

УДК 619:616.006:577.1:636.6

Федець О.М., к.с.-г.н., доцент, (olehfedets@yahoo.com), **Кулай Н.Я.**, к.вет.н., старший викладач, **Чернишук І.М.**, студент факультету ветеринарної медицини Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького

Калачнюк Г.І., д.б.н., професор[©]

Національний університет біоресурсів та природокористування України, Київ

ЕЛЕКТРОФОРЕЗ БІЛКІВ КРОВІ КІШОК З ПУХЛИНАМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Досліджено фракційний склад білків плазми крові кішок з пухлинами молочної залози. Підвищується вміст фракцій передальбумінів, імуноглобулінів та інколи церулоплазміну. Рівень альбумінів знижується.

Ключові слова: білки, кров, пухлина молочної залози, кішка.

Вивченню білків, які пов'язані з розвитком пухлин молочної залози, присвячено багато праць. Основна мета цих досліджень – це пошук білків, які мають діагностичне значення для встановлення стадії розвитку пухлини та її типу, що необхідне для ранньої діагностики та успішного лікування. Дослідження цього питання у жінок присвячено багато публікацій. Існують також дані і по тваринах хоча їх менше через низку причин. Зокрема в дослідах, які були проведені ще майже 50 років, тому було показано, що у миші ріст карциноми молочної залози асоційований із збільшенням у сироватці крові концентрації β_{21} -глобуліну (трансферин), β_{2III} -глобуліну (гемоглобін зв'язуючий білок) та β_{31} -глобуліну (складова комплекменту) [8]. При аденокарциномі молочної залози миші у сироватці крові підвищений вміст β_{21} -, β_{31} - γ -глобулінів [6]. Проте такі дані важко порівнювати з отриманими результатами сучасних досліджень для проведення яких використовуються нові методи, які дозволяють визначити зміни конкретних білків з відомими молекулярною масою, ізоелектричною точкою, субодиничною будовою тощо.

Із серії проведених досліджень це перша публікація у якій наведений фракційний склад білків плазми крові тварин з пухлинами молочної залози. Більш детальний аналіз цих білків, а також дані гістологічних досліджень пухлин будуть представлені в наступних працях.

Матеріали і методи. Кров брали від тварин з пухлинами молочної залози. Плазму (антикоагулянт гепарин) відцентрифугували при 2-2,5 тис. об/хв. Концентрацію білків визначали з біуретовим реактивом [7]. Електрофорез білків проводили в 10% поліакриламідному гелі з 0,1% вмістом додецилсульфату Na [3] в апараті для вертикального гель-електрофорезу Хийу-Каллур. Математичну обробку фореграм здійснювали за допомогою програми TotalLab2.01. Ідентифікацію білків здійснювали за молекулярною масою [1].

Результати дослідження. Білки плазми крові розділені на 12 фракцій (рис. 1, табл. 1). Серед досліджуваних проб виділяється №5 від тварини 11-

[©] Федець О.М., Кулай Н.Я., Чернишук І.М., Калачнюк Г.І., 2012

річного віку, яка була оперована раніше до відбору крові. Пухлина була доброяйсна, рецидиву не було. Можливо за період після операції клінічні показники повернулись до норми. Альбуміни розміщені однією великою фракцією (46,2%), а передальбуміни становлять лише 6,59%. В той же час у всіх чотирьох інших пробах фракція передальбумінів складає 14-28% з одночасним зниженням рівня альбуміну до 32%.

