

Disciplina de fiziologie a I.M.F. Tirgu Mureș (cond.: prof. dr. S. Szabó, doctor în medicină) și Clinica de obstetrică și ginecologie din Tirgu Mureș (cond.: prof. dr. A. Borbáth, doctor în medicină)

## STUDIUL IMUNOCHEMIC AL ANTICORPILOR ANTI-OVAR

dr. S. Szabó, Ana Iazigian, dr. Etelka Szabó-Adorján

Observațiile recente referitoare la prezența autoanticorpilor anti-ovar în disgenезii gonadale (8, 18), în endocrinopatii (2, 4, 11) și în unele ginecopatii (6) ridică problema naturii antigenelor ovariene și autoanticorpilor corespunzători. Cercetări efectuate în ultimii ani în această direcție au adus câteva precizări privind antigenele organospecifice ale gonadelor feminine (3, 9, 12, 16, 17) și efectul citotoxic al serurilor imune anti-ovar (3, 12).

În experiențele noastre am studiat, prin metode imunochimice și serologice, repartizarea anticorpilor anti-ovar în diferitele clase de imunoglobuline.

### Material și metodă

Un număr de 7 iepuri adulți, împărțiți în 3 loturi de câte 2—3 animale au fost imunizați cu triturat de ovar total uman și bovin și de corp galben bovin izolat. Serurile imune obținute le-am absorbit cu ser sanguin uman, respectiv cu ser bovin pentru înlăturarea anticorpilor anti-proteine sanguine, rămânând în antiseruri anticorpii față de antigenele tisulare. Clasele de imunoglobuline din antiseruri le-am separat prin reducere cu mercaptoetanol (ME) și prin filtrare pe gel de Sephadex G—200. Titrurile de anticorpi obținute în serurile tratate cu ME (anticorpi ME-rezistenți) corespund în general 7S imunoglobulinelor (IgG). Diferența dintre nivelul de anticorpi al serului nativ și al celui redus cu ME este considerată ca titrul de anticorpi ME-sensibili sau 19S imunoglobuline (IgM).

Activitatea serologică a imunoglobulinelor am evidențiat-o prin reacția de fixare a complementului (RFC) și prin imunodifuziunea dublă în gel de agar, utilizând ca antigene extractele apoase ale organelor. Schema imunizării, prepararea antigenelor și a antiserurilor, RFC semicantitativă prin microtitrare și prin imunodifuziune dublă în gel, absorbția antiserurilor ca și tratarea lor cu ME le-am descris detaliat în lucrări anterioare (14, 15, 16).

Filtrarea prin gel am efectuat-o în condițiile stabilite de Flodin și colab. pentru ser sanguin, cu o coloană de 4×75 cm, utilizând Sephadex G—200, cu tampon TRIS 0,1 M, pH 8,0, conținând NaCl 0,2 M. Frațiunile obținute le-am concentrat cu gumă arabică prin celofan. Concentrația proteică a probelor colectate s-a determinat prin spectrofotometrie, la lungimea de undă de 280 mμ.

### Rezultate

Urmărind cu RFC dinamica anticorpilor în cursul imunizării, am observat un decalaj între apariția anticorpilor ME-sensibili și a celor ME-rezistenți. Anticorpii ME-sensibili au apărut mai precoce, atingând titruri ridicate în primele săptămâni ale perioadei de imunizare. Anticorpii rezistenți față de ME s-au format tardiv și urmînd o evoluție ascendentă au înlocuit aproape complet anticorpii ME-sensibili. Titrarea anticorpilor precipitanți prin imunodifuziune dublă în gel a dat rezultate asemănătoare.

S. SZABÓ ȘI COLAB.: STUDIUL IMUNOCHIMIC AL ANTICORPILOR ANTI-OVAR

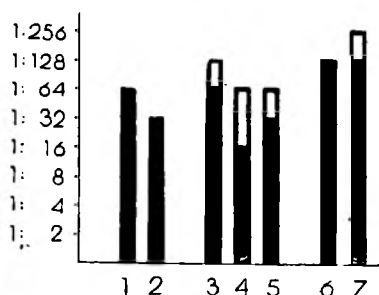


Fig. nr. 1: RFC semicantitativă. Titrurile de anticorpi ale serurilor imune față de ovar total uman (1, 2), ovar bovin (3, 4, 5) și corp galben bovin (6, 7). Partea de culoare închisă a coloanelor reprezintă anticorpii rezistenți la tratarea cu ME, partea de culoare deschisă corespunde anticorpilor inactivați de ME.

