

- Бродский В. Я., Арефьева А. М., Цирекидзе Н. Н. Число и масса миоцитов сердца мышей // Цитология. — 1983. — 25, № 3. — С. 2706—2717.
- Вихерт А. М., Митрофанов М. П., Стернби Н. Морфологические методы изучения эпидемиологии атеросклероза различных артериальных областей и патологии сердца // Арх. патол. — 1974. — 36, № 5. — С. 76—80.
- Есипова И. К., Алискевич В. И., Пурдыев Ю. С. Метод срочной дифференциальной диагностики различных форм гипертензии малого круга кровообращения у секционного стола // Суд. мед. эксперт. — 1981. — 24, № 4. — С. 27—30.
- Зубрицкий А. Н. Корреляционный анализ макрометрических параметров легочного сердца при хронических неспецифических заболеваниях легких // Арх. патол. — 1982. — 44, № 8. — С. 38—43.
- Истаманова Т. С. Сердце и эндокринная система. — Л.: Медицина, 1969. — 192 с.
- Левина Л. И. Сердце при эндокринных заболеваниях — Л.: Медицина, 1989. — 263 с.
- Пухначев Ю. В., Данилов И. Д. Микрокалькуляторы для всех. — М.: Знание, 1986. — 192 с.
- Шперлинг И. Д. Функционенная гипертрофия сердца человека в морфологическом исследовании. — Ереван: Айастан, 1983. — 124 с.
- Callens-Elamrani F., Swynghedauw B. A paradoxal increases in coronary vascular resistance during anoxia in two models of cardiac hyperbrosy in the rat // J. Mol. and Cell. Cardiol. — 1989. — 21, N 3. — P. 4—9.

Тернопол. мед. ин-т

М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил

в редакцию 29.06.90

УДК 611—013.15:612.014.42:576.8.097.25

Я. М. Гоцуляк, Р. І. Янчій, М. В. Ільчевич, Г. Ю. Юрах

Вплив специфічних антитіл на електрофізіологічні властивості мембрани ооцитів миші

Як відомо, імунні механізми відіграють важливу роль на всіх етапах процесу репродукції. І тому не дивно, що питанню взаємовідношень імунної і репродуктивної систем приділяється велика увага. В сироватці крові безплідних жінок виявлені аутоантитіла до прозорої оболонки (ПО) яйцеклітини [1, 4], оолеми [2]. Наведені факти і визначили мету наших досліджень: вивчити вплив специфічних антитіл (АТ) на фізіологічні властивості ооцитів (ОЦ).

Методика

В роботі використовували ОЦ дорослих самок мишей лінії СВА віком 8—12 тижнів. Тварин знерухомлювали методом дислокації шийних хребців. Оваріальні ОЦ виділяли із яєчників мікродисекцією під мікроскопом МБС-9. Звільнення ОЦ від фолікулярних клітин здійснювали піпеткуванням, а в деяких випадках використовували 0,2 %-ну гіалуронідазу. Тестували АТ за допомогою реакції непрямої імунофлюоресценції (РНІФ). Розведення АТ здійснювали на фосфатно-сольовому буфері (ФСБ) рН 7,4 в планшетах для імунологічних реакцій вітчизняного виробництва. В кожну лунку планшета додавали 6—8 ОЦ і інкубували протягом 30 хв при 37 °С в термостаті. Після 5-разового промивання в ФСБ в кожну лунку додавали по 0,2 мл розчину (1:40) АТ кроля проти Іg миші, мічених флюоресцеїнізотіоціанатом. Інкубація тривала 30 хв при 37 °С, і після промивання ФСБ ОЦ досліджували під люмінесцентним мікроскопом марки «Люмам-РЗ».

Електрофізіологічні дослідження проводили в термостатичній камері місткістю 2 см³ в розчині, який містив (ммоль/л) NaCl 124, KCl 5, CaCl₂ 10, Tris 10, MgCl₂ 1. В розчин додавали сироватку великої рога-

© Я. М. ГОЦУЛЯК, Р. І. ЯНЧІЙ, М. В. ІЛЬЧЕВИЧ, Г. Ю. ЮРАХ, 1991.

тої худоби (1:10) в гом усіх дослідів і вували скляні мікр 50 МОм, потенціалів здійснювали з ням зовнішнього ст застосуванням кор слідів використовув які виділяли із сир ників мишей, а та

Результати та їх об

За допомогою М РНІФ виявлені пер ців. Як видно із п з поверхню ПО, Isojima і спіавт. [що гетерогенні М

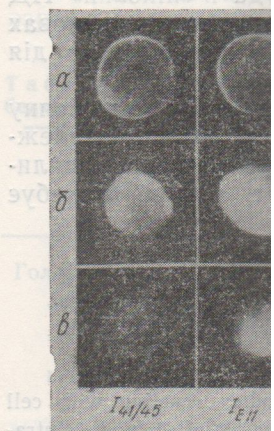


Рис. 1. Локалізація і виявлення за допомогою ценції):

a — свиня, б — крільчиха,

для моделювання тимембранних АТ електрофізіологічні потенціал (МП) с мембрани — 79,1 м жаними іншими брани до —90 м никненням потенці вдалому проколі м лися стабільними слідження показав еться поступова д мембрани. Після 5 на деполяризація 20-й — становила 3 (г=0,85), який на хідного. Дія МКА ни на 10-й хвили

