

БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ КЛАСУ G МИШЕЙ, ЯКИМ ТРИВАЛИЙ ЧАС ЗГОДОВУВАЛИ МОЗОК ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

М. Р. КОЗАК¹, В. В. ВЛІЗЛО¹, Ю. Я. КИТ², Р. С. СТОЙКА²

¹Інститут біології тварин УААН, Львів;

²Інститут біології клітини НАН України, Львів;
e-mail: mariya_kozak@yahoo.com

Установлено, що згодовування мишам додатково до раціону мозку великої рогатої худоби та м'ясо-кісткового борошна (1:1) призводить до значного підвищення кількості імуноглобулінів, які взаємодіють із ДНК, а також із протеїновою і ліпідною фракціями мозку тварин. Досліджено здатність цих імуноглобулінів індукувати загибель клітин лінії L1210 лейкемії миші шляхом апоптозу, що супроводжується зміною рівня протеїнів Bcl-2, p53 і прокаспаз-3. Обговорено можливості використання цієї експериментальної тваринної моделі (клітин лінії L1210 лейкемії миші) для з'ясування цитопатогенетичних механізмів розвитку трансмісивних спонгіформних енцефалопатій.

Ключові слова: імуноглобуліни, раціон, клітини, миші, апоптоз.

Губчастоподібна енцефалопатія великої рогатої худоби (ВРХ); скрейпі овець; трансмісивна енцефалопатія норок; спонгіформні енцефалопатії; губчастоподібні енцефалопатії у кішок, мулів, лосів, оленів та антилоп; хвороба Крейтцфельда–Якоба; синдром Герстмана–Штрауслера–Шейнкера; хвороба куру; аміотрофічний лейкоспонгіоз; фатальна сімейне безсоння та хронічна прогресувальна енцефалопатія в дитячому віці (хвороба Альперса) належать до трансмісивних спонгіформних енцефалопатій (ТСЕ). У разі всіх цих захворювань у тварин і людини уражується центральна нервова система [1, 2]. Установлено, що в головному мозку хворих розвиваються дистрофічні зміни з утворенням множинних дрібних кіст, унаслідок чого він набуває вигляду губки [3]. Проте, і досі остаточно не з'ясовано за яким типом відбувається загибель клітин мозку тварин і людини, хворих на ТСЕ.

На сьогодні для з'ясування причин виникнення захворювання запропоновано дві основні теорії – пріонну та автоімунну. Перша теорія ґрунтується на участі пріонів у розвитку губчастоподібних утворень. Вважають, що ТСЕ спричинюється накопиченням у мозку пріонного протеїну PrP^{sc}, молекула якого має змінену конформацію [4–7]. Нині зазначена концепція вважається найобґрунтованішою, однак вона не може пояснити всі відомі випадки виникнення ТСЕ.

Автоімунна теорія базується на тому, що губчастоподібні утворення в мозку хворих

на ТСЕ можуть бути наслідком автоімунної реакції. Це підтверджується появою у них автоантител до антигенів мозку у крові та спинномозковій рідині: антитіл до протеїну нейрофіламента з молекулярною масою 62 кДа, основного протеїну мієліну (ОПМ) та пріонного протеїну. У людей, уражених хворобою Крейтцфельда–Якоба, виявлено автоантитіла як до ОПМ, так і до нейрофіламента. Механізми індукції автоімунних процесів при ТСЕ вивчені недостатньо. Вважають, що поява автоантител до специфічних протеїнів мозку є наслідком молекулярної мімікрії певних чужорідних антигенів, які потрапляють до організму під час споживання твариною кормів, інфікованих пріоном або іншими патогенетичними чинниками [8–12]. Губчастоподібну енцефалопатію виявили у Великій Британії на початку 1980-х років після введення м'ясо-кісткового борошна до раціону ВРХ. Імовірно, що тривале споживання деяких харчових антигенів, призводить до автоімунних порушень, які за певних умов спричинюють виникнення захворювання на ТСЕ. Показниками автоімунних процесів в організмі ссавців можуть слугувати: цитотоксична активність імуноглобулінів (Ig) сироватки крові, поява у тканинах анти-ДНК-антитіл та тканиноспецифічних автоантител [13].

Метою роботи було дослідити механізми цитотоксичної активності імуноглобулінів класу G (IgG) щодо мишачих клітин лінії L1210 лейкемії миші, очищених із сироватки крові мишей, які упродовж одного року перебували

на раціоні, збагаченому мозком ВРХ порівняно із тваринами, яким згодували м'ясо-кісткове борошно або борошно сої.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на 5 групах білих нелінійних мишей *Mus musculus* відповідно до Європейської конвенції із захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986). У кожній групі було 8 тварин. Добовий раціон мишей першої (контрольної) групи становив: 8 г фруктів, 2 г хліба, 3 г пшеничної крупи, 2 г сіна, 1 г коренеплодів (морква і буряк) та 0,5 г насіння соняшника. Доступ до води був необмеженим. Тваринам групи 2, крім основного раціону, щоденно згодували мозок ВРХ (50 мг/доба), мишам групи 3 до основного раціону додавали 25 мг мозку ВРХ та 25 мг м'ясо-кісткового борошна (Куп'янський ветсанзавод, Україна), мишам груп 4 і 5 – 50 мг м'ясо-кісткового борошна або 50 мг борошна сої відповідно. Дослід тривав 1 рік.