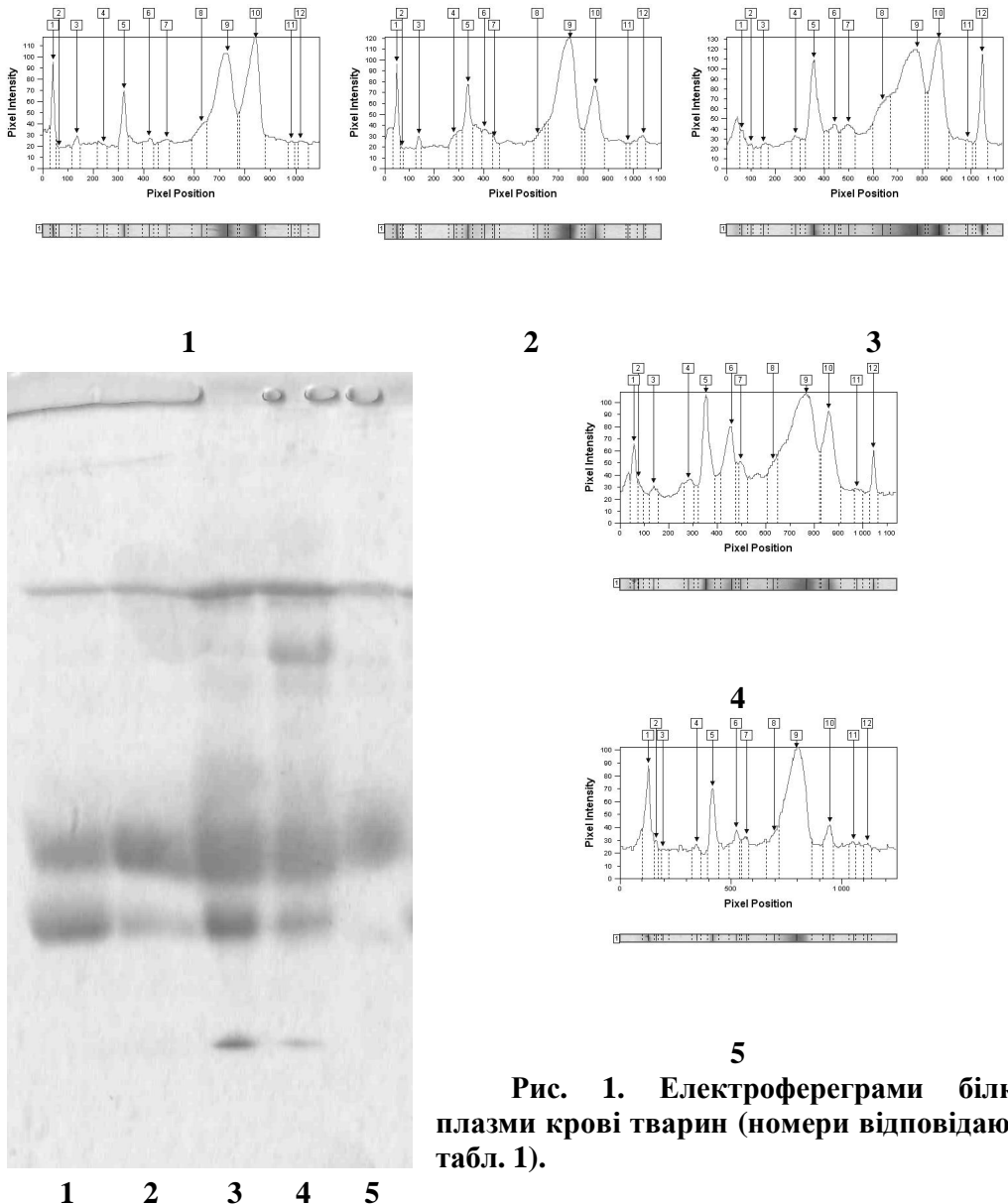


Рис. 1. Електрофереграми білків плазми крові тварин (номери відповідають табл. 1).

Підвищений рівень передальбумінів може бути наслідком збільшення концентрації кількох білків з невеликою молекулярною масою. Так, для

порівняння, в сироватці крові жінок з раком молочної залози підвищений вміст прекурсорів α -2-HS-глікопротеїну, цинк- α -2-HS-глікопротеїну та катепсину D [9], гаптоглобін-залежного білка [2] (молекулярна маса усіх ~50-55кДа). Діагностичне значення мають також ще ряд білків, зокрема тромбоспондин 1 і 5 (TSP1 і TSP5), α -1B-глікопротеїн (A1BG), сироватковий амیلлоїд Р-компонент (SAP) та тенасцин-Х (TN-X) [10].

Таблиця 1

Фракційний склад (%) білків крові тварин.

Фракції (молекулярна маса)	Тварина				
	1	2	3	4	5
1. Високомолекулярні білки (>1000 кДа)	4,87	5,71	2,39	4,11	6,48
2. α ₂ -макроглобулін (725 кДа)	1,00	1,07	1,18	1,69	1,92
3. Фібриноген (340 кДа)	2,91	2,17	1,77	2,71	2,75
4. Білки системи комплементу (200-220 кДа), пропердин (220 кДа)	3,13	3,43	2,60	3,76	3,91
5. γ -глобуліни: IgG ₁ (161-163 кДа), IgG ₂ (150-154 кДа)	6,35	9,02	11,6	11,2	8,97
6. Церулоплазмін (132 кДа)	4,10	5,29	3,76	10,3	5,87
7. Гаптоглобін (100 кДа), плазміноген (96 кДа), плазмін (90 кДа)	3,95	3,17	5,59	3,93	4,03
8. Трансферини (77-79 кДа), післяальбуміни (72 кДа)	7,68	5,79	10,6	5,46	6,98
9. Альбуміни (68 кДа)	32,3	42,4	33,4	36,8	46,2
10. Передальбуміни (64-66 кДа)	28,1	16,5	18,7	14,0	6,59
11. α ₁ -антихімотрипсин і тироксинзв'язуючий білок (60 кДа)	2,22	1,66	1,62	2,52	2,88
12. Гемопексин і транскортин (58 кДа)	3,38	3,77	6,84	3,51	3,43

