

Л.С. Насібян, І.Б. Філіппов

## Модуляція скорочення міометрія щурів пептидогліканом клітинної стінки золотистого стафілокока

Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; E-mail: phil@biph.kiev.ua

*Вивчено вплив компонента клітинної стінки золотистого стафілокока пептидоглікану (0,003 мг/мл) на динаміку скоротливої активності міометрія невагітних самиць щурів після прийому естрогену та після моделювання псевдовагітності. Показано, що чутливість міометрія щурів до пептидоглікану залежить від гормонального фону. Цей компонент модифікує спонтанну скоротливу активність матки як невагітних, так і псевдовагітних щурів. У тварин після введення естрогену він зменшує тривалість і частоту скорочень міометрія (подовжує матковий цикл), тоді як у псевдовагітних щурів збільшується не тільки амплітуда, але і тривалість та частота скорочень (зменшує матковий цикл). Доведено, що пептидоглікан відносно простагландину F<sub>2α</sub> (10 мкмоль/л) є більш потужним утеротоніком. Зроблено висновок, що зміни скоротливої активності міометрія під дією цього компонента можуть впливати на фертильність та на перебіг вагітності.*

*Ключові слова: міометрій, скорочувальна активність, золотистий стафілокок, пептидоглікан, псевдовагітність.*

### ВСТУП

Запальні захворювання органів малого тазу є найбільш частою причиною порушення репродуктивного здоров'я жінок, створюючи серйозну медичну, соціальну та економічну проблеми в усьому світі. В основному, вони мають інфекційну природу, специфічну або неспецифічну. Структура збудників інфекційних процесів за останні роки на тлі погіршення екологічного стану, урбанізації суспільства, широкого розповсюдження інфекцій, що передаються статевим шляхом, збільшення числа імунодефіцитних станів, кількості внутрішньо-маткових маніпуляцій (у тому числі абортів), частого безконтрольного застосування антибіотиків помітно змінилася, що пов'язано з постійною еволюцією бактерій і включенням у патологічні процеси умовно-патогенних мікроорганізмів і мікстінфекції [1–4].

Під час вагітності інфекційно-запальні захворювання мають деякі особливості: в умовах природного пригнічення імунітету при

© Л.С. Насібян, І.Б. Філіппов

наявності позаматкових вогнищ хронічного запалення посилюється вірогідність інфікування матки; перебіг більшості таких захворювань латентний або субклінічний, що ускладнює своєчасну діагностику та лікування; активація персистуючої інфекції можлива при порушенні будь-якого показника гомеостазу в організмі вагітної; плод може інфікуватися як при гострому інфекційному захворюванні матері, так і при активації хронічних форм [5].

Лише в 5 % випадків інфекція проникає в ендометрій з екстрагенітальних вогнищ гемато-генним, лімфогенним або низхідним шляхами, в інших випадках збудники потрапляють у матку висхідним шляхом із піхви після внутрішньо-маткових маніпуляцій. Серед неспецифічних збудників найчастіше запалення внутрішніх статевих органів спричинюють стрептококи групи В, стафілококи, кишкова паличка та віруси [6]. Існують дані про те, що внутрішньо-маткова інфекція може ускладнити пологи, викликати переривання вагітності та передчасні пологи без видимих ознак інфекції [7–9].

Золотистий стафілокок не входить до складу нормальної мікрофлори зовнішніх статевих органів, але він часто в невеликій кількості виділяється з піхви здорових жінок. Тому сам факт виділення стафілокока не свідчить про патологію. Патогенні його властивості проявляються при імунодепресивних та імунодіфіцитних станах жінки, тривалій внутрішньоматковій контрацепції, невиліковному бактеріальному вагінозі з м'яким перебігом, променевої терапії органів малого тазу, вагітності [6, 10]. Ключовим компонентом клітинної стінки грам-позитивних (в тому числі золотистого стафілокока), грам-негативних і мікобактерій є пептидоглікан (ПГ), який забезпечує підтримання цілісності плазматичної мембрани. Крім того, він – основний фактор патогенності цих бактерій. Його вивільнення під час росту або руйнування клітинної стінки мікроорганізму розповсюджується течією крові абсорбується на клітинах-мішенях та ініціює адаптивні імунні реакції. Саме з дією ПГ пов'язують розвиток виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, виразковий коліт і хворобу Крона, реактивний артрит [11, 12].

ПГ золотистого стафілокока може викликати запальну реакцію [13]. При інтраперитонеальному введенні експериментальним тваринам стимулює напрацювання макрофагами та моноцитами прозапальних цитокинів і хемокинів (фактор некрозу пухлин- $\alpha$ , інтерлейкін-1, інтерлейкін-6 та інтерлейкін-8), максимальний пік яких при грам-позитивній інфекції спостерігають на 50–75-ту годину після інфікування [14]. При запаленні, викликаному ПГ грам-позитивних і грам-негативних бактерій, експресія інтерфероніндуцибельних генів не відбувається [13]. Для стимуляції клітинної відповіді *in vitro* потрібна значно більша, порівняно з ліпополісахаридами грам-негативних бактерій, концентрація ПГ – 0,001 до 0,005 мг/мл [15, 16]. Наприклад, для ліпополісахаридів *Escherichia coli* вона становить у середньому 100 нг/мл [13]. ПГ утворює впорядковану структуру комірчастої

будови, яка складається з N-ацетилглюкозаміну та N-ацетилмурамової кислоти, з'єднаних  $\beta$ -1,4-глікозидними зв'язками. Залишки N-ацетилмурамової кислоти зшиті між собою за допомогою коротких пептидів. Типовий пептидний ланцюг містить L-аланін, D-глутамінову кислоту, мезо-діамінопімелінову кислоту (DAP), L-лізин, D-аланін [17]. Така тривимірна структура надає клітинній стінці бактерій міцність і захист від осмотичного лізису. Грампозитивні бактерії у другій позиції ланцюга пептидної субодиниці містять лізин, у той час як у грам-негативних – DAP. Важливо, що ці пептидні субодиниці містять DAP і D-ізомери амінокислот, що не характерно для еукаріотів.