Препарати IgG виділяли із загальної фракції Ig, яку одержували триразовим пересадженням протеїнів сироватки крові сульфатом амонію та афінною хроматографією на колонці, наповненій агарозою, кон'югованої із протеїном G (Sigma, США) [14]. Концентрацію протеїну в одержаних препаратах визначали за абсорбцією світла (A) розчином при 280 нм на спектрофотометрі фірми NanoDrop Technologies (США). Для аналізу чистоти препаратів зразки IgG розчиняли в буфері, що містив 65 мМ трис-НСІ (рН 6,8), 1% Ds-Na, 2% 2-меркаптоетанолу та 10% гліцеролу. Проби кип'ятили протягом 3 хв при 110 °С і розділяли електрофорезом у 12%-у поліакриламідному гелі у присутності 0,1% Ds-Na [15].

Для дослідження цитотоксичної активності препаратів IgG використовували клітини лінії L1210 лейкемії миші (Колекція клітинних культур Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України), які культивували в середовищі Ігла, модифікованого Дульбекко (Sigma Chem. Co., США) у присутності 10%-ї ембріональної сироватки ВРХ і 50 мкг/мл гентаміцину (Sigma Chem. Co., США). Клітини L1210 (500 тис./мл) інкубували із препаратами IgG (кінцева концентрація 2 мкг/мл) протягом 48 год. Стан хроматину в ядрах визначали після фарбування клітин флуоресцентним барвником Hoechst 33342 (Sigma, США) [16].

Під час проведення імуноензиматичного аналізу ДНК тимуса теляти (Sigma, США) у концентрації 10 мкг/мл, протеїнову та ліпід-

ну фракції мозку миші абсорбували на поверхні 96-лункового пластикового планшета (SARSTEDT, США) протягом 18 год при 4 °С, після чого лунки промивали 1%-м БСА у фосфатному забуференому розчині (ЗФР). Потім до них додавали імуноглобуліни (0,02 мг/мл). Інкубацію проводили протягом 2 год при 37 °С. Після цього вносили вторинні антитіла до протеїнів миші, кон'юговані протягом 1 год при 37 °С з пероксидазою хрину (Amersham Life Sciences, UK). Планшет промивали 0,05%-м ЗФР, що містив Tween 20. Як хромоген використовували 3,3'-діамінобензидин (Sigma, США). Абсорбцію (A) світла розчином вимірювали при 405 нм на спектрофотометрі фірми NanoDrop Technologies (США).

Для вестерн-блот-аналізу протеїнів клітини обробляли 30 хв при 4 °С лізисним буфером, що містив 20 мМ трис-НСІ (рН 7,4), 1%-й тритон X-100, 150 мМ NaCl, 1%-й Trasyolol та 1 мМ фенолметилсульфонілфторид (PMSF). Надосадову рідину із протеїновими зразками відбирали після 15-хвилинного центрифугування при 12 000 г. Концентрацію протеїну визначали методом D. Peterson [17]. Аліквоту протеїну (40 мкг) відбирали для електрофорезу у 12%-у поліакриламідному гелі у присутності 0,1%-м Ds-Na. За допомогою електрофорезу протеїни переносили з гелю на нітроцелюлозну мембрану, яку обробляли при 20 °С протягом 1 год 5%-м розчином сухого молока, що містив 0,05% Tween 20. Мембрану інкубували з первинними антитілами при 4 °С упродовж ночі, після чого блоти двічі по 5 хв промивали ЗФР з 0,05%-м Tween 20. Інкубацію проводили 1 год з міченими пероксидазою хрину вторинними антитілами. Після цього мембрану двічі по 5 хв промивали ЗФР у присутності 0,05%-го Tween 20. Місця зв'язування антитіл, кон'югованих із пероксидазою хрину, і протеїнів виявляли за допомогою хемілюмінесценції на рентгенівській плівці (Fujifilm, Японія). Використовували первинні моноклональні кролячі антитіла проти прокаспази-3 (Cell Signaling, США), протеїну Bcl-2 (Santa Cruz, США) та моноклональні мишачі антитіла проти протеїну p53 (Cell Signaling, США).

Для виділення і часткового очищення протеїнової фракції швидко заморожений мозок миші обробляли хлороформ-метанольною сумішшю (2 : 1, v/v) та гомогенізували. До осаду додавали ацетон, після чого його промивали водою. Протеїни екстрагували при рН 3 протягом 30 хв; рН розчину повільно доводили до 9 1М NaOH.

Для виділення ліпідної фракції мозок миші після швидкого заморожування і об-

роблення хлороформ-метанольною сумішшю (2 : 1, v/v) гомогенізували. Використовували надосадову рідину.

При застосуванні методу Оухтерлоні до центральної лунки вносили антиген-протеїнову фракцію, отриману з мозку миші. Препарати IgG додавали до лунок, розташованих навколо центральної лунки [18].

Дані обробляли статистично. Повторність дослідів трикратна. Рівень вірогідності одержаних результатів визначали, використовуючи програму Microsoft Excel 5.0 і враховуючи коефіцієнт Стюдента. Вірогідними вважали зміни показників, якщо P становило $\leq 0,05$.

