

JANUSZ A. MADEJ
Wrocław

Markery biologiczne w diagnostyce białaczek u zwierząt

Niektóre nowotwory produkują i wydzielają do płynów ustrojowych różnego rodzaju substancje, zwane biomarkerami, które można tam wykryć i oznaczyć ilościowo. Do substancji tych należą antygeny, takie jak: antygeny rakowo-płodowe (CEA — carcinoembryonic antigen, antygen glejowy), antygeny nowotworowo-łożyskowe (ludzka gonadotropina kosmówkowa, laktogen łożyskowy, fosfataza alkaliczna czyli izoenzym Regana), antygeny płodowe (alfa-fetoproteina — FP, płodowe hemoglobiny białaczkowe, sulfoglikoproteiny — FSA, antygen trzustkowy) oraz neoantygeny nowotworowe, a także enzymy, hormony, prostaglandyny i czynnik angiogenezy nowotworów (TAF — tumor angiogenesis factor) (7, 49). Do markerów biologicznych komórek nowotworowych należą również substancje produkowane wskutek obronnej reakcji immunologicznej organizmu jako odpowiedź na obecność guza, takie jak przeciwciała i komórkowe reakcje immunologiczne (61).

Poznane dotychczas markery nowotworowe nie wykazują, niestety, zadowalającej czułości ani swoistości diagnostycznej, jak np. najpowszechniej oznaczany antygen CEA, który w większym stężeniu wykrywano jedynie u 68% chorych z gruczolakami oraz u 45% chorych z różnymi typami nowotworów złośliwych (61). Nikle jak dotąd rezultaty diagnostyczne należy m.in. wiązać z faktem, że większość markerów występuje dopiero w zaawansowanych procesach nowotworowych (7). Dlatego też istnieje konieczność poszukiwania coraz to nowych, bardziej czułych i swoistych markerów nowotworowych. Wykrycie bowiem nowotworu złośliwego o jedno stadium wcześniej daje choremu co najmniej 20% więcej szans wyleczenia (10).

Biomarkery można obecnie podzielić na: markery biologiczne ogólne (niespecyficzne), markery biologiczne z ograniczoną swoistością oraz markery biologiczne prawdopodobnie swoiste.

Biomarkery ogólne (odpowiedź immunologiczna)

Istnieją dwa typy odpowiedzi immunologicznej, tj. odpowiedź typu humoralnego i typu komórkowego. W odpowiedzi humoralnej biorą udział wolne przeciwciała oraz przeciwciała cytofilne syntetyzowane i uwalniane przez limfocyty B. W odpowiedzi typu komórkowego z antygenem reagują limfocyty T i w wyniku tego kontaktu wydzielają swoiste i nieswoiste mediatory humoralne. W każdej odpowiedzi immunologicznej obecne są na ogół obie odpowiedzi, a tylko jedna z nich jest bardziej nasiloną od drugiej (43).

Nowotwory przeszczepialne wywołują w organizmie gospodarza zespół reakcji immunologicznych, rozwijających się w następstwie różnic antygenowych pomiędzy komórkami nowotworowymi a komórkami gospodarza (25, 39, 62). W odpowiedzi immunologicznej na antygeny nowotworowe bierze udział odporność komórkowa i odporność humoralna (43). W odporności tej przeciwciała wykazują zdolność interferencji z odpornością komórkową, odpowiedzialną za powstanie odporności transplantacyjnej w stosunku do nowotworu. Przeciwciała wiążąc antygeny tkanki nowotworowej mogą powodować nawet wzrost przeszczepu nowotworowego, które to zjawisko nosi miano ułatwienia immunologicznego — immunological enhancement (25).

