCS1 і SOCS3) [58]. Підвищення концентрацій білків SOCS1 та SOCS3 у жировій і м'язовій тканинах та печінці викликають послаблення дії інсуліну через убіквітування і деградацію IRS-1 і IRS-2 [59]. Надлишкове виробництво білка SOCS3 блокує сигнальний шлях дії лептину й інсуліну, що призводить до розвитку ІР.

1.2.3. Ускладнення, викликані метаболічним синдромом

Кумулятивна дія усіх обмінних порушень, що виникли у пацієнтів з МС, може спричинити розвиток атеросклерозу, гіпертонії й ЦД 2 типу як первинних захворювань при МС. Вторинними ускладненнями МС є розвиток ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда і неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП).

Атеросклероз характеризується ураженням стінок артерій у вигляді звуження їхнього просвіту за рахунок утворення атероматозних бляшок з проростанням у м'язовий і адвентиційний шари судин. Розвиток хвороби включає багато факторів: підвищений рівень холестерину в крові, підвищений артеріальний тиск, генетична схильність, нездоровий спосіб життя, значно підвищена концентрація прозапальних маркерів [60].

Гіпертонія зустрічається у понад 80% пацієнтів з МС [44], що часто призводить до розвитку гіпертрофії лівого шлуночка, гіпертонічної форми ретинопатії й мікроальбумінурії. Згідно з дослідженнями 2021 року загальна кількість пацієнтів з артеріальною гіпертензією зросте до 1,5 мільярда до 2025 року [61]. Висока концентрація лептину і низька біодоступність NO виступають у ролі медіаторів звуження судин [62].

Підвищеним рівнем цукру в крові, ІР та недостатньою секрецією інсуліну β -клітинами підшлункової залози характеризується ЦД 2 типу. Насамперед ІР проявляється в периферичних тканинах, таких як м'язова і жирова тканини, печінка. Важливою є резистентність до глюкозозалежного інсулінотропного поліпептиду (інкретину) чи його повна відсутність, що пригнічує секрецію інсуліну [44]. Розщеплення ліпідів і надмірне утворення жирних кислот спричиняє активацію Forkhead box білка O1 (FOXO1) у β -клітинах, що призводить до їх апоптозу [63]. Загальна кількість хворих на ЦД 2 типу зросла з 30 млн людей у 1985 році до 217 млн у 2005 році [64].

У результаті формування атероматозних бляшок у коронарних судинах розвивається ішемічна хвороба серця, яка характеризується затвердінням стінок за рахунок накопичення солей кальцію. Кисневе голодування клітин міокарду може призвести до їхньої загибелі, а саме інфаркту міокарда. У випадку, коли протягом 3 місяців хоча б одна з коронарних артерій є повністю закупореною, розвивається хронічна тотальна оклюзія [65].

Печінковим проявом МС є неалкогольна жирова хвороба печінки. Через розвинену ІР у гепатоцитах відбувається надмірне накопичення і мобілізація вільних жирних кислот, які транспортуються з вісцеральної жирової тканини. Це призводить до розвитку неалкогольної жирової дистрофії (НАЖД), оборотного стану у випадку зміни способу життя і фармакотерапії. Подальше накопичення ліпідів викликає окислювальний стрес і запальні реакції, що прогресує в неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) [66]. Якщо НАСГ не вилікувати, він прогресує у фіброз, цироз і підвищує ризик розвитку гепатокарциноми. Показник поширеності НАЖХП визначається у межах 1,5–6,45% [67, 68].

Розділ II.

Матеріали і методи досліджень

2.1. Метод тензометрії в ізометричному та ізотонічному режимах

Фіксування змін у скоротливій активності вісцеральних гладеньких м'язів матки і товстого кишечника виконували на препаратах щурів. Для цього використовувалися самиці, а саме лінії Wistar, які попередньо мали гіперліпідний раціон харчування, унаслідок якого в них розвинувся МС. Усі процедури у цій роботі здійснювалися відповідно до біоетичних норм як українського, так і міжнародного законодавства.

Перед проведенням розтину щурів умертвляли за допомогою інгаляційного ефірного наркозу в летальній дозі. Препарати міометрія отримували у вигляді смужок (розмір 2 x 10 мм) з рогів матки. Стан шару ендотелію не змінювали. Для дослідження скорочень спонтанних і викликаних товстого кишечника проводили очищення ГМТ від слизової оболонки. Далі здійснювали нарізання препаратів кільцево-напрявлено.

Робоча камера тензометричного приладу мала об'єм 2 мл. За допомогою перистальтичних насосів у камеру подавався розчин Кребса зі швидкістю 5 мл/хв., який містить (мМ): 120,4 NaCl; 15,5 NaHCO₃; 5,9 KCl; 1,2 MgCl₂; 1,2 NaH₂PO₄; 2,5 CaCl₂; 11,5 C₆H₁₂O₆. Величина рН для проточного розчину дорівнювала 7,4. Робоча камера за допомогою рідинного термостату підтримувала сталу температуру (37±0,3) °C. Препарати ГМТ закріплювали на гачках у камері, що виготовлені з медичної сталі, з постійним натягом 10 мН. З метою забезпечення відтворюваності результатів реєстрації спонтанних скорочень закріплені препарати у камері з розчином Кребса залишалися на 1 годину, і лише після цього проводилася реєстрація скорочень.

Спрощена блок-схема приладу, що використовувався для проведення дослідження, наведена на рисунку 2.1.

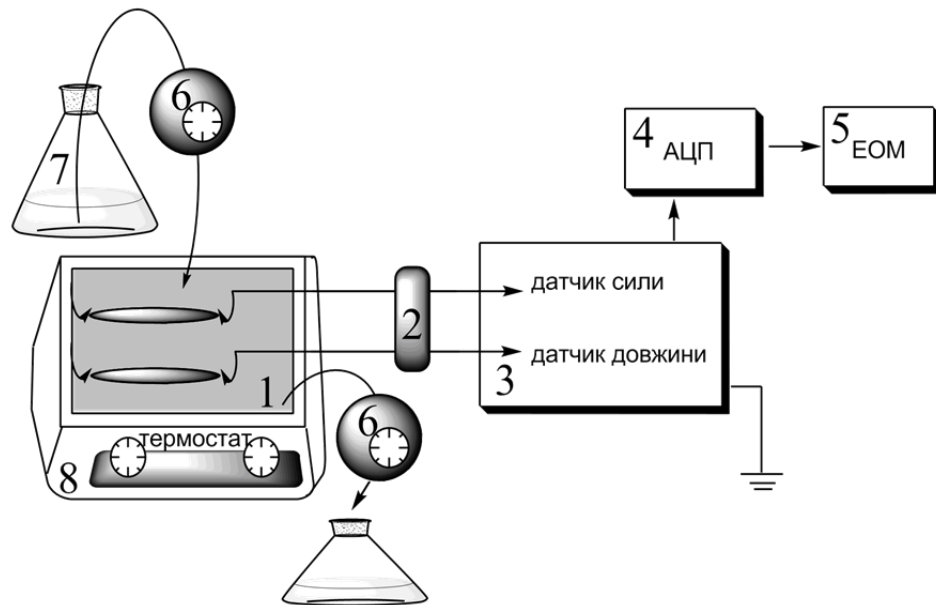


Рисунок 2.1 – Спрощена схема установки, яка використовувалася у дослідях (виготовлена в Інституті фізіології імені О.О. Богомольця НАН України): 1 – робоча камера з робочим розчином і закріпленими препаратами м’язів на сталевих гачках; 2 – датчики, а саме датчик сили (ізометричні умови), та датчик довжини-переміщення (ізотонічні умови); 3 – прилад, який підсилює сигнали, що надходять з датчиків сили і переміщення; 4 – аналого-цифровий перетворювач (АЦП); 5 – комп’ютер (ЕОМ); 6 – перистальтичні насоси, що регулюють надходження і відтік розчинів з робочої камери; 7 – розчини, які використовуються в експерименті; 8 – рідинний термостат.

У даній роботі для перевірки впливу ускладнень, що пов’язані з МС, на скорочувальну активність ГМТ матки використовувалися розчини ацетилхоліну (концентрацією 10^{-5} М), окситоцину (0,1 МО) та застосовувалася деполяризація гіперкалієвим розчином (ГКР, 80 мМ), тоді як ГМТ товстого кишечника – ГКР (80 мМ), АХ (10 мкМ) у розчині Кребса; АХ (10 мкМ) і кофеїн (20 мМ) у номінально безкальцієвому розчині Кребса. Зміни, що були викликані використанням цих розчинів, фіксувалися за допомогою тензометричної установки і далі піддавалися аналізу.

2.2. Кінетичний аналіз спонтанних скорочень

З метою здійснення кінетичного аналізу спонтанних скорочень ГМТ у даній роботі був використаний метод багатопараметричного механікокінетичного аналізу [69, 70]. Крива залежності сили від часу $f = f(t)$, яка описує скоротливу активність ГМТ, має 2 основні точки перегину (з координатами $(F_C; \tau_C)$ для скорочення і $(F_R; \tau_R)$ для розслаблення). У результаті проведеного ряду послідовних перетворень головного емпіричного рівняння цього методу отримали співвідношення:

$$\ln\left(\frac{f_R}{f_C}\right) = -k \cdot \Delta t + n \cdot \ln\left(1 + \frac{\Delta t}{t}\right), \quad (2.2.1)$$

де f_C – миттєве значення сили f за $t < \tau_0$, де τ_0 – це значення часу, за якого амплітуда скорочення ГМТ має максимальне значення F_{max} (точка екстремуму); f_R – миттєве значення сили f за $t > \tau_0$; Δt – проміжок часу, що обирається експериментатором у межах від 5 до 12 секунд.

З виразу (2.2.1) є очевидним, що для побудови графіку з попередньою його лінеаризацією обираються координати $\left[\ln\left(\frac{f_R}{f_C}\right); \ln\left(1 + \frac{\Delta t}{t}\right) \right]$. Отже, з метою детального опису спонтанних скорочень ГМТ використовуються лінеаризовані графіки, з яких можна визначити наступні константи і параметри:

- 1) характеристичні константи n і k :

$$n = \left(\frac{\tau_0}{\tau_R - \tau_0}\right)^2 = \left(\frac{\tau_0}{\tau_0 - \tau_C}\right)^2 \quad (2.2.2)$$

$$k = \frac{\tau_0}{(\tau_R - \tau_0)^2} = \frac{\tau_0}{(\tau_0 - \tau_C)^2} \quad (2.2.3)$$

- 2) часові параметри τ_0 , τ_C і τ_R ;
- 3) силові параметри F_{max} , F_C і F_R :

$$F_C = F_{max} \cdot \left(\frac{n - \sqrt{n}}{n}\right)^n \cdot e^{\sqrt{n}} \quad (2.2.4)$$

$$F_R = F_{max} \cdot \left(\frac{n + \sqrt{n}}{n}\right)^n \cdot e^{-\sqrt{n}} \quad (2.2.5)$$

4) швидкісні параметри V_C і V_R :

$$V_C = k \cdot F_{max} \cdot \left(\frac{n-\sqrt{n}}{n}\right)^{n-1} \cdot \frac{e^{\sqrt{n}}}{\sqrt{n}} \quad (2.2.6)$$

$$V_R = -k \cdot F_{max} \cdot \left(\frac{n+\sqrt{n}}{n}\right)^{n-1} \cdot \frac{e^{-\sqrt{n}}}{\sqrt{n}} \quad (2.2.7)$$

5) імпульсні параметри I_{τ_0} , I_C і I_R :

$$I_{\tau_0} = F_{max} \cdot \tau_0 = F_{max} \cdot \frac{n}{k} \quad (2.2.8)$$

$$I_C = F_{max} \cdot \left(\frac{n-\sqrt{n}}{n}\right)^{n+1} \cdot \frac{n}{k} \cdot e^{\sqrt{n}} \quad (2.2.9)$$

$$I_R = F_{max} \cdot \left(\frac{n+\sqrt{n}}{n}\right)^{n+1} \cdot \frac{n}{k} \cdot e^{-\sqrt{n}} \quad (2.2.10)$$

За допомогою порівняння значень цих параметрів можна встановити основні зміни у скоротливій активності ГМТ.