Результати та обговорення

У попередніх дослідженнях ми встановили, що Ig сироватки крові мишей, яким додатково до раціону додавали мозок ВРХ, м'ясо-кісткове борошно або борошно сої, індукують загибель клітин лінії L1210 лейкемії миші [19, 20]. Для того, щоб виявити потенційні внутрішньоклітинні молекулярні мішені дії антитіл, використовували метод ELISA. Це дало можливість визначити здатність антитіл сироватки крові та очищених препаратів IgG безпосередньо до взаємодії з ДНК, а також із ліпідною та протеїною фракціями мозку

миші. Встановлено, що антитіла сироватки крові тварин, яким згодували мозок ВРХ і м'ясо-кісткове борошно, а також борошно сої (рис. 1), містять у 1,5–2,0 рази більшу кількість антитіл до ДНК тимуса теляти порівняно з Ig тварин контрольної групи. Найвищий рівень антитіл до ДНК було виявлено у препаратах Ig, одержаних із сироватки крові мишей, яким до раціону додавали м'ясо-кісткове борошно в поєднанні з мозком ВРХ. При цьому в сироватці крові в 1,5–1,7 раза зростала кількість антитіл до ліпідної фракції мозку мишей, яким згодували мозок ВРХ та м'ясо-кісткове борошно разом із мозком ВРХ. Сироватка крові тварин цих груп також містила більшу кількість антитіл до протеїнової фракції мозку миші. Додавання до раціону борошна сої спричинювало зниження вмісту таких Ig у крові мишей.

Електрофоретичний аналіз препаратів IgG, очищених афінною хроматографією на протеїн G-агарозі, свідчить, що протеїни одержаних фракцій належать, переважно, до поліпептидів з молекулярною масою 52 та 27 кДа, які за цим параметром аналогічні важким та легким ланцюгам IgG миші (рис. 2).

Оскільки в попередніх експериментах [20] ми виявили, що саме очищеним препаратам

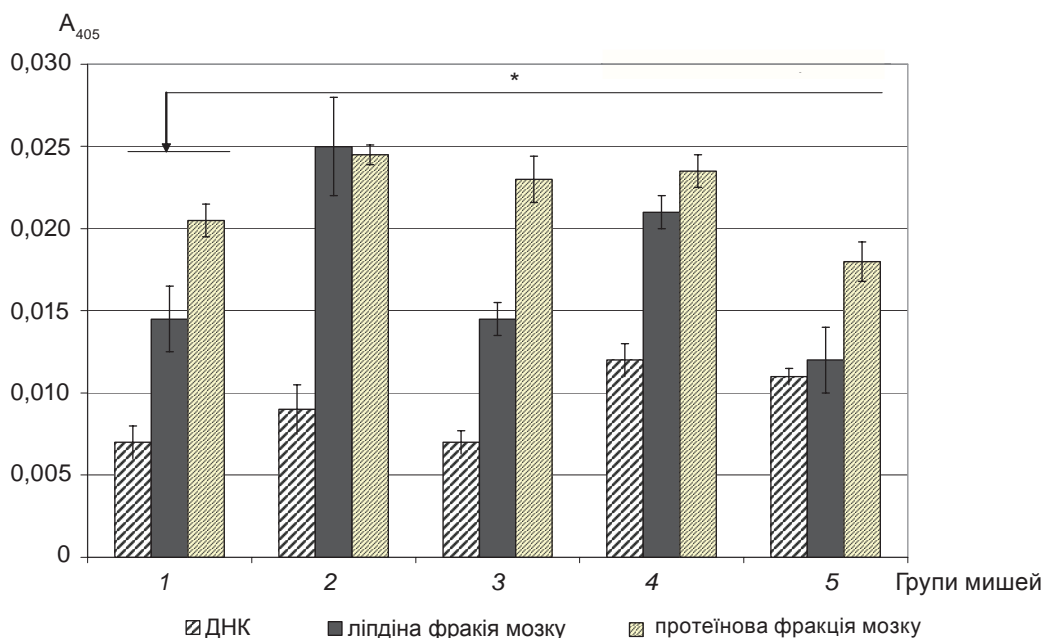


Рис. 1. Взаємодія імуноглобулінів сироватки крові мишей різних груп із ДНК тимуса теляти та ліпідною і протеїною фракціями мозку миші (імуноензиматичний аналіз).

Тут і на рис. 2: 1 – Ig сироватки крові контрольних мишей; 2–5 – Ig сироватки крові мишей, яким до основного раціону додавали відповідно мозок великої рогатої худоби (ВРХ), ВРХ + м'ясо-кісткове борошно (1:1), м'ясо-кісткове борошно та борошно сої. * Дані порівняно з контролем вірогідні, $P \leq 0,05$

