

Фазан королевский, желудок, иммунные образования, диффузная лимфоидная ткань, лимфоидные узелки

Immune educations in the stomach of pheasant royal are located locally in an own plate and submucosa of mucus shell, and in muscular part yet and in the overhead areas of internal layer of muscular shell. In glandular and pyloric parts of stomach they are presented diffuse limfoidnoy fabric, primary and second limfoidnimi nodules, and in muscular – only by diffuse limfoidnoy tissue. The content of immune formations is unequal in mucosa of different parts of stomach.

Pheasant is royal, stomach, immune educations, diffuse limfoid tissue, limfoidn nodules.

УДК 619:616.006:577.1:636.6

БІЛКОВИЙ СПЕКТР КРОВІ КІШОК З ПУХЛИНАМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

***О.М. Федець, кандидат сільськогосподарських наук, доцент
Н.Я.Кулай, кандидат ветеринарних наук, старший викладач,***

Ю.О. Каркошкіна, магістрантка

***Львівський національний університет ветеринарної
медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького, Львів, Україна***

Досліджено фракційний склад білків плазми крові кішок з пухлинами молочної залози (виявлено 14 основних фракцій). У різних тварин підвищується вміст: γ -глобулінів, трансферинів та білків гострої фази запалення (α 1-антитрипсин, гаптоглобін і церулоплазмін).

Білки, кров, пухлина молочної залози, кішка.

На сьогодні великий інтерес яляють розробка і перевірка біомаркерів сироватки крові для раннього виявлення, встановлення ризику та прогнозування раку молочної залози. На жаль, ще, не визначені біомаркерів для раннього виявлення захворювання. Їх, дуже багато у фазі відкриття. Відомі нині білкові біомаркери, які не володіють необхідною чутливістю, щоб бути корисними індивідуально як біомаркери для раннього виявлення раку молочної залози, але можуть бути корисні в панелі білкових біомаркерів. Щоб визначити корисність будь-якого перспективного білкового біомаркера, необхідна перевірка і підтвердження декількома незалежними дослідженнями зразків сироватки від хворих з дуже ранньою стадією захворювання, з доброякісними новоутвореннями, іншими ураженнями грудей та іншими типами (не молочної залози) злоякісних уражень. Важливим є також виконання досліджень в одній лабораторії та використання

одного метода збору проб. Національним інститутом раку (США) розроблена програма досліджень, яка протягом наступних п'яти-десяти років дозволить перевірити відповідні біомаркери і встановити їх корисність для раннього клінічного виявлення раку молочної залози [12]. За допомогою методу двовимірного електрофорезу встановлене діагностичне значення ряду білків при раку молочної залози: тромбоспондин 1 і 5 (TSP1 і TSP5), α -1В-глікопротеїн (A1BG), сироватковий амیلлоїд Р-компонент (SAP) та те-наascin-X (TN-X) [23], гаптоглобін-залежний білок [10], стресові білки (pHSP60, HSP90 і кальретикулін) та ядерний антиген проліферуючих клітин (PCNA) [9], прекурсор α -2-HS-глікопротеїну, цинк- α -2-HS-глікопротеїну й катепсину D [22] та ін. Тобто в цьому напрямі досліджень опубліковано багато праць, але усі вони стосуються людини.

Метою досліджень було вивчення білкового спектра крові кішок з пухлинами молочної залози.

Матеріал і методика досліджень. Кров об'ємом 2 мл брали з яремної вени від шести тварин з пухлинами молочної залози. Плазму (антикоагулянт гепарин) відцентрифугували при 2-2,5 тис. об/хв. Концентрацію білків визначали з біуретовим реактивом [17]. Електрофорез білків проводили в 7,5%-ному поліакриламідному гелі [2] в апараті для вертикального гель-електрофорезу Хийу-Каллур[3]. Математичну обробку фореграм здійснювали за допомогою програми TotalLab2.01, ідентифікацію білкових фракцій – за В.М. Холод [4].