2.3. Кінетичний аналіз викликаних скорочень

Аналіз викликаних скорочень проводився на основі методу Костеріна-Бурдиги [71], згідно з яким основним рівнянням, що описує фазу розслаблення і показує залежність між миттєвою (f , відповідає певному значенню часу t) і максимальною силами (f_{MAX} , відповідає моменту, коли бере свій початок фаза розслаблення, тобто при $t = 0$) скорочення ГМТ, є:

$$f = f_{MAX} \cdot \frac{\tau^n}{\tau^n + t^n} \quad (2.3.1)$$

де τ – це час, за якого миттєва сила дорівнює половині максимальної сили;

n – декремент (логарифмічний) крутизни кривої, що описує механокінетичні властивості скорочення.

Для побудови графіків, які характеризуватимуть фазу розслаблення викликаних скорочень ГМТ, використовуються координати $[\ln(\frac{f_{MAX}-f}{f}); \ln t]$ з рівняння:

$$\ln\left(\frac{f_{MAX}-f}{f}\right) = n \cdot \ln t - n \cdot \ln \tau \quad (2.3.2)$$

За утвореною лінеаризованою прямою можна встановити значення для n і τ , і, як наслідок, значення максимальної нормованої швидкості (V_n):

$$V_n = \frac{(n+1)^{\frac{n+1}{n}} \cdot (n-1)^{\frac{n-1}{n}}}{4n\tau} \quad (2.3.3)$$

З формули (2.3.3) видно, V_n не залежить від амплітудної характеристики скорочення. Така особливість дозволяє більш точно проводити аналіз даних.

2.4. Визначення роботи і потужності спонтанних ізотонічних скорочень

Для визначення роботи спонтанних скорочень ГМТ використовується формула:

$$A = P \cdot \Delta L, \quad (2.4.1)$$

де ΔL – це зміни у довжині м'язу ($\Delta L = L - L_0$, тут L_0 – довжина м'язу до укорочення, L – довжина м'язу під час укорочення).

Якщо знехтувати нелінійністю залежності швидкості V від прикладеної сили P , то на ранній фазі скорочення справедливим буде співвідношення:

$$\Delta L = V \cdot \Delta t \quad (2.4.2)$$

Тоді формула для знаходження роботи скорочення ГМТ має вигляд:

$$A = P \cdot V \cdot t \quad (2.4.3)$$

Оскільки потужність N є величиною, що характеризує швидкість виконання роботи, то для її визначення використовується формула:

$$N = \frac{dA}{dt} \quad (2.4.4)$$

Використовуючи формули (2.4.3) і (2.4.4), отримали таку формулу для визначення потужності м'язу:

$$N = P \cdot V \quad (2.4.5)$$

Вимірювання роботи і потужності спонтанних скорочень відбувається в ізотонічному режимі.

2.5. Статистична обробка даних

Статистичну обробку даних, отриманих внаслідок проведення експериментів, здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики. Для проведення розрахунків і побудови необхідних для представлення результатів графіків використовували можливості програм MS Excel і Origin2018.

У роботі поступово були використані наступні критерії:

- критерій Шапіро-Уїлка;
- t-критерій Стьюдента. Значення p повинно було бути менше 5%;
- F-критерій Фішера. Для усіх графіків, що були лінеаризовані, коефіцієнти детермінації R^2 мали значення, які не опускалися нижче 0,9.

Результати аналізу даних у роботі наведені у форматі «середнє арифметичне \pm стандартна похибка середнього».

Розділ III

Результати та обговорення

3.1. Дослідження впливу хронічного гіперліпідного раціону харчування на скоротливу активність міометрія щурів

3.1.1. Дослідження механокінетики спонтанних скорочень міометрія щурів

Відомо, що раціон харчування, багатий на ліпіди, упродовж тривалого часу спричиняє розвиток і прогресування МС. Це призводить до низки патологічних станів, а саме ожиріння, ІР, порушення ліпідного обміну і, як наслідок, дисліпідемія. Натепер добре вивченими є механізми порушення метаболізму ліпідів і вуглеводів за МС. Також встановлено, що жінки з патологією МС мають порушення фертильності, яка може бути пов'язана з порушеннями функціонування ГМТ міометрія. Проте наразі відсутня інформація щодо функціонування вісцеральних гладеньких м'язів, зокрема міометрія, в умовах МС.

У даній роботі нами було досліджено скорочувальну активність гладенької мускулатури матки щурів, МС яких було індуковано хронічним гіперліпідним раціоном харчування, що застосовувалося впродовж 6 місяців.

На рисунку 3.1 показано зміни у спонтанній скорочувальній активності гладенької мускулатури матки при метаболічних порушеннях, що були викликані гіперліпідним раціоном харчування. Зміни проявляються, насамперед, у значному підвищенні амплітудної характеристики скорочень, формуванні складних за формою скорочень і зниженні їхньої частоти.

На рівні поодиноких спонтанних скорочень міометрій щурів з МС характеризувався збільшенням загальної тривалості скоротливого циклу. Проте показник асиметрії, співвідношення тривалості фази скорочення та тривалості фази розслаблення, залишався незмінним, тобто на рівні скорочень у контролі.

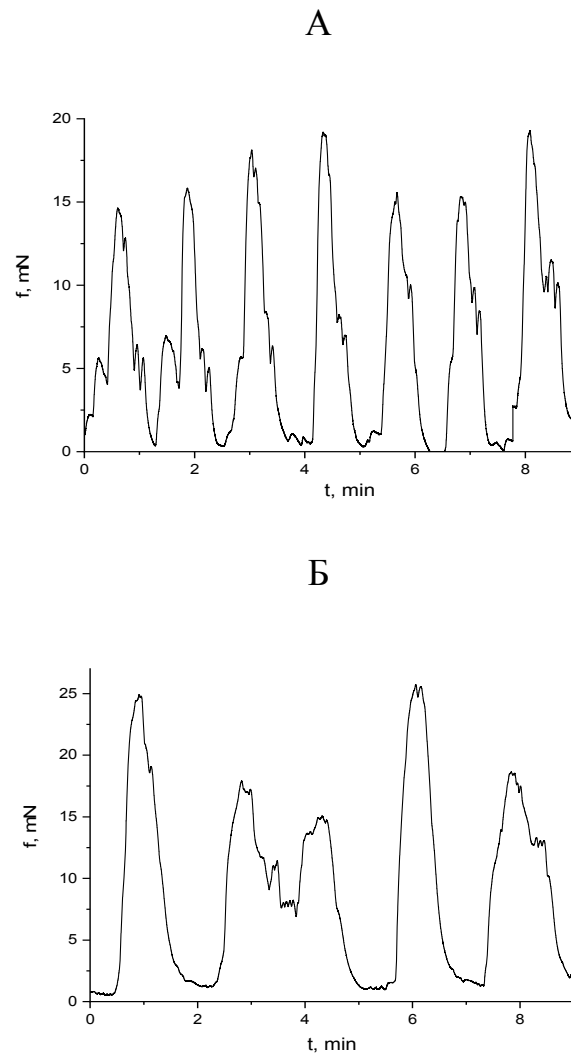


Рисунок 3.1 – Спонтанна скорочувальна активність міометрія щурів у контролі (А) та в умовах метаболічних порушень за хронічного гіперліпідного раціону харчування (Б). Наведені характерні механограми

У результаті застосування багатопараметричного методу було встановлено, що на тлі розвитку МС суттєво збільшуються показники для часових (τ_0 , τ_C і τ_R) й імпульсних параметрів (I_0 , I_C і I_R) (відповідні графіки представлені на рисунку 3.2 А і В).

Також унаслідок МС спостерігалось уповільнення як процесу спонтанного наростання сили, так і релаксації скорочень ГМТ матки, що було доведе зниженням величин максимальних швидкостей для фаз скорочення (V_C) і розслаблення (V_R) (рисунок 3.2 Г).