W badaniach własnych (30) przy użyciu testu rozetkowego EAC (erythrocyte antibody complement), wykazano wzrost ilości limfocytów B we krwi i narządach wewnętrznych myszy w początkowej fazie rozwoju przeszczepialnej białaczki limfatycznej P 388, na niekorzyść limfocytów T, oznaczanych testem cytochemicznym oraz poprzez wykrywanie antygeny Thy 1.1. Można stąd przyjąć, że w początkowej fazie leukemogenezy u myszy decydujące znaczenie ma odporność typu humoralnego. Podobne wyniki przy innych nowotworach złośliwych uzyskało szereg autorów (1, 3, 11, 58). W miarę rozwoju procesu białaczkowego u myszy wzrasta znaczenie odporności komórkowej. W białaczkach limfatycznych typu Grossa, Moloney'a, a także w białaczkach stymulowanych niskimi dawkami octanu ołowiu i octanu kadmu po 8, a zwłaszcza po 16 tyg. rozwoju nowotworu wzrasta wyraźnie liczba limfocytów T, stanowiących konkurencję dla komórek B (29). Uzyskane wyniki mogą być przydatne w immunodiagnostyce i klasyfikacji białaczek na białaczki T, B i bezreceptorowe. Jest to istotne biorąc pod uwagę fakt, że każdy marker w komórce nowotworowej może służyć jako ewentualny cel monitorowanego ataku immunologicznego, tym bardziej, że immunoterapia białaczek opiera się właśnie na wykazaniu różnic między komórkami prawidłowymi a uległymi transformacji nowotworowej (14).

Metodą elektroforezy bibulowej u myszy szczepów wysokobiałaczkowych (AKR, BALB/Mo) po 8 tyg. obserwacji wykazano obniżenie poziomu frakcji alfa₁- i beta₁-globulinowej, wzrost natomiast frakcji beta₂- i gamma-globulinowej (29). Po 16 tyg. doświadczenia obserwowano u myszy spadek poziomu wszystkich frakcji za wyjątkiem alfa₂-globulinowej (29). Po-

dobne wyniki uzyskano u myszy, u których stymulowano białaczkę limfatyczną octanem Pb i Cd (29).

W badaniach immunoelektroforetycznych (52) wykazano istotny spadek zawartości albumin oraz globulin klasy alfa, beta, a zwłaszcza gamma w takich nowotworach przeszczepialnych jak: białaczka limfatyczna L 1210 standard, białaczka L 1210/ara-C, tj. linia oporna na immunosupresor ara-C-beta-D-arabinozofuranosylcytozyna, białaczka L 1210/CH₃G, tj. linia oporna na immunosupresor CH₃G-metyloglioksalo-bis-quanylhydrazon, chłoniaka AKSL-4 oraz plazmocytoza ADJPC-5. Obniżenie poziomu gamma-globulin obserwowano w surowicy osób chorych na przewlekłą białaczkę limfatyczną (26), w rakach jelita grubego, wzrost natomiast w raku szyjki macicy (39).

Należy przyjąć, że żaden z wymienionych wskaźników immunologicznych nie jest specyficzny dla białacek przeszczepialnych u myszy, niemniej wykazują one pewien stopień korelacji ze stanem zaawansowania tych nowotworów.