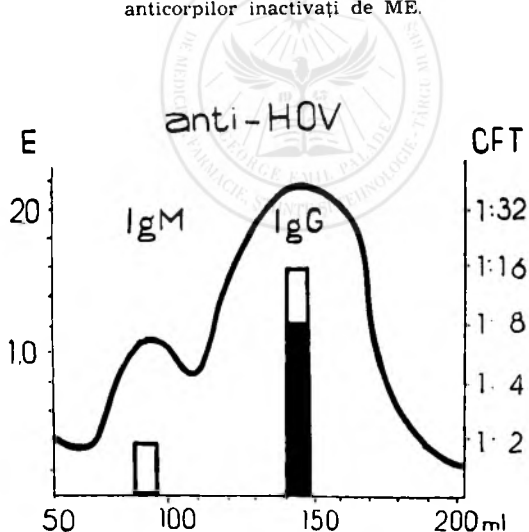


Fig. nr. 2: Activitatea serologică a imunoglobulinelor separate prin filtrare pe gel de Sephadex G—200 din antiser obținut prin imunizarea iepurilor cu triturat de ovar uman total. E: extincțiile obținute la spectrofotometru. CFT: titrurile de anticorpi obținute prin reacția de fixare a complementului, față de extractul apos de ovar uman, ca antigen; porțiunea închisă a coloanelor: anticorpii ME-rezistenți; porțiunea deschisă: anticorpii ME-sensibili. Jos: volumul lichidului scurs de pe coloană.

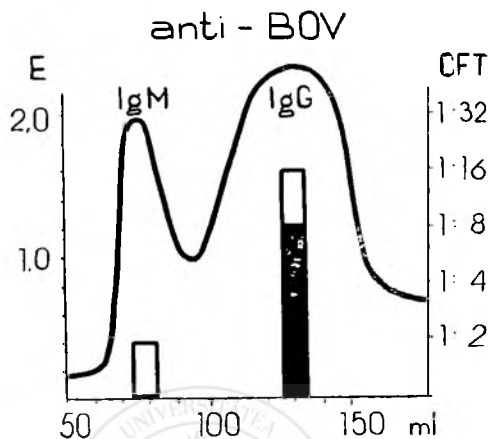


Fig. nr. 3: Activitatea serologică a imunoglobulinelor obținute din ser imun anti-ovar bovin (v. legenda fig. nr. 2)

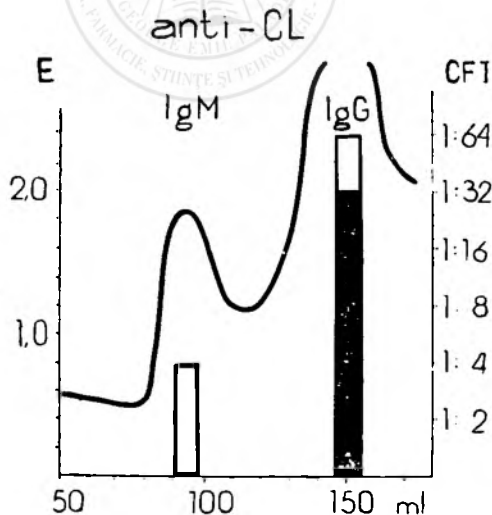


Fig. nr. 4: Activitatea serologică a imunoglobulinelor separate din anti-ser obținut prin imunizarea iepurilor cu triturat de corp galben bovin izolat (v. legenda fig. nr. 2)

În experiența următoare am analizat antiserurile obținute după exsangulnarea animalelor, cercetînd distribuția anticorpilor în diferitele fracțiuni ale serurilor imune, separate prin reducere cu ME sau prin filtrare pe gel.

Sub influența ME titrurile de anticorpi în unele seruri au scăzut cu 1—2 unități, în altele nu s-au schimbat, ceea ce arată că majoritatea anticorpilor anti-ovar sînt rezistenți față de ME (fig. 1).

Prin filtrarea pe gel a serurilor imune anti-ovar și corp galben am separat clasele de IgG și IgM. Analiza serologică a acestor imunoglobuline a dat rezultate superpozabile cu cele obținute prin reducerea cu ME: IgG prezintă o activitate serologică marcată, reflectată de titrurile mai înalte obținute cu această fracțiune de antiser. Titrurile date de IgM corespund unei activități imunologice mai reduse (fig. 2, 3, 4).