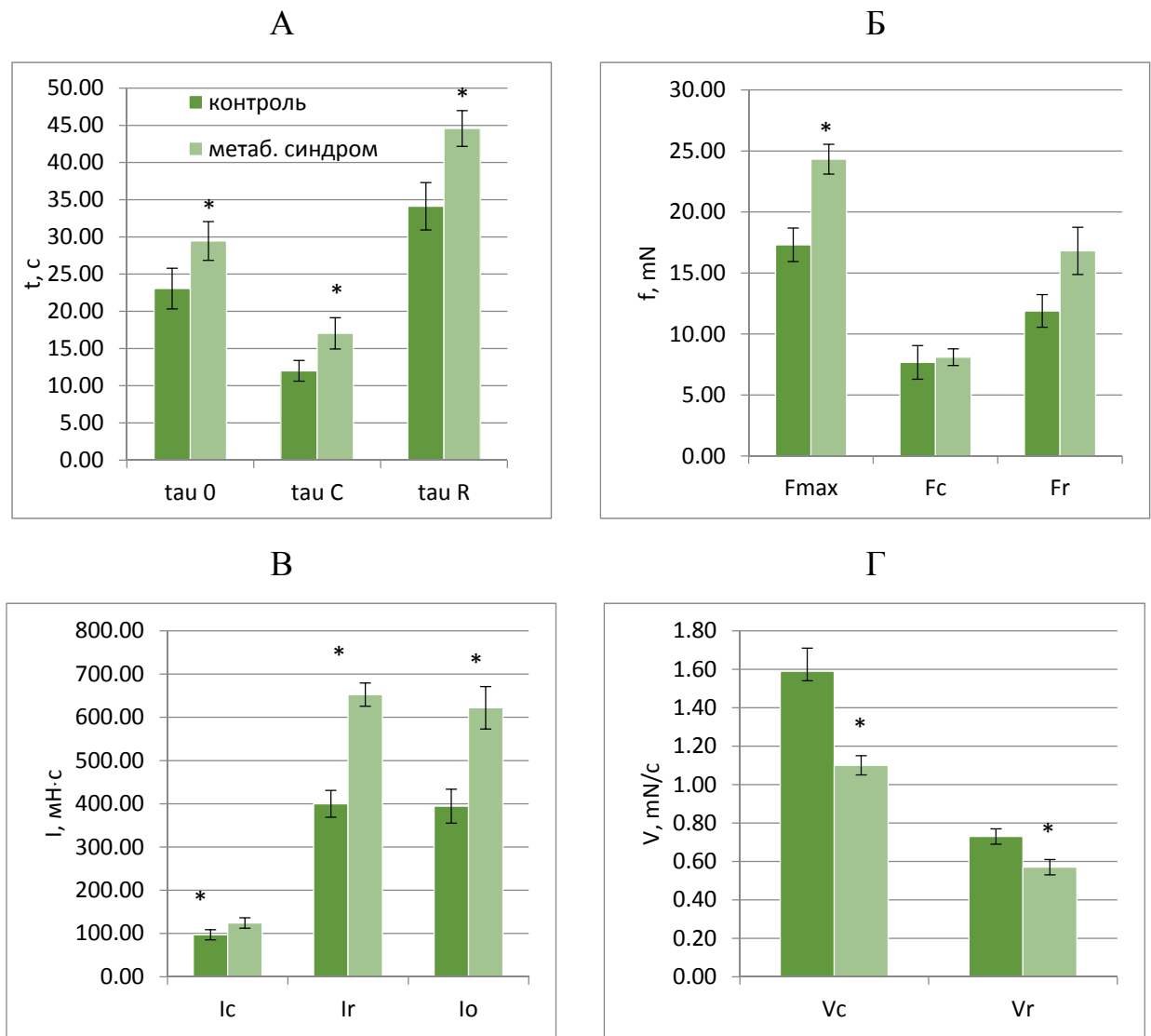


Рисунок 3.2 – Параметри спонтанної скорочувальної активності міометрія щурів у контролі та за хронічного гіперліпідного раціону харчування: А – часові параметри (τ_0 , τ_C і τ_R); Б – силові параметри (F_{max} , F_C і F_R); В – імпульсні параметри (I_0 , I_C і I_R); Г – швидкісні параметри (V_C і V_R). За 100% прийнято відповідні показники скорочувальної спонтанної активності у контролі (n=6, * – p<0.05 – різниця достовірна щодо контролю)

3.1.2. Дослідження механокінетики спонтанних ізотонічних укорочень міометрія щурів

Було встановлено, що за МС скорочувальна активність міометрія змінювалася в умовах ізометричного режиму. Однак значно важливіше перевірити здатність міометрія до укорочень і утримання тонічного рівня укороченого стану в умовах гіперліпідного раціону харчування, адже модель ізотонічного спонтанного скорочення краще відображає процеси перистальтичних хвиль у маткових трубах і матці. Метою даного дослідження був аналіз спонтанних циклів укорочення-розслаблення поздовжньої ГМТ маткових труб у невагітних щурів за хронічного гіперліпідного раціону харчування в ізотонічному режимі порівняно з активністю міометрія у щурів аналогічного віку в контролі. Для аналізу даних використовували багатопараметричний аналіз. Типові механограми спонтанних скорочень вказані на рисунку 3.3.

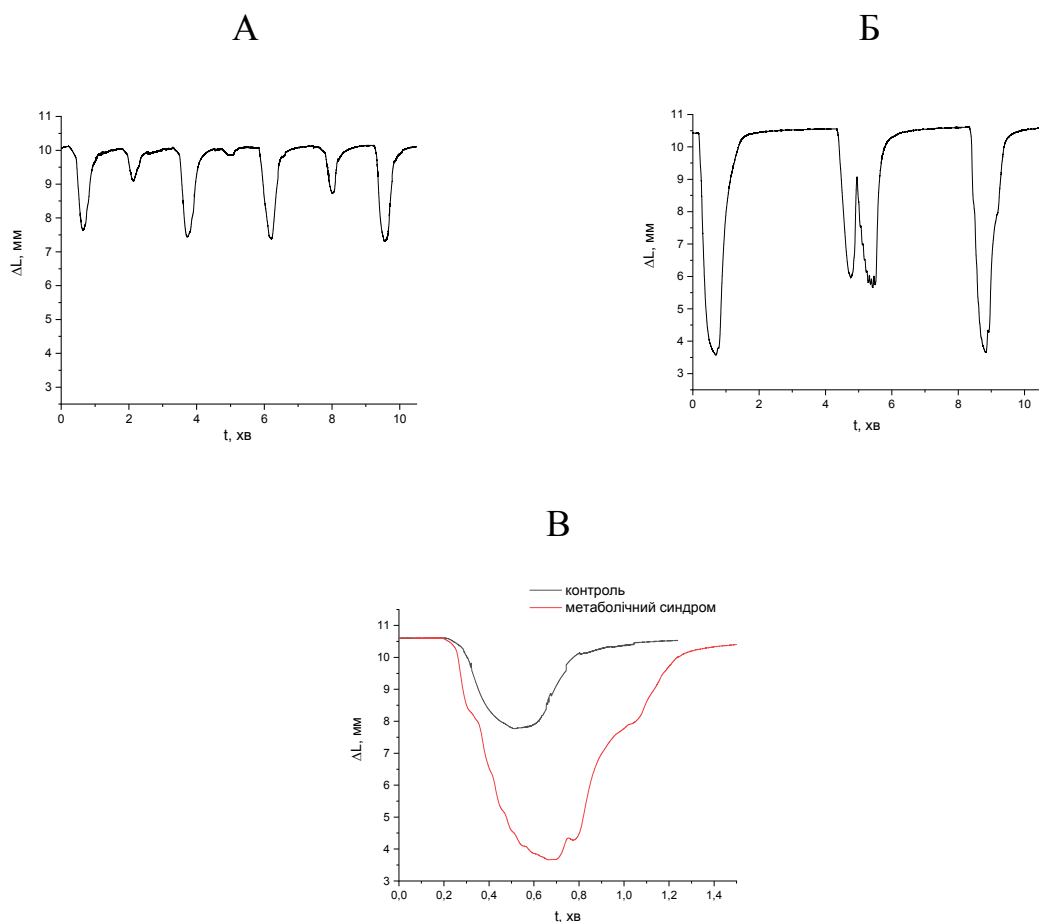


Рисунок 3.3 – Спонтанна скорочувальна активність міометрія щурів у контролі (А) та за МС, викликаного гіперліпідним харчуванням (Б),

порівняння трендів окремих циклів укорочення-розслаблення в контролі і за МС (В). Наведено типові механограми

За ізометричного режиму фіксували суттєву активацію спонтанних укорочень міометрія: зменшувалася частота скорочень удвічі й підвищувалася амплітуда укорочень до $243,6 \pm 5,9$ % відносно контролю, який прийнятий за 100 % при порівнянні ($p < 0.001$, $n=6$, рисунок 3.3).

Спонтанні укорочення ГМТ матки щурів з МС мали уповільнення фази укорочення: величина τ_0 у середньому становив $135,5 \pm 6,3$ % ($p < 0.05$, $n=6$) щодо величини у контролі, що показано на рисунку 3.4 А.

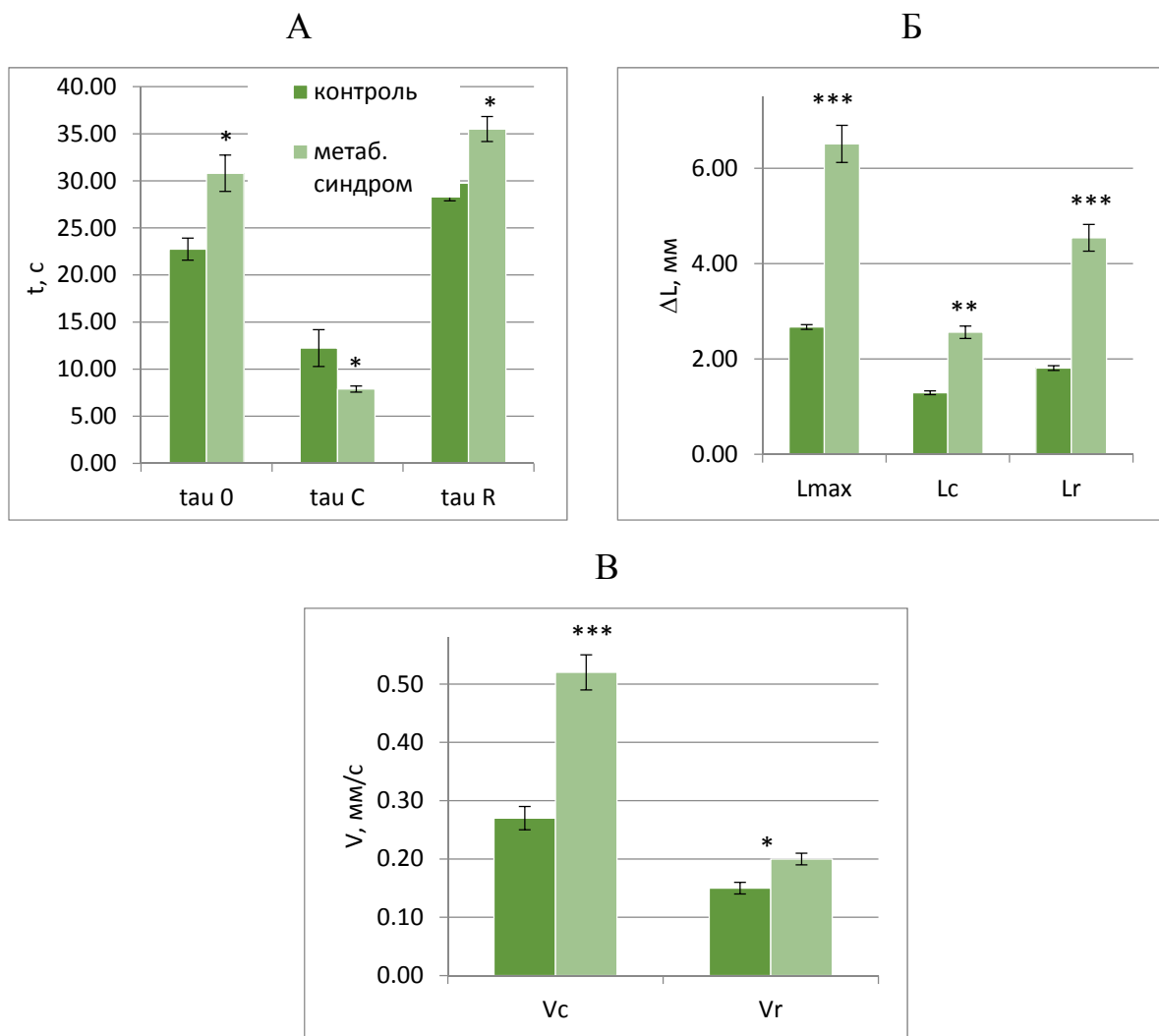


Рисунок 3.4 – Параметри спонтанних укорочень міометрія щурів контрольної групи та групи, яка хронічно отримувала гіперліпідний раціон харчування:

А – часові параметри (τ_0 , τ_C і τ_R); Б – параметри укорочення (ΔL_{\max} , ΔL_C і ΔL_R); В – швидкісні параметри (V_C і V_R) (n=6, * – p<0.05, ** – p<0.01, *** – p<0.001 – різниця достовірна щодо контролю)

Встановили, що за МС змінюються часові параметри: час досягнення максимальної швидкості на фазі скорочення τ_C зменшується у середньому до $64,5 \pm 4,1$ % (p<0.001, n=6), тоді як τ_R збільшується до $119,3 \pm 3,4$ % (p<0.05, n=6) щодо контролю (рисунок 3.4 А). Також за МС підвищувалися амплітудні і швидкісні параметри (рисунок 3.4 Б і В). Нормована максимальна швидкість (НМШ) фази укорочення (V_{nc}) становив $80,2 \pm 5,3$ % (p<0.05, n=6) та розслаблення (V_{nr}) – $57,6 \pm 4,3$ % (p<0.001, n=6).