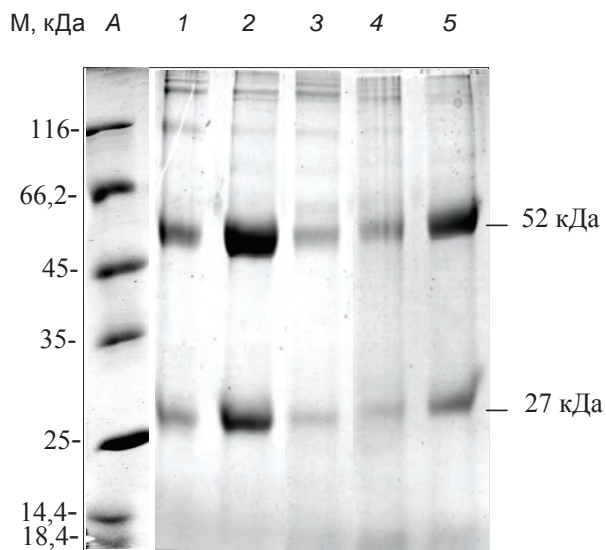


Рис. 2. Електрофорез препаратів Ig, очищених із сироватки крові мишей афінною хроматографією на протеїн G-агарозі у 12%-у поліакриламідному гелі у присутності Ds-Na. Доріжка зліва А – маркери протеїнів

IgG мишей притаманна цитотоксична активність і здатність спричинювати фрагментацію та конденсацію хроматину, то наступним етапом досліджень було вивчення молекулярних мішеней дії антитіл цього класу. Використовуючи метод ELISA, ми встановили, що IgG тварин, яким згодували мозок ВРХ (група 2), містять у 1,3 раза більшу кількість антитіл до протеїнів тканин мозку порівняно з IgG мишей контрольної групи (група 1). Найвищий вміст антитіл до ліпідної фракції тканин мозку було виявлено у препаратах IgG мишей груп 2 та 3, яким до раціону додавали мозок ВРХ та м'ясо-кісткове борошно у поєднанні з мозком ВРХ відповідно (рис. 3). Згодування тваринам борошна сої (група 5) обумовило зниження титру IgG, здатних взаємодіяти із протеїнами мозку порівняно з контролем (рис. 4). Кількість IgG, що взаємодіють із ліпідами тканин мозку мишей, яким згодували борошно сої (група 5), така як у тварин контрольної групи (рис. 4).

Взаємодію протеїнів тканин мозку та IgG, мишей, яким до основного раціону додавали

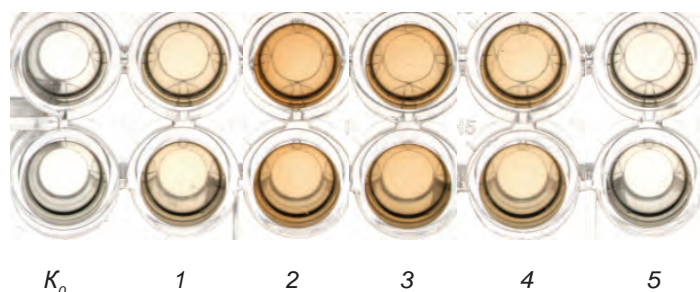
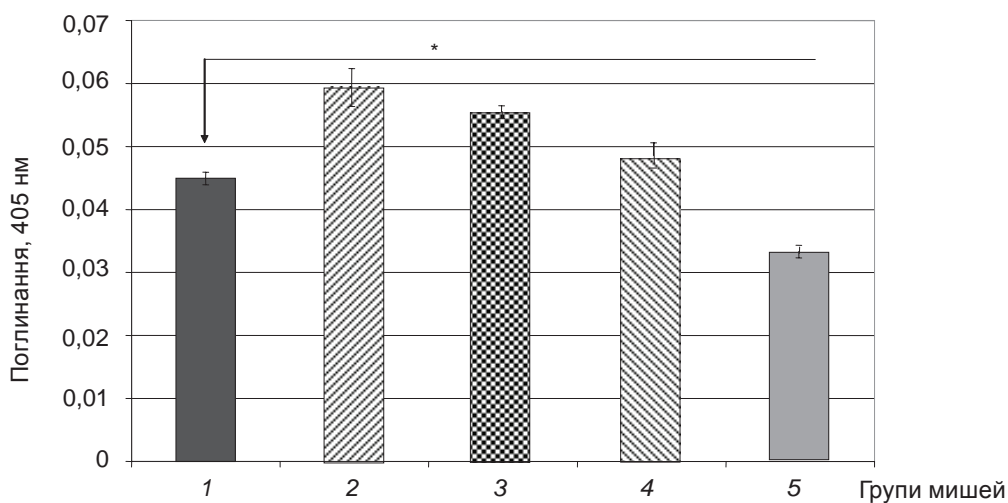


Рис. 3. Взаємодія препаратів IgG із протеїнами мозку миші (імуноферментний аналіз).