Мета цієї роботи – дослідити вплив ПГ на скоротливу активність міометрія шурів, які отримували препарат естрогена, а також псевдовагітних тварин.

## МЕТОДИКА

Експерименти проводили на смужках міометрія статевозрілих самиць шурів лінії Вістар масою 200–250 г при дотримуванні положень Конвенції з біоетики Ради Європи [Страсбург, 1986].

*Створення гормонального фону.* Щурам протягом 2 діб перорально вводили препарат 17- $\beta$ -естрадіолу («Schering», Німеччина) в дозі 1 мкг на тварину. Потім їх розділили на три групи (по 10 шурів у кожній): до I увійшли щури, які отримували тільки 17- $\beta$ -естрадіол, II та III групи отримували медроксипрогестерон («Пфайзер», Бельгія) в дозі 0,2 мг на тварину протягом 14 і 22 діб відповідно. Саміці III групи вводили медроксипрогестерон протягом 22 діб, що відповідає середній тривалості вагітності у шурів. Використана послідовність введення спочатку 17- $\beta$ -естрадіолу створює високий вміст рецепторів прогестерону, який зумовлює подальші зміни морфології матки. Такий підхід дає можливість відтворити повну морфологічну картину вагітної матки

з характерною для неї функціональною проліферацією ендометрію, гіпертрофією міометрія та утворенню щільних контактів між гладеньком'язовими клітинами (ГМК) [18].

*Підготовка смужок міометрія та вимірювання скорочення.* Усіх тварин наркотизували ефіром і декапітували. Роги матки швидко видаляли та поміщали в оксигенований (95 % O<sub>2</sub> і 5 % CO<sub>2</sub>) розчин Кребса (ммоль/л): NaCl – 120,4; KCl – 15,9; CaCl<sub>2</sub> – 1,8; MgCl<sub>2</sub> – 1,2; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2; NaHCO<sub>3</sub> – 15,5; глюкози – 11,5 (pH 7,4; 37 °C). Потім їх розрізали уздовж, очищали від сполучної тканини та ендометрію і нарізали смужки довжиною 0,7–1,0 см, шириною 0,2–0,3 см, які поміщали в проточну камеру з одним кінцем зафіксованим нерухомо, а другим – прикріпленим до емнісного датчика сили з базовим навантаженням 3 мН. Скоротливу активність записували через аналогово-цифровий перетворювач на комп'ютер і паралельно на чорнильний самописець.

Про характер скоротливої діяльності ГМ матки й впливу на неї ПГ судили за середньою частотою й амплітудою скорочень протягом 10 хв, їх тривалістю, пауз між ними, матковим циклом, а також за індексом активності скорочень (відношення тривалості скорочень до тривалості пауз між ними). Також визначали середню швидкість наростання скорочення  $T_{\max}/t$ . Цей показник характеризує ступінь координації між ГМК у стінці матки [19]. Його розраховували за амплітудами 3 циклів скорочень, поділених на час, необхідний для досягнення максимальної амплітуди скорочення [20]. Визначали коефіцієнт асиметрії (відношення тривалості систоли до тривалості діастоли скорочення). Скоротливу активність матки оцінювали в одиницях Монтевідео (MU) і в Олександрійських одиницях (OU). MU визначали як добуток середньої амплітуди й частоти скорочення за 10 хв [21]. OU є модифікацією одиниць MU і визначаються як добуток значень MU й середньої тривалості скорочень за 10 хв [22]. Застосовують OU у разі, коли тривалість циклів маткових скорочень змінюється.

Оцінювали вплив ПГ на потоки кальцію до міоплазми ГМК міометрія за методом Лаптева та співав. [23]. Для цього визначали максимальні швидкості наростання напруження ( $dP/dt_{\max}$ ) та розслаблення ( $dP/dt_{\min}$ ) до і після дії досліджуваного препарату, потім розраховували приріст швидкості напруження й швидкості розслаблення м'яза відношенням цих показників. Залежно від співвідношення отриманих результатів судили про механізм дії речовини на м'яз.

Усі досліджувані речовини були від фірми «Sigma-Aldrich» (США). ПГ розводили 0,9%-м розчином NaCl в концентрації 2 мг/мл і додавали до розчину Кребса в концентрації 0,003 мг/мл. Простагландин F2 $\alpha$  розводили в базовій концентрації етанолу 20 ммоль/л і додавали до розчину Кребса в концентрації 10 мкмоль/л.

*Аналіз результатів і статистика.* Для кожного типу експерименту результати подавали у вигляді середнє  $\pm$  стандартна похибка середнього з позначенням числа смужок «n», на яких вони отримані. Статистичне порівняння контрольних значень показників і значень під впливом ПГ та простагландину F2 $\alpha$ , а також порівняння між групами проводили за допомогою критерію t Стьюдента, вважаючи відмінності з P<0,05 значущими.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

*Спонтанна скоротлива активність міометрія щурів за умов моделювання псевдовагітності.* Проведені експерименти показали, що спонтанна скоротлива активність міометрія щурів з модельованою псевдовагітністю та у тварин, які отримували лише препарат естрогену, різко відрізняються (рис. 1). Насамперед це виражалось в зміні сили та частоти скорочень, а також зміні структури скоротливого акта. У порівнянні з тваринами контрольної групи амплітуда спонтанних скорочень міометрія на 14-ту добу псевдовагітності зменшувалася в середньому на 80 %. На 20–22-ту добу вона була дещо відмінна. Досліджувані

смужки міометрія протягом усього періоду врівноваження генерували періодичні спонтанні скорочення, амплітуди яких були менші у середньому на 16 % порівняно з контролем.