За МС також відбулися зміни в енергетичних параметрах спонтанних скорочень, а саме у роботі й потужності. Встановлене значне зростання максимальної роботи м'язу A_{\max} до $243,8 \pm 5,7$ % щодо контролю, прийнятого за 100 % (p<0.001, n=6), а також роботи, яку виконує м'яз за максимальної швидкості укорочення A_{tc} – вдвічі щодо контролю (p<0.001, n=6) (рисунок 3.5 А).

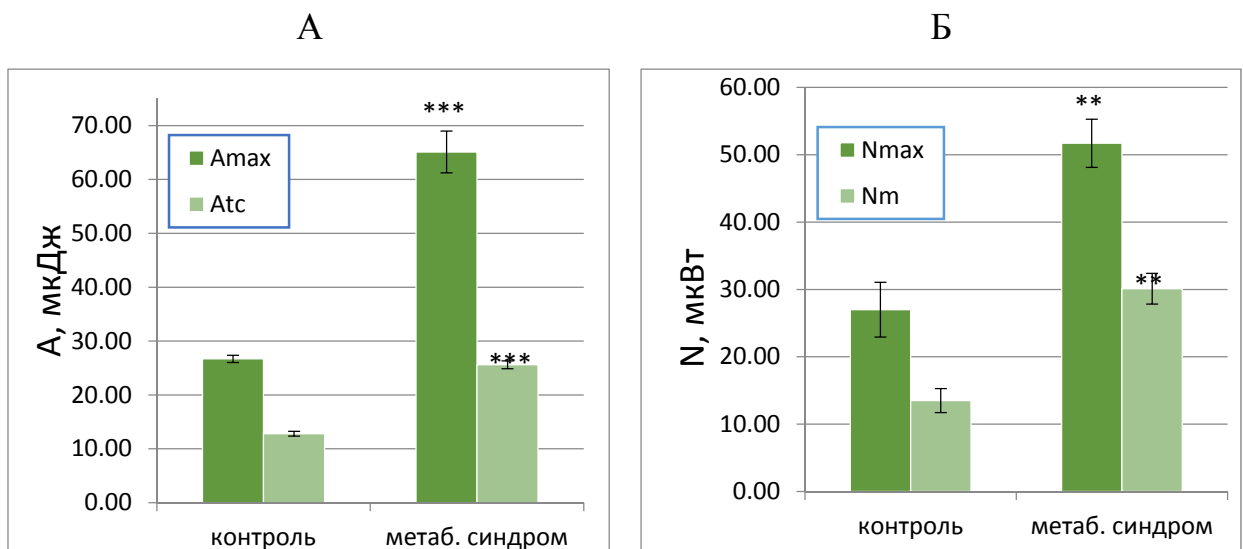


Рисунок 3.5 – Енергетичні параметри спонтанних ізометричних скорочень міометрія щурів у контролі та за МС: А – робота; Б – потужність (n=6, ** – p<0.01, *** – p<0.001 – різниця достовірна щодо контролю)

Щодо потужності, то параметр максимальної потужності м'язу N_{max} у середньому становив $191,5 \pm 6,9$ % щодо контролю, прийнятого за 100 % ($p < 0.01$, $n=6$), а середня потужність м'язу N_m – на рівні $223,0 \pm 7,6$ % ($p < 0.01$, $n=6$), що продемонстровано на рисунку 3.5 Б.

З огляду на визначені зміни скорочувальних характеристик міометрія за МС (підвищені часові, укорочення швидкісні параметри; зменшені НМШ; підвищені енергетичні параметри) можна передбачити, що зазначені зміни моторики міометрія ймовірно є однією з причин патологій жіночої репродуктивної системи за МС.

3.1.3. Дослідження викликаних за шляхами електро- і фармакомеханічного спряження скорочень міометрія щурів

У попередній частині дослідження було встановлено, що за МС розвиваються зміни у спонтанній скорочувальній активності міометрія: зростання амплітуди скорочень і порушення кінетики для поодиноких циклів скорочення-розслаблення. Для ширшого розуміння впливу МС на ГМТ матки було досліджено скорочення, що були викликані використанням ГКР (електромеханічне спряження збудження і скорочення) та окситоцину й АХ (фармакомеханічне спряження).

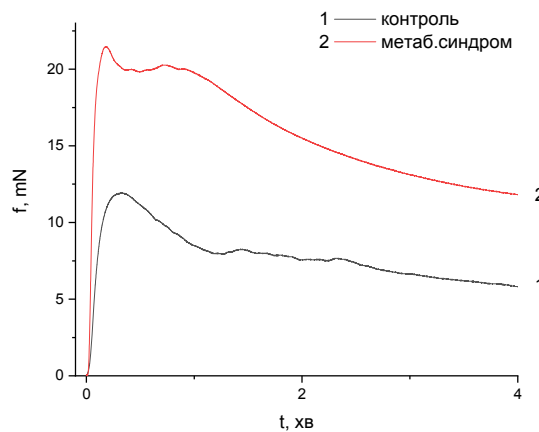
У цій частині досліджень скорочення поздовжньої ГМТ матки реєстрували в умовах ізометричного режиму. Аналіз скорочень здійснювали шляхом знаходження значень НМШ фаз скорочення і розслаблення, тобто V_{nc} і V_{nr} відповідно.

Було встановлено, що за МС спостерігалось зростання амплітуди скорочень, викликаних аплікуванням ГКР (80 мМ) у середньому до 179,8 % у співвідношенні до контролю. Зафіксовані результати змін у значенні амплітуди представлені на рисунках 3.6 А й 3.7. Проте за даних умов тонічна частина скорочення залишалась на одному рівні з контролем.

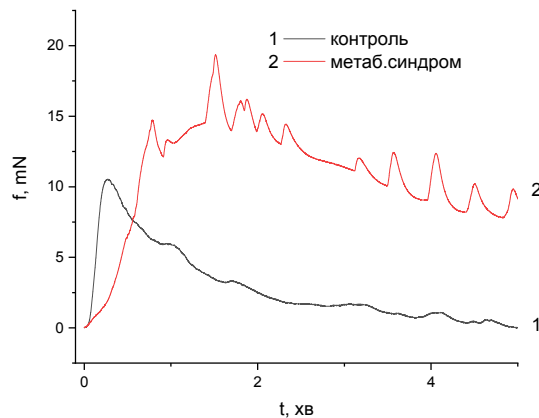
Шляхом використання механокінетичного аналізу було зафіксовано зростання величини НМШ фаз скорочення і розслаблення. Так, параметр V_{nc} збільшувався до 227,8 %, тоді як значення параметру V_{nr} зростало до 159,0 % щодо подібних показників у контролі. Графічно результати представлені на рисунку 3.8 А і Б.

Таким чином, вірогідним є те, що порушення скорочувальної активності ГМТ матки за МС супроводжується зростанням швидкості надходження іонів Ca^{2+} з-за меж клітини через потенціалкеровані Ca^{2+} -канали.

А



Б



В

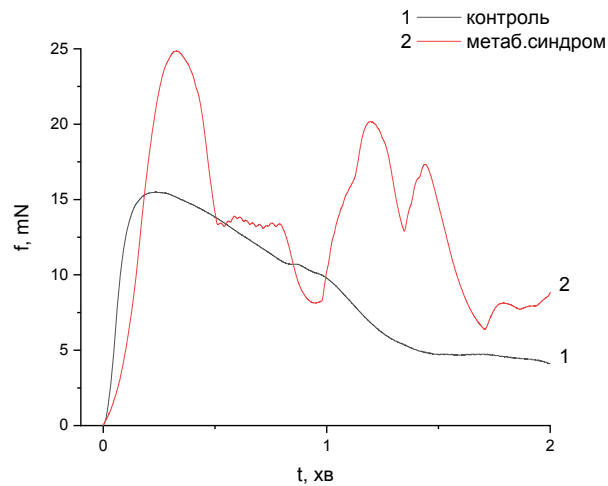


Рисунок 3.6 – Викликані скорочення міометрія у контролі (1) і в умовах гіперліпідного харчування (2): А – гіперкалієвий розчин (80 мМ), Б – окситоцин (0,1 МО), В – ацетилхолін (10^{-5} М). Наведено типові механограми

Вплив окситоцину (0,1 МО) на скоротливу активність гладенької мускулатури матки щурів, які піддавалися хронічному гіперліпідному харчуванню, пов'язаний зі збільшенням амплітудної характеристики скорочення до 189,5 %, причому у значній мірі також зростає тонічна складова скорочень (рисунки 3.6 Б і 3.7).

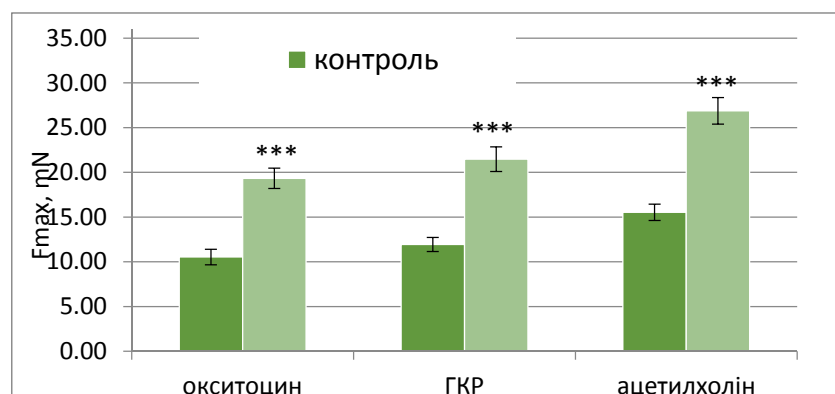


Рисунок 3.7 – Амплітуда скорочень, викликаних гіперкалієвим розчином (80 мМ), окситоцином (0,1 МО) і ацетилхоліном (10^{-5} М), у контролі та за МС. За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі (n=7, * – $p < 0.05$ – різниця достовірна щодо контролю)

Визначили за допомогою механокінетичного аналізу, що після розвитку МС і дії окситоцину значно зменшувалась НМШ фази скорочення V_{nc} (опустилася до 51,1 % у відношенні до контролю), а НМШ фази розслаблення V_{nr} залишається майже на одному рівні з контролем (зросла на 23,1 %) (рисунок 3.8 А і Б).