Результати досліджень. Білки плазми крові розділили на 14 фракцій (табл., рис.). У тварини №2 (8 років, друга операція), №3 (10 років, крім пухлини молочної залози множинні метастази; через 3 дні після операції летальний кінець) і №4 (14 років, раніше оперована; рецидив, множинні пухлини і ураження лімфатичних вузлів) підвищений вміст трансферинів 1, куди входять бета-ліпопротеїни. За даними Н. AlolL. et al. [6] наслідком раку є посилення вільно-радикальних реакцій, які призводять до окиснення ліпопротеїнів низької густини, що супроводжується підвищенням рівня β -глобулінів (транспортують ліпопротеїни низької густини). Внаслідок розвитку карциноми [21] і аденокарциноми [16] молочної залози миші підвищилась концентрація трансферинів. У сироватці крові жінок спостерігали підвищений рівень фракції альфа-2- та бета-глобулінів куди входить глікопротеїн, який синтезується пухлиною молочної залози [18].

При карциномі молочної залози жінок у сироватці крові підвищений рівень гаптоглобіну α 1 [1]. Такі самі зміни спостерігали у тварин №4 і №5 (13 років). У плазмі крові пацієнтів з діагнозом рак молочної залози спостерігали підвищений рівень білків гострої фази, таких як гаптоглобін, сироватковий амیلлоїд Р, α 1-антитрипсин, α 1-антихімотрипсин і α 1-кислий глікопротеїн [7]. Alaiya A.A. et al. [5] також відзначали високій рівень накопичення білків гострої фази та використання цього показника для показника ідентифікації типу пухлини і прогнозу. Проте за даними W.W Pang et al. [15] при раку молочної залози в крові рівень такого білка, гострої фази запалення як α 1-антихімотрипсин зростає, а α 1-антитрипсину зменшується. α 1-антитрипсин входить до складу фракції α 1-глобулінів. Показана за-

лежність між експресією α 1-антихімотрипсину, клустерину, α 1-антитрипсину, гаптоглобіну і глікопротеїну з високим вмістом лейцину та трьома початковими стадіями раку яєчників. На заключній стадії раку рівень цих білків не зростає, оскільки уражується печінка де вони синтезуються [8]. Можливо, це було причиною відсутності змін окремих фракцій білкового спектра крові тварин, зокрема №1 (9 років, пухлина молочної залози та полікістоз матки). У тварин номерів 2, 3, 4 і 5 більша концентрація церулоплазміну, який теж належить до білків гострої фази запалення. У тварини №6 (15 років, стерилізована у 13 років; пухлини молочної залози та лімфатичних вузлів; не оперували, через поганий прогноз) дуже низька концентрація альбуміну сироватки крові. Таке зменшення альбуміну може бути пов'язане з високим рівнем катаболізму у клітинах пухлини [6]. Одночасно спостерігали зростання γ -глобулінів (більше ніж у 2 рази порівняно з іншими тваринами). Такі ж зміни відзначали у сироватці крові жінок із злоряксною лімфомою та множинною мієломою [20]. За даними Strobel S.L. [19] при раку молочної залози, зростає рівень IgG kappa. При новоутвореннях кісткового мозку середній рівень IgG становив 1,6 г/100 мл крові (діапазон 0-7,2 г/100 мл), а у здорових пацієнтів 0,6 г/100 мл крові (0-6,1 г/100 мл) [14]. При карциномі у сироватці крові жінок зростає рівень імуноглобулінів [11] та імуноелектрофоретично проявляється позитивна преципітаційна лінія на IgA [13]. При аденокарциномі молочної залози миші також підвищений рівень γ -глобулінів [16].

