

VETERINARSKI GLASNIK

ČASOPIS VETERINARSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU
VET. GLASNIK VOL. 48 Br. 1-2 STR. 1-144 BEOGRAD, 1994.

SADRŽAJ - CONTENTS - СОДЕРЖАНИЕ

SIMPOZIJUM „MALE ŽIVOTINJE - ŽIVOT I ZDRAVLJE” - SYMPOSIUM „SMALL ANIMALS - LIFE AND HEALTH” - СИМПОЗИОМ ”МАЛЫХ ЖИВОТНЫХ - ЖИЗНЬ И ЗДОРОВЬЕ”

PLENARNI REFERATI „PO POZIVU” - „INVITED” PLENARY PAPERS - ПЛЕНАРНЫЕ РЕФЕРАТЫ ”ПО ЗАКАЗУ”

Uvodnik - Introduction - Передовая статья	3
Nikolić Svetlana: Psihološki i socijalni faktori držanja životinja u gradu Social and Psychological Aspects of Maintaining Animals in an Urban Environment Социальные и психологические аспекты содержания животных в паселенной среде	5
Popović N., Nikolovski-Stefanović Zorica: Dijagnostika oboljenja „malih” životinja - stanje i perspektiva Clinical Diagnosis of Diseases of Small Animals: State and Perspective Клиническая диагностика заболеваний малых животных - состояние и перспектива	11
Ivanović I., Božić Tatjana: Klinička biohemija u dijagnostici i lečenju oboljenja malih životinja: opšta razmatranja i biohemijska dijagnostika akutnog zapaljenja Clinical Biochemistry in Diagnosis and Treatment of Diseases in Small Animals Клиническая биохимия в диагностике и лечении заболеваний малых животных	17
Janković-Zagorčić Anica, Krstić N.: Radiološka dijagnostika oboljenja malih životinja - mogućnosti i ograničenja Radiological Diagnosis of Diseases of Small Animals: Possibilities and Limitations Радиологическая диагностика заболеваний малых животных - возможности и ограничения	25
Dimitrijević Sanda, Katić-Radivojević Sofija, Đurković-Daković Olga: Savremena dijagnostika parazitskih zoonoza Contemporary Diagnosis of Parasitic Zoonoses Современная диагностика паразитических зоонозов	31
Olujić Miroslava, Pavlović V., Vakanjac Slobodanka, Pavlović M.: Neplodnost kuja - etiologija, dijagnostika, terapija i profilaksa Sterility of Bitches: Etiology, Diagnosis, Therapy and Prophylaxis Неплородность собак - этиология, диагностика, терапия и профилактика	37
Pavlović V., Vakanjac Slobodanka, Pavlović M., Pavlović N.: Tumori vagine kuja Vaginal Tumors in Bitches Опухоли вагины собак	43
Šimić Marija, Marković-Saljič Danica: Korelacija između steroidnih receptora i karcinoma mlečne žlezde kuja Correlation Between Steroid Receptors and Carcinoma of the Mammary Gland of Bitches Корреляция между стероидными рецепторами и карцином молочной железы собак	49
Vasić J.: Hirurgija tumora mlečne žlezde kuja Surgery of Mammary Gland Tumors in Bitches Хирургия опухоли молочной железы собак	55

UDK 619:618.19-006:636.7

KORELACIJA IZMEĐU STEROIDNIH RECEPTORA I KARCINOMA MLEČNE ŽLEZDE KUJA*

Marija Šimić, Danica Marković-Saljnikov**

Fenomen života i funkcija ćelije rezultiraju iz čitavog niza koordiniranih metaboličkih procesa. Sve ono što karakteriše život jedne ćelije, a ogleda se u procesima diferencijacije, rasta i funkcionalnosti te ćelije, kreće se u granicama njenog postojećeg genetskog potencijala, odnosno genetski je programirano, a regulatorni mehanizmi su ti koji određuju kakva će biti uloga ćelije unutar nekog složenijeg i savršenijeg organizma. Naime, interakcija genoma i citoplazme, interakcija između ćelija, kao i interakcija čitavog organizma sa spoljašnjom sredinom, komponente su koje mogu da dovedu do različitog načina ispoljavanja funkcija genoma. Prema tome, genetski potencijal u ćelijama eukariota nalazi se pod stalnom kontrolom intracelularnih autoregulatornih faktora, kao i pod kontrolom intercelularnih međućelijskih komunikacija. Naime, od primitivnih hemijskih sistema komunikacija u prokariota, razvili su se tokom evolucije nervni i endokrini sistem kao sistemi složenije interne i eksterne komunikacije u eukariota, koji po sistemu prijema i prepoznavanja signala različitog porekla obezbeđuju uslove u normalnom životu.

