

## Строки прояву статевої охоти у корів-донорів після вимивання ембріонів

Групи тварин	Кількість корів	Строки прояву статевої охоти, днів		
		14-18	35-40	понад 40
Контрольна	15	4	8	3
Дослідна	15	8	7	0

Таким чином, збагачення раціонів дефіцитними мікроелементами сприяло не тільки прискоренню строків інволюції матки, але й лізису жовтих тіл. Швидко завершення інволюційних процесів у статевих органах під впливом мікроелементів відбувалося завдяки поліпшенню обмінних процесів в організмі корів-донорів, про що свідчать проведені біохімічні дослідження крові тварин при згодовуванні їм біологічно активних речовин.

*Львівський філіал Інституту розведення  
і генетики тварин УААН*

УДК 636.2:612.621

И.Ш. ШАПИЕВ, Т.И. КУЗЬМИНА,

В.Ю. ДЕНИСЕНКО

## ВЛИЯНИЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ С НА ВЫХОД КАЛЬЦИЯ ИЗ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ХРАНИЛИЩ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА КЛЕТКИ ГРАНУЛЕЗЫ СВИНЬИ ПРОЛАКТИНА

Разработка технологий культивирования соматических и половых клеток млекопитающих позволяет использовать их в качестве моделей для изучения механизмов влияния различных биологически активных веществ на процессы митоза и мейоза. Ранее нами было обнаружено положительное действие бычьего пролактина (ПРЛ) на выход доимплантационных эмбрионов коров, полученных из ооцитов, созревших и оплодотворенных в различных культуральных системах. Данный эффект оптимально выражался в системах, где совместно использовали культуру клеток гранулезы и пролактин (Kuzmina et al., Theriog., 1998. — V.49. — №1. — P. — 314). Механизм, посредством которого ПРЛ оказывает влияние на клетки-мишени, до сих пор окончательно

© И.Ш. Шапиев, Т.И. Кузьмина,  
В.Ю. Денисенко, 1999

Розведення і генетика тварин. 1999. Вип. 31 – 32

не выяснен. В настоящее время доказано, что действие протеинкиназы С (ПКС) на клетки различных типов связано с блокированием рецепторзависимого подъема  $Ca^{2+}_{цит.}$  и фосфоинозитидного обмена (Houslau, Euror. J. Biochem., 1991. — V.195. — P. — 2—27).

В данной работе исследовали участие ПКС в ответе клеток гранулезы свиньи из фолликулов диаметром 3—6 мм на воздействие ПРА и влияние ПКС на выход внутриклеточного кальция из клеток. Для измерения свободного цитозольного кальция  $[Ca^{2+}]_i$  использовали зонд Флуо-ЗАМ. Клетки инкубировали в течение 30 минут в инкубационной среде Дюльбекко с добавлением 0,1% BSA, содержащей 4,4 мкМ Флуо-ЗАМ, при комнатной температуре. Измерение интенсивности флуоресценции  $[Ca^{2+}]_i$  проводили на спектрофлуориметре «Hitachi».

Для воздействия на клетки гранулезы в экспериментах использовали ПРА в концентрации 50 нг/мл. Содержание  $[Ca^{2+}]_i$  при действии гормона составляло  $137 \pm 6$  нМ, в контроле этот показатель равнялся  $95 \pm 6$  нМ ( $p < 0,001$ ). Участие ПКС в действии ПРА на клетки гранулезы изучали с помощью ингибитора протеинкиназы С Ro 31-8220/02 (ИПС) в концентрации 10 нг/мл. Добавление в инкубационную среду ИПС вызывало в клетках рост  $[Ca^{2+}]_i$  до  $163 \pm 5$  нМ ( $p < 0,001$ ). Внесение ПРА в инкубационную среду, содержащую ИПС, приводило к дополнительному увеличению  $[Ca^{2+}]_i$  до уровня  $187 \pm 8$  нМ ( $p < 0,05$ ).

Использование инкубационной среды без кальция вызывало в клетках снижение базальной концентрации  $[Ca^{2+}]_i$  до уровня  $80 \pm 3$  нМ. При добавлении в среду с клетками ПРА увеличение  $[Ca^{2+}]_i$  было незначительным и составляло  $101 \pm 4$  нМ ( $p < 0,01$ ). Предварительная инкубация гранулезы с ИПС не приводила к достоверному увеличению  $[Ca^{2+}]_i$  в обработанных клетках. Воздействие ПРА на клетки, инкубируемые с ИПС, также не приводило к достоверному увеличению  $[Ca^{2+}]_i$  в клетках гранулезы.

Таким образом, показано, что действие ПРА на клетки гранулезы свиньи опосредовано активацией ПКС. В среде без кальция действие ПКС на выход кальция из внутриклеточных депо незначительно, что может быть связано с необходимостью внеклеточного кальция для заполнения внутриклеточных хранилищ.

*Всероссийский НИИ генетики и разведения  
сельскохозяйственных животных*