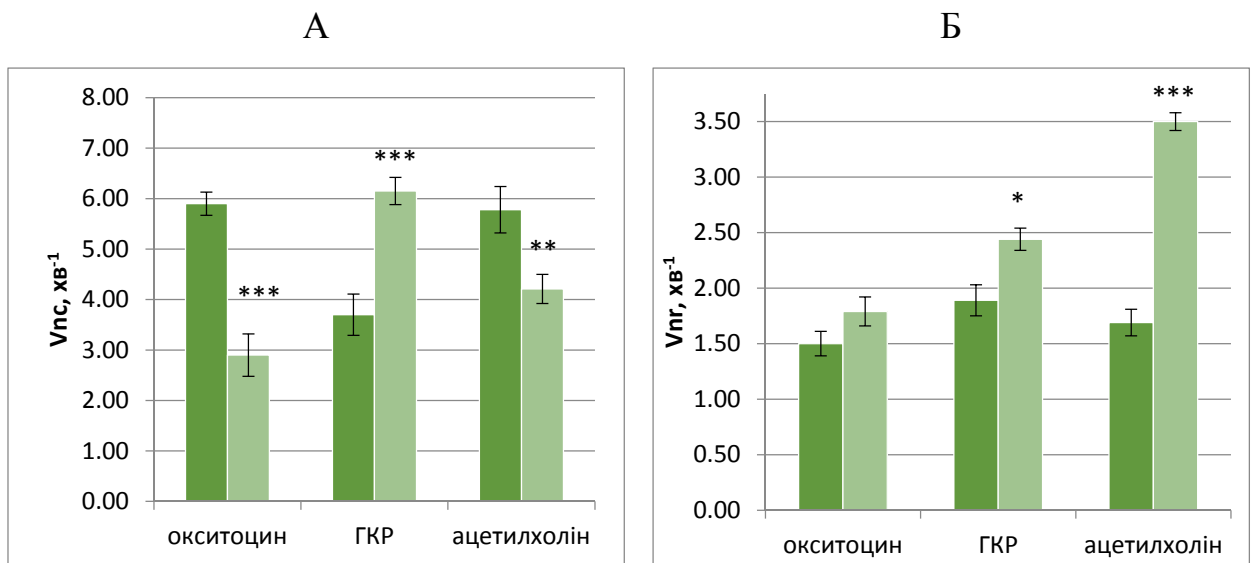


Рисунок 3.8 – Нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nc} , А) і нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nr} , Б) для скорочень міометрія, викликаних гіперкалієвим розчином (80 мМ), окситоцином (0,1 МО) і ацетилхоліном (10^{-5} М), у контролі та за МС. За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності в контролі (n=7, * – $p < 0.05$ – різниця достовірна щодо контролю)

Скорочення міометрія, яке було індуковане АХ (10^{-5} М) в умовах розвитку МС, характеризувалися зростанням значення амплітуди до 173,0 % щодо значення у контролі (n=7, $p < 0.001$; рисунки 3.6 В і 3.7). Також значно змінювалась механокінетичні характеристики скорочень за дії АХ: зменшувалось значення V_{nc} до 73,9 %, а значення V_{nr} зростала до 206,7 % у порівнянні з контролем (рисунок 3.8 А і Б).

З отриманих результатів можна припустити, що МС не впливає на процес вивільнення йонів Ca^{2+} з внутрішньоклітинного депо. Це пов'язано з тим, що фаза скорочення є меншою за відповідну в контролі за дії окситоцину й АХ, які є агоністами, що діють через метаботропні рецептори, спряжені з $G_{q/11}$ -білками.

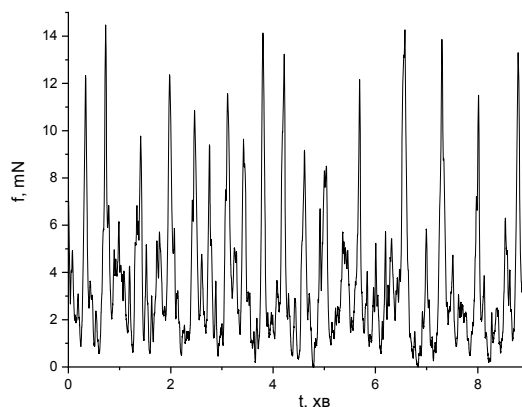
3.2. Дослідження впливу хронічного гіперліпідного раціону харчування на скоротливу активність товстого кишечника щурів

3.2.1. Дослідження механокінетичних параметрів спонтанних скорочень товстого кишечника щурів

Дослідження змін у скоротливій активності ГМТ сліпої кишки (*caecum*) за розвитку МС відбувалося в ізометричному режимі з використанням методу емпіричного багатопараметричного аналізу для обробки даних.

Попри незначні зміни в середніх значеннях частоти ($106,4 \pm 6,7 \%$, $n=7$, $p>0.05$) і амплітуди (у середньому $91,3 \pm 5,5 \%$, $n=7$, $p>0.05$) скорочень у порівнянні з контрольними, мала місце зміна їх патерну – втрата вираженого розподілу скорочень на високоамплітудні низькочастотні та низькоамплітудні високочастотні. Типові механограми для спонтанних скорочень сліпої кишки у контролі й за МС наведено на рисунку 3.9.

А



Б

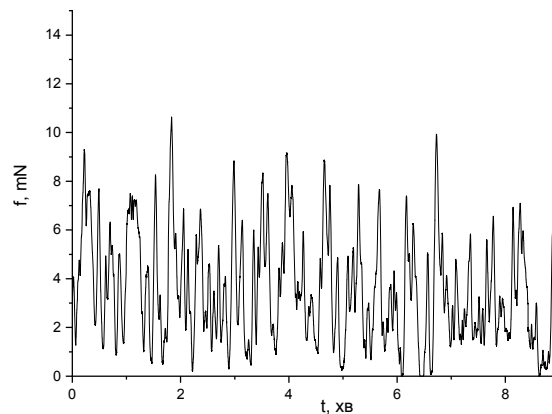


Рисунок 3.9 – Спонтанна скорочувальна активність кільцевих гладеньких м'язів *saesum* щурів у контролі (А) та за хронічного гіперліпідного раціону харчування (Б). Наведено типові механограми

Як відомо, у товстому кишечнику щурів пейсмерні клітини Кахаля (ICC), які індукують скорочення кільцевого шару гладенької мускулатури, представлені двома популяціями (ICC-SM й ICC-MY). До того ж, зміна амплітуди спонтанних скорочень свідчить про зміну функціонування міоцитів, тоді як зміна їхньої частоти безпосередньо пов'язана з модифікацією ICC. Тому можна припустити, що за МС у товстому кишечнику відбуваються, по-перше, зміни регулювання скорочень за рахунок зменшення впливу ICC-MY на робочі міоцити, і, по-друге, посилення ефективності функціонування робочих міоцитів, яке спричинило збільшення амплітуди низькоамплітудної фракції скорочень.

Для аналізу поодиноких спонтанних скорочень (у контролі та за МС) було обрано скорочення з амплітудою не нижче 7 мН і встановлено, що на тлі МС суттєво та в однаковій мірі знижуються силові (F_{max} , F_C і F_R) та швидкісні (V_C і V_R) параметри, а також збільшуються показники часових (τ_0 , τ_C і τ_R) параметрів, тоді як імпульсні параметри (I_{τ_0} , I_C і I_R) залишаються без змін (відповідні графіки представлені на рисунку 3.10 А–Г). Також за МС має місце значне уповільнення процесу наростання сили та її релаксації (у середньому $34,5 \pm 2,4$ %, $n=7$, $p<0.001$), що відобразилось у зниженні

параметрів V_C і V_R (у середньому $38,2 \pm 2,4$ % і $34,5 \pm 1,9$ % щодо контролю, $n=7$, $p<0.001$) (рисунок 3.10 Г).

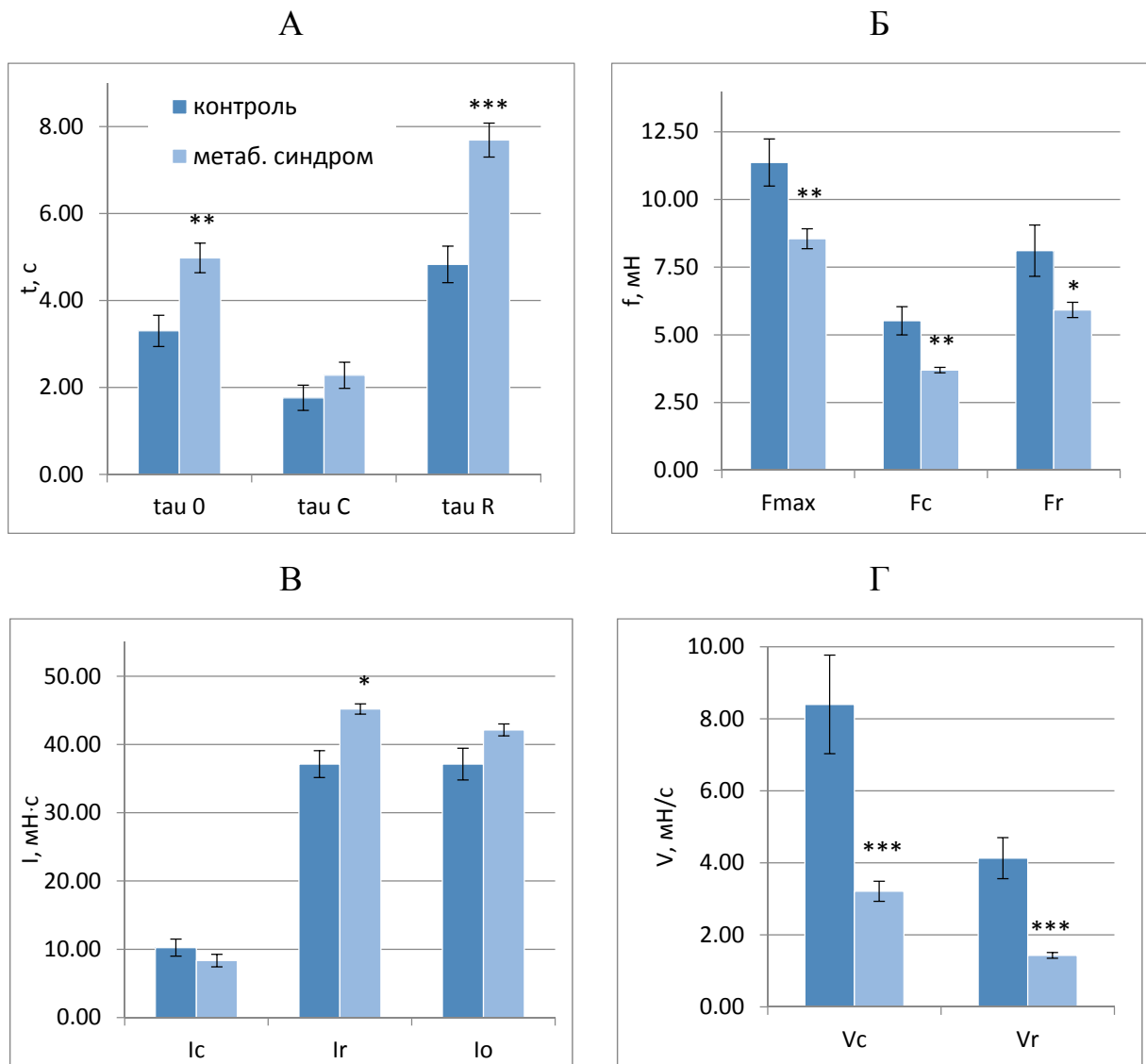


Рисунок 3.10 – Параметри спонтанної скорочувальної активності товстого кишечника щурів у контролі та за МС: А – часові параметри (τ_0 , τ_C і τ_R); Б – силові параметри (F_{max} , F_C і F_R); В – імпульсні параметри (I_0 , I_C і I_R); Г – швидкісні параметри (V_C і V_R). За 100% прийнято відповідні показники спонтанної активності у контролі ($n = 7$; * – $p<0.05$, ** – $p<0.01$, *** – $p<0.001$ – різниця достовірна щодо контролю)

Таким чином, за МС відбувається порушення спонтанної скорочувальної активності кільцевої ГМТ *saesum*, яке супроводжується

змінами пейсмеркерної активності й кінетики поодиноких циклів скорочення-розслаблення, що дозволяє застосовувати отримані дані до товстого кишечника людини через його подібність до кишечника шурів.

