

Пептидоглікан золотистого стафілокока змінює скоротливість міометрія невагітних щурів завдяки підвищенню внутрішньоклітинного вмісту кальцію

Л.С. Насіб'ян, Г.В. Соткіс, О.М. Цугорко, І.Б. Філіппов, Я.М. Шуба

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця, НАН України, Київ; e-mail: 1602lilit@gmail.com

Робота присвячена дослідженню та механізму впливу пептидоглікану золотистого стафілокока на амплітудно-кінетичні параметри скорочень міометрія. Експерименти проводили методами тензометрії та кальциметрії. Показано, що пептидоглікан модулює всі основні параметри скорочень матки невагітних щурів, у тому числі збільшуючи їхню амплітуду та тривалість на 10 та 30% відповідно, переважно за рахунок подовження фази розслаблення (на $56,7 \pm 1,6\%$): смужка міометрія відносно швидко скорочувалась і довго розслаблялась. Аплікація пептидоглікану на свіжоізольовані міоцити матки протягом 5 хв призводила до періодичного підвищення в них внутрішньоклітинного вмісту іонів кальцію. Дія пептидоглікану посилювала скорочення міометрія, викликані гіперкальєвим розчином у концентрації 60 ммоль/л. Прикладання 1 мкмоль/л ніфедипіну, блокатора потенціалкерованих кальцієвих каналів L-типу, пригнічувало спонтанні скорочення, посилені дією пептидоглікану. Зазначені зміни скоротливості міометрія на тлі дії пептидоглікану відбуваються не тільки завдяки посиленню трансмембранного надходження кальцію, але й його мобілізації із саркоплазматичного ретикулула.

Ключові слова: міометрій; скоротливість міометрія; пептидоглікан; золотистий стафілокок; внутрішньоклітинний вміст кальцію.

ВСТУП

Пептидоглікан – це структурний компонент клітинної стінки грамозитивних (зокрема золотистого стафілокока) та грамнегативних бактерій [1–3], що оточує плазмолему зовні, відіграючи роль екзоскелета. Він виділяється в навколишнє середовище під час росту, ділення або руйнування бактерії, розповсюджується кровотоком по організму та осідає на тропних клітинах, де з часом ініціює патологічні процеси [3–5]. Взаємодія пептидоглікану з рецепторами вродженої імунної системи, на клітинах ендометрія та децидуальної тканини під час вагітності викликає розвиток запальної реакції, подальшу активацію скоротливості міометрія та переривання вагітності [6–9].

У дослідженнях Ghiasi (2014) показано, що золотистий стафілокок є одним з мікро-

організмів, що найчастіше висіваються із піхви та цервікального каналу жінок з діагностованим безпліддям [10]. Нещодавні дослідження [11] епітелію шийки матки жінок з непліддям, в генітальному тракті яких висівався золотистий стафілокок, не виявили ознак запалення, а отримані дані не були достатньо інформативним для того, щоб скласти чітке уявлення про механізм та причину неплідності.

Ймовірно, у інфікованих жінок дія пептидоглікану золотистого стафілокока може змінювати скоротливість міометрія таким чином, що запліднення або імплантація плідного яйця стають неможливими. Крім того, відбувається стимуляція скоротливості міометрія при вагітності як відповідь на дію прозапальних цитокінів, що секретуються імункомпетентними клітинами ендометрія

© Л.С. Насіб'ян, Г.В. Соткіс, О.М. Цугорко, І.Б. Філіппов, Я.М. Шуба

та децидуальної тканини [6–9]. Однак відомо також, що на міоцитах матки експресуються специфічні пептидогліканрозпізнаваючі рецептори вродженої імунної системи [12]. Тож ми припустили, що пептидоглікан може впливати на скоротливість міометрія безпосередньо, без участі ендометрія та експерименти проводили на смужках міометрія з попередньо видаленим внутрішнім шаром матки.

Метою нашої роботи було дослідження змін амплітудно-кінетичних параметрів спонтанних скорочень міометрія невагітних щурів з видаленим ендометрієм під дією пептидоглікану золотистого стафілококката механізму такої дії.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили на смужках гладеньких м'язів та ізольованих гладеньком'язових клітин (ГМК) матки 10 статевозрілих самиць щурів лінії Вістар масою до 200–250 г при дотриманні положень Директиви ЄС 2010/63/EU «Стосовно захисту тварин, що використовуються у наукових цілях» і вказівок біоетичного комітету Інституту фізіології.

Скоротливу активність міометрія досліджували методом тензометрії в ізометричному режимі. Смужки поміщали в проточну камеру з одним кінцем зафіксованим нерухомо, а другим – прикріпленим до ємнісного датчика сили з базовим навантаженням 3 мН. Запис скоротливої активності здійснювали через аналогово-цифровий перетворювач на комп'ютер.