Razvoj i reprodukciju viših organizama kontroliše CNS - hipotalamo - hipofizna - gonadna osovina, a u ćelijama tkiva koja čine karike ove osovine, sintetišu se molekule za međućelijsku komunikaciju - hormoni i neurotransmiteri, koji prenose signale i obezbeđuju njihove kontakte. Stepenn međućelijske komunikacije svakako utiče na stepenn seksualne diferencijacije.

Reproduktivni hormoni po hemijskom sastavu i po mestu biosinteze i sekrecije, podeljeni su na:

- steroidne reproduktivne hormone gonada; androgeni, estrogini i progesteron;
- peptidne gonadotropine iz hipofize, stimulirajuće (rilizing) i inhibitorne (statini) hormone/faktore hipotalamusa i peptidne hormone iz gonada.

Reproduktivni hormoni gonada komuniciraju sa mnogim ćelijama u organizmu jedinke, a za razliku od njih, gonadotropni hipofizni hormoni i peptidi hipotalamusa svoj efekat najčešće ostvaruju preko reproduktivnih hormona gonada.

* Rad primljen 17. II 1994. godine. Plenarni referat „po pozivu“.

** Dr Marija Šimić, van. profesor; Danica Marković-Saljnikov, asistent, Katedra za histologiju i embriologiju, Veterinarski fakultet, Beograd.

A. Hemijske karakteristike i poreklo reproduktivnih hormona gonada

Po hemijskoj prirodi, i muški i ženski reproduktivni hormoni gonada spadaju u steroide, koji pripadaju klasi supstancija poznatoj u hemiji pod imenom terpenoidi ili terpeni, a njihovi zajednički prekursori su izopentenil pirofosfat i dimetilalil pirofosfat.

Iz ova dva prekursora preko skvalena, nastaje holesterol, čijom daljom modifikacijom, u uslovima - *in vivo*, mogu da se sintetišu svi steroidni hormoni uključujući progesteron, estrogen i testosteron.

a. Ovarijum, periodični sistem steroidogeneze

U ovarijumu se sintetišu sve vrste polnih steroidnih hormona; androgeni, progesteron i estrogeni. Dokazi za ovarijalnu sekreciju ovih hormona dobijeni su, određivanjem pojedinačnih koncentracija hormona u venskoj krvi jajnika. I dok u ranoj folikularnoj fazi nema značajnijih razlika u koncentraciji steroidnih hormona u krvi, u kasnijoj folikularnoj i luteinskoj fazi koncentracije svih steroida su veće, odnosno razlikuju se međusobno. Korišćenjem različitih metoda izvršena je i identifikacija ćelija za sintezu pojedinih hormona.

Sazrevanjem folikula u jajniku, nastaju promene u ćelijama strome izvan lamine bazalis, one zadobijaju epiteloidan izgled, i imaju organele specifične za ćelije koje luče steroidne hormone, to su ćelije teke interne koje se razlikuju od granulosa folikularnih ćelija. Estradiol kao proizvod obe vrste ćelija, ima značajnu ulogu u stimulaciji efekata FSH, na rast u funkcionisanje sopstvenog folikula. Pre ovulacije ćelije granulose vrše aromatizaciju androgena u estrogene. U periodu ovulacije FSH i estrogeni indukuju pojavu većeg broja receptora za LH. Posle ovulacije dominira luteinski granulozni sloj, sa LH receptorima. Ove ćelije sintetišu i luče progesteron i manje količine estrogena, a ova aktivnost je u direktnoj zavisnosti od LH i broja LH receptora sintetisanih u preovulatornoj fazi. U *in vitro* uslovima u prisustvu LH i FSH hormona nastaje povećanje aromatske aktivnosti i povećanje koncentracije progesterona u granulosa luteinskim ćelijama žutog tela [Fortune i Helbert, 1986].

b. Specifičnosti metabolizma estrogena

Estrogeni se, pored inaktivacije, mogu i da sintetišu na periferiji. Tako slobodni androgeni prelaze u slobodne estrogene u koži i masnom tkivu. U žena posle menopauze ovakav vid biosinteze estrogena može da bude veoma efikasan. Naime, u perifernim tkivima može da se stvori toliko estrogena da može da izazove postmenopauzalna krvarenja.