K_0 – контроль (за відсутності IgG); 1 – Ig сироватки крові контрольних мишей; Ig сироватки крові мишей груп 2–5, яким до основного раціону додавали відповідно мозок великої рогатої худоби (ВРХ), ВРХ + м'ясо-кісткове борошно (1 : 1), м'ясо-кісткове борошно та борошно сої. * Дані порівняно з контролем (групою 1) вірогідні, $P \leq 0,01$

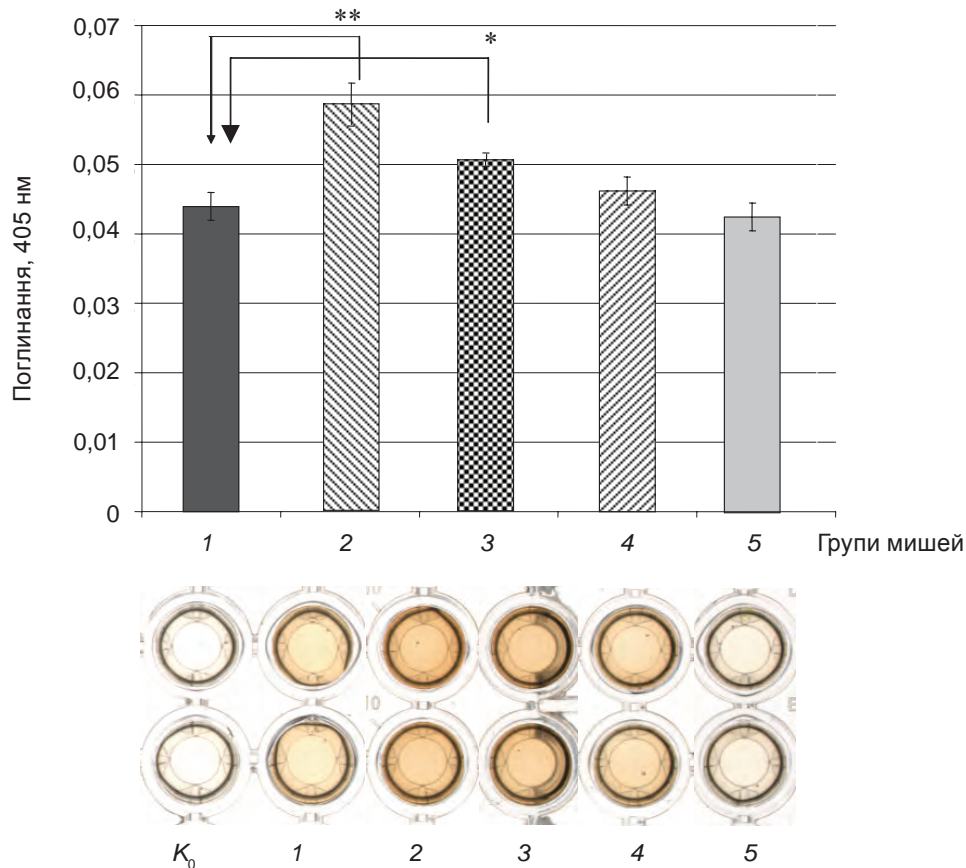


Рис. 4. Імуноензиматичний аналіз взаємодії препаратів IgG із ліпідною фракцією тканин мозку миші. K_0 – контроль (за відсутності IgG); 1 – Ig сироватки крові контрольних мишей; Ig сироватки крові мишей груп 2–5: тваринам до основного раціону додавали відповідно мозок великої рогатої худоби (ВРХ), ВРХ + м'ясо-кісткове борошно (1:1), м'ясо-кісткове борошно, борошно сої. * Дані порівняно з контролем К (групою 1) вірогідні, $P \leq 0,05$; **, ** дані порівняно з контролем K_0 (за відсутності IgG) вірогідні, $P \leq 0,01$ і $P \leq 0,01$ відповідно

мозок ВРХ та м'ясо-кісткове борошно у поєднанні з мозком ВРХ, підтверджено за допомогою методу Ухтерлоні. На рис. 5 відображено кільця протейнової преципітації, що свідчить про взаємодію IgG з антигенами мозку. Отже, тривале згодовування мишам продуктів тваринного походження може призвести до появи у них автоантитіл, які, вірогідно, здатні спричинити розвиток ТСЕ.

Оскільки деякі лінії лейкоцитів Т- і В-лімфоцитів периферичної крові ссавців зберігають функціональні властивості, притаманні клітинам, з яких вони походять, то є можливість використовувати їх у дослідженнях активності лімфоїдних клітин ссавців. Як тест-систему нами було вибрано лінію L1210 лейкоцитів миші. Відомо, що відмирання клітин в організмі відбувається, переважно, двома шляхами – апоптозним або некротичним. Апоптичні та некротичні клітини неоднакові за морфологічними та біохімічними

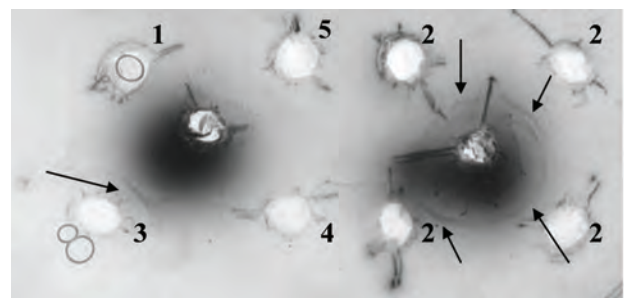


Рис. 5. Взаємодія IgG мишей (внесених у лунки 1–5) із протейною фракцією тканин мозку миші (внесених у центральні лунки). Стрілками вказано дуги преципітації, що утворюються внаслідок взаємодії антигена з антитілом (метод Ухтерлоні): 1– IgG сироватки крові контрольних мишей; 2–5 – IgG сироватки крові мишей, яким додатково до раціону згодовували відповідно мозок великої рогатої худоби (ВРХ), ВРХ із м'ясо-кістковим борошном (1 : 1), м'ясо-кісткове борошно та борошно сої