Усіх дослідних тварин анестезували ефіром та декапітували. Роги матки швидко видаляли і поміщали в нагрітий до 37°C, оксигеновий (95% O₂ і 5% CO₂) розчин Кребса (ммоль/л): NaCl – 120,4; KCl – 5,9; CaCl₂ – 1,8; MgCl₂ – 1,2; NaH₂PO₄ – 1,2; NaHCO₃ – 15,5; глюкоза – 11,5 (рН 7,4). Роги матки розрізали вздовж, очищали від сполучної тканини та ендометрія. Нарізані

повздожні смужки довжиною 0,7–1,0 см і шириною 0,2–0,3 см поміщали в проточну камеру з одним кінцем зафіксованим нерухомо, а другим – прикріпленим до ємнісного датчика сили з базовим навантаженням 3 мН. Запис скоротливої активності здійснювали через аналогово-цифровий перетворювач на комп'ютер.

Визначення амплітудно-кінетичних параметрів скорочення смужок міометрія

Про характер скорочувальної діяльності гладеньких м'язів матки й впливу на неї пептидоглікану судили за такими показниками: середня частота та амплітуда скорочень протягом 10 хв; середня тривалість скорочень та пауз між ними; тривалість маткового циклу (період часу від початку одного скорочення до початку наступного); індекс активності скорочень (відношення тривалості скорочень до тривалості пауз між скороченнями), коефіцієнт асиметрії (відношення тривалості систоли до тривалості діастоли скорочення), скоротлива активність матки в Олександрійських одиницях (AU) – добуток середньої амплітуди скорочень у міліньютонках, середньої тривалості скорочень у хвиликах та частоти скорочень за 10 хв [13]; максимальна швидкість скорочення ($+dF/dt_{max}$) – позитивний пік першої похідної скорочення, що характеризує максимальне збільшення внутрішньоклітинного вмісту кальцію в ГМК та фосфорилування легких ланцюгів міозину; максимальна швидкість розслаблення ($-dF/dt_{max}$) – негативний пік першої похідної скорочення характеризує максимальне розслаблення м'язової смужки, що є наслідком припинення потенціалу дії в ГМК міометрія та зниженням внутрішньоклітинного вмісту кальцію; час активного скорочення (T, с; проміжок часу між максимальними величинами $+dF/dt_{max}$ та $-dF/dt_{max}$); приріст швидкості напруги скорочення (відношення максимальної швидкості скорочення на тлі досліджуваної речовини до цієї ж величини в контролі); приріст швидкості напруги розслаблення (відношення

максимальної швидкості розслаблення на тлі досліджуваної речовини до цієї ж величини в контролі) [14]; тривалість систоли скорочень (відстань від початку наростання напруги до точки максимальної амплітуди) та діастоли (відстань від початку швидкого розслаблення до досягнення кривої рівня базового тону); тривалість тонічного компоненту скорочення.

Ізолювання ГМК міометрія вагітних і невагітних щурів здійснювали ферментативним методом двоциклової обробки тканини. В першому циклі обробку проводили за участю 1 мг/мл папаїну, 0,5 мг/мл колагенази II типу та інших допоміжних речовин, а в другому циклі – колагенази I-типу у концентрації 1 мг/мл та трипсину у концентрації 2 мг/мл.

Ca²⁺-залежну флюоресценцію реєстрували за допомогою високоафінного (kd = 335 нм) кальційчутливого флюоресцентного барвника Fluo-4AM (максимуми абсорбції/емісії = 494 нм/506 нм). ГМК завантажували цим барвником за допомогою інкубації клітин протягом 40 хв у розчині Кребса за наявності мембранопрониклого Fluo-4AM (2 мкмоль/л), попередньо розчиненого в DMSO (обидва від фірми «MolecularProbes», США) протягом 35 хв у темноті при кімнатній температурі. Далі ГМК відмивали у розчині Кребса протягом 40 хв при кімнатній температурі.

Для візуалізації змін Ca²⁺ на субклітинному рівні використовували конфокальний комплекс LSM 5 PASCAL на основі інвертованого мікроскопа Axiovert 200M («Zeiss», Німеччина).

Всі досліджувані речовини були від фірми «Sigma-Aldrich» (США). Пептидоглікан розводили в 0,9%-му розчині NaCl в концентрації 2 мг/мл і додавали до розчину Кребса в субмаксимальній концентрації $3 \cdot 10^{-3}$ мг/мл [15]. Використовували такі реактиви: ніфедипін – блокатор потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу розводили в базовій концентрації в DMSO 20 ммоль/л і додавали до розчину Кребса в концентрації 1 мкмоль/л; гіперкалієвий розчин Кребса

([K⁺]_i = 60 ммоль/л); ацетилхолін – агоніст мускаринових та нікотинних холінорецепторів у концентрації 10 мкмоль/л.