Частота скорочень теж зменшувалася: якщо смужки міометрія щурів I групи скорочуються в середньому 7 разів за 10 хв, то у тварин II і III груп їхня частота була меншою в се-

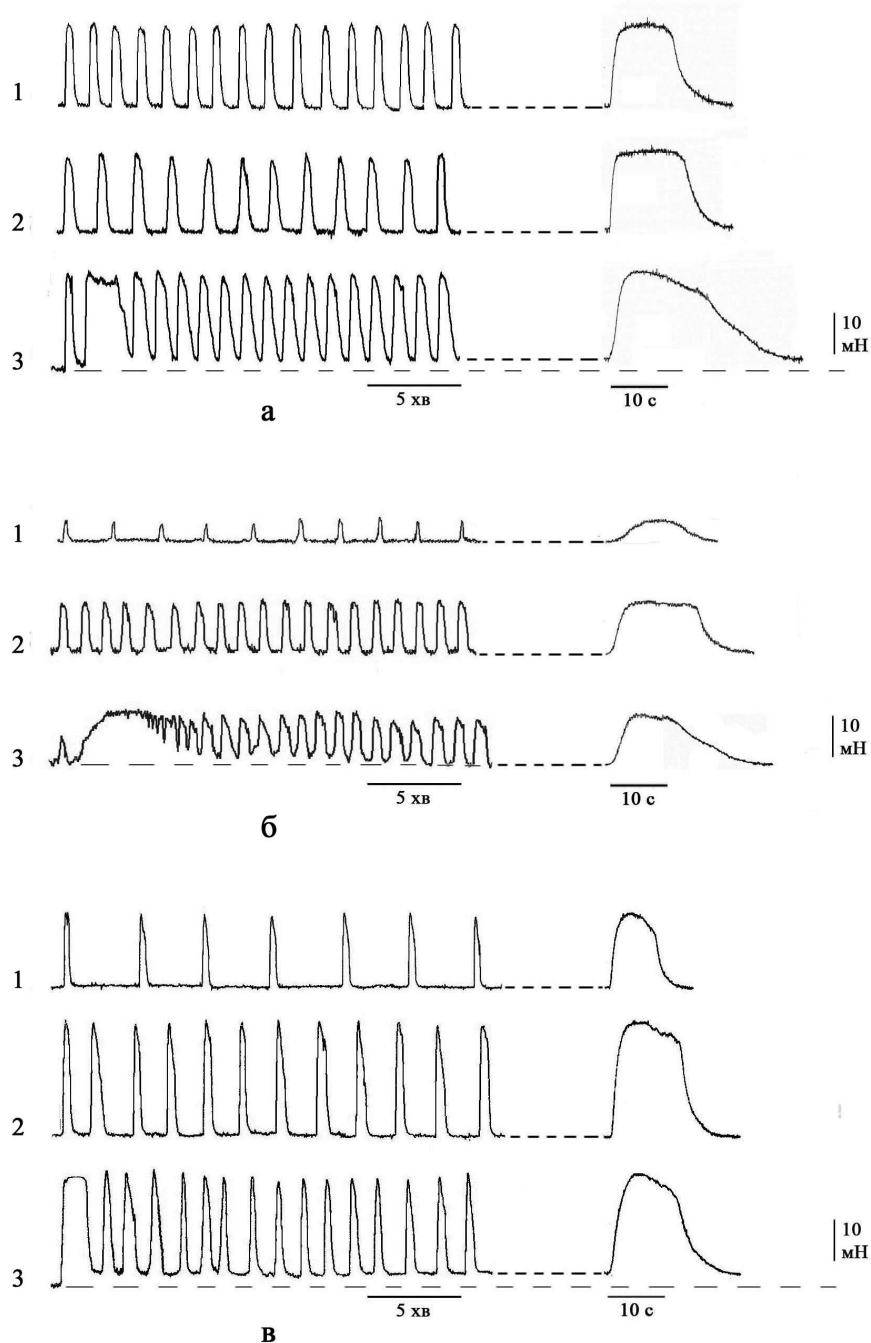


Рис. 1. Спонтанна скоротлива активність міометрія щурів під дією пептидоглікану та простагландину F2α. Тварини, яким вводили препарат естрогену (а), щури на 14-ту (б) та 20-ту (в) добу псевдовагітності. 1 – спонтанна активність; 2 – скорочення під впливом пептидоглікану; 3 – скорочення під впливом простагландину F2α. Пунктирна лінія під кривою скорочення – вихідний тонус

редньому на 30 і 50 % відповідно. Її зниження зумовлено значним збільшенням тривалості маткового циклу. Треба зазначити, що моделювання псевдовагітності призводить до різких змін структури скоротливого циклу, а саме до змін співвідношень фаз скоротливого акта: тривалості скорочень до тривалості пауз між ними. Таке співвідношення або індекс активності цих показників для тварин I групи має значення  $0,72 \pm 0,03$  ум.од., а для II та III –  $0,15 \pm 0,01$  і  $0,14 \pm 0,01$  ум.од. відповідно. Тобто за умов моделювання псевдовагітності його значення зменшується в середньому на 80 %. Також знижується і потужність маткових скорочень у тварин цих груп порівняно з тваринами I групи, на що вказує збільшення значень коефіцієнта асиметрії (таблиця). Різниця в скоротливості матки між трьома групами тварин демонстративно проявляється при зіставленні показників скоротливих індексів: MU і AU. Для тварин II і III груп MU зменшувалися в середньому на 84 і 42 %, а AU – на 88 і 42 % відповідно.