3.2.2. Дослідження викликаних за шляхами електро- і фармакомеханічного спряження скорочень товстого кишечника шурів

На даному етапі досліджень становило інтерес проаналізувати спряження збудження-скорочення у ГМТ товстого кишечника, а саме сліпої кишки за МС. Скорочення індукували аплікуванням ГКР (80 мМ) й АХ (10 мкМ) у нормальному розчині Кребса, а з метою аналізу функціонування внутрішньоклітинних Ca^{2+} -депо – АХ (10 мкМ) і кофеїну (20 мМ) у номінально безкальцієвому розчині Кребса. Реєстрування скорочень відбувалося в ізометричному режимі. Аналіз скорочень здійснювали із розрахунком V_{nc} і V_{nr} .

Встановлено, що у ГМТ *саесит* амплітуда викликаних використанням ГКР (80 мМ) скорочень залишалась на рівні контролю і становила у середньому $108,7 \pm 5,9$ % щодо до рівня контролю ($n=7$, $p>0.05$) (рисунок 3.11 А).

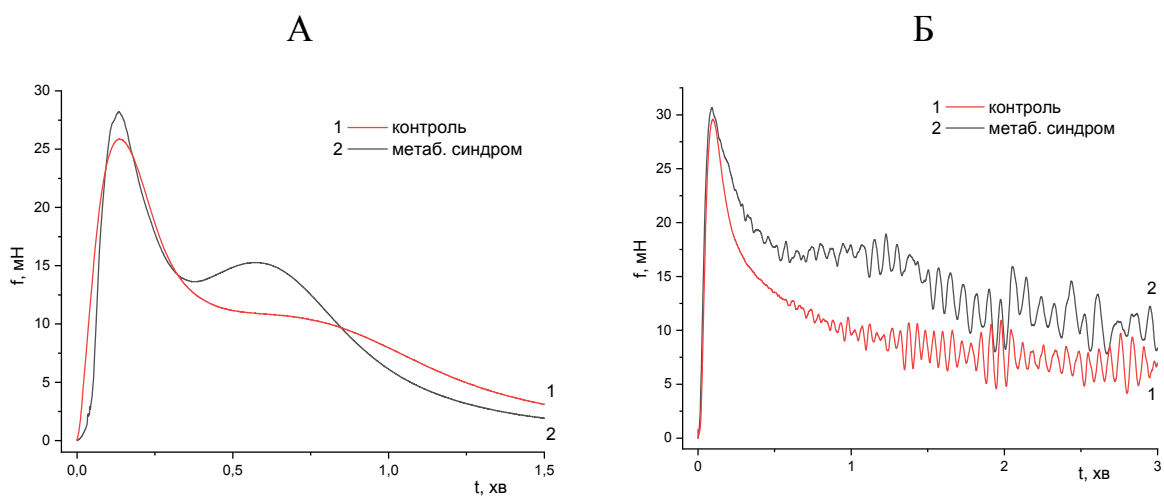


Рисунок 3.11 – Викликані аплікуванням гіперкалієвого розчину (80 мМ, А) і ацетилхоліну (10^{-5} М, Б) скорочення кільцевих гладеньких м'язів *saesum* щурів у контролі (1) і за МС (2). Наведено типові механограми

За використання ГКР (80 мМ) спостерігалось зростання тонічної складової скорочення (42,1% у контролі до 54,6% за МС, $n=7$, $p<0.05$). Також зросли НМШ фаз скорочення і розслаблення: параметр V_{nc} у середньому збільшувався до $117,1 \pm 5,7$ % і V_{nr} – до $114,0 \pm 6,2$ % щодо контролю ($n=7$, $p<0.05$) (рисунок 3.12 А і Б).

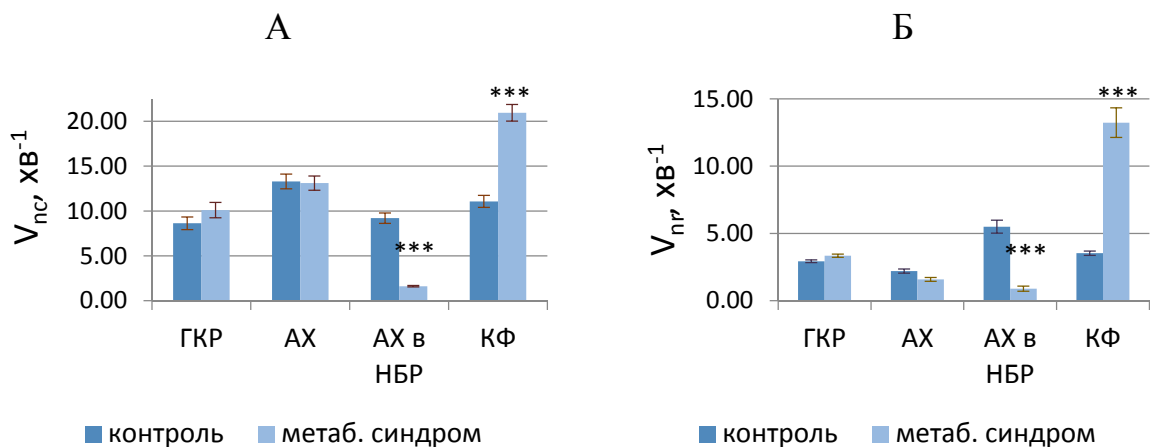


Рисунок 3.12 – Параметри викликаних гіперкалієвим розчином (ГКР, 80 мМ) і ацетилхоліном у нормальному розчині Кребса (АХ, 10 мкМ) та номінально безкальцієвому розчині Кребса (АХ в НБР, 10 мкМ), а також кофеїном (КФ, 20 мМ) скорочень кільцевої ГМТ *saesum* щурів у контролі та за МС: А – нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nc} , хв.⁻¹); Б – нормована максимальна швидкість фази скорочення (V_{nr} , хв.⁻¹) ($n=7$, *** – $p<0.001$ – різниця достовірна щодо контролю)

У випадку активації скорочень гладеньких м'язів *saesum* збуджувальним нейромедіатором АХ (10 мкМ) амплітуда фазних скорочень залишалась на рівні контролю (у середньому $103,4 \pm 5,9$ %, $n=7$, $p>0.05$), тоді

як тонічна складова зростала (у перерахунку щодо фазного скорочення – 33,7% у контролі до 56,2% за МС, $n=7$, $p<0.01$) (рисунок 3.11 Б).

Кінетика процесу скорочення не відрізнялась від контрольної за порівняння НМШ фази скорочення, тоді як розслаблення уповільнювалося (V_{nr} у середньому становив $71,8 \pm 4,9$ % щодо контролю, $n=7$, $p<0.01$) (рисунок 3.12 Б).

Порушення мобілізації іонів Ca^{2+} з внутрішньоклітинних депо можуть спричиняти зміни механокінетичних параметрів скорочувальних відповідей ГМТ *saesum* за МС. На наступному етапі дослідження було вивчено вивільнення катіонів кальцію із СР. За дії АХ на рецептори плазматичної мембрани міоцитів (у товстому кишечнику експресуються мускаринові холінорецептори M_2 - і M_3 -підтипів) відбувається опосередковане активацією M_3 -холінорецепторів IP3-кероване вивільнення Ca^{2+} з СР, яке надалі активує процес Са-індукованого вивільнення Ca^{2+} через ріанодин-чутливі канали СР. Задовільним тестом на IP3-кероване вивільнення Ca^{2+} є реєстрація викликаних АХ скорочень ГМТ у безкальцієвому середовищі. Перевіркою ефективності викиду Ca^{2+} через ріанодин-чутливі канали СР є активування скорочувальної відповіді кофеїном.

Було встановлено, що скорочення препаратів ГМТ *saesum* щурів з МС, активовані АХ (10 мкМ) у безкальцієвому середовищі, були посилені порівняно з контролем (до $184,3 \pm 10,6$ %, $n=7$, $p<0.001$) (рисунок 3.13 А). Крім того, спостерігалось значне зниження НМШ скорочення ($17,5 \pm 4,6$ % щодо контролю, прийнятого за 100%, $n=7$, $p<0.001$) і розслаблення ($16,1 \pm 5,1$ % щодо контролю, $n=7$, $p<0.001$) (рисунок 3.12).

Таким чином, отримані у даних експериментах ефекти є однією з причин підвищення тонічної складової ацетилхолінових скорочень у Ca^{2+} -вмісному середовищі препаратів сліпої кишки за МС.

У випадку скорочень, активованих кофеїном (20 мМ), спостерігалось зниження амплітуди (до $61,5 \pm 4,8$ % щодо контролю, $n=7$, $p<0.001$), а також прискорення процесів наростання (у середньому $189,3 \pm 12,5$ %, $n=7$, $p<0.001$)

і спаду сили скорочення (у середньому $274,8 \pm 22,7 \%$, $n=7$, $p<0.001$) (рисунок 3.12 і 3.13 Б).

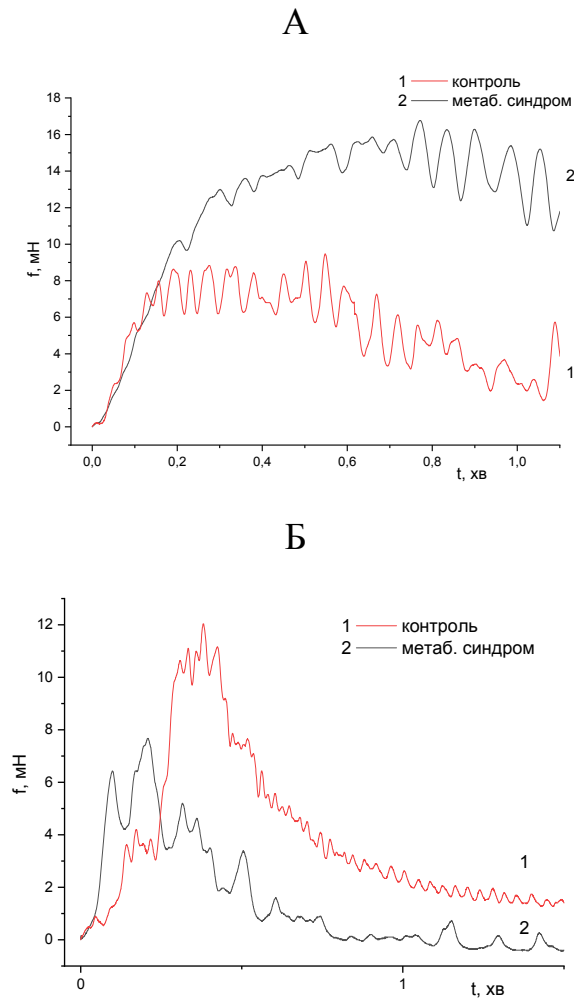


Рисунок 3.13 – Викликані аплікуванням ацетилхоліну в номінально безкальцієвому розчині (10 мкМ, А) і кофеїну в номінально безкальцієвому розчині (20 мМ, Б) скорочення кільцевих гладеньких м'язів *saesit* щурів у контролі (1) та за МС (2). Наведено типові механограми

Отримані експериментальним шляхом дані вказують на те, що за МС значно знижується здатність мобілізації іонів Ca^{2+} з ріанодин-чутливого пулу СР міоцитів товстого кишечника.