Аналіз та статистичну обробку результатів експериментів та їхнє графічне представлення здійснювали за допомогою програмного забезпечення Origin 8.5. Для кожної серії експериментів визначали середні значення і приводили у вигляді $m (M \pm m)$ з позначенням числа смужок «n», на яких вони отримані. Статистичне порівняння контрольних значень параметрів і значень під впливом досліджуваних речовин проводили за допомогою парного критерію Стьюдента, а між групами за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з поправкою Бенферроні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Визначення амплітудно-кінетичних характеристик спонтанних скорочень міометрія в контролі та на тлі дії пептидоглікану

Першим завданням дослідження було виявити, чи змінює дія пептидоглікану скоротливість міометрія безпосередньо, без участі ендометрія. Тож ми дослідили амплітудно-кінетичні характеристики спонтанних скорочень м'язової смужки, очищеної від ендометрія, та їхні зміни на тлі аплікації пептидоглікану. У контрольних умовах смужки «невагітного» міометрія генерували регулярні спонтанні скорочення. На тлі регулярної спонтанної активності був аплікований пептидоглікан, в результаті чого стимулювалася скоротливість міометрія. Як видно з рис. 1, під дією пептидоглікану більшою мірою зростала тривалість скорочень, у той час як їхня амплітуда суттєво не змінювалася. Цікаво, що у 80% досліджуваних смужок міометрія дія пептидоглікану призводила до зниження базального тону в середньому на $3,0 \pm 0,58\%$ (n = 8, P ≤ 0,05) від середньої амплітуди спонтанних скорочень міометрія в контролі.

Для порівняння інтенсивності скоротливості міометрія на тлі дії пептидоглікану

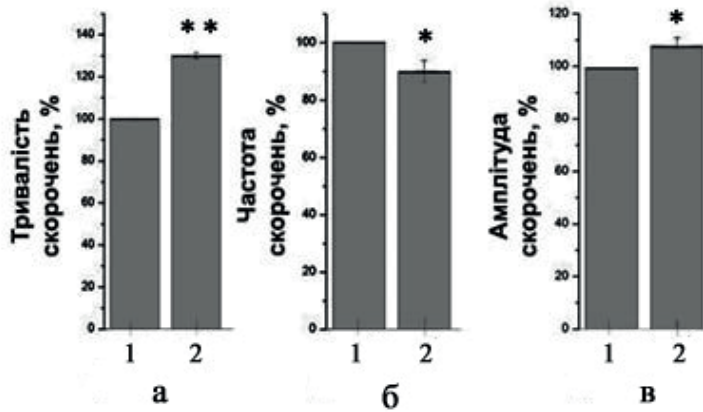


Рис. 1. Діаграми статистично узагальнених результатів змін тривалості (а), частоти (б) та амплітуди (в) скорочень під дією пептидоглікану відносно контролю, прийнятого за 100%; 1 – контроль, 2 – пептидоглікан; n = 10, *P ≤ 0,05, **P ≤ 0,001

та в контролі дослідили структуру скорочувального акту та оцінили параметри, вказані в таблиці. Розрахунок параметрів скоротливості, позначених у таблиці, показали, що подовження маткового циклу зумовлене як збільшенням тривалості самих скорочень, так і, меншою мірою, тривалості пауз між ними. Наслідком цього і є зменшення частоти скорочень за 10 хв на тлі дії пептидоглікану (рис. 1, б).

Під дією пептидоглікану змінюється також структура самого скорочення: систола та діастола збільшувалися на $10,9 \pm 1,25$ та $56,7 \pm 1,6\%$ відповідно відносно контролю. Тонічний компонент маткового скорочення підвищився на $23,8 \pm 0,65\%$. Отже, збіль-

шення тривалості діастоли скорочення міометрія значно більш виражене, ніж приріст тривалості систоли. Індекс активності на тлі дії пептидоглікану зріс на $38,8 \pm 0,25\%$. Скоротлива активність міометрія на тлі дії пептидоглікану підвищилася на $25,4 \pm 1,265\%$, значення T, проміжок часу між dF/dt_{\max} та $-dF/dt_{\max}$ – на 20%. А це значить, що збільшився період активного скорочення (див. таблицю; рис. 2) [12]. Коефіцієнт асиметрії зменшився на 30,76% відносно контролю, що свідчить про збільшення потужності скорочень [16].

Приріст швидкості досягнення максимуму скорочення, тобто відношення максимальної швидкості скорочення на тлі дії

Зміни показників скоротливої активності міометрія невагітних щурів на 30-й хвилині дії пептидоглікану золотистого стафілокока ($M \pm m$).

Показники	Контроль	Пептидоглікан
Тривалість систоли, с	$5,5 \pm 0,22$	$6,11 \pm 1,68^*$
Тривалість діастоли, с	$9,0 \pm 1,31$	$14,1 \pm 1,48^*$
Тривалість пауз між скороченнями, с	$2,40 \pm 1,76$	$23,17 \pm 1,50$
Тривалість маткового циклу, с	$45,34 \pm 1,25$	$56,74 \pm 1,54^*$
Індекс активності скорочень, ум.од.	$1,03 \pm 0,062$	$1,43 \pm 0,038$
Скоротлива активність, АУ	$660 \pm 11,89$	$827,589 \pm 8,74^*$
Коефіцієнт асиметрії, ум.од.	$0,65 \pm 0,06$	$0,45 \pm 0,07$
Приріст швидкості досягнення максимуму скорочення, ум.од	–	$1,240 \pm 0,203$
Приріст швидкості досягнення максимуму розслаблення, ум.од.	–	$1 \pm 0,207$