*Вплив ПГ на спонтанну скоротливу активність міометрія щурів.* ПГ модифікував спонтанну скоротливу активність міометрія щурів усіх груп. Він впливав на силу, частоту та тривалість маткового циклу. Слід зазначити, що дія ПГ на міометрій I, II та III груп тварин неоднакова (див. таблицю, рис. 1). Реєстрація скоротливої активності міометрія щурів I групи показала, що на 30-й хвилині дії ПГ сповільнював її функціональну активність: зменшував частоту, амплітуду і тривалість скорочень у середньому на 19; 4,5 та 15 % відповідно, а їхню тривалість збільшував у середньому на 110 %. Різницю скорочення матки під дією ПГ і контрольним значенням добре видно при зіставленні показників індексу активності скорочень і скоротливих індексів. Індекс активності скорочень зменшувався в середньому на 60 %, а MU і AU – на 22 і 33 % відповідно. Зовсім по-іншому ПГ впливає на спонтанну скоротливу активність міометрія псевдовагітних тварин. Характерною рисою є виражене її

посилення. У тварин II і III груп на дію ПГ відносно контрольного значення збільшувалася частота скорочень в середньому на 45 і 58 %, тривалість скорочень – на 114 та 38 %, амплітуда скорочень – на 90 і 60 % відповідно, тоді як тривалість маткового циклу зменшувалася тільки у тварин III групи в середньому на 48 %. Індекс активності скорочень збільшився в середньому в 5,7 і 3,7 рази відповідно, тоді як MU і AU – 194 і 152 % та 297 і 47 % відповідно. Для тварин усіх груп зареєстровано значне зростання швидкості досягнення максимуму скорочення порівняно з контролем.

Таким чином, отримані результати показують, що чутливість міометрія щурів до ПГ залежить від гормонального статусу тварин. Він модифікує спонтанну скоротливу активність матки щурів як контрольної групи, так і псевдовагітних щурів без впливу на базальний тонус ГМ. Викликані ним зміни скоротливої активності міометрія в трьох групах тварин різні. У тварин I групи ПГ більшою мірою впливає на тривалість пауз між скороченнями (призводить до зменшення частоти), ніж на тривалість самих скорочень (див. таблицю; рис. 1,а,б). Для тварин II і III груп реакція включає зростання сили, тривалості та частоти скорочень (див. таблицю; рис. 1,б,в).

*Порівняльна дія простагландину F2 $\alpha$  та ПГ на скорочення міометрія щурів.* Ми порівняли дію ПГ на скорочення гладеньких м'язів матки з простагландином F2 $\alpha$ . Відомо, що він здатний усувати прогестеронову блокаду [24], викликаючи передчасні пологи [25] через підсилення скоротливої діяльності матки, що проявляється у збільшенні частоти, амплітуди та тривалості скорочень ГМ матки. У тварин I–III груп простагландин F2 $\alpha$ : збільшував частоту в середньому на 26, 110, 110 % і зменшував тривалість пауз між скороченнями смужок міометрія в середньому на 40, 35, 72 % відповідно відносно контролю. У зв'язку з цим значення скоротливих індексів на його дію були дещо більшими порівняно



**Скоротлива активність міометрія щурів, що піддавалися естрогенізації та «псевдовагітних» щурів під дією пептидоглікану та простагландину F<sub>2α</sub>. ( M± m, n=15). \*P<0,05 порівняно з контрольним значенням; \*\*P<0,05 вірогідність щодо ефекту простагландину F<sub>2α</sub>**

Показники, схема досліджу	Контроль	Простагландин F <sub>2α</sub>	Пептидоглікан
Частота, 10 хв <sup>-1</sup>			
щури після естрогенізації	7,04±0,35	8,89±0,36*	5,70±0,29*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	5,00±0,00	10,50±0,50*	7,50±0,50*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	3,50±0,75	7,18±0,27	5,40±0,50
Амплітуда скорочення, мН			
щури після естрогенізації	19,59±0,98	18,64±1,28	18,80±0,80
псевдовагітні на 14-ту добу	4,45±0,26	7,00±0,15*	8,75±0,00*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	16,5 ±0,75	22,33±0,46	26,69±1,22
Тривалість систоли, с			
щури після естрогенізації	7,90±0,28	9,28±0,27*	7,00±0,35*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	8,50±0,26	15,00±0,03*	7,50±0,00*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	9,0±0,12	7,19±0,38 *	6,88±0,53*
Тривалість діастоли, с			
щури після естрогенізації	18,44±0,57	22,49±0,71*	14,40±1,97*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	9,00±0,06	21,84±1,48*	11,00±0,84**
псевдовагітні на 22-гу добу	12,10±0,42	11,12±0,87	10,05±0,99
Тривалість скорочення, с			
щури після естрогенізації	25,03±1,53	34,86±4,21*	21,40±1,69*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	19,00±1,01	36,17±1,17*	25,71±0,78*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	25,10±1,37	23,82±1,28	21,25±1,50
Тривалість пауз між скороченнями, с			
щури після естрогенізації	35,24±5,45	21,38±1,34*	72,50±12,71*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	70,90±4,08	47,63±1,77*	52,26±5,36*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	181,00±9,00	49,75±2,46*	72,50±4,29*,**
Тривалість маткового циклу, с			
щури після естрогенізації	60,27±4,03	56,21±3,17	93,90±6,40*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	83,24±4,60	83,80±3,79	77,97±3,55
псевдовагітні на 22-гу добу	196,80±6,55	73,57±2,16*	93,75±5,79*,**
Індекс активності скорочення, ум.од.			
щури після естрогенізації	0,72±0,03	1,63±0,06*	0,31±0,03*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	0,15±0,01	0,76±0,03*	0,85±0,03*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	0,14±0,01	0,47±0,03*	0,51±0,03*
Одиниці Монтевідео, ум.од.			
щури після естрогенізації	138,26±7,89	174,94±10,68*	107,54±5,79*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	22,25±0,75	73,45±1,11*	65,63±2,53*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	58,14±8,66	160,41±5,39*	146,19±12,99*
Олександрійські одиниці, ум.од.			
щури після естрогенізації	3474,48±319,86	6150,24±798,52*	2312,71±228,97*,**
псевдовагітні на 14-ту добу	423,26±21,20	2656,69±102,12*	1681,39±66,82*,**
псевдовагітні на 22-гу добу	1453,58±216,11	3814,54±187,46*	3119,58±286,05*,**

Примітка. \*P<0,05 порівняно з контрольним значенням; \*\* вірогідність щодо ефекту простагландину F<sub>2α</sub>.