¹ Антитіла люб'яз Інституту морфології л

тої худоби (1 : 10) і доводили рН розчину до 7,4. Температуру протягом усіх дослідів підтримували на рівні 37 °С. Для роботи використовували скляні мікроелектроди, заповнені 2,5 моль/л KCl, опором 30—50 МОм, потенціал кінчика — не більше 5 мВ. Реєстрацію біопотенціалів здійснювали за допомогою попереднього підсилювача з підведенням зовнішнього струму [3]. Результати обробляли на ЕВМ СДГ-01 із застосуванням кореляційного аналізу та критеріїв Стюдента. Для дослідів використовували специфічні антиоваріальні антитіла (АОАТ), які виділяли із сироватки крові кролів, імунізованих екстрактом із яєчників мишей, а також моноклональні антитіла (МКАТ).¹

Результати та їх обговорення

За допомогою МКАТ, специфічних до антигенів ОЦ свині, методом РНІФ виявлені перехресно-реагуючі антигени на ОЦ інших видів ссавців. Як видно із поданого матеріалу (рис. 1), МКАТ I₁₁, які реагують з поверхнею ПО, ОЦ свині взаємодіють з оолею ОЦ миші. Дані Isojima і співавт. [6], і наші результати дозволяють зробити висновок, що гетерогенні МКАТ можна використовувати, як один із інструментів

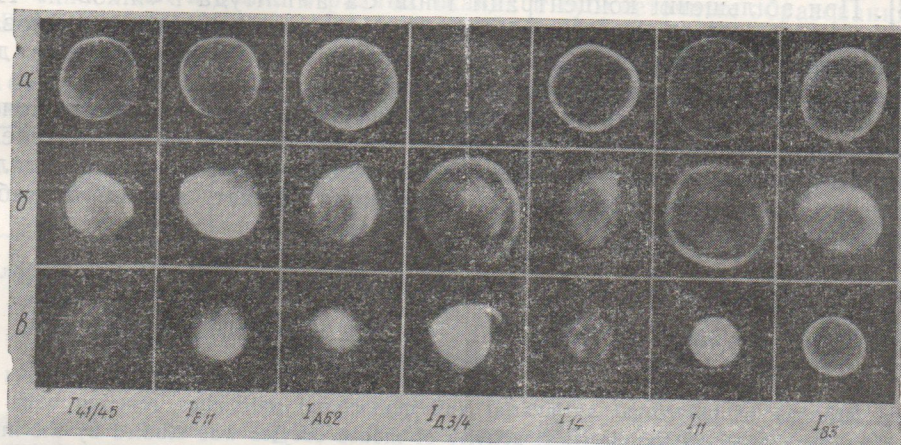


Рис. 1. Локалізація перехресно-реагуючих антигенів на ооцитах різних видів ссавців, виявлених за допомогою моноклональних антитіл (у реакції непрямої імунофлуоресценції):

а — свиня, б — крізьчиха, в — миша. Пояснення в тексті

для моделювання аутоімунного процесу, пов'язаного з наявністю антимембранних АТ в сироватці крові. В окремих дослідях визначені електрофізіологічні параметри ОЦ миші. Показано, що мембранний потенціал (МП) складає $-27,9 \text{ мВ} \pm 3,6 \text{ мВ}$ ($n=60$), вхідний опір (R) мембрани $-79,1 \text{ МОм} \pm 7,6 \text{ МОм}$ ($n=60$), що співпадає з даними, одержаними іншими авторами [7]. Попередня гіперполяризація мембрани до -90 мВ і наступна деполяризація супроводжуються виникненням потенціалу дії (ПД) амплітудою, близькою до 60 мВ. При вдалому проколі мембрани ОЦ електрофізіологічні параметри залишалися стабільними протягом тривалого часу (1 г і більше). Наші дослідження показали, що при аплікації АОАТ (400 мкг/мл) відбувається поступова деполяризація, яка супроводжується зменшенням R мембрани. Після 5 хв аплікації розвивалась повільно зростаюча відносна деполяризація мембрани, яка на 10-й хвилині досягала 15 %, а на 20-й — становила 300 % вихідної ($P < 0,05$). Одночасно зменшувався R ($r=0,85$), який на 10-й хвилині складав 85 %, а на 20-й — 60 % вихідного. Дія МКАТ I₁₁ (100 мкг/мл) викликала зменшення R мембрани на 10-й хвилині експозиції на 30 %, на 20-й — на 50 % порівняно

¹ Антитіла люб'язно надані лабораторією Імуноморфології репродукції людини Інституту морфології людини АМН СРСР (Москва).