*P ≤ 0,05 порівняно з контрольним значенням

пептидоглікану до цієї ж величини в контролі, більше за одиницю. Натомість приріст швидкості досягнення максимуму розслаблення менший за одиницю, що за даними Лаптева та співавт. [12] свідчить про позитивний інотропний вплив пептидоглікану на міометрій, який пов'язаний з активацією надходження кальцію в міоплазму через сарколему та, разом з тим, вивільненням його із саркоплазматичного ретикулу (СР) міоцитів. Оскільки приріст швидкості досягнення максимуму скорочення більший за приріст швидкості досягнення максимуму розслаблення, можна зробити висновок, що описані зміни здебільшого зумовлені надходженням іонів кальцію через плазмолеміоцита.

Як показано на рис. 2, максимальна швидкість скорочення ($+dF/dt_{\max}$) у контролі та на тлі дії пептидоглікану знаходяться в межах 5,0 мН/с, проте час її досягнення в середньому на 60% більший за такий у контролі. І навпаки, максимальна швидкість розслаблення ($-dF/dt_{\max}$) скорочення на тлі дії пептидоглікану в середньому на 57% менша. Крім того, час досягнення максимальної швидкості

розслаблення на тлі дії пептидоглікану вдвічі більший за контроль, а тривалість всієї фази розслаблення збільшився в середньому на 69,4%. Такі зміни пов'язані здебільшого з підвищенням тривалості скорочення, ніж приросту її амплітуди.

Реєстрація зміни внутрішньоклітинної концентрації кальцію в поодиноких клітинах міометрія на тлі дії пептидоглікану

Для підтвердження того, що пептидоглікан впливає на кальцієвий транспорт ГМК міометрія, була проведена наступна серія експериментів. На свіжоізольовані клітини міометрія невагітних шурів, завантажених Fluo-4AM, що знаходились у розчині Кребса, аплікували пептидоглікан у тій самій концентрації, що й при роботі з м'язовими смужками – 0,003 мг/мл. У відповідь на аплікацію протягом 5 хв спостерігали періодичне збільшення внутрішньоклітинної концентрації кальцію, яке після припинення аплікації припинилося.

Вплив пептидоглікану на кальцієвий гомеостаз міоцитів матки

Оскільки скорочення міоцита матки, як і

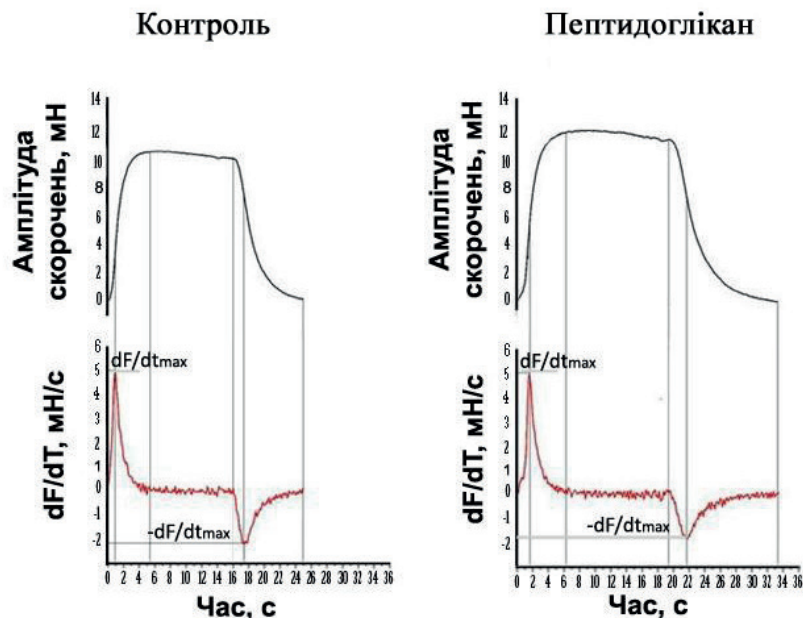


Рис. 2. Зміна першої похідної скорочення та розслаблення смужки міометрія невагітних шурів під дією пептидоглікану. На верхньому графіку – типовий запис поодинокого скорочення в контролі та на 30-й хвилині дії пептидоглікану; на нижньому графіку – перша похідна швидкості скорочення та розслаблення в контролі та на тлі дії пептидоглікану

м'язових клітин інших органів, починається з деполяризації його мембрани, а за виникненням потенціалу дії відкриваються потенціалкервані кальцієві канали, ми перевірили чи зміниться характер скорочень міометрія у відповідь на аплікацію пептидоглікану за умов попередньої деполяризації мембрани гіперкалієвим розчином. У відповідь на деполяризацію нервових закінчень при аплікації гіперкалієвого розчину Кребса ($[K^+]_i = 60$ ммоль/л) вивільнюються нейромедіатори. Для того щоб виключити їхній вплив на ГМК матки, смужки міометрія були попередньо оброблені блокатором α -адреноблокатором фентоламіном (10 мкмоль/л), β -адреноблокатором пропрано-

лолом (10 мкмоль/л) та м-холіноблокатором атропіном (1 мкмоль/л; рис. 4).