з ПГ (див. таблицю). Слід зазначити, що скоротливі реакції смужок міометрія тварин цих груп на прикладання простагландину F2 $\alpha$  мають свої особливості, які насамперед стосуються змін базального тону – скорочення спостерігаються на тлі підвищеного тону. У тварин I та III груп він збільшується на  $2,29 \pm 0,19$  і  $2,54 \pm 0,57$  мН відповідно (див. рис. 1, а, в). Для смужок міометрія тварин II групи характерним було збільшення амплітуди скорочень з одночасним поверненням тону до вихідного рівня (див. рис. 1, б).

Обчислення коефіцієнта асиметрії [26] відображає потужність маткових скорочень: чим менше його значення, тим більша потужність. З таблиці і рис. 2 видно, що на прикладання ПГ і простагландину F2 $\alpha$  його значення у тварин I групи змінювалося статистично недостовірно відносно контролю ( $0,43 \pm 0,03$  ум.од.). Для тварин II і III груп коефіцієнт асиметрії зменшувався відносно контрольного значення ( $0,95 \pm 0,05$  ум.од. і  $0,91 \pm 0,06$  ум.од. відповідно) в середньому на 27 % ( $P < 0,001$ ), але не сягав контролю, отриманого для тварин I групи. Тобто, ПГ і простагландин F2 $\alpha$  однаковою мірою збільшували потужність маткових скорочень. На рис. 3 видно, що порівняно з контрольними

значеннями для тварин II та III груп ( $0,55 \pm 0,0$  і  $0,24 \pm 0,05$  мН/с відповідно) ( $T_{\max}/t$ ) найбільше зростає під дією ПГ ( $1,17 \pm 0,01$  і  $3,88 \pm 0,12$  мН/с відповідно), ніж простагландину F2 $\alpha$  ( $0,47 \pm 0,01$  і  $2,99 \pm 0,41$  мН/с відповідно). Слід зазначити, що  $T_{\max}/t$  підвищується під дією простагландину F2 $\alpha$  тільки у тварин III групи. Відмінність значень  $T_{\max}/t$  між ПГ та простагландином F2 $\alpha$ , можливо, пов'язана зі здатністю останнього підвищувати базальний тону і впливати на тривалість систоли скорочення.

Наведені результати дають можливість припустити, що ПГ змінює показники скорочення міометрія внаслідок модифікації процесів, що беруть участь у регуляції внутрішньоклітинного вмісту іонів кальцію в ГМК. Це підтверджується тим, що порівняльний аналіз фазової структури скорочення міометрія під дією ПГ і простагландину F2 $\alpha$ , який показав, що у тварин II–III груп більшою мірою змінювалася швидкість скорочення ( $dP/dt_{\max}$ ), порівняно зі швидкістю розслаблення ( $dP/dt_{\min}$ ). З рис. 4 видно, що приріст швидкості скорочення в усіх випадках має значення більше, ніж 1,0. Для I групи тварин цей показник трохи більше одиниці, тоді як для II і III він значно збільшується. Приріст

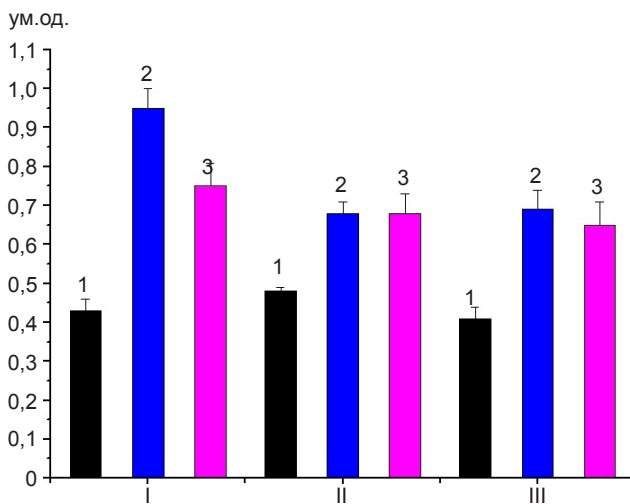


Рис. 2. Зміни коефіцієнта асиметрії під впливом пептидоглікану і простагландину F2 $\alpha$ . I – контроль; II – скорочення під впливом пептидоглікану; III – скорочення під впливом простагландину F2 $\alpha$ ; 1 – щури, яким вводили препарат естрогену; 2 і 3 – щури на 14-ту та 20-ту добу псевдовагітності відповідно

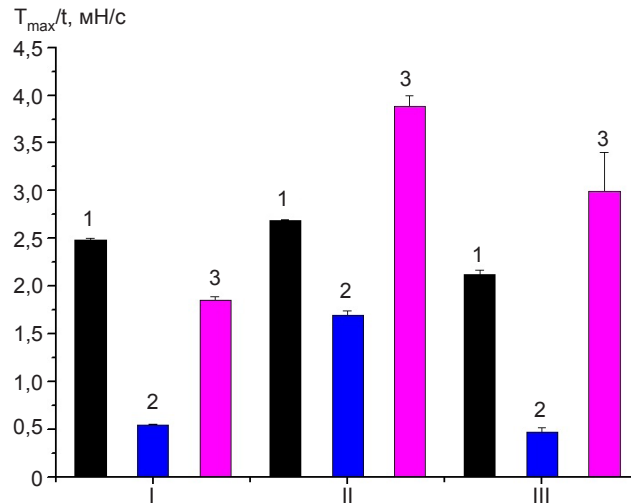


Рис. 3. Зміни середньої швидкості наростання скорочення на тлі дії пептидоглікану (II) і простагландину F2α (III). I – контроль; 1 – щури, після прийому препарату естрогену; 2 і 3 – щури на 14-ту та 20-ту добу псевдовагітності