У 3-ій і 4-ій пробах підвищений рівень γ -глобулінів. Така зміна є характерна при пухлинах. Зокрема при карциномі у сироватці крові жінок зростає рівень імуноглобулінів [4] та імуноелектрофоретично проявляється позитивна преципітаційна лінія на IgA [5].

Причиною розвитку пухлини у тварини №4, можливо, були препарати проти охоти, які їй давали після пологів. Цю тварину не оперували, оскільки вона була сильно виснажена, мала збільшені нирки, що лево пропальповувались (розміром з куряче яйце). Лікар прийняв рішення, що оперативне втручання недоцільне, оскільки скоро мав наступити летальний кінець. У крові цієї тварини, як і у інших з пухлинами молочної залози, поряд із зниженням вмісту альбумінів і збільшенням передальбумінів та імуноглобулінів додатково була збільшена фракція церулоплазміну. Останній відноситься до білків гострої фази запалення.

Зміни у фракції високомолекулярних білків не слід брати до уваги, оскільки сюди входить також стартова фракція і початок гелю, які дають завищені показники.

Література

1. Гончарук В.А. Особливості білкового спектру крові новонароджених телят в умовах зміни параметрів кислотно-лужного стану. Автореф. дис... канд біол.наук: 03.00.04 / Національний аграрний університет. Київ, 1998. – 20 с.
2. Kuhajda F.P., Katumulowa A.I., Pasternack G.R. Expression of haptoglobin-related protein and its potential role as a tumor antigen // PNAS. – 1989. – V.86. – P.1188-1192.
3. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T-4 // Nature. – 1970. – V.227, N5259. – P.680-685.
4. Lynch W.J., Joske R.A. The occurrence of abnormal serum proteins in patients with epithelial neoplasms // J.Clin.Path. – 1966. – V. – P.461-463.
5. Munzarova N., Kubicek R., Trnka A. Immunoelectrophoretic abnormality in sera from patients with different malignant diseases // Br.J.Cancer. – 1975. – V.32. – P.737-740.
6. Rabinovichdepirosky R., Oisgold S.R. The sequence of mouse serum protein changes during the progressing growth of a spontaneous mammary tumour and of the same tumour grafted in isologous system // Br.J.Cancer. – 1964. – V.3. – P.165-172.
7. Robinson H.W., Hodgen G.G. Biuret reaction for proteins // J.Biol.Chem. – 1940. – V.135. – P.707-717.
8. Witz I., Hermann G., Pikovski M., Gross J. The antigenic composition of tumours, sera and urines of tumour-bearing mice and the partial purification of two antigens present in increased amounts // Br.J.Cancer. – 1964. – V.18. – P.397-406.
9. Yi J.K., Chang J.W., Han W. et al. Autoantibody to tumor antigen, alpha 2-HS glycoprotein: a novel biomarker of breast cancer screening and diagnosis // Cancer Epid.Biomark.Prev. – 2009. – V.18, N.5. – P.1357-1364.
10. Zeng Z., Hincapie M., Pitteri S.J. et al. A proteomics platform combining depletion, multi-lectin affinity chromatography (M-LAC) and isoelectric focusing to study the breast cancer proteome // Anal.Chem. – 2011. – V.83, N.12. – P.4845-4854.

Summary

Fedets O.M., Kulay N.Ya., Chernyshuk I.M., Kalachnyuk G.I.
**ELECTROPHORESIS OF PROTEIN BLOOD FROM CATS WITH BREAST
CANCER**

Fractional composition of plasma proteins from cats with breast tumors has been investigated. The content of prealbumins, immunoglobulins and sometimes ceruloplasmin increases. The content of albumins decreases.

Key words: proteins, blood, breast cancer, cat.

Рецензент – д.вет.н., професор Головач П.І.