Дія пептидоглікану призводила до зростання фазного компонента гіперкалієвої контрактури на $18,0 \pm 3,5\%$ ($n = 9$, $P < 0,05$; рис. 4). Оскільки стимуляція пептидогліканом скорочень міометрія відбулася на тлі вже відкритих потенціалкерваних кальцієвих каналів, ми припустили, що він спричинив вивільнення Ca^{2+} з внутрішньоклітинного кальцієвого депо міоцитів матки. Вплив пептидоглікану на вивільнення Ca^{2+} із СР описано в нашій попередній праці [17].

У наступній серії експериментів ми дослідили дію пептидоглікану на тлі карба-

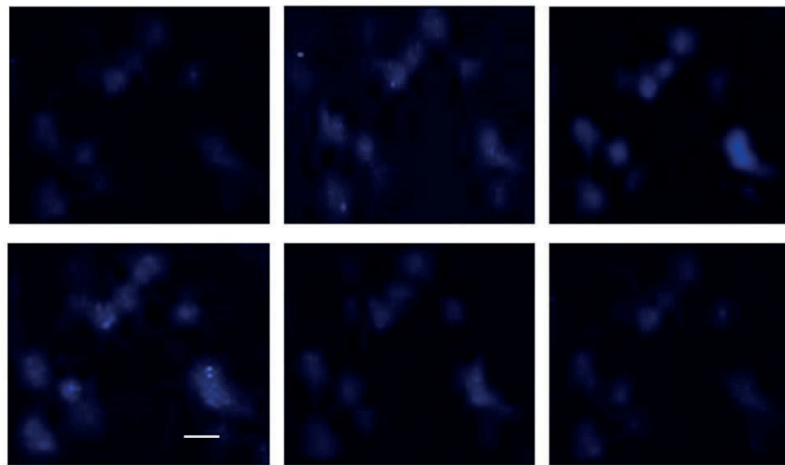
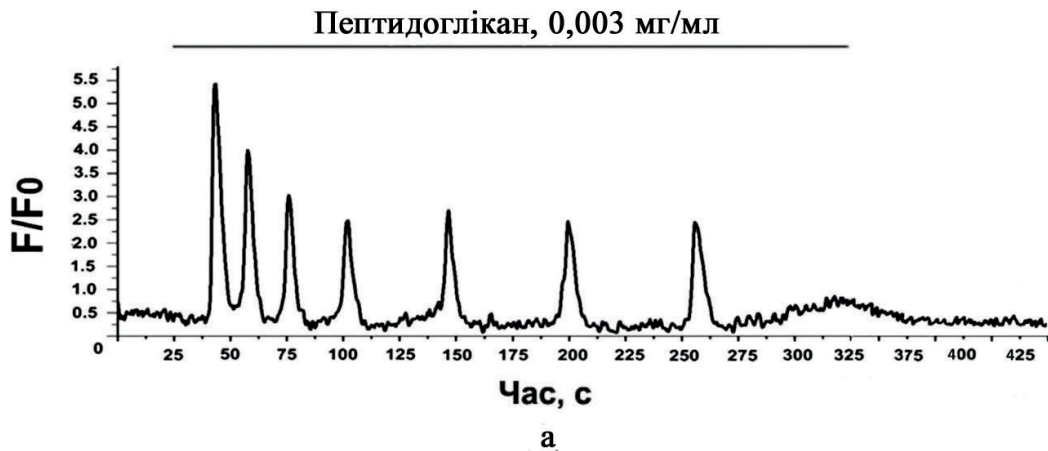


Рис. 3. Вплив пептидоглікану на кальцієвий сигнал у гладеньком'язових клітинах(ГМК) міометрія. На а – періодичне збільшення внутрішньоклітинного вмісту кальцію; на б – зміна флюоресценції завантаженої Fluo4 ГМК міометрія з 38-ї по 51-ту секунду дії пептидоглікану

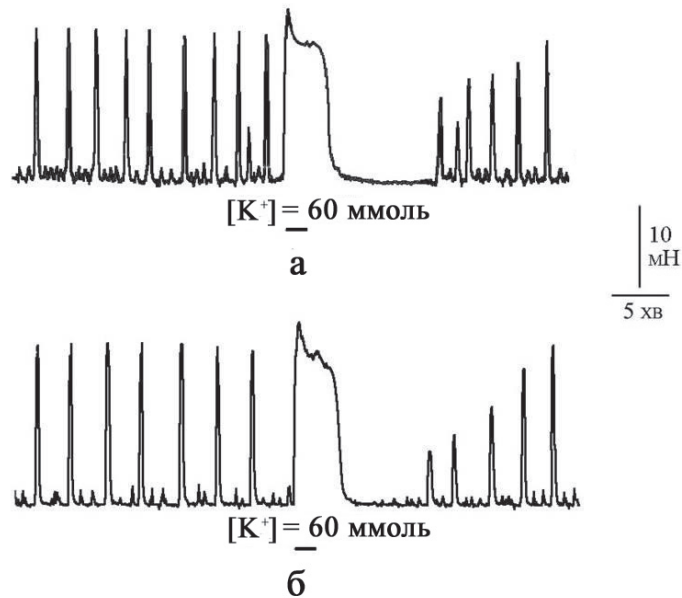


Рис. 4. Вплив пептидоглікану на фазний і тонічний компоненти індукованого гіперкалієвим розчином Кребса спонтанних скорочень міометрія щурів: а – контроль; б – дія пептидоглікану