Висновки

1. Встановлено, що за метаболічного синдрому, індукованого хронічним гіперліпідним раціоном харчування, відбувається порушення моторики вісцеральних гладеньких м'язів.

2. Показано, що за метаболічного синдрому спостерігаються суттєві зміни кінетики поодиноких циклів скорочення-розслаблення міометрія, зокрема уповільненням процесів наростання і спаду сили на тлі підвищеної амплітуди. Зазначені зміни можуть бути однією з причин патологій жіночої репродуктивної системи за ожиріння.

3. Доведено, що за метаболічного синдрому відбувається порушення спонтанної скорочувальної активності кільцевих гладеньких м'язів товстого кишечника, яке супроводжується суттєвими змінами пейсмеркерної активності у цій тканині та кінетики поодиноких циклів скорочення-розслаблення.

4. Визначено, що за метаболічного синдрому відбувається активація викликаних за шляхами електро- і фармако-механічного sprzęження скорочень міометрія і товстого кишечника щурів.

5. Показано, що за метаболічного синдрому відбуваються порушення співвідношення внесків інозитол-1,4,5-трифосфат-чутливого і ріанодин-чутливого пулів саркоплазматичного ретикулу м'яцитів у процеси мобілізації іонів Ca^{2+} з внутрішньоклітинних компартментів. Зазначені зміни можуть бути однією з причин порушення моторики травного тракту за метаболічного синдрому.

Отримані результати порівняння й аналізу механокінетичних параметрів скорочувальної активності міометрія та гладеньком'язової тканини товстого кишечника можуть потенційно бути використаними для створення лікарських засобів з метою лікування метаболічного синдрому і його негативних наслідків.

Список використаних джерел

1. Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 2 типу: наказ Міністерства охорони здоров'я України від 21.12.2012 р. № 1118. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1118282-12#Text> (дата звернення: 16.03.24).
2. Noto R. E., Leavitt L., Edens M. A. Physiology, Muscle. Tampa : StatPearls Publishing, 2022. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532258/> (date of access: 16.03.2024).
3. Parton R. G., Simons K. The multiple faces of caveolae. *Nature reviews. Molecular cell biology*. 2007. Vol. 8. No. 3. P. 185–194. DOI: [10.1038/nrm2122](https://doi.org/10.1038/nrm2122) (date of access: 16.03.2024).
4. Hafen B. B., Shook M., Burns B. Anatomy, Smooth Muscle. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2023. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532857/> (date of access: 16.03.2024).
5. Pogoda K., Kameritsch P., Mannell H., Pohl U. Connexins in the control of vasomotor function. *Acta Physiologica*. 2019. Vol. 225, no. 1. <https://doi.org/10.1111/apha.13108> (date of access: 17.03.2024).
6. Hafen B. B., Burns B. Physiology, Smooth Muscle. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing; 2023. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30252381/> (date of access: 16.03.2024).
7. Bolton T. B., Large W. A. Are junction potentials essential? Dual mechanism of smooth muscle cell activation by transmitter released from autonomic nerves. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*. 1986. Vol. 71(1). P. 1–28. DOI: [10.1113/expphysiol.1986.sp002](https://doi.org/10.1113/expphysiol.1986.sp002) (date of access: 18.03.2024).
8. Murphy R. A., Rembold C. M. The latch-bridge hypothesis of smooth muscle contraction. *Can J Physiol Pharmacol*. 2005. Vol. 83(10). P. 857–864. DOI: [10.1139/y05-090](https://doi.org/10.1139/y05-090) (date of access: 17.03.2024).

9. Webb R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances in Physiology Education*. 2003. Vol. 27(4). P. 201–206. DOI: 10.1152/advan.00025.2003 (date of access: 17.03.2024).
10. Crețoiu S. M., Crețoiu D., Popescu L. M. Human myometrium - the ultrastructural 3D network of telocytes. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2012. Vol. 16, no. 11. P. 2844–2849. DOI:10.1111/j.1582-4934.2012.01651.x (date of access: 17.03.2024).
11. Aguilar H. N., Mitchell S., Knoll A. H., Yuan X. Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility. *Human Reproduction Update*. 2010. Vol. 16 (6). P. 725–744. DOI:[10.1093/humupd/dmq016](https://doi.org/10.1093/humupd/dmq016). PMID [20551073](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20551073/) (date of access: 16.03.2024).
12. Cavallé F., Cabrol D., Ferre F. Human myometrial smooth muscle cells and cervical fibroblasts in culture : a comparative study. *Methods Mol Med*. 1996. Vol. 2. P. 335–344. DOI: 10.1385/0-89603-335-X:335. PMID: 21359752 (date of access: 19.03.2024).
13. Katila T. Uterine Contractility. *Current Therapy in Equine Reproduction* / Ed. J. C. Samper, J. F. Pycock, A. O. McKinnon. Elsevier, 2007. P. 44–51.
14. Kuriyama H., Kitamura K., Itoh T., Inoue R. Physiological Features of Visceral Smooth Muscle Cells, With Special Reference to Receptors and Ion Channels. *Physiological Reviews*. 1998. Vol. 78(3). P. 811–920. DOI:10.1152/physrev.1998.78.3.811 (date of access: 20.03.2024).
15. Wolfs G., Rottinghuis H. Electrical and mechanical activity of the human uterus during labour. *Archiv. Gynakol*. 1970. Vol. 208. P. 373–385.
16. Wray S., Arrowsmith S. Uterine Smooth Muscle. *Muscle. Fundamental Biology And Mechanisms Of Disease* / Ed. J. A. Hill, E. N. Olson. Boston/Waltham : Academic Press, 2012. P. 1207–1216.
17. Wray S., Kupittayanant S., Shmygol A., Smith R. D., Burdyga T. The physiological basis of uterine contractility: a short review. *Experimental*

Physiology. 2001. Vol. 86(2). P. 239–246. DOI:10.1113/eph8602114 (date of access: 21.03.2024).

18. Noble D., Borysova L., Wray S., Burdyga T. Store-operated Ca^{2+} entry and depolarization explain the anomalous behaviour of myometrial SR: Effects of SERCA inhibition on electrical activity, Ca^{2+} and force. *Cell Calcium*. 2014. Vol. 56(3). P. 188–194. DOI:10.1016/j.ceca.2014.07.003 (date of access: 16.03.2024).

19. Wray S., Shmygol A. Role of the calcium store in uterine contractility. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2007. Vol. 18(3). P. 315–320. DOI:10.1016/j.semcd.2007.05.005 (date of access: 18.03.2024).

20. Butler T., Paul J., Europe-Finner N., Smith R., Chan, E.-C. Role of serine-threonine phosphoprotein phosphatases in smooth muscle contractility. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2013. Vol. 304(6). P. 485–504. DOI:10.1152/ajpcell.00161.2012 (date of access: 22.03.2024).

21. López Bernal A. The regulation of uterine relaxation. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2007. Vol. 18(3). P. 340–347. DOI: 10.1016/j.semcd.2007.05.002 (date of access: 19.03.2024).

22. Pehlivanoglu B., Bayrak S., Dogan M. A close look at the contraction and relaxation of the myometrium; the role of calcium. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*. 2013. Vol. 14(4). P. 230–234. DOI:10.5152/jtgga.2013.67763

23. Matthew A., Shmygol A., Wray S. Ca^{2+} entry, efflux and release in smooth muscle. *Biol Res*. 2004. Vol. 37(4). P. 617–624.

24. Hertelendy F., Zakar T. Regulation of Myometrial Smooth Muscle Functions. *Current Pharmaceutical Design*. 2004. Vol. 10(20). P. 2499–2517. DOI:10.2174/1381612043383926 (date of access: 22.03.2024).

25. Wray S., Burdyga T., Noble D., Noble K., Borysova L., Arrowsmith S. Progress in understanding electro-mechanical signalling in the myometrium. *Acta Physiologica*. 2014. Vol. 213(2). P. 417–431. DOI:10.1111/apha.12431 (date of access: 17.03.2024).

26. Hutchings G., Williams O., Cretoiu D., Ciontea S. M. Myometrial interstitial cells and the coordination of myometrial contractility. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2009. Vol. 13(10). P. 4268–4282. DOI:10.1111/j.1582-4934.2009.00894.x (date of access: 19.03.2024).
27. Baker S. A., Hwang S. J., Blair P. J., Sireika C., Wei L., Ro S., Ward S.M., Sanders K. M. Ca²⁺ transients in ICC-MY define the basis for the dominance of the corpus in gastric pacemaking. *Cell Calcium*. 2021. Vol. 99, 102472. DOI:10.1016/j.ceca.2021.102472 (date of access: 01.04.2024).
28. Foong D., Zhou J., Zarrouk A., Ho V., O'Connor M. D. Understanding the Biology of Human Interstitial Cells of Cajal in Gastrointestinal Motility. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21(12), 4540. DOI:10.3390/ijms21124540 (date of access: 01.04.2024).
29. Al-Sajee D., Huizinga J. D. Interstitial Cells of Cajal: Pathology, injury and repair. *Sultan Qaboos University Medical Journal*. 2012. Vol. 12(4). P. 411–421. DOI: [10.12816/0003165](https://doi.org/10.12816/0003165) (date of access: 03.04.2024).
30. Chen Y., Wang H., Li H., Liu S. Long-Pulse Gastric Electrical Stimulation Repairs Interstitial Cells of Cajal and Smooth Muscle Cells in the Gastric Antrum of Diabetic Rats. *Gastroenterology Research and Practice*. 2018. P. 1–10. DOI:10.1155/2018/6309157 (date of access: 04.04.2024).
31. Mitsui R., Komuro T. Distribution and Ultrastructure of Interstitial Cells of Cajal in the Gastric Antrum of Wild-type and Ws/Ws rats. *Anatomy and Embryology*. 2003. Vol. 206(6). P. 453–460. DOI:10.1007/s00429-003-0323-8 (date of access: 03.04.2024).
32. Wang X-Y., Huizinga J. D., Diamond J., Liu L. W. C. Loss of intramuscular and submuscular interstitial cells of Cajal and associated enteric nerves is related to decreased gastric emptying in streptozotocin-induced diabetes. *Neurogastroenterology & Motility*. 2009. Vol. 21(10). P. 1095–e92. DOI:10.1111/j.1365-2982.2009.01336.x (date of access: 01.04.2024).

