

ВЕТЕРИНАРНЫЕ НАУКИ

Научная статья

УДК 619:615.012-026.86:636.028

<https://agroconf.sgau.ru>

Выделение белков теплового шока из опухолевых клеток аденомы молочной железы

**Д.А. Солдатов, А.С. Мараева, А.В. Егунова, А.А. Кучеров,
Ю.В. Манаенкова, Н.И. Денисова**

Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии
и инженерии имени Н.И. Вавилова, г. Саратов, Россия.

Аннотация. В связи с тем, что продолжительность жизни кошек за последние 15 лет выросла, вероятность развития у них спонтанных опухолей возросла. Неоплазии являются одной из основных причин заболеваемости и смертности у пожилых животных. Для неинвазивной диагностики неоплазий могут применяться белки теплового шока. HSP — это высококонсервативные внутриклеточные белки, которые участвуют в сворачивании белка в ответ на стресс или высокую температуру. После удаления спонтанной опухоли у животного, проводились её культивирование и дальнейшее изучение.

Ключевые слова: Белки теплового шока, неоплазии, домашние животные, неинвазивные методы диагностики

Для цитирования: Солдатов Д.А., Мараева А.С., Егунова А.В., Кучеров А.А., Манаенкова Ю.В., Денисова Н.И. Выделение белков теплового шока из опухолевых клеток аденомы молочной железы // Аграрные конференции. 2025. № 52(4). С. 7-11. <http://agroconf.sgau.ru>

VETERINARY SCIENCES

Original article

Retrospective analysis of the incidence of rabies among animal populations in the Saratov region

**Soldatov D.A., Maraeva A.S., Egunova A.V., Kucherov A.A., Manaenkova
Yu.V., Denisova N.I.**

Saratov State University of genetics, biotechnology and engineering
named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

Abstract. Due to the fact that the life expectancy of cats has increased over the past 15 years, the probability of developing spontaneous tumors has increased. Neoplasia is one of the main causes of morbidity and mortality in elderly animals. Heat shock proteins can be used for noninvasive diagnosis of neoplasia. HSP are

highly conserved intracellular proteins that are involved in protein folding in response to stress or high temperature. After the removal of the spontaneous tumor from the animal, its cultivation and further study were carried out.

Keywords: Heat shock proteins, neoplasia, pets, noninvasive diagnostic methods

For citation Soldatov D.A., Marayeva A.S., Egunova A.V., Kuchеров A.A., Manaenkova Yu.V., Denisova N.I. Isolation of heat shock proteins from tumor cells of breast adenoma // Agrarian Conferences, 2025;(52(4)): 7-11(InRuss.). <http://agroconf.sgau.ru>

Введение. В связи с тем, что продолжительность жизни кошек за последние 15 лет выросла, вероятность развития у них спонтанных опухолей возросла. Неоплазии являются одной из основных причин заболеваемости и смертности у пожилых животных. У кошек наиболее распространена неоплазия молочных желез (49%), на втором месте находятся лимфопролиферативные заболевания (18%) [1]. Некоторые породы генетически более восприимчивы к определенным типам опухолей.

Канцерогенные факторы, с которыми сталкиваются люди, воздействуют на животных в меньшей степени, однако, животные, живущие рядом с людьми, могут быть подвержены воздействию некоторых факторов, которые связаны с увеличением числа опухолей у человека.

Существует ряд инвазивных методов диагностики новообразований, одним из которых является биопсия. Биопсия долгое время считалась золотым стандартом диагностики неоплазий [2]. Несмотря на то, что биопсия считается эффективной при постановке диагноза, из-за своей инвазивности она отходит на задний план. В настоящее время активно развиваются новые неинвазивные методы диагностики [3]. В подобных методах могут быть применены белки теплового шока (HSP), которые выполняют функцию молекулярных шаперонов. HSP - это высококонсервативные внутриклеточные белки, которые участвуют в сворачивании белка в ответ на стресс или высокую температуру. В связи с этим, при диагностике новообразований и в иммунотерапии могут применяться белки теплового шока [4].