холіну, який викликає підвищення внутрішньоклітинного вмісту кальцію завдяки вивільненню його із СР [15]. На смужках міометрія щурів, в наших експериментах, дія пептидоглікану підсилювала початкове тонічне скорочення на $30 \pm 5\%$ ($n = 5$, $P < 0,05$) і наступні фазні скорочення на $35 \pm 7\%$ ($n = 5$, $P < 0,05$), викликані дією карбахоліну (рис. 5). Додатковий стимульований ефект

пептидоглікану в умовах виснаженого СР карбахоліном вказує, на нашу думку, на те, що він активує надходження позаклітинного кальцію.

Для підтвердження такого припущення була проведена наступна серія експериментів, присвячена вивченню впливу пептидоглікану на тлі заблокованих потенціалкерованих кальцієвих каналів L-типу. Прикладання

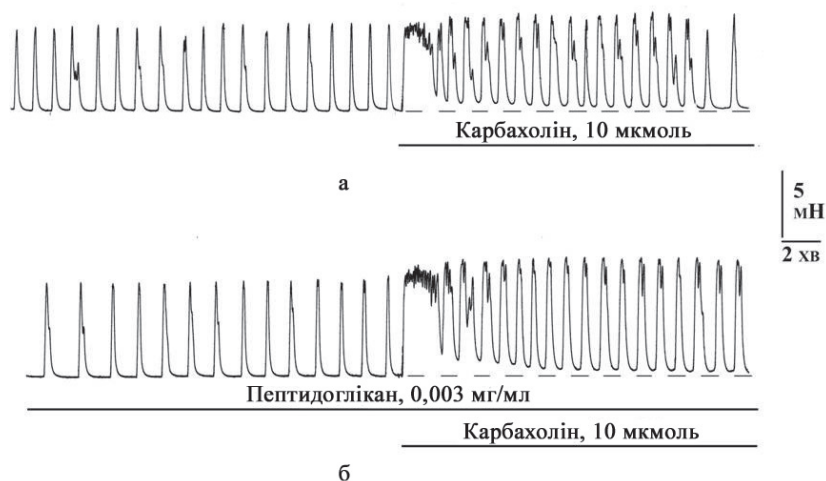


Рис. 5. Дія пептидоглікану (10^{-3} мг/мл) на посилені карбахоліном (10 мкмоль/л) скорочення гладеньких м'язів міометрія щурів: а – контроль; б – 30-та хвилинка дії пептидоглікану. Пунктирна лінія під кривою скорочення позначає рівень базального тону

блокатора цих каналів ніфедипіну викликало поступове пригнічення спонтанної скоротливості міометрія до ледь помітних хвиль на міограмі. Аплікація пептидоглікану за таких умов спричинила одноразове скорочення за 10 хв. Його тривалість не відрізнялась від контролю, однак амплітуда становила $8 \pm 0,36\%$ ($n = 10$, $P \geq 0,05$) від такої контрольних спонтанних скорочень. Прикладання ніфедипіну на тлі посиленої пептидогліканом спонтанної скоротливості міометрія призвело до поступового пригнічення скорочень міометрія. Базальний тонус м'язової смужки теж зменшився на тлі дії ніфедипіну (рис. 6). На нашу думку, одноразове скорочення міометрія за умов пригніченої ніфедипіном скоротливості (рис. 6,а) пов'язане з викликаним дією пептидоглікану вивільненням кальцію із внутрішньоклітинного кальцієвого депо, а саме із СР. Проте відсутність кальцієвого транспорту через потенціалкервані кальцієві каналів L-типу робить неможливим наступні скорочення. Те саме доводять результати, представлені на рис. 6,б: тривалий стимулювальний ефект пептидоглікану, викликаний, очевидно, вивільненням іонів кальцію із СР, неможливий за умов заблокованих потенціалкерваних кальцієвих каналів L-типу.

Результати наших експериментів свідчать, що дія пептидоглікану у модулює скоротливість міометрія невагітних щурів через

безпосередню взаємодію з ГМК матки. Його аплікація впливала на основні параметри, що характеризують скоротливу активність міометрія (силу, частоту і тривалість маткового циклу), в тому числі й на базальний тонус. Збільшення амплітуди та тривалості скорочень, але зниження базального тону су міометрія, викликані аплікацією пептидоглікану, на нашу думку, пов'язане з тим, що фазне та тонічне скорочення міометрія регулюються різними механізмами та один й той самий стимул може мати протилежні ефекти на них. Тому, вочевидь, дія пептидоглікану викликає стимуляцію фазних, але пригнічення тонічних скорочень. Механізм його впливу на базальний тонус міометрія нами досліджується та ще до кінця не з'ясований.