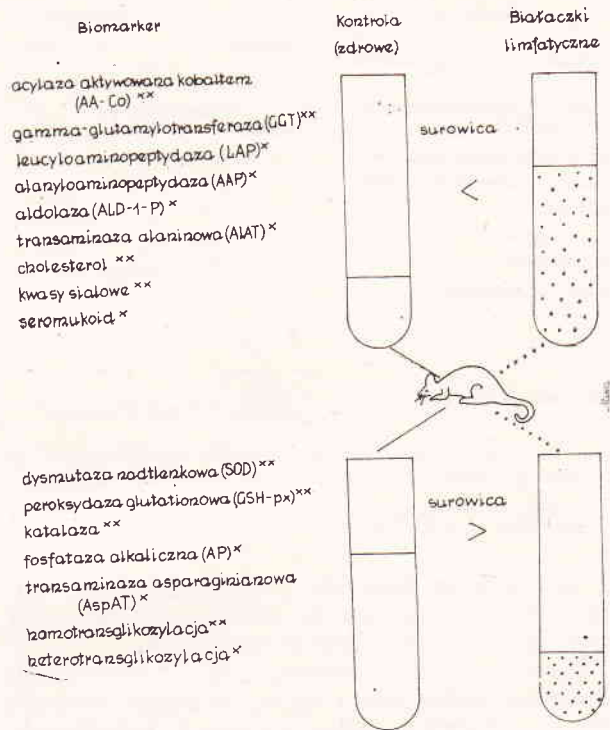
Biomarkery z ograniczoną swoistością

Kwasy sialowe i glikoproteidy

Wykazano (5), że komórki nowotworowe wykazują zwiększoną aktywność enzymów degradujących ich błonę komórkową. Wśród enzymów tych szczególną rolę odgrywa sialylotransferaza (EC. 2.4.99.1), której aktywność rośnie w homogenatach tkanki nowotworowej 2—5-krotnie w porównaniu z tkanką zdrową (5). Pomiar aktywności tego enzymu, a także stężenia kwasu sialowego, a więc związku przenieszonego przez sialylotransferazę zastosowano m.in. do monitorowania rozwoju złośliwego czerniaka u ludzi (49). Stwierdzono nawet, że zmiany stężenia kwasu sialowego w surowicy człowieka lepiej obrazują przebieg procesu nowotworowego niż aktywność sialylotransferazy (51).

Kwas sialowy (N-acetylneuraminowy — NANA) związany z białkami, polisacharydami i lipidami tworzy część błony komórkowej i jest bramą, przez którą wnikają do komórki czynniki patogenne, np. onkowirusy (5). Jest on ciągle odnawiany stanowiąc także barierę zabezpieczającą komórkę od procesów patologicznych toczących się w jej sąsiedztwie (49). Stwierdzono wyraźny wzrost w krwi ilości kwasu sialowego w nowotworach złośliwych u ludzi (9, 15, 17, 19, 28, 41, 51, 57, 59, 63), zwłaszcza w przypadkach nowotworów dających przerzuty, a także w czerniaku B 16 u szczurów (66).

Według Dnistrana i Schwartza (8) w 78% przypadków chorób nowotworowych stwierdza się wzrost ilości kwasu sialowego w surowicy, podczas gdy u tych samych chorych CEA był zwiększony jedynie o 37% przypadków. Większa czułość diagnostyczna kwasu sialowego ja-



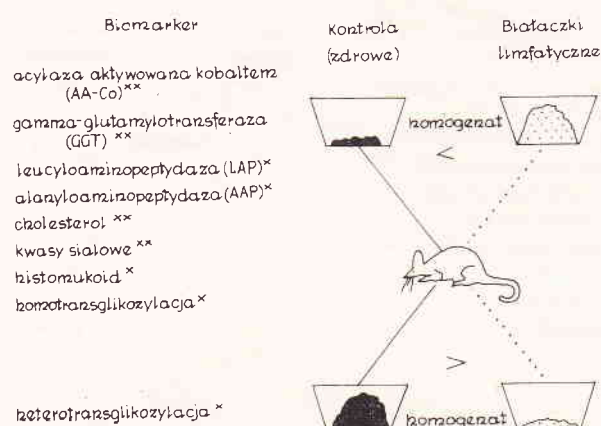
Ryc. 1. Zachowanie się wybranych biomarkerów w surowicy myszy

Objaśnienie: * — różnica statystycznie istotna, ** — różnica statystycznie wysoko istotna.

ko markera nowotworowego w porównaniu z CEA została potwierdzona także przez innych autorów (20, 23). I tak pomiar kwasu sialowego okazał się istotny w przypadku guzów kości, a zwłaszcza w różnicowaniu łagodnych guzów od półzłośliwych oraz przerzutów nowotworowych do kości (6).

Seromukoid jest glikoproteidową frakcją białek surowicy, nazwanych białkami „ostrej fazy”, gdzie głównym składnikiem są alfa₁-kwaśny glikoproteid i haptoglobina. Histomukoid z kolei jest glikoproteidową frakcją białek tkankowych (16). Wzrost poziomu seromukoidu lub histomukoidu stwierdzono w nowotworach złośliwych u ludzi (12, 13, 24, 63) i zwierząt (18, 27, 68).