Фракційний склад білків плазми крові тварин, %

Номер фракції	Білкова фракція	Номер тварини					
		1	2	3	4	5	6
1	S-фракція	3,93	3,67	5,16	3,92	5,05	4,55
2	γ -глобуліни 4	3,45	4,56	4,99	3,07	3,41	6,23
3	γ -глобуліни 3	2,54	1,68	3,11	2,50	3,44	3,25
4	γ -глобуліни 2	10,94	8,49	3,80	4,17	7,59	24,8
5	γ -глобуліни 1	2,04	2,18	2,96	5,06	2,83	4,63
	γ -глобуліни разом	18,97	16,91	14,86	14,8	17,27	38,91
6	Гаптоглобіни	1,96	2,09	2,63	3,56	3,93	1,61
7	Трансферини 4	2,45	4,71	4,38	3,36	2,01	3,35
8	Трансферини 3	8,59	2,69	1,33	3,75	6,38	4,07
9	Трансферини 2	4,50	4,23	5,17	5,43	5,63	3,40
10	Трансферини 1	5,67	9,06	12,0	10,7	6,76	2,69
	Трансферини разом	21,21	20,69	22,88	23,24	20,78	13,51
11	Церулоплазмін	3,56	4,76	5,68	5,06	5,20	3,30
12	α 2-глобуліни	8,02	7,45	6,87	7,84	7,27	5,78
13	α 1-глобуліни	6,20	7,14	7,47	7,99	7,22	3,59
14	Альбуміни	36,1	37,3	34,5	33,6	33,3	28,8

Висновки

1. У кішок з пухлинами молочної залози спостерегаються такі зміни білкового спектра крові: зростає рівень γ -глобулінів; підвищується вміст трансферинів 1 куди входять β -глобуліни, які транспортують ліпопротеїни низької густини; збільшується концентрація білків гострої фази запалення

що призводить до зростання фракцій α 1-глобулінів (включає α 1-антитрипсин), гаптоглобінів і церулоплазміну.

2. У білковому спектрі крові кожної тварини спостерігається значна зміна однієї-двох фракцій, які перекривають інші можливі зміни.

3.