швидкості розслаблення під дією ПГ і F2α для тварин I групи знаходиться в межах 1,0 (1,09±0,01 і 1,16±0,01 відповідно), для II групи він менше 1,0 (0,49 ± 0,15 і 0,58± 0,02 відповідно), і найбільший – для тварин III групи (1,69±0,11 і 1,41±0,06 відповідно). Таким чином, можна зробити припущення, що дія ПГ, і простагландину F2α більшою мірою пов'язана з активацією мобілізації кальцію з саркоплазматичного ретикулула,

ніж його надходженням до міоплазми через мембрану ГМК під час маткового скорочення. Тільки для тварин II групи активація скорочення обумовлена збільшенням мобілізації кальцію з саркоплазматичного ретикулула, при одночасному зменшенні надходження позаклітинного кальцію до ГМК.

Таким чином, наведені дані вказують на те, що ПГ здатен активувати механізми регуляції внутрішньоклітинного вмісту кальцію в ГМК

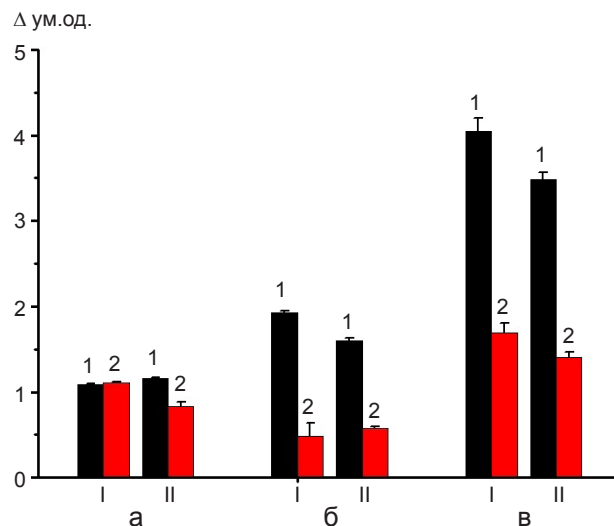


Рис. 4. Зміни приросту швидкості досягнення максимуму скорочення та розслаблення міометрія щурів під дією пептидоглікану (I) та простагландину F2α (II). а – щури, після прийому препарату естрогену; б і в – щури на 14-ту та 20-ту добу псевдовагітності. 1 – приріст швидкості скорочення; 2- приріст швидкості розслаблення



міометрія шурів, а також на відміну від простагландину F<sub>2α</sub> проявляє більш потужну утеротонічну дію на міометрій псевдовагітних шурів і може бути індуктором передчасних пологів.

Відомо, що стратегія розпізнавання мікроорганізмів ефекторами вродженого імунітету еукаріотів заснована на визначенні доменних структур, які називаються патогенасоційованими молекулярними образами (від англ. pathogen associated molecular pattern, PAMPs), а розпізнаються вони образ (патерн) розпізнавальними рецепторами (від англ. pattern recognition receptors, PRRs). ПГ розпізнається вродженою імунною системою за допомогою PAMPs родини сигнальних Toll-подібних рецепторів 2 (від англ. toll like receptors, TLR2), які локалізовані на плазматичній мембрані імунокомпетентних клітин [27]. Ці рецептори після зв'язування з лігандом зазнають конформаційних змін і формують молекулярний каскад передачі сигналу до ядра клітини, що призводить до транскрипції генів прозапальних цитокінів, молекул адгезії та костимулювальних молекул, які ініціюють розвиток адаптивної імунної відповіді. Реакція вродженого імунітету на продукти деградації ПГ відбувається внаслідок їхньої взаємодії з нуклеотидзв'язувальним олігомеризуючим доменом (від англ. nucleotide binding oligomerization domain, NOD), що локалізований внутрішньоклітинно. В середині клітини стрижнева складова частина (продукт деградації) ПГ зв'язується двома внутрішньоклітинними сенсорними протеїнами: Nod1 і Nod2. Останній взаємодіє з мураміддипептидом – фрагментом молекули, що є спільним для грамполозитивних і грамнегативних бактерій [28]. Nod1 розпізнає фрагмент ПГ DAP-типу та мінімальної фрагмент іЕ – DAP (D-γ – Glu-mDAP), що виявлений у грамнегативних і деяких штамах грамполозитивних бактерій [28]. NOD розпізнає PAMPs незалежно від участі TLRs, активує ядерний фактор κB та підсилює продукцію цитокінів і хемокінів. Експресія TLR2 виявлена в епітелії маткових (фалопієвих) труб, ендометрія,

шийки матки й піхви, а також ГМК шийки матки й піхви, клітинах строми ендометрія та маткових натуральних кілерах [27]. У кожному відділі жіночих статевих органів TLR експресовані нерівномірно. Їхня експресія залежить від фази менструального циклу та терміну вагітності [29]. Зміна секреції статевих гормонів з різних причин може впливати на стан імунореактивності жіночих статевих шляхів.

Нині достовірно відомо, що компоненти клітинної стінки золотистого стафілокока можуть впливати на механізми перерозподілу іонів кальцію в клітинах внаслідок впливу на його потенціал- і рецепторкерований шляхи надходження, функціонування внутрішньоклітинного кальцієвого депо, а також модифікувати білки скоротливого апарату ГМК шлунково-кишкового тракту [5, 30–32]. Також є відомості, що ПГ може впливати на механічні властивості міжклітинного сполучнотканинного матриксу стінки судин, що супроводжується зменшенням жорсткості (модуля еластичності) кондуктивних судин [33].