Методика исследований. Работа выполнялась на базе кафедры «Болезни животных и ветеринарно–санитарная экспертиза» ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии им. Н.И. Вавилова». Ряд исследований были выполнены на базе ИБФРМ Обособленное структурное подразделение ФИЦ СНЦ РАН. Научно-производственные исследования проводились в условиях ветеринарных клиник для животных города Саратова.

Предмет исследований включал удаление неоплазии у животного и её культивирование с последующим выделением белков теплового шока.

Результаты исследований. Поступило животное с новообразованием молочной железы – кошка, без породная, 12 лет, по кличке Кшия. Диагноз был подтвержден клинической картиной, цитологическими исследованиями и

гистологическим исследованием. Цитологический анализ проводили с помощью набора реагентов Leucodif 200 (Lachema, Чешская Республика).

Была проведена операция по удалению новообразования и овариогистерэктомия. После удаления неоплазии опухолевые клетки были выделены для дальнейшего культивирования, так же была отобрана сыворотка крови для дальнейших исследований.

Проводилось цитологическое исследование (Рисунок 1), которое показало, что фон препарат образован базофильным крупнозернистым секретом, обломками клеток, нитями хроматина, эритроцитами. В препарате выявлена популяция клеток ретикулоэндотелиальной системы нейтрофилы, реактивные макрофаги. Ядра круглые (от 9 до 14 мкм). Имеют глыбчатый хроматин с 1-2 мя крупными до 2 мкм базофильно окрашенными ядрышками. Межклеточные границы выражены плохо. Анизоцитоз и анизокариоз ярко выражены.

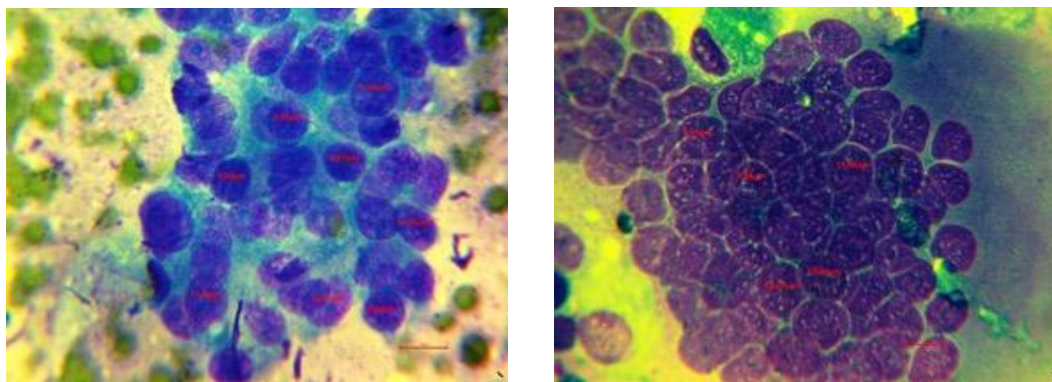


Рисунок 1. Цитология опухоли (покраска Лейкодиф 200 увеличение 100X). Кошка Кшися 12 лет

В дальнейшем нами проводилось выделение клеточных линий из полученных новообразований по методу Агилера.

Удаленную опухоль обработали в 70% спирте, предварительно отделив от соединительно тканой капсулы, после чего 1 половину поместили в 50 мл пробирку с питательной средой альфа-МЕМ, а 2 половину поместили в 50 мл пробирку с формалином в соотношении 1/3.



Рисунок 2. Рост клеток, выделенных из опухоли фазовый контраст увеличение 40X

Из полученного монослоя клеток (Рисунок 2) осуществлялось выделение белков теплового шока, проводился лизис клеток для дальнейшей хроматографической очистки. Хроматографическую очистку проводили на колонке 1×5 см с Toyopearl DEAE-650 (Sigma, США) на хроматографе NGC Quest 10 (Bio-Rad, США).