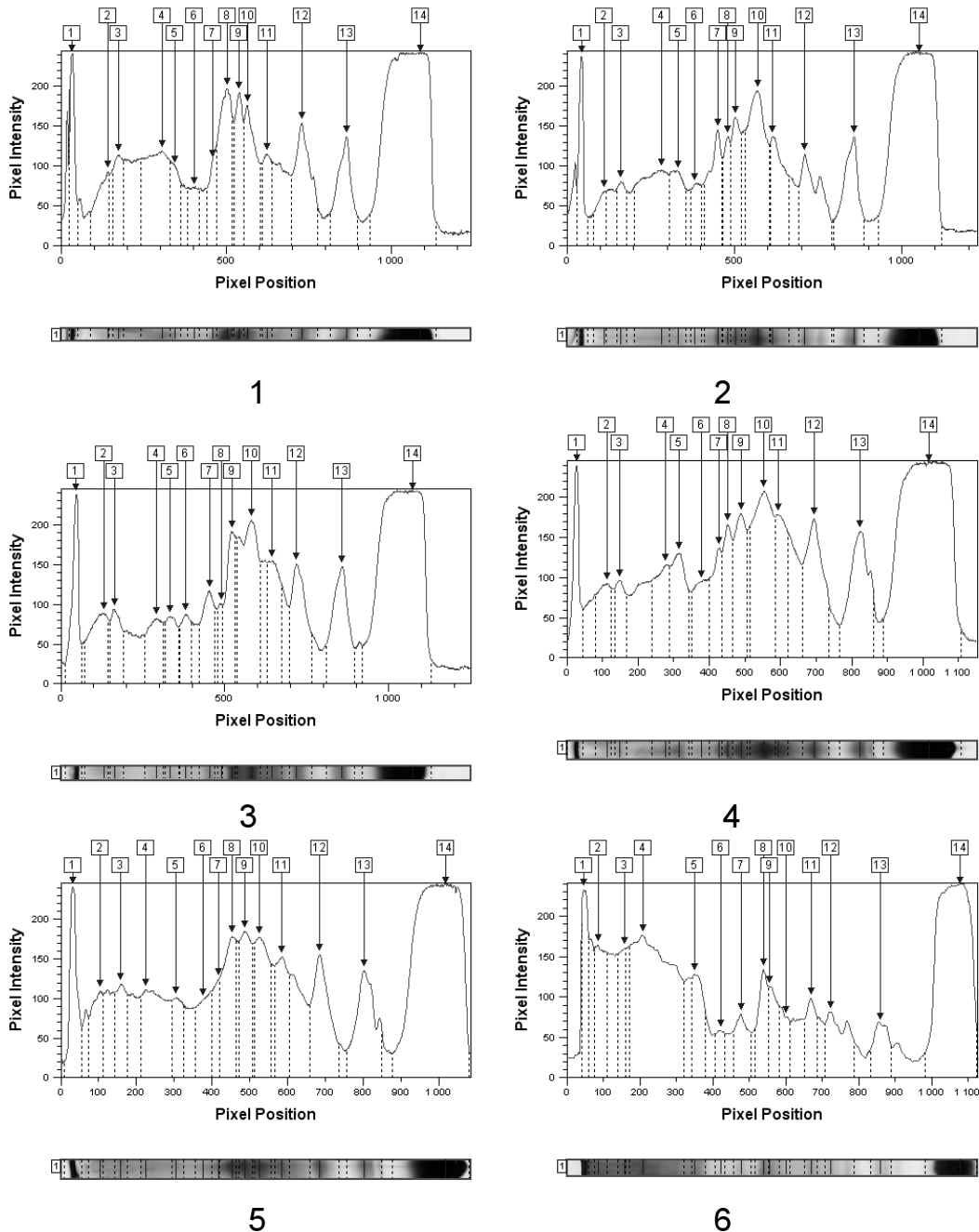


Рис. Денситограми білків плазми крові (див.табл.) досліджуваних тварин

Список літератури

1. Гоуфман Е.И. Протеомное исследование термостабильной фракции сыворотки пациентов с различными опухолями с применением двумерного электрофореза /Е.И Гоуфман, С.А. Мошковский, О.В. Тихонова // Биохимия. – 2006. – Т.71. вып.4. – С.445-453.

2. Маурер Г. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в полиакриламидном геле, [Перевод с немецкого]. / Г. Маурер – М.: Мир, 1971. – 247 с.
3. Паспорт-инструкция к использованию аппарата для ветрикального гель-электрофореза «Хийу-Каллур». – 1984.
4. Холод В.М. Белки сыворотки крови в клинической и экспериментальной ветеринарии. /м. Колос– Минск: Ураджай, 1983. – 78 с.
5. Alaiya A.A. Classification of human ovarian tumors using multivariate data analysis of polypeptide expression patterns / A.A. Alaiya, B. Franzen, A.Hagman et al. / *Int.J.Cancer.* – 2000. – Vol.86. – P.731-736.
6. Alol L.H. The promising anticancer efficacy of parsley seeds flavonoid (apigenin) in induced mammary adenocarcinoma (AMN3) mice / L.H Alol, K.A Al-Mzaien, S.M Hussein / *J.Physiol.Biomed.Sci.* – 2012. – Vol.25, N.1. – P.5-12.
7. Chahed K., Hamrita B., Mejdoub H. et al. Two dimensional gel electrophoresis analyses of human plasma proteins. Association of retinol binding protein and transthyretin expression with breast cancer / Chahed K., Hamrita B., Mejdoub H. et al. / *Gene Ther.Mol.Biol.* – 2004. – Vol.8. – P.539-546.
8. Chen Y. Different altered stage correlative expression of high abundance acute-phase proteins in sera of patients with epithelial ovarian carcinoma / Y. Chen, B.K. Lim, O.H. Hashim / *J.Hematol.Oncol.* – 2009. – V.2, N.1. – P.37-43.
9. Two dimensional gel electrophoresis in cancer proteomics / Kannan S., Sujitha M.V., Sundarraj S., / *Gel Electrophoresis - Advanced Techniques /Ed. S.Magdeldin –InTech, 2012. –P.359-390.*
10. Kuhajda F.P. Expression of haptoglobin-related protein and its potential role as a tumor antigen / Kuhajda F.P., Katumulowa A.I., Pasternack G.R / *PNAS.* – 1989. – V.86. – P.1188-1192.
11. Lynch W.J. The occurrence of abnormal serum proteins in patients with epithelial neoplasms / W.J. Lynch, R.A. Joske / *J.Clin.Path.* – 1966. – Vol.19, N.5. – P.461-463.
12. Misek D.E. Protein biomarkers for the early detection of breast cancer / D.E Misek, E.H. Kim / *International Journal of Proteomics.* – 2011. – Vol.2011, N.8. – P.1-9.
13. Munzarova N. Immunoelectrophoretic abnormality in sera from patients with different malignant diseases / N. Munzarova, R. Kubicek, A. Trnka / *Br.J.Cancer.* – 1975. – Vol.32. – P.737-740.
14. Miller B.J. Serum protein electrophoresis in the evaluation of lytic bone lesions / Nystrom L.M., Buckwalter J.A., Syrbu S., [et al] / *Iowa Orthod.J.* – 2013. – Vol.33. – P.114-118.
15. Can the acute-phase reactant proteins be used as Pang W.W., Abdul-Rahman P.S., Wan-Ibrahim W.I., Hashim O.H. [et al] cancer biomarkers? // *Int.J.Biol.Markers.* – 2010. – Vol.25, N.1. – P.1-11.
16. Rabinovichdepirosky 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 / R. Rabinovichdepirosky, S.R.Oisgold / *Br.J.Cancer.* – 1964. – Vol.3. – P.165-172.
17. Robinson H.W., Hodgen G.G. Biuret reaction for proteins / H.W Robinson, G.G. Hodgen // *J.Biol.Chem.* – 1940. – Vol.135. – P.707-717.
18. Silverman L.M. Electrophoretic patterns for serum glycoproteins reflect the presence of human breast cancer / L.M Silverman, G.B Dermer, Z.A Tokes / *Clin.Chem.* – 1977. – V.23, N.11. – P.2055-2058.
19. Strobel S.L. Transient paraproteinemia: an intriguing immunological anomaly S.L Strobel // *Ann.Clin.Lab.Sc.* – 2003. – V.33, N.3. – P.265-270.