Badania własne pozwoliły na stwierdzenie (16), że u myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną L 1210 standard, chłoniakiem AKSL-4 oraz plazmocytoza ADJPC-5 dochodzi do wzrostu poziomu seromukoidu, histomukoidu i kwasów sialowych w surowicy i homogenatach narządów wewnętrznych w miarę rozwoju nowotworów (ryc. 1 i 2). Zjawisko to można tłumaczyć możliwością pojawienia się w komórkach transformowanych nowotworowo nowych antygenów nowotworowych, odpowiedzialnych za odczyn immunologiczny gospodarza (64, 65). Stąd też uważa się, że pojawienie się antygenów w komórkach transformowanych jest wyrazem modyfikacji genomu komórki niezależnie od tego, czy jest ona wynikiem wbudowywania materiału genetycznego onkowirusu



Ryc. 2. Zachowanie się wybranych biomarkerów w homogenatach narządów wewnętrznych myszy

Objaśnienie: x różnica statystycznie istotna, xx — różnica statystycznie wysoko istotna.

sa do genomu komórki transformowanej, czy też powstaje na skutek zmienionej ekspresji własnego materiału genetycznego (64).

Wzrost poziomu seromukoidu, histomukoidu i kwasów sialowych u myszy w miarę rozwoju procesu nowotworowego wynika z transformacji nowotworowej, tj. ułożliwienia się komórek. Przemawia za tym fakt, że w tkance nowotworowej dochodzi do kumulacji przede wszystkim prostych związków, np. laktozyloceramidu, na niekorzyść złożonych, np. N-acetylneuraminy-laktozyloceramidu i L-galaktozyloaktozyloceramidu (40).

Kwasy tłuszczowe, lipidy polarne i lipidy obojętne

Uszkodzenie błon biologicznych komórki leży u podstaw kancero- i leukemogenezy. Dużą rolę w destabilizacji błon komórkowych odgrywa m.in. szereg estrów kwasów tłuszczowych (FA — fatty acids — 45). W badaniach własnych u myszy z naturalną białaczką limfatyczną (szczep AKR, BALB/Mo) w homogenatach z narządów wewnętrznych (29) stwierdzono wyraźny wzrost ilości kwasów: eikozenowego, olejowego, linolowego i linolenowego, zmniejszenie zaś ilości kwasu arachidonowego i stearynowego. Podobne wyniki uzyskano u myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną P 388 we frakcji mitochondrialnej z wątroby i mózgowia (33). Także w limfocytach białaczkowych *in vitro* u bydła (34) obserwowano wzrost ilości kwasu linolenowego i linolowego, spadek natomiast ilości kwasu arachidonowego i eikozenowego.

Udział kwasów tłuszczowych w kancerogenezie jest zagadnieniem od dawna opracowywanym i niezmiernie kontrowersyjnym. Uważa się, że FA mogą sprzyjać powstawaniu takich nowotworów u ludzi i zwierząt jak: rak gruczołu mlekowego, rak kąticy, rak trzustki, rak jajnika i macicy oraz rak prostaty (4).

Opisanym zaburzeniom poziomu FA, jak wynika z obserwacji własnych (31) u myszy z użyciem chromatografii cienkowarstwowej oraz metody chromatografii gazowej estrów kwasów tłuszczowych, towarzyszy we frakcji mitochondrialnej narządów zmienionych białaczkowo (białaczka P 388) wzrost ilości cholesterolu i sfingomieliny, spadek natomiast ilości lecytyny i fosfoetanolaminy. Na szczególną uwagę zasługuje wzrost ilości cholesterolu, zarówno w surowicy jak i homogenatach narządów, co potwierdzono w kolejnych badaniach u myszy AKR (36) — chorych na wirusopochodną białaczkę limfatyczną oraz u bydła (37) z enzoootyczną białaczką (EBB). Zjawisko to wskazuje, że w wyniku transformacji białaczkowej dochodzi do spadku aktywności reduktazy-HMG-CoA, kluczowego enzymu regulującego szybkość biosyntezy cholesterolu.

Markery biologiczne z ograniczoną swoistością dla białacek mogą stanowić jedno z kryteriów oceny rozwoju tego procesu nowotworowego.