Крім того, дія пептидоглікану змінювала співвідношення фаз поодинокого скорочення. Тривалість систоли скорочення стала на 10,9% довша, ніж у контролі, тоді як фаза розслаблення смужки міометрія тривала на 56,7% довше. Тобто під впливом пептидоглікану міометрій відносно швидко скорочувався та повільно розслаблювався, за рахунок чого, переважно, зростала тривалість скорочень.

Аплікація пептидоглікану спричиняла періодичне підвищення внутрішньоклітинного вмісту кальцію в ізольованих ГМК невагітної матки, тобто стимуляція скоротливості

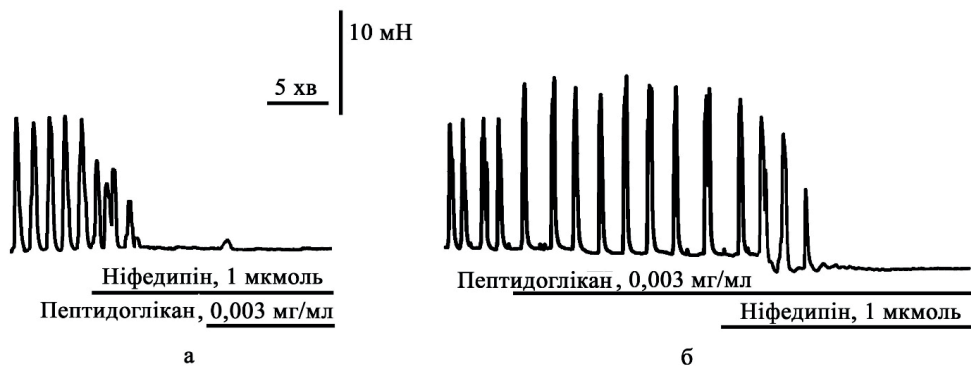


Рис. 6 .Ефект пептидоглікану на тлі дії ніфедипіну. На а – аплікація пептидоглікану викликає одноразове скорочення міометрія за умов пригніченої ніфедипіном скоротливості; на б – ніфедипін пригнічує посилені пептидогліканом скорочення міометрія

міометріячим структурним компонентом бактеріальної стінки викликана його дією саме на гладенькі міоцити матки.

Враховуючи отримані нами експериментальні результати, можна заключити, що в основі модуляції маткової скоротливості пептидогликану є декілька механізмів: підвищення внутрішньоклітинного вмісту кальцію через його вивільнення з інозитолчутливого кальцієвого депо, посилення трансмембранного надходження через потенціалкервані кальцієві канали L-типу та, можливо, через депокеровані іонні канали.

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.

Л.С. Насибян, Г.В. Соткис, О.М., Цугорко, И.Б. Филиппов, Я.Н.Шуба

ПЕПТИДОГЛИКАН ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛАКОККА ИЗМЕНЯЕТ СОКРАТИТЕЛЬНУЮ МИОМЕТРИЮ НЕБЕРЕМЕННЫХ КРЫС ПУТЕМ ПОВЫШЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ КАЛЬЦИЯ

Работа посвящена исследованию механизма влияния пептидогликана золотистого стафилококка на амплитудно-кинетические параметры сокращений миометрия. Исследование проводили методами тензометрии и кальциметрии. Результаты экспериментов показали, что действие пептидогликана модулирует все основные параметры сокращений матки небеременных крыс, в том числе увеличивая их амплитуду и длительность на 10 и 30% соответственно, в основном за счет удлинения фазы расслабления (на $56,7 \pm 1,6\%$): полоска миометрия относительно быстро сокращалась и долго расслаблялась. Аппликация пептидогликана на свежееизолированные миоциты матки в течение 5 мин приводила к периодическому повышению в них внутриклеточного содержания ионов кальция, усиливалось сокращение миометрия, вызванное действием гиперкалиевого раствора в концентрации 60 ммоль/л. Приложения 1 мкмоль/л нифедипина, блокатора потенциалуправляемых кальциевых каналов L-типа, подавляли спонтанные сокращения, усиленные влиянием пептидогликана. Указанные изменения сократимости миометрия на фоне действия пептидогликана происходят

не только благодаря усилению трансмембранного поступления кальция, но и его мобилизации из саркоплазматического ретикулула.

Ключевые слова: миометрий; сократимость миометрия; пептидогликан; золотистый стафилококк; внутриклеточное содержание кальция.