20. http://www.homeomedi.com/files/article_byTsompani-Partalidou.pdf.

21. Witz I., Hermann G., Pikovski M., [et al]. The antigenic composition of tumours, sera and urines of tumour-bearing mice and the partial purification of two antigens present in increased amounts / I. Witz, G. Hermann, M. Pikovski [et al]. / Br. J. Cancer. – 1964. – V. 18. – P. 397-406.

22. Autoantibody to tumor antigen, alpha 2-HS glycoprotein: a novel biomarker of breast cancer screening and diagnosis / J.K. Yi, J.W. Chang, W. Han [et al]. / Cancer Epid. Biomark. Prev. – 2009. – Vol. 18, N. 5. – P. 1357-1364.

23. 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 / Z. Zeng, M. Hincapie, S.J. Pitteri et al. / Anal. Chem. – 2011. – Vol. 83, N. 12. – P. 4845-4854.

Исследован фракционный состав белков плазмы крови кошек с опухолями молочной железы (выявлено 14 основных фракций). У разных животных повышается содержание отдельных фракций: γ -глобулинов, трансферринов и белков острой фазы воспаления (α 1-антитрипсин, гаптоглобин и церулоплазмин).

Белки, кровь, опухоль молочной железы, кошка.

Fractional composition of plasma proteins from cats with mammary tumors has been investigated (14 main fractions have been identified). The level of individual fractions (γ -globulins, transferrins and acute phase proteins α 1-antitrypsin, haptoglobin and ceruloplasmin) increased in different animals.

Proteins, blood, mammary tumor, cat.

УДК 612.315:636.5

СКЛАД І СУБМІКРОСКОПІЧНА БУДОВА КЛІТИН ЛІМФОЇДНОЇ ТКАНИНИ СТРАВОХІДНОГО МИГДАЛИКА КУРЕЙ

**В.Т. Хомич, доктор ветеринарних наук, професор
Н.В. Дишлюк, кандидат ветеринарних наук, доцент**

Встановлено, що склад клітин лімфоїдної тканини стравохідного мигдалика курей неоднорідний. До них входять ретикулоцити, лімфоцити, імунобласти, проплазматичні і плазматичні клітини (плазмоцити), моноцити, макрофаги та М-клітини, які мають особливості субмікроскопічної будови.

Кури, стравохідний мигдалик, лімфоїдна тканина, клітини.

Відомо, що стравохідний мигдалик птахів, у тому числі і курей, входить до складу імунних утворень, які асоційовані із слизовою оболонкою