Biomarkery prawdopodobnie swoiste (enzymy)

Badania aktywności enzymatycznej w surowicy i homogenatach z komórek nowotworowych mogą przyczynić się do opracowania testów biochemicznych w celu wykrycia nie tylko wczesnych postaci nowotworu, ale nawet zagrożenia tym procesem (38, 48). Niektóre testy enzymatyczne stosuje się już z powodzeniem w diagnostyce onkologicznej u ludzi, np. oznaczenie aktywności fosfatazy kwaśnej w raku prostaty, fosfatazy alkalicznej w nowotworach kości, gamma-glutamylotransferazy w pierwotnych i przerzutowych rakach wątroby i jelita grubego czy leucyloaminopeptydazy w rakach trzustki (42, 50). Oznaczanie aktywności niektórych enzymów w krwi znalazło także zastosowanie w diagnostyce przerzutów oraz w pooperacyjnym monitorowaniu chorych (48).

Niefosforylacyjna transglikozylacja

Proces niefosforylacyjnej transglikozylacji polega na przenoszeniu reszt glukozylowych na akceptor cukrowy bez udziału nukleotydowych pochodnych cukrów. Badania takie pozwalają na pomiar aktywności hydrolitycznej i transferazowej równocześnie (homotransglikozylacja) lub tylko aktywności transferazowej (heterotransglikozylacja).

W badaniach własnych u myszy (22, 53) oznaczano aktywność transglikozylacyjną w surowicy i wątrobie zwierząt z przeszczepialnymi białaczkami. W surowicy myszy z białaczkami limfatycznymi L 1210 standard, L 1210/ara-C i L 1210/CH₃G, chłoniakiem AKSL-4 oraz plazmocytomu ADJPC-5 obserwowano obniżenie aktywności transglikozylacyjnej i hydrolitycznej w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi.

Badając wyciągi z wątroby myszy obserwowano wzrost aktywności transglikozylacyjnej w białaczkach L 1210/ara-C i AKSL-4. Opracowany test enzymatyczny może być prawdopodobnie diagnostycznym markerem we wczesnych okresach leukemogenezy u myszy.

Hydrolazy

Opisano wzrost aktywności gamma-glutamylotransferazy (GGT-EC. 2.3.2.2) w hepatoma Morrisa i Alberta w surowicy oraz w wątrobie myszy i szczurów, a także wzrost aktywności acylazy aktywowanej przez kobalt (AA-Co) w surowicy tych zwierząt (60). Aktywność leucyloaminopeptydazy (LAP-EC. 3.4.1.1) oznaczano w białaczkach u ludzi, wykazując wzrost tego enzymu w porównaniu z osobami zdrowymi (21). Wzrost aktywności fosfatazy zasadowej (FZ-EC. 3.1.3.2) obserwowano w surowicy człowieka w mięsakach, guzach jąder, jajnika, sutka, trzustki oraz w złośliwych nowotworach kości z przerzutami, co wobec faktu występowania wielu izoenzymów tej hydrolazy pozwalała na różnicowanie guzów nowotworowych kości od guzów wątroby (21).

W badaniach własnych określono aktywność AA-Co, GGT i LAP w surowicy myszy z przeszczepialną białaczką limfatyczną P 388 (54) i stwierdzono wzrost badanych enzymów w miarę rozwoju procesu nowotworowego. Oznaczano także aktywność ww. enzymów, jak również aktywność alanyloaminopeptydazy (AAP-EC. 3.4.1.2) w przeszczepialnych białaczkach limfatycznych L 1210 standard, L 1210/ara-C, L 1210/CH₃G, chłoniaku AKSL-4 i plazmocytoma ADJPC-5 (59). W surowicy i homogenatach wątroby wykazano wzrost aktywności wszystkich badanych enzymów, a zwłaszcza AA-Co i GGT w miarę rozwoju nowotworów. Podobne rezultaty uzyskano u myszy szczepu NZB — chorych na naturalną białaczkę limfatyczną (55). W surowicy myszy szczepów wysokobiałaczkowych (AKR, BALB/Mo) oraz niskobiałaczkowych (BALB/c, DBA/2), u których stymulowano białaczkę octanem ołowiu i octanem kadmu (29) obserwowano z kolei spadek aktywności fosfatazy zasadowej.

Otrzymane wyniki wskazują, że enzymy te mogą być pomocne we wczesnym monitorowaniu białacek przeszczepialnych u myszy jako biomarkery rozrostu nowotworowego (ryc. 1 i 2).