33. Komuro T. Structure and organization of interstitial cells of Cajal in the gastrointestinal tract. *The Journal of Physiology*. 2006. Vol. 576(3). P. 653–658. DOI:10.1113/jphysiol.2006.116624 (date of access: 04.04.2024).
34. Pieri L., Vannucchi M. G., Faussone-Pellegrini M. S. Histochemical and ultrastructural characteristics of an interstitial cell type different from ICC and resident in the muscle coat of human gut. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2008. Vol. 12(5b). P. 1944–1955. DOI:10.1111/j.1582-4934.2008.00461.x (date of access: 02.04.2024).
35. Mikkelsen H. B. Interstitial cells of Cajal, macrophages and mast cells in the gut musculature: morphology, distribution, spatial and possible functional interactions. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2010. Vol. 14(4). P. 818–832. DOI:10.1111/j.1582-4934.2010.01025.x (date of access: 05.04.2024).
36. Radenkovic G., Abramovic M. Differentiation of Interstitial Cells of Cajal in the Human Distal Colon. *Cells Tissues Organs*. 2012. Vol. 196(5). P. 463–469. DOI:10.1159/000336707 (date of access: 09.04.2024).
37. Zhu M. H., Sung I. K., Zheng H., Sung T. S., Britton F. C., O’Driscoll K., Koh S. D., Sanders K. M. Muscarinic activation of Ca²⁺-activated Cl⁻ current in interstitial cells of Cajal. *The Journal of Physiology*. 2011. Vol. 589(18). P. 4565–4582. DOI:10.1113/jphysiol.2011.211094 (date of access: 09.04.2024).
38. Drumm B. T., Hwang S. J., Baker S. A., Ward S. M., Sanders K. M. Ca²⁺ signaling behaviours of intramuscular interstitial cells of Cajal in the murine colon. *The Journal of Physiology*. 2019. Vol. 597(14). P. 3587–3617. DOI:10.1113/jp278036 (date of access: 12.04.2024).
39. Long Q. L., Fang D. C., Shi H. T., Luo Y. H. Gastro-electric dysrhythm and lack of gastric interstitial cells of cajal. *World J Gastroenterol*. 2004. Vol. 10(8). P. 1227–1230. (date of access: 12.04.2024).
40. Боднар П. М., Скрипник Н. В. Метаболічний синдром: патогенез, діагностика та лікування. *Ендокринологія*. 2010. Т.12, №2. С. 295–304.

41. Grundy S. M. Metabolic Syndrome Pandemic. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2008. Vol. 28(4). P. 629–636. DOI:10.1161/atvbaha.107.151092 (date of access: 01.05.2024).
42. Sepp T., McGraw K. J., Kaasik A., Giraudeau M. A review of urban impacts on avian life-history evolution: Does city living lead to slower pace of life? *Global Change Biology*. 2017. Vol. 24(4). P. 1452–1469. DOI:10.1111/gcb.13969 (date of access: 19.04.2024).
43. Moore J. X., Chaudhary N., Akinyemiju T. Metabolic Syndrome Prevalence by Race/Ethnicity and Sex in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–2012. *Preventing Chronic Disease*. 2017. Vol. 14. DOI:10.5888/pcd14.160287 (date of access: 24.04.2024).
44. Das D., Shruthi N. R., Banerjee A., Jothimani G., Duttaroy A. K., Pathak S. Endothelial dysfunction, platelet hyperactivity, hypertension, and the metabolic syndrome: molecular insights and combating strategies. *Front Nutr*. 2023. Vol. 10. DOI: [10.3389/fnut.2023.1221438](https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1221438) (date of access: 28.04.2024).
45. Alberti K. G. M. M., Eckel R. H., Grundy S. M., Zimmet P. Z., Cleeman J. I., Donato K. A., Fruchart J. C., James W. P. T., Loria C. M., Smith S. C. Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation*. 2009. Vol. 120. P. 1640–1645. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644 (date of access: 29.04.2024).
46. Alam W., Rocca C., Khan H., Hussain Y., Aschner M., De Bartolo A., Amodio N., Angelone T., Cheang W. S. Current Status and Future Perspectives on Therapeutic Potential of Apigenin: Focus on Metabolic-Syndrome-Dependent Organ Dysfunction. *Antioxidants (Basel)*. 2021. Vol. 10(10). DOI: [10.3390/antiox10101643](https://doi.org/10.3390/antiox10101643) (date of access: 02.05.2024).
47. Stephens J. M., Lee J., Pilch P. F. Tumor Necrosis Factor- α -induced Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes Is Accompanied by a Loss of Insulin Receptor Substrate-1 and GLUT4 Expression without a Loss of Insulin Receptor-mediated Signal Transduction. *Journal of Biological Chemistry*. 1997. Vol. 272(2). P. 971–976. DOI:10.1074/jbc.272.2.971 (date of access: 02.05.2024).

48. Konturec S. J., Konturec J. W., Pawlic T., Brozozowski T. Brain-Gut axis and its role in the control of food intake. *J. of Physiology and pharmacology*. 2004. Vol. 54(1). P. 137–154.
49. Halle M., Berg A., Northoff H., Keul J. Importance of TNF-alpha and leptin in obesity and insulin resistance: a hypothesis on the impact of physical exercise. *Exerc Immunol Rev*. 1998. Vol. 4. P. 77–94.
50. Kullo I. J., Malik A. R. Arterial ultrasonography and tonometry as adjuncts to cardiovascular risk stratification. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007. Vol. 49. P. 1413–1426. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.11.039 (date of access: 29.04.2024).
51. Lin Y. H. MicroRNA networks modulate oxidative stress in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20(18), 4497. DOI: 10.3390/ijms20184497 (date of access: 03.05.2024).
52. Jamwal S., Sharma S. Vascular endothelium dysfunction: a conservative target in metabolic disorders. *Inflammation Research*. 2018. Vol. 67(5). P. 391–405. DOI: 10.1007/s00011-018-1129-8 (date of access: 06.05.2024).
53. Rochette L., Dogon G., Rigal E., Zeller M., Cottin Y., Vergely C. Involvement of oxidative stress in protective cardiac functions of calprotectin. *Cells*. 2022. Vol. 11(7). DOI: 10.3390/cells11071226 (date of access: 06.05.2024).
54. Patel M. S., Miranda-Nieves D., Chen J., Haller C. A., Chaikof E. L. Targeting P-selectin glycoprotein ligand-1/P-selectin interactions as a novel therapy for metabolic syndrome. *Translational Research*. 2017. Vol. 183. P. 1–13. DOI:10.1016/j.trsl.2016.11.007 (date of access: 06.05.2024).
55. Liu M., Liu F. Transcriptional and post-translational regulation of adiponectin. *Biochemical Journal*. 2010. Vol. 425(1). P. 41–52. DOI:10.1042/bj20091045 (date of access: 05.05.2024).
56. Ouedraogo R., Gong Y., Berzins B., Wu X., Mahadev K., Hough K. Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via

upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo. *J Clin Invest.* 2007. Vol. 117. P. 1718–1726. (date of access: 06.05.2024).

57. Wunderlich C. M., Hövelmeyer N., Wunderlich F. T. Mechanisms of chronic JAK-STAT3-SOCS3 signaling in obesity. *JAK-STAT.* 2013. Vol. 2(2), e23878. DOI:10.4161/jkst.23878 (date of access: 09.05.2024).

58. Ueki K., Kondo T., Tseng Y.-H., Kahn C. R. Central role of suppressors of cytokine signaling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2004. Vol. 101(28). P. 10422–10427. DOI:10.1073/pnas.0402511101 (date of access: 06.05.2024).

59. Ueki K., Kondo T., Kahn C. R. Suppressor of Cytokine Signaling 1 (SOCS-1) and SOCS-3 Cause Insulin Resistance through Inhibition of Tyrosine Phosphorylation of Insulin Receptor Substrate Proteins by Discrete Mechanisms. *Molecular and Cellular Biology.* 2004. Vol. 24(12). P. 5434–5446. DOI:10.1128/mcb.24.12.5434-5446.2004 (date of access: 10.05.2024).

60. Yoo J. Y., Sniffen S., McGill Percy K. C., Pallaval V. B., Chidipi B. Gut Dysbiosis and Immune System in Atherosclerotic Cardiovascular Disease (ACVD). *Microorganisms.* 2022. Vol. 10(1):108. DOI: 10.3390/microorganisms10010108 (date of access: 08.05.2024).

61. Mohammed Nawi A., Mohammad Z., Jetly K., Abd Razak M. A., Ramli N. S., Wan Ibadullah W. A. H., Ahmad N. The prevalence and risk factors of hypertension among the urban population in southeast Asian countries: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Hypertension.* 2021. Vol. 2021. P. 1–14. DOI: 10.1155/2021/6657003 (date of access: 10.05.2024).

62. Savoia C., Burger D., Nishigaki N., Montezano A., Touyz R. M. Angiotensin II and the vascular phenotype in hypertension. *Expert Reviews in Molecular Medicine.* 2011. Vol. 13. DOI:10.1017/s1462399411001815 (date of access: 05.05.2024).

63. Sun T., Han X. Death versus dedifferentiation: The molecular bases of beta cell mass reduction in type 2 diabetes. *Seminars in Cell & Developmental*

Biology. 2019. Vol. 103. P. 76–82. DOI:10.1016/j.semcd.2019.12.002 (date of access: 06.05.2024).

64. Smyth S., Heron A. Diabetes and obesity: the twin epidemics. *Nature Medicine*. 2006. Vol. 12(1). P. 75–80. DOI:10.1038/nm0106-75 (date of access: 03.05.2024).

65. Aziz S., Ramsdale D. R. Chronic total occlusions – a stiff challenge requiring a major breakthrough: is there light at the end of the tunnel? *Heart*. 2005. Vol. 91(Suppl 3), iii42–iii48. DOI:10.1136/hrt.2004.058495 (date of access: 04.05.2024).

66. Santacroce G., Gentile A., Soriano S., Novelli A., Lenti M. V., Sabatino A. Glutathione: Pharmacological aspects and implications for clinical use in non-alcoholic fatty liver disease. *Front Med (Lausanne)*. 2023. Vol. 10. DOI: [10.3389/fmed.2023.1124275](https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1124275) (date of access: 04.05.2024).

67. Younossi Z. M., Koenig A. B., Abdelatif D., Fazel Y., Henry L., Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016. Vol. 64. P. 73–84. DOI: 10.1002/hep.28431 (date of access: 06.05.2024).

68. Sheka A. C., Adeyi O., Thompson J., Hameed B., Crawford P. A., Ikramuddin S. Nonalcoholic steatohepatitis: a review. *JAMA*. 2020. Vol. 323. P. 1175–1183. DOI: 10.1001/jama.2020.2298 (date of access: 07.05.2024).

69. Костерін С. О., Цимбалюк О. В. Механокінетика вісцеральних гладеньких м'язів та її модуляція наноматеріалами. Київ : Наукова думка, 2022. 302 с.

70. Kosterin S., Tsymbalyuk O., Holden O. Multiparameter analysis of mechanokinetics of the contractile response of smooth muscles. *Series on Biomechanics*. 2021. Vol. 35(1). P. 14–30.

71. Burdyga Th. V., Kosterin S. A. Kinetic analysis of smooth muscle relaxation. *General Physiology and Biophysics*. 1991. Vol. 10, № 6. P. 589–598.