до вихідних значень (рис. 2). Одночасно знижувались значення амплітуди ПД і порогу збудження. Контролем слугували МКАТ I_{41/45}, які в РНІФ не взаємодіяли з клітинною мембраною. В експериментах, проведених на оваріальних ОЦ мишей [9] з використанням селективних блокаторів Na- і Са-каналів, показана наявність в клітинній мембрані потенціалзалежних Са-каналів, і що вони відіграють суттєву роль в збудженні. Ці дані дістали підтвердження і в наступних дослідженнях

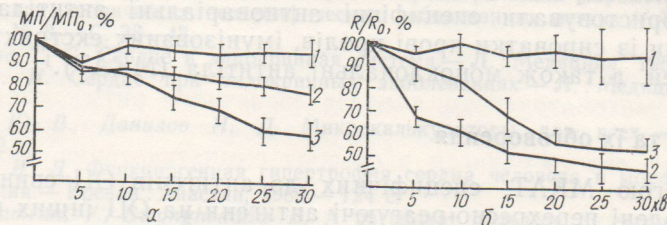


Рис. 2. Зміна потенціалу (а) та вхідного опору (б) мембрани ооцитів у миші під впливом специфічних антитіл:

1 — моноклональні антитіла (МКАТ) I_{41/45}, 2 — антиоваріальні антитіла, 3 — МКАТ I₁₁.

[8]. При збільшенні концентрації іонів Са амплітуда і «піковий» ПД зростали в лінійній залежності [5]. Нашими дослідженнями в умовах підвищеної концентрації Са в розчині показана їх відновлююча дія на електрофізіологічні показники після дії АТ.

Виявлені ефекти свідчать про те, що АТ здатні змінювати іонну проникливість оолеми ОЦ, впливаючи на властивості потенціалзалежних Са-каналів. Можна припустити, що виявлені ефекти можуть впливати на нормальне дозрівання і запліднення гамет, але це потребує подальших досліджень.

Ya. N. Gotsulyak, R. I. Yanchy, N. V. Ilchevich, G. Yu. Yurakh

INFLUENCE OF SPECIFIC ANTIBODIES ON THE ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF MOUSE OOCYTE MEMBRANE

The influence of polyclonal antiovarial and monoclonal antibodies, reacting with cell surface membrane, on the electrical activity of mouse oocytes was studied by the intracellular microelectrode recording. The data obtained suggest that specific antibodies alter permeability and excitability of sexual cells.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бесплодие в супружестве / Под ред. И. Ф. Юнды. — Киев: Здоровье, 1990. — 463 с.
2. Наков Л. С., Сырнева-Накова Ц. Н., Ялымов О. И. и др. Ауто-иксеноантитела против прозрачной оболочки в сыворотке инфертильных женщин // Иммунология репродукции: Тез. докл. 3-го Всесоюз. симп. с международным участием (21–23 окт. 1987 г.). — Киев, 1987. — С. 56–57.
3. Первис Р. Внутриэлектродные методы внутриклеточной регистрации и ионофореза / Пер. с англ. П. Д. Брежневского, В. И. Ильина. — М.: Мир, 1983. — 208 с.
4. Caudle M. R., Shivers C. A., Wild R. A. Clinical significance of naturally occurring anti-zona pellucida antibodies in infertile women // AJRIM. — 1987. — 15, N 4.
5. Eusebi F., Colonna R., Mangia F. Development of membrane excitability in mammalian oocytes and early embryos // Gamete Res. — 1983. — 7. — P. 39–47.
6. Isojima S., Koyama, Hasegawa A. et al. Monoclonal antibodies to porcine zona pellucida antigens and their inhibitory effects on fertilization // J. Reprod. Immunol. — 1984. — 6, N 4. — P. 77–87.
7. Peres A. Resting membrane potential and inward current properties of mouse ovarian oocytes and eggs // Pflugers Arch. — 1986. — 407. — P. 534–540.
8. Peres A. The calcium current of mouse egg measured in physiological calcium and temperature conditions // J. Physiol. — 1987. — 391. — P. 573–588.
9. Yoshida S. Na and Ca spikes produced by ions passing through Ca channels in mouse ovarian oocytes // Pflugers Arch. — 1982. — 395. — P. 84–86.

Ин-т фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Матеріал надійшов
до редакції 24.07.90

Влияние эмоций на синтез РНК и

Роль стрессорных изменений в физиологии общеизвестна. Что влияние возбудителей перераспределения генома, рибосинтетических реакций в структурах одних и тех же клеток и качественно и количественно в стрессах на отдельные ганах — недостаточным логическим плане.

Цель работы — на синтез РНК и белков в взрослых и старых

Таблица 1. Влияние белка в тканях разных органов

Орган
Головной мозг: лобная кора
гипоталамус
гипофиз
Скелетная мышца
Сердце (левый желудочек миокарда)
Костный мозг
Тонкая кишка (эпителий)
Надпочечники
Почки
Печень

Примечание. Здесь v — коэффициент вариации

© Т. Г. МОЗЖУХИНА, Л. Г.

Физиол. журн., 1991, т. 3