Nedavno je otkriveno da se estradiol 17-hidroksiliše u mozgu i tako stiče hemijske osobine katecholamina, adrenalina i noradrenalina. Otkriće katechol estrogena otvorilo je novo poglavlje u metabolizmu estrogena. Biološka uloga katechol-estrogena još uvek nije poznata.

B. Receptori - medijatori hormonske aktivnosti

Jedinstven i relativno jednostavan koncept o molekulskim mehanizmima delovanja steroidnih hormona zasniva se na studijama svih klasa steroida i pokazuje da odgovor ćelije na stimulse steroidnih hormona, zavisi od prisustva funkcionalne i specifične

komponente označene kao receptori (fosfoproteini), koji se nalaze u citoplazmatičnom, odnosno nuklearnom delu ćelije. Prisustvo ili odsustvo takvog receptornog molekula određuje da li je neka ćelija, target ćelija za neke steroidne hormone.

Slobodni steroidni molekuli (S) iz cirkulacije, odnosno krvotoka (steroidi koji nisu vezani za proteine plazme), prolaze membranu ćelije, lako difundujući iz ekstracelularne tečnosti kao male liposolubilne molekule.

Receptorni proteini poseduju veliki afinitet vezivanja za odgovarajuće steroide, a ograničen kapacitet, što znači da se u toku vezivanja javlja fenomen zasićenja i osetljivost na male promene koncentracije slobodnih steroida.

Posle ulaska u ćeliju steroidni hormon se vezuje u target ćelijama za receptor (R). Ova interakcija izaziva konformacione promene u makromolekuli receptora. Ceo proces se naziva aktivacija ili transformacija i to je najznačajnija etapa u delovanju steroidnih hormona. Izazvana alosterična transformacija receptornog proteina tj. indukovana konverzija receptornog kompleksa u aktivnu formu obezbeđuje mu interakciju sa specifičnim regionom DNK molekule u jedarnom hromatinu. Ovo vezivanje uzrokuje transkripcione procese u citoplazmi, gde se na ribozomima prenosi genetska poruka za sintezu specifičnih katalitičkih molekula.

Koncentracija hormona u cirkulaciji je izgleda najodgovorniji faktor za brzinu difuzije hormona ćelije, a dužina boravka u target ćelijama uslovljena je prisustvom receptora. Biološki odgovor ćelije zavisi od broja steroid-receptor veza, a broj ovih veza u direktnoj je zavisnosti od koncentracije hormona i receptornih molekula u target ćelijama.

Poznato je da steroidi modifikuju sopstvenu aktivnost, kao i aktivnost drugih steroida, promenom koncentracije receptora. Tako estrogeni povećavaju osetljivost target tkiva na estrogene, progesterone i androgene, povećanjem koncentracije sopstvenih receptora, kao i intracelularnih receptora za progesterone i androgene.

Suprotno, progesteron smanjuje odgovor tkiva na estrogene, smanjuje deponovanje estrogenskih receptora u citoplazmi target tkiva. Progestini se vezuju za androgene receptore, pa čak koriste i istu 5 α -reduktazu za metaboličke transformacije. Stvorjeni dihidroprogesteron može, takode, da se veže za androgene receptore i da konkuriše testosteronu i dihidrotosteronu. Tako je prihvaćeno mišljenje da su progestini ne samo anti estrogeni, već raspoložu i anti androgenim svojstvima. O androgenim receptorima se najmanje zna. Mehanizam delovanja androgena u target tkivima je najkompleksniji i zavisi od načina kako se androgeni metabolišu u ćelijama target tkiva.