Oksydoreduktazy

Kancero- i leukemogenezie towarzyszy destabilizacja błon biologicznych komórki, spowodowana m.in. przez wolne rodniki (WR). Rolę ochronną przed toksycznymi WR mają spełniać takie enzymy jak: katalaza (EC. 1.11.1.6), peroksydaza glutationowa (GSH-px-EC. 1.11.1.9) oraz dysmutaza nadtlenkowa (SOD-EC. 1.15.1.1).

Obniżenie aktywności katalazy obserwowano w raku szyjki macicy (21), wzrost natomiast w białaczkę szpikowej u człowieka (56). Z kolei West i wsp. (67) wykazali wzrost aktywności peroksydazy glutationowej w ostrej i monocytarnej białaczkę u ludzi, brak natomiast odchyleń od normy w białaczkę limfatycznej przewlekłej. Aktywność SOD spada w komórkach mielocytarnych, monocytarnych i limfatycznych w białaczkach u człowieka (69), białaczkę limfatycznej L 1210 u myszy (44), hepatoma 27 i hepatoma Zajdela oraz raku płuc Lewisa u szczurów (46, 47). Podobne obserwacje poczyniły Bartkowiak i Leyko (2) w hepatoma Kirkman-Robbinsa, czerniaku amelanotycznym i komórkach transformowanych wirusem SV-40 u chomików. Fakt, że komórki nowotworowe mają mniej SOD niż komórki prawidłowe jest wykorzystywany w terapii radiacyjnej u ludzi (7).

W badaniach własnych (32) w przeszczepialnej białaczkę limfatycznej P 388, a także w białaczkę wirusopochodnej u myszy AKR (35) stwierdzono wyraźne obniżenie aktywności, w miarę rozwoju procesu nowotworowego, nie tylko dysmutazy nadtlenkowej, ale także katalazy i peroksydazy glutationowej.

Transferazy i liazy

U myszy wysokobiałaczkowych (AKR, BALB/Mo) oraz niskobiałaczkowych (BALB/c, DBA/2), u których stymulowano białaczkę limfatyczną przy pomocy octanu Pb i Cd (29), oznaczano w surowicy aktywność aldolazy (ALD-1-P-EC. 4.1.2.12), transaminazy alaninowej (AlAT-EC. 2.6.1.2) oraz transaminazy asparaginianowej (AspAT-EC. 2.6.1.1). Stwierdzono wzrost aktywności aldolazy i AlAT, spadek natomiast AspAT w miarę rozwoju procesu białaczkowego. Wzrost aktywności aldolazy spotykano w surowicy osób chorych na przewlekłą białaczkę limfatyczną, chociaż aktywność tej liazy nie jest specyficzna tylko dla nowotworów złośliwych (21). Podobnie wahania aktywności obu transferaz nie są specyficzne dla procesu białaczkowego.

Porównanie aktywności wybranych enzymów w surowicy i homogenatach narządów wewnętrznych myszy chorych na białaczkę z ich aktywnością u zwierząt zdrowych pozwoliło na selekcję niektórych enzymów markerowych komórek nowotworowych. Pewne z nich charakteryzują się podwyższoną, inne obniżoną aktywnością w stosunku do wartości oznaczanych u zwierząt zdrowych (ryc. 1 i 2). Zmiany proporcji aktywności enzymów pod wpływem transformacji nowotworowej wydają się być charakterystyczne wyłącznie dla komórek nowotworowych i są różne od występujących w komórkach prawidłowych. Wykazano bowiem, że transformacja nowotworowa wpływa selektywnie na aktywność enzymów przeciwnych szlaków metabolicznych, np. obserwowano wzrost aktywności enzymów glikolizy w komórkach

hepatoma szczurów z towarzyszącym mu obniżeniem aktywności enzymów glikogenogenezy (65).

Jak wynika z obserwacji własnych szczególną rolę jako markera biologicznego należy przypisać acylazie aktywowanej przez kobalt (AA-Co) i to w różnych typach przeszczepialnych białaczek (59). Ma to istotne znaczenie zwłaszcza wobec założenia, że enzymy znacznikowe nowotworów zwierząt mogą być stosowane jako testy diagnostyczne dla pewnych typów nowotworów u ludzi (2).