L.S. Nasibian, H.V. Sotkis, O.M. Tzugorko, I.B. Philippov, Ya.M. Shuba

PEPTIDOGLYCAN OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ALTERS THE MYOMETRIAL CONTRACTILITY OF NON-PREGNANT RATS THROUGH INCREASING INTRACELLULAR CALCIUM LEVELS

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology of NAS of Ukraine, Kyiv; e-mail: 1602lilit@gmail.com

The work is devoted to the study of the effect of Staphylococcus aureus peptidoglycan on the main parameters of myometrial contractions and the mechanism of this influence. The research was carried out by tensometry and calcimetry methods. The results of the experiments demonstrated that peptidoglycan modulates all the main parameters of contractions of the non-pregnant rat uterus, including increasing their amplitude and duration by 10 and 30%, respectively, mainly by prolonging the relaxation phase ($56.7 \pm 1.6\%$): myometrial band relative to quickly shrunk and relaxed for a long time. Application of peptidoglycan on freshly isolated uterine myocytes for 5 min led to a periodic increase in their intracellular content of calcium ions. Peptidoglycan enhanced myometrial contractions caused by hyperpotassium solution at a concentration of 60 mmol. Administration of 1 μ mol of nifedipine, a blocker of potential-directed L-type calcium channels, suppressed spontaneous contractions enhanced by peptidoglycan. These changes in myometrium contractility of on the background of peptidoglycan action occur not only due to increased transmembrane calcium intake, but also its mobilization from the sarcoplasmic reticulum.

Key words: myometrium; myometrial contractility; peptidoglycan; Staphylococcus aureus; intracellular calcium level.

REFERENCES

1. Wheeler R, Chevalier G, Eberl G, GompertsBoneca I. The biology of bacterial peptidoglycans and their impact on host immunity and physiology. Cell Microbiol. 2014 Jul;16(7):1014-23.
2. Ruiz N. Lipid flippases for bacterial peptidoglycan biosynthesis. Lipid Insights. 2016 Jan 13;8(Suppl 1):21-31.
3. Bertsche U, Mayer C2, Götz F, Gust AA. Peptidoglycan perception-sensing bacteria by their common envelope structure. Int J Med Microbiol. 2015 Feb;305(2):217-23.
4. Wheeler R, Chevalier G, Eberl G, GompertsBoneca I.

- The biology of bacterial peptidoglycans and their impact on host immunity and physiology. *Cell Microbiol.* 2014 Jul;16(7):1014-23.
5. Ghiasi M, Fazaeli H, Kalhor N, Sheykh-Hasan M, Tabatabaei-Qomi R. Assessing the prevalence of bacterial vaginosis among fertile women of Qom city. *Iran J Microbiol.* 2014;6:404-8.
 6. Watanabe T, Asano N, Murray PJ, Ozato K, Taylor P, et al. Muramyl dipeptide activation of nucleotide-binding oligomerization domain 2 protects mice from experimental colitis. *J Clin Invest.* 2008;118:545-59.
 7. Davidovskaya T, Philippov I, Tsybalyuk O, Davidovskaya N, Miroshnichenko M, Shuba M. Influence of *Staphylococcus aureus* active substance on the voltage-operated Ca^{2+} channels of the smooth muscle cells and on the enzymatic activity on the smooth muscle enzymes. Abstract of the 3rd Meeting of the European Pharmacological Societies.
 8. Allport VC, Pieber D, Slater DM, Newton R, White JO, Bennett PR. Human labour is associated with nuclear factor-kappa B activity which mediates cyclooxygenase-2 expression and is involved with the functional progesterone withdrawal. *Mol Hum Reprod.* 2001;7(6):581-6.
 9. Olson DM. The role of prostaglandin in the initiation of parturition. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003;17:717-30.
 10. Young RC, Smith LH, McLaren MD. T-type and L-type calcium currents in freshly dispersed human uterine smooth muscle cells. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169:785-92.
 11. Rudakova EB, Mozhovej SI, Pilipenko MA. Chronic endometritis: from improving the diagnostic approach to optimize treatment. *Lechaschiivrach.* 2008;(10):6-10. [Russian].
 12. Laptev BI, Bogomaz SA, Kulagin EM, Afanasiev SA, Prokofiev WA. A method of determining substances cardiotropic activity. USSR patent SU 1635133A1. 1991 [Russian]. Fazeli A, Bruce C, Anumba DO. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. *Hum Reprod.* 2005 20;(5):372-1378.
 13. Gullam JE, Blanks AM, Thornton S, Shmygol A. Phase-plot analysis of the oxytocin effect on human myometrial contractility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009;144:20-4.
 14. Davidovskaya T, Philippov I, Tsybalyuk O, Davidovskaya N, Miroshnichenko M, Shuba M. Influence of *Staphylococcus aureus* active substance on the voltage-operated Ca^{2+} channel of the smooth muscle cells and on the enzymatic activity on the smooth muscle enzymes. Abstract of the 3rd Meeting of the European Pharmacological Societies; 2001. 15(1):42.
 15. Caras Yu M. Diagnosis of uterine contractions activity of the uterus during labor. *Medicine.* 1982;24:224. [Russian].
 16. Nasibyan LS, Philippov IB, Shuba YM. Peptidoglycan modulates rat myometrial contractility via Ca^{2+} release from SR. *Fiziol Zh.* 2019;65(4):66-72.

*Матеріал надійшов
до редакції 01.09.2020*