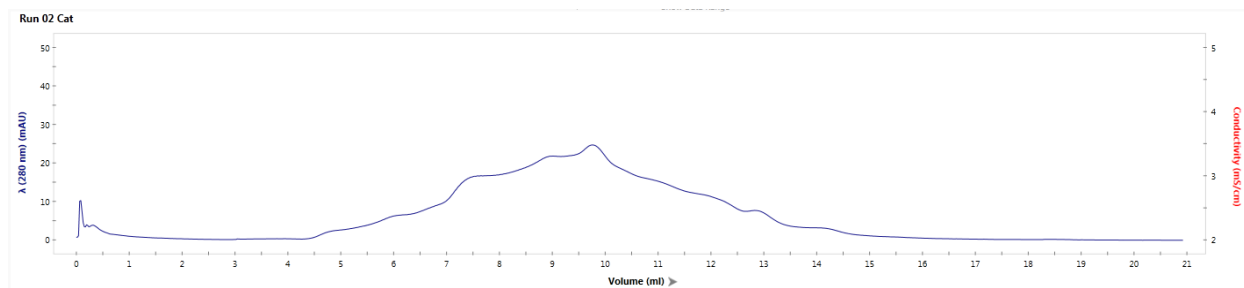


Рисунок 3. Хроматограмма выделенного HSP-антигена

Заключение. Ранее проводились исследования по выделению белков теплового шока из опухолей от лабораторных животных, данное исследование позволяет сделать вывод о том, что белки теплового шока могут быть выделены из любых опухолевых клеток, в том числе и от спонтанно заболевших животных (кошек). Полученные белки теплового шока применялись для дальнейших исследований в области ветеринарной онкологии.

Список литературы

1. Плахов Е. А., Летуновская А. В., Плахова А. И. Злокачественные и доброкачественные новообразования, выявленные у собак и кошек в 2014–2017 гг. // Ветеринарный Петербург. - 2021. - №3. - С. 1-2.
2. Cancer diagnosis: from tumor to liquid biopsy and beyond / R. Vaidyanathan, R.H. Soon, P. Zhang [et al.] // Lab Chip. – 2019. – № 19. – С. 11– 34.
3. Efficacy and toxicity of doxorubicin and cyclophosphamide used in the treatment of selected malignant tumors in 23 cats / G.N. Mauldin, R.E. Matus, A.K. Patnaik [et al.] // Vet Intern Med. – 1988. – Т. 2, № 2. – С. 60–65.
4. Phage antibodies against heat shock proteins as tools for in vitro cancer diagnosis / S.A. Staroverov, S.V. Kozlov, F.A. Brovko [et al.] // Biosens. Bioelectron. – 2022. – № 11. – С. 100211.

References

1. Plakhov E. A., Letunovskaya A.V., Plakhova A. I. Malignant and benign neoplasms detected in dogs and cats in 2014-2017 // Veterinary Petersburg. - 2021. - No. 3. - pp. 1-2.
2. Cancer diagnosis: from tumor to liquid biopsy and beyond / R. Vaidyanathan, R.H. Soon, P. Zhang [et al.] // Lab Chip. – 2019. – No. 19. – pp. 11-34.

3. Efficacy and toxicity of doxorubicin and cyclophosphamide used in the treatment of selected malignant tumors in 23 cats / G.N. Mauldin, R.E. Matus, A.K. Patnaik [et al.] // Vet Intern Med. – 1988. – Vol. 2, No. 2. – pp. 60-65.

4. Phage antibodies against heat shock proteins as tools for in vitro cancer diagnosis / S.A. Staroverov, S.V. Kozlov, F.A. Brovko [et al.] // Biosens. Bioelectron. – 2022. – No. 11. – p. 100211

Статья поступила в редакцию 27.06.2025; одобрена после рецензирования 01.08.2025; принята к публикации 22.08.2025.

The article was submitted 27.06.2025; approved after reviewing 01.08.2025; accepted for publication 22.08.2025.