C. Peptidni hormoni hipofize i hipotalamusa i njihov uticaj na polne steroide gonada

Kontrola reprodukcije je integracija procesa koji se odvijaju na različitim nivoima u organizmu. Po anatomskim i funkcionalnim odlikama hipotalamusno-hipofizno-gonadnu osnovu čine tri elementa: centralni element je kompleks CNS-hipotalamus, a služi kao generator i koordinator signala, hipofiza, koja ima ulogu prenosioca pretvarajući hipotalamusne signale u gonadotropne poruke, koje se prenose do gonada, gde se pod dejstvom gonadotropnih hormona luče polni steroidi koji istovremeno kontrolišu sekreciju gonadotropina mehanizmima povratne sprege.

Sintezu i sekreciju hipofiznih gonadotropnih hormona luteotropnog hormona (lutropin - LH) i folikulo stimulirajućeg hormona (folitropin - FSH) reguliše jedinstven hormon gonadoliberin - GnRH (gonadotrophin-releasing hormone), poznat i kao LHRH ili LRH (luteinizing hormone releasing hormone/factor).

Prolaktostatin ili PRF „release-inhibiting“ faktor (PIF) je hormon koji inhibiše biosintezu i sekreciju prolaktina iz adenohipofize. Nedavno je otkriveno da je za inhibiciju prolaktina odgovoran polipeptid koji se sintetise od iste prekursorske molekule, kao i GnRH, a označen je kao GAP (GnRH - associated polipeptide).

U neuronima hipotalamusnih jedara stvorena je mogućnost interakcije estrogena, kateholamina i GnRH, za regulaciju gonadotropne aktivnosti.

D. Steroidni hormoni kao uzročnici karcinoma mlečne žlezde u kuja

Karcinomi mlečne žlezde u kuja predstavljaju prihvatljiv model za komparativna istraživanja sa humanim materijalom, pre svega zbog visokog procenta prisutnosti ove vrste oboljenja u određenim populacijama pasa i histološkoj sličnosti između adenokarcinoma mlečne žlezde u žena i kuja.

Novije studije su potkrepljene podacima o ulozi reproduktivne endokrinologije u genezi karcinoma mlečne žlezde u pasa i mačaka, i uloge endogenih i egzogenih hormonskih agenasa čije se dejstvo intenzivno proučava. Nekoliko studija [10] ukazuju na uticaj egzogeno unetog progesterona, na razvoj tumora mlečne žlezde. Progesteronski preparati imaju stimulatívni efekat na razvoj alveola i njihovu sekreciju, a dugotrajna tretiranja progesteronom indukuju visok procenat benignih i malignih tumora mlečne žlezde. Indukovani malignitet obuhvata anaplastični karcinom, adenokarcinom i fibrosarkome. Među benigne tumore uključeni su lobularne i diktusne hiperplazije, jednostavni i složeni adenomi i benigni tumori [3, 4, 5].

Potvrda ovih rezultata su i specifični steroidni receptori identifikovani u tumorima mlečne žlezde u 100 od 143 ispitivane kuje. Naime rezultati Roynand i sar., [11] ukazuju da u 32% benignih tumora tkivo ne poseduje steroidne receptore, 52% ispitivanih ima i estrogene i progesteronske receptore, 6% samo progesteronske receptore i isto toliki procenat (6%) samo estrogenske receptore. Procentualni iznos u malignim tumorima je sličan ovim rezultatima. Tako 39% ne poseduje receptore, 44% poseduje obe vrste receptora, 95% samo estrogenske i 8% samo progesteronske [1, 2, 8]. Iako depo-progestegene (medroxyprogesteron acetat (DMPA) i noretinodron-enantate (NET-EN) koriste mnoge žene, (do sada oko 13 miliona korisnica), još uvek postoje dileme o njihovoj upotrebi u kontracepcijske svrhe, a potiču uglavnom od eksperimenata sa DMPA na posebnoj vrsti pasa (engleski hrt). Ovi su eksperimenti pokazali povećanu učestalost tumora dojke, adenokarcinoma i akromegaliju u pasa. Među kontraindikacijama pri primeni potkožnog progesteronskog implantata NORPLANTA su benigne bolesti dojki, povišen holesterol ili trigliceridi, bolesti žučne kesice i slično [9].