Механізм скоротливої активності міометрія визначається нейрогуморальною регуляцією скорочень ГМ за участю гормонів, медіаторів і біологічноактивних речовин, дія яких послаблюється або підсилюється залежно від терміну вагітності. ПГ, зв'язуючись з рецепторами вродженого імунітету, змінюватиме активність регуляторних протеїніназ, що врешті-решт посилить транскрипцію прозапальних генів [34], і, ймовірно, зміна в їх активності впливатиме на згаданий процес раніше, ніж прозапальні цитокіни і хемокіни. Тим більше, що запальний процес за його участі розвивається доволі повільно [19].

Наші експерименти показали, що характер впливу ПГ на скоротливу активність міометрія шурів залежить від гормонального фону. Так, у шурів, яким вводили лише препарат естрогену, ПГ гальмував цю активність міометрія внаслідок зменшення тривалості скорочення і збільшення тривалості маткового циклу. На противагу цьому він підсилював

скоротливість міометрія псевдовагітних щурів внаслідок зростання частоти й амплітуди скорочень, зменшення тривалості маткового циклу. Ці зміни в скоротливості ГМК матки будуть підсилюватися зі збільшенням терміну псевдовагітності.

Однією з характерних особливостей імунomodulatory бактеріального походження є здатність ініціювати клітинну відповідь незалежно від TLRs- і NOD-механізмів. Так, наприклад, мураміддипептид може викликати виражену нейрофармакологічну дію, яка опосередкована прямою активацією серотонінових рецепторів нервової та м'язової тканин. Цей ефект ПГ розглядають як побічну дію [35–38]. Не можна виключати і можливості активації продуктом його деградації мураміддипептидом певних підтипів метаботропних серотонінових рецепторів міометрія, що змінить характер скоротливої активності матки тварин, яким вводили препарат естрогену, або псевдовагітних тварин. Відомо, що серотонін здатен підсилювати скоротливість міометрія вагітних тварин на тлі активації аденілатциклазної регуляторної системи [39].

Проведена робота розширила уявлення про спектр фізіологічної активності ПГ. Вивчено його вплив на скоротливу активність ГМ матки щурів після введення їм естрогену, і щурів з модельною псевдовагітністю. Показано, що ПГ може впливати на скоротливу активність міометрія щурів. Його моделювальна дія на матковий цикл і спонтанну активність міометрія залежить від комбінації факторів (гормональний фон, термін псевдовагітності), які й визначають особливості скоротливої відповіді та сприяють формуванню того чи іншого варіанту поведінки матки. Зміни міометрія під дією ПГ можуть впливати не тільки на фертильність, а й перебіг вагітності.

*За підтримки Національної академії наук України і Державного фонду фундаментальних досліджень грант F46.2/001 (Державна ключова лабораторія).*

**Л.С. Насіб'ян, І.Б.Філіппов**

## **МОДУЛЯЦИЯ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИОМЕТРИЯ КРЫС ПЕПТИДОГЛИКАНОМ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА**

Изучено влияние компонента клеточной стенки золотистого стафилококка пептидогликана (0,003 мг/мл) на динамику сократительной активности миометрия эстрогенизированных и псевдобеременных самок крыс. Показано, что чувствительность миометрия крыс к пептидогликану зависит от гормонального фона. Этот компонент модифицирует спонтанную сократительную активность матки как животных после введения препарата эстрогена, так и псевдобеременных крыс. У небеременных самок пептидогликан уменьшает длительность и частоту сокращений миометрия (удлиняет маточный цикл), тогда как у псевдобеременных животных наблюдается не только увеличение амплитуды, но и длительности и частоты сокращений (уменьшает маточный цикл). Показало, что пептидогликан относительно простагландина F2 $\alpha$  (10 мкмоль/л) является более сильным утеротоником. Сделан вывод, что изменения в сократительной активности миометрия под действием пептидогликана может влиять не только на фертильность, но и на протекание беременности. Ключевые слова: миометрий, сократительная активность, золотистый стафилококк, пептидогликан, псевдобеременность.

**L.S. Nasibyan, I.B. Philyppov**

## **MODULATION OF RAT MYOMETRIUM CONTRACTILE ACTIVITY BY PEPTIDOGLYCAN OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS CELL WALL**

Peptidoglycan of *Staphylococcus aureus* cell wall impact on the both estrogen-treated and pseudopregnant rat myometrium contractile activity dynamics was studied. The results of experiments shown that rat myometrium sensitivity to peptidoglycan depends on the hormonal background. Peptidoglycan modified the myometrium contractile activity of both estrogen-treated and pseudopregnant rats. In estrogen-treated rat myometrium peptidoglycan reduces frequency and duration of contractions (elongated the uterine cycle) while in the pseudopregnant rat myometrium it increased the amplitude as well as the duration and the frequency (shortened the uterine cycle). During the experiments we found that peptidoglycan has stronger uterotonic effect than prostaglandin F2 $\alpha$ . In this connection we conclude that the changes of myometrial contractile activity after peptidoglycan action may have negative effects for fertility and course of pregnancy.

Key words: Myometrium, contractile activity, *Staphylococcus aureus*, peptidoglycan, pseudopregnancy.