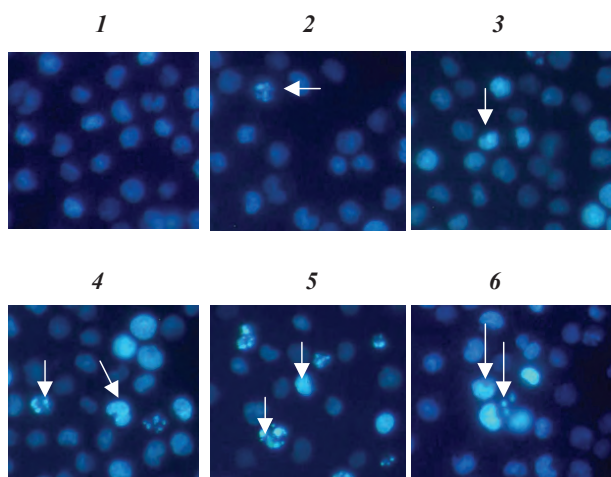


Рис. 6. Проапоптична фрагментація і конденсація хроматину клітин лінії L1210 лейкемії миші під впливом препаратів IgG мишей: 1 – контрольні (інтактні) клітини L1210; 2 – клітини L1210 за дії на них IgG мишей контрольної групи; 3–6 – клітини L1210 за дії на них IgG мишей, яким згодували відповідно мозок ВРХ; ВРХ + м'ясо-кісткове борошно (1 : 1), м'ясо-кісткове борошно та борошно сої. Клітини лінії L1210 фарбували барвником Hoechst 33342; стрілками позначено клітини з ушкодженим хроматином та з наявністю (конденсації та фрагментації) на 48-й годині інкубації

ми характеристиками. Зокрема, апоптичним клітинам властива конденсація і фрагментація ядерного хроматину, надекспресія проапоптичного протеїну р53 і каспаз. Установлено, що інкубація клітин із дослідними препара-

тами IgG призводить до зростання кількості клітин із фрагментованим хроматином. Після фарбування флуоресцентним барвником Hoechst 33342 у клітинах L1210 було виявлено характерні ознаки апоптозу, а саме: фрагментацію та конденсацію ядерного хроматину (рис. 6). Установлено, що перебування мишей на певному раціоні призводить до появи в їхній крові IgG, здатних індукувати проапоптичну фрагментацію ядерного хроматину у клітинах лінії L1210 *in vitro*. З огляду на те, що деякі IgG здатні спричиняти загибель клітин лінії L1210, ми вважали доцільним дослідити молекулярні механізми їхньої дії на клітинні мішені. Одержані дані свідчать про високий рівень проапоптичного протеїну р53 за дії препаратів IgG на клітини лінії L1210, тоді як у контролі (за відсутності впливу Ig) цей протеїн не виявлено (рис. 7). Отже, було підтверджено попередній висновок про те, що препарати IgG спричинюють загибель клітин L1210 шляхом апоптозу. Найвищий рівень протеїну р53 спостерігається за дії IgG мишей контрольної групи та мишей, яким додатково згодували борошно сої (рис. 8, Б). Водночас відзначено низький рівень вмісту цього протеїну за дії IgG тварин, яким додатково згодували мозок ВРХ (рис. 8, Б). Зважаючи на цитотоксичну дію IgG, яку було відзначено нами раніше, можна припустити неапоптичний тип загибелі клітин саме під його впливом. У попередніх дослідженнях нами встановлено, що IgG цих тварин спричинює загибель клітин лінії L1210 шляхом некрозу [20].

Bcl-2 вважають антиапоптичним протеїном, який, передусім, інгібує експресію каспаз,

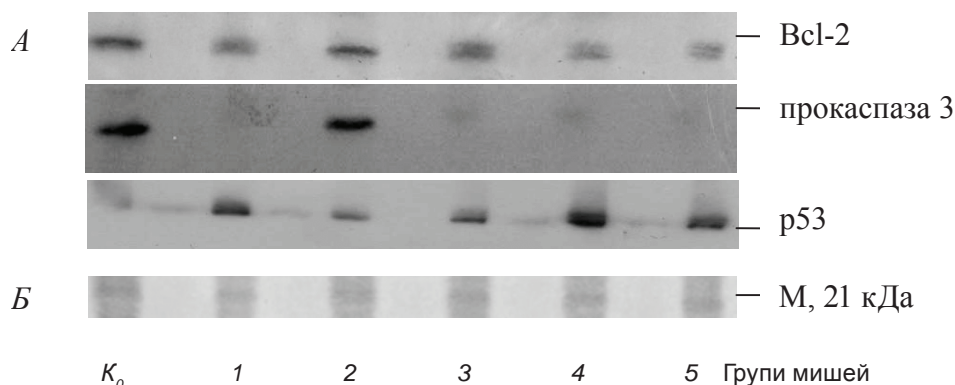


Рис. 7, А: Вестерн-блот-аналіз вмісту протеїнів Bcl-2, прокаспази-3 та р53 у клітинах лінії L1210 лейкемії миші за дії на них IgG тварин контрольної групи (1) та груп 2–5, яким до основного раціону додавали відповідно ВРХ, мозок ВРХ + м'ясо-кісткове борошно (1 : 1), м'ясо-кісткове борошно та борошно сої. K₀ – контроль за відсутності IgG. Рис. 7, Б: Неспецифічний поліклональний протеїновий антиген (M ~ 21 кДа). Протеїн на мембрані фарбували Ponso red

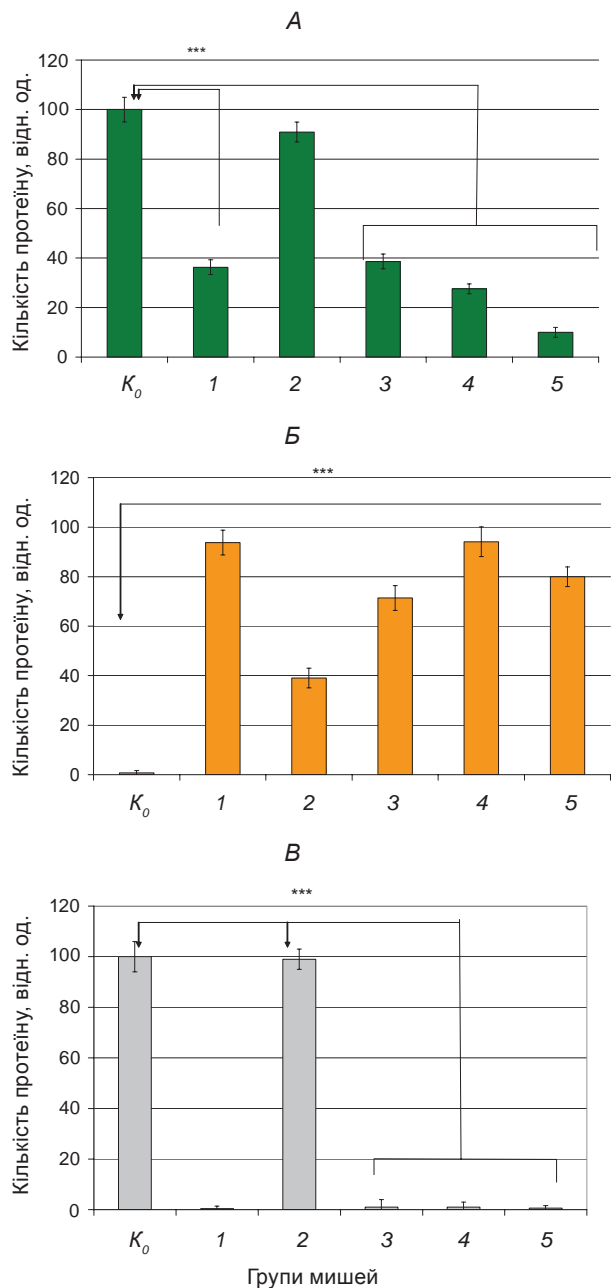


Рис. 8. Денситометричний аналіз рентгенограм вестерн-блот-аналізу експресії протеїнів Bcl-2 (А) p53 (Б) та прокаспазу 3 (В), задіяних у регуляції апоптозу клітин L1210 лейкемії миші за дії на IgG сироватки крові тварин різних груп: контрольної (1) та груп 2–5, яким відповідно згодували мозок ВРХ, ВРХ + м'ясо-кісткове борошно (1 : 1), м'ясо-кісткове борошно та борошно сої; K_0 – контроль (за відсутності дії IgG). Дані нормалізовано відносно рівня неспецифічного поліклонального протеїнового антигену ($M \sim 21$ кДа). * Дані порівняно з K_0 вірогідні, $P \leq 0,001$

зокрема прокаспазу-3. З рис. 8, В випливає, що найвищий вміст прокаспазу-3 притаманний клітинам L1210, на які не впливали IgG, та за дії IgG мишей, яким додавали до основного раціону мозок ВРХ. Тому можна вважати, що за дії IgG цієї групи тварин на клітини відбувається каспазо-незалежний тип їхньої загибелі.

Найвищий вміст антиапоптичного протеїну Bcl-2 спостерігається в лізатах клітин лінії L1210 за дії на них IgG мишей, яким згодували додатково до основного раціону мозок ВРХ, а також у контролі (K_0), тобто за відсутності дії IgG (рис. 7). У разі дії IgG, одержаних із сироватки крові тварин інших груп, виявлено низький рівень протеїну Bcl-2 (рис. 8, А). Отже, є підстава вважати, що препарати IgG мишей, яким до раціону додавали м'ясо-кісткове борошно і борошно сої, та IgG контрольної групи спричинюють загибель клітин лінії L1210 шляхом апоптозу, тоді як IgG мишей, яким додавали до основного раціону мозок ВРХ, призводили до неапоптичної загибелі клітин-мішеней.