Da se ceo ciklus pojave benignih i malignih oboljenja na mlečnoj žlezdi ne završava samo sa polnim steroidima kao uzročnicima, i da je sistem njihove regulacije dosta složen, ukazuju i podaci dobijeni korišćenjem GnRH preparata. Efekti su postignuti ne preko blokatora steroidnih receptora, nego preko smanjenja broja LH receptora. Rezultati su dobijeni i primenom GnRH agonista, a efekti su konstatovani u inhiciji rasta ćelija karcinoma. Na taj način i GnRH agonisti inhibišući deobu ćelije ukazuju na direktan

antitumorski efekat nezavisan od supresije estrogena. Odsustvo vezivanja GnRH za netumorsko tkivo ukazuje da je to očigledno svojstvo kancerogeno izmenjene ćelije. Upotreba GnRH agonista sa njihovim trenutnim inhibitornim dejstvom mogla bi da bude veoma značajna u lečenju hormon-zavisnih oboljenja.

Genetsku vezu maligniteta mlečne žlezde i progesteronskih receptora pokušali su da nađu u svojim radovima Law i sar. [7] i Loosfelt i sar [6], koji smatraju da je koncentracija receptora važan pokazatelj hormonske zavisnosti i prognoze bolesti. Oni su u *in situ* hibridizaciji, mapirali humani progesteronski gen na hromozomu 11, band q13. Ovaj band isto tako sadrži integrisano mesto za mamilarni onkogen inf-2. Zbog činjenice da ova dva gena dele istu hromozomsku lokaciju, povećava se pitanje veze i odnosa specifičnih onkogeni i steroidnih hormona, pre svega progesterona.

Literatura

1. D'Arville C. N., Pierrepont C. G.: *Europ. J. Cncr* 15, 875, 1979. - 2. Ewans C. R., Pierrepont C. G.: *Vet. Res.* 97, 464, 1975. - 3. Frank D. W.: *Fert. Steril.* 31, 340, 1979. - 4. Kwapien R. R.: *J. Natl. Cancer Inst.* 59, 933, 1977. - 5. Kwapien R. R., Hamilton J. M., Ewen B. S.: *J. Natl. Cancer Inst.* 65, 137, 1980. - 6. Loosfelt H., Atger M., Musrahi M., Logeat F.: *Natl. Acad. Sci. USA*, 83/23/ :p 9045-9, 1086. - 7. Low M. L., Kao F. T., Wei Q., Hartz J. A., Greene G. L. et al.: *J. Comp. Neurol.* 178, 225, 1987. - 8. Mialot J. P.: *Recueil de Med. Vet.* 158, 215, 1982. - 9. Monson K. R., Malbica J. O.: *Am. J. Vet. Res.* 38, 1937, 1977. - 10. Nelsin L. W., Carlton W., Weikel J. H.: *J. Nat. Cancer Inst.* 51, 1303, 1973. - 11. Roynand J. P., Jensen E. V., Jacobson H. I.: *J. Ster. Biochem.* 15, 201, 1981.

CORRELATION BETWEEN STEROID RECEPTORS AND CARCINOMA OF THE MAMMARY GLAND OF BITCHES

Marija Šimić, Danica Marković-Saljniov

The phenomenon of life and cell function results from an entire series of coordinated metabolic processes. Everything that is characteristic of the life of a cell, and is evident in the processes of differentiation, growth and function of the cell, varies within the limits of its existing genetic potential, i. e. it has been genetically programmed, and regulatory mechanisms are the ones that determine the role of the cell within a more complex and perfect organism. Namely, interaction of genomes and cytoplasm; interaction between cells, and interaction between the entire organism and the environment are components which can lead to different ways of revealing of genome function. Therefore, the genetic potential in eukaryotic cells is under constant control of intracellular autoregulatory factors, and under control of intercellular communications. The primitive prokaryotic chemical systems of communication developed during evolution into the nervous and endocrine systems as systems of more complex internal and external eukaryotic communications, which secure conditions for normal life through the system of receiving and recognizing signals of different origin.

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ СТЕРОИДНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ И КАРЦИНОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СОБАК

Мария Симич, Даница Маркович-Сальников

Феномен жизни и функция клетки результирует из целого ряда координированных метаболических процессов. Все то что характеризует жизнь одной клетки, а выражается в процессах дифференциации, роста и функциональности, этой клетки, движется в границах ее существующего генетического потенциала, относительно генетически программировано, а регуляционные механизмы являются теми которые определяют какая будет роль клетки внутри некоторого более сложного и более совершенного организма. Значит интеракция генома и