*O.O.Bogomoletz Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

## REFERENCES

1. Ancyrskaja AS, Muraveva VV. Laboratory diagnosis of opportunistic infections of the vagina. *Consiliummedicum*. 2006; 7(3):206-10. [Russian].
2. Petersen EE, Magnani P. Efficacy and safety of vitamin C tables in the treatment of non-specific vaginitis. A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004 Nov 10;117(1):70-5.
3. Melenevs'ka NV, Miroshnychenko MS, Filippov IB, Kholodna LS, Shuba MF. Effects of *Staphylococcus aureus* cell-bound protein A on adenosine triphosphate and nitric oxide inhibitory actions in smooth muscles. *Fiziol Zh*. 2006;52(1):22-9. [Ukrainian].
4. Rudakova EB, Mozhovej SI, Pilipenko MA. Chronic endometritis: from improving the diagnostic approach to optimize treatment. *Lechaschii vrach*. 2008;(10):6-10. [Russian].
5. Romero R., Mazor M. Infection and preterm labor. *Clin Obstet Gynecol*. 1988;31:553-84.
6. Ross RG, Sathishkumar K, Naik AK, Bawankule DU, Sarkar SN, Mishra SK, Prakash VR. Mechanisms of lipopolysaccharide-induced changes in effects of contractile agonists on pregnant rat myometrium. *Am J of Obstet Gynecol*. 2004 Feb;190(2):532-40.
7. Allison CC, Kufer TA, Kremmer E, Kaparakis M, Ferrero RL. *Helicobacter pylori* induces MAPK phosphorylation and AP-1 activation via a NOD1-dependent mechanism. *J Immunol*. 2009 Dec 15;183(12):8099-109.
8. Fournier B, Philpott DJ. Recognition of *Staphylococcus aureus* by the innate immune system. *Clin. Microbiol. Rev*. 2005 Jul;18(3):521-40.
9. Filippov IB, Davidovskaya TL, Shuba MF, Holodna LS, Pozur VI. Effect of active substances of *Staphylococcus aureus* (protein A and peptidoglycan) on smooth muscle contraction caused by the action of neurotransmitters. *Neurophysiology*. 1996, 28(1):30-6. [Ukrainian].
10. Kusunoki T, Hailman E, Juan TS, Lichenstein HS, Wright SD. Molecules from *Staphylococcus aureus* that bind CD14 and stimulate innate immune responses. *J Exp Med*. 1995 Dec 1;182(6):1673-82.
11. Schleifer KH, Kandler O. Peptidoglycan types of bacterial cell walls and their taxonomic Implications. *Bacteriol Rev*. 1972 Dec;36(4):407-77.
12. MacKenzie LW, Cole WC, Garfield RE. Structural and functional studies of myometrial gap junctions. *Acta Physiol Hung*. 1985;65(4):461-72.
13. Coren RL, Csapo AI. The intra-amniotic pressure. *Am J Obstet Gynecol*. 1963 Feb 15;85:470-83.
14. Csapo A, Sauvage J. The evolution of uterine activity during human pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1968;47(2):181-212.
15. Caldeyro-Barcia R, Sica-Blanco Y, Poseiro JJ, Gonzáles Panizza V, Mendez-Bauer C, Fielitz C, Alvarez H, Pose SV, Hendricks CH. A quantitative study of the action of synthetic oxytocin on the pregnant human uterus. *J Pharmacol Exp Ther*. 1957 Sep;121(1):18-31.
16. El-Sahwi S, Gaafar AA, Topozada HK. A new unit for evaluation of uterine activity. *Am J Obstet Gynecol*. 1967 Aug 1;98(7):900-3.
17. Laptev BI, Bogomaz SA, Kulagin EM, Afanasiev SA and WA Prokop'ev. A method of determining substances cardiotropic activity. USSR patent SU 1635133A1. 1991 April 15. [Russian].
18. Leung S, Cheng Z, Sheldrick E L, Derecka K, Flint APF, Wathes D C. The effects of lipopolysaccharide and interleukins-1 $\alpha$ , -2 and -6 on oxytocin receptor expression and prostaglandin production in bovine endometrium. *Journal of Endocrinology*. 2001 Mar;168(3):497-508.
19. Olson D M, Zaragoza DB, Shallow MC, Cook JL, Mitchell BF, Grigsby P, Hirst J. Myometrial activation and preterm labour: evidence supporting a role for the prostaglandin F receptor - a review. *Placenta*. 2003 Apr;24 Suppl A:S47-54.
20. Caras Yu M. Diagnosis of uterine contractions activity of the uterus during labor. *Medicine*, 1982. 224 p. [Russian].
21. Fazeli A, Bruce C, Anumba DO. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. *Human Reprod*. 2005 May;20(5):1372-8.
22. Sorbara MT, Philpott DJ. Peptidoglycan: a critical activator of the mammalian immune system during infection and homeostasis. *Immunological Rev*. 2011 Sep;243(1):40-60.
23. Lin Z, Xu J, Jin X, Zhang X, Ge F. Modulation of expression of Toll-like receptors in the human endometrium. *Am J Reprod Immunol*. 2009 May;61(5):338-45.
24. Davydov'ska TL, Tymbaliuk OV, Danylova VM, Miroshnychenko MS, Kholodna LS, PosurVK. Effect of staphylococcus active substances on ATPase activity of smooth muscle actomyosin and myosin. *Ukr Biokhim Zh*. 2001 Jul-Aug;73(4):24-8. [Ukrainian].
25. Melenevs'ka NV, Miroshnychenko MS, Filippov IB, Artemenko OIu, Shuba MF. Effects of cell-binding protein A of *Staphylococcus aureus* on the level of intracellular calcium ions and actomyosin ATP-ase activity in the smooth muscles. *Ukr Biokhim Zh*. 2006 Jan-Feb;78(1):107-16. [Ukrainian].
26. Filippov IB, Davyдовska TL, Savinaynen LP, Shuba MF, Pozur VC. Peptidoglycan modifies the mechanical properties of the vessel walls of elastic type. *Biopolymers and cells*. 2000, 16 (1) :35-9.
27. Sandor F, Buc M. Toll-like Receptors. II. Distribution and Pathways Involved in TLR Signalling. *Folia Biol (Praha)*. 2005;51(6):188-97.
28. Sevcík J, Růčicka V, Slánský J, Masek K. Muramyl dipeptide (MDP) and 5-HT receptors. Neuroimmunomodulatory effects of MDP are probably not mediated through 5-HT4 or 5-HT1A receptors. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2002 Feb;24(1):43-53.
29. Cordeaux Y, Missfelder-Lobos H, Charnock-Jones DS and Smith GCS. Stimulation of Contractions in Human Myometrium by is Unmasked by Smooth Muscle Relaxants. *Reprod Sci*. 2008 Sep;15(7):727-34.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ*  
E-mail: phil@biph.kiev.ua

*Матеріал надійшов до редакції 25.12.2013*