Таким чином, тривале згодування мишам продуктів, що містять тканини тварин, зокрема мозок ВРХ або продукти їхнього перероблення (м'ясо-кісткове борошно) призводить до утворення у них неспецифічних антитіл класу IgG, здатних взаємодіяти з ДНК, протеїнами та ліпідами тканин мозку. IgG мишей усіх груп, окрім тих, яким згодували мозок ВРХ, індукують загибель клітин шляхом апоптозу. Є підстава вважати, що мозок та м'ясо-кісткове борошно містять антигени, які імітують структуру аутоантигенів (молекулярна мімікрія антигену), внаслідок чого в організмі тварин утворюються спеціальні імунні клітини пам'яті, здатні синтезувати аутоантитіла. В цілому, запропоновану нами експериментальну модель клітин тварин можна вважати перспективною для з'ясування цитопатогенетичних механізмів ТСЕ.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА G
МЫШЕЙ, КОТОРЫМ ДЛИТЕЛЬНОЕ
ВРЕМЯ СКАРМЛИВАЛИ МОЗГ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

М. Р. Козак¹, В. В. Влизло¹, Ю. Я. Кит²,
Р. С. Стойка²

¹Институт биологии животных УААН, Львов;
²Институт биологии клетки НАН Украины, Львов;
e-mail: mariya_kozak@yahoo.com

Установлено, что скармливание мышам дополнительно к рациону мозга крупного рогатого скота и мясо-костной муки приводит к повышению содержания иммуноглобулинов, которые взаимодействуют с ДНК, а также с протеиновой и липидной фракциями мозга мыши. Исследована способность этих иммуноглобулинов индуцировать гибель клеток линии L1210 лейкемии мыши путем апоптоза, который сопровождается изменением уровня протеинов Bcl-2, p53 и прокаспазы-3. Обсуждены возможности использования данной экспериментальной модели клеток животных L1210 для выяснения цитопатогенетических механизмов развития трансмиссивных спонгиозных энцефалопатий.

Ключевые слова: иммуноглобулины, рацион, клетки, мыши, апоптоз.

**BIOLOGICAL FEATURES
OF IMMUNOGLOBULINS OF CLASS G
IN MICE FED FOR A LONG TIME WITH
BRAIN OF CATTLE**

М. R. Kozak¹, V. V. Vlizlo¹, Yu. Ya. Kit²,
R. S. Stoika²

¹Institute of Animal Biology, Ukrainian
Academy of Agrarian Sciences, Lviv;
²Institute of Cell Biology, National Academy
of Sciences of Ukraine, Lviv;
e-mail: mariya_kozak@yahoo.com

S u m m a r y

It was found that mice fed with brain of cattle or brain of cattle with a meat-bone flour (1 : 1), were capable of producing immunoglobulins which interacted with DNA, and protein and lipid fractions of mouse brain. These immunoproteins also induced death of cells of L1210 line of murine leukemia via apoptosis accompanied by changes in

the animal level of proteins Bcl-2, p53 and pro-caspase 3. The potentials of using this experimental animal model for studying cytopathogenetic mechanisms of transmissible spongiform encephalopathies are discussed.

Key words: immunoglobulins, ration, cells, mouse, apoptosis.

1. Giese A., Kretzschmar H. A. // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2001. – **253**. – P. 203–217.
2. Cunningham C., Wilcockson D. C., Campion S. et al. // *J. Neurosci.* – 2005. – **40**, N 25. – P. 9275–9284.
3. Liberski P. P., Gajdusek D. C., Brown P. // *Acta Neurobiol. Exp.* – 2002. – **62**. – P. 141–147.
4. Fraser J. R. // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* – 2002. – **28**. – P. 1–11.
5. Castilla J., Hetz C., Soto C. // *Curr. Mol. Med.* – 2004. – **4**, N 4. – P. 397–403.
6. Kuwata K., Matumoto T., Cheng H. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – **100**, N 25. – P. 14790–14795.
7. Marella M., Chabry J. // *J. Neurosci.* – 2004. – **24**, N 3. – P. 620–627.
8. Axelrad J. // *Med. Hypotheses.* – 1998. – **50**. – P. 259–264.
9. Andrievskaia O., McRae H., Elmgren C. et al. // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2006. – **1**. – P. 98–105.
10. Zhu B. T. // *Histol. Histopathol.* – 2005. – **20**. – P. 575–592.
11. Ebringer A., Rashid T., Jawad N. et al. // *Med. Hypotheses.* – 2007. – **68**, N 1. – P. 113–124.
12. Paraf A. // *Ibid.* – 1998. – **50**. – P. 85–90.
13. Поletaев А. Б. // *Биохимия.* – 2002. – **67**, № 5. – С. 721–731.
14. *Иммунологические методы* / Под ред. Г. Фримеля. – М.: Медицина, 1987. – 390 с.
15. Laemmli U. K. // *Nature.* – 1970. – **15**. – P. 680–685.
16. Chen Q., Liu W., Guo X. et al. // *Acta Pharmacol. Sinica.* – 2007. – **28**, N 3. – P. 353–358.
17. Peterson D. // *Strop. Sci.* – 1976. – **16**. – P. 663–666.
18. *Антитела 1. Методы* / Под ред. Д. Кэтти. – М.: Мир, 1991. – С. 201–207.
19. Козак М. Р., Остапів Д. Д., Кит Ю. Я. та ін. // *Експерим. фізіол. та біохімія.* – 2007. – № 1. – С. 11–16.
20. Козак М. Р., Влизло В. В., Кит Ю. Я., Стойка Р. С. // *Біополімери і клітина.* – 2008. – № 1. – С. 28–34.

Отримано 25.02.2009