Supunînd fracțiunile obținute prin filtrare acțiunii ME, am controlat dacă anticorpii ME-rezistenți din serurile imune aparțin clasei IgG, respectiv dacă cei sensibili sînt IgM. IgG separată din serurile imune față de ovar și corp galben prin filtrare pe coloană Sephadex G—200 a fost puțin influențată de ME, deci IgG anti-ovar este ME-rezistentă. Reducerea cu ME a inactivat complet anticorpii aparținînd clasei IgM (fig. 2, 3, 4). Testarea prin imunoprecipitare a anticorpilor aparținînd claselor IgM și IgG separate prin filtrare pe gel a dat rezultate asemănătoare.

### Discuții

Dinamica sintezei celor două clase de imunoglobuline, observată în aceste experiențe, se încadrează în cunoștințele actuale privind succesiunea producerii lor în cursul răspunsului imun umoral: sinteza de IgM sau 19S imunoglobuline precede apariția IgG sau 7S imunoglobuline, fapt semnalat pentru prima oară de Stelos și Taliaferro (13).

Referitor la repartizarea anticorpilor anti-ovar, am constatat că aceștia aparțin cu preponderență clasei IgG. Pentru confruntare amintim că după unii autori anticorpii fixatori de complement ai iepurilor imunizați cu extracte tisulare sînt repartizați atît în 7S, cît și în 19S imunoglobuline (10), iar anticorpii precipitanți ai acestei specii aparțin 7S imunoglobulinelor (5).

În cercetările noastre tratarea cu ME a influențat într-o măsură neînsemnată activitatea serologică a anticorpilor anti-ovar aparținînd clasei IgG, dar a inactivat complet anticorpii cuprinși în clasa IgM. Acest rezultat concordă cu unele observații, după care ME reduce într-o mică măsură și 7S imunoglobulinele (1, 7).

### Concluzii

Studiul imunochimic al serurilor imune față de ovar total și corp galben, efectuat prin filtrare pe gel de Sephadex G—200 și prin reducere cu ME a permis formularea următoarelor constatări: anticorpii specifici anti-ovar și corp galben aparțin cu preponderență clasei de 7S imunoglobuline (IgG). Acești anticorpi sînt foarte puțin sensibili față de acțiunea reducătoare a mercaptoetanolului.

Sosit la redacție: 12 aprilie 1972

### Bibliografie

1. ADLER F. L.: J. Immunol. (1965), 95, 39; 2. ANDERSON J. R., BUCHANAN W. W., GOUDIE R. B.: Autoimmunity, Thomas, Springfield, 1970; 3. BARCENKO L. I.: Fiziol. J. (1964), 10, 720; 4. BARNETT E. V., DUMONDE D. C., GLYNN L. E.: Immunology (1963), 6, 382; 5. BENEDICT A. A.: Nature (1965), 206, 1368; 6. BORBÁTH A., SZABÓ-ADORJÁN E.: A III. Ses. științifică a Academiei de științe medicale. București, 1971; 7. BRINCKERHOFF C. E., BROWN R. C., ROSE N. R.: J. Immunol. (1969), 103, 757; 8. FIALKOW P. J.: Lancet (1964), 1, 474; 9. HERVÉ R.,

SERGEANT P., ROBEY M.: Presse Méd. (1968), 76, 2421; 10. PATERSON P. Y., COIA E. M., JACOBS A. F.: Ann. New York Acad Sci. (1965), 122, 256; 11. PENCEA V., PENCEA I., POPESCU C., SCRIPCARU GH.: Rev. Roum. d'Endocr. (1967), 4, 57; 12 SPASOKUKOŢKII I. A., GONOROVSKI A. G.: Fiziol. J. (1970), 16, 741; 13. STELOS P., TALIAFERRO L. G.: J. Infect. Dis. (1961), 108, 113; 14. SZABÓ-ADORJÁN E.: Influența proceselor imunoalergice asupra ciclului estral. Teză de doctorat, I.M.F. Tîrgu Mureş, 1971; 15. SZABÓ-ADORJÁN E., MUNTYÁN G., SZABÓ S.: Rev. Med. (1970), 16, 180; 16. SZABÓ-ADORJÁN E., SZABÓ S.: Obstetrica și Ginecologia (1972), 20, 2; 17. SZABÓ S., IAZIGIAN A., MÓDY E., SZABÓ-ADORJÁN E.: A III-a Ses. științifică a Academiei de științe medicale, București, 1971, 60; 18. VALLOTTON M. B., FORBES A. P.: Lancet (1967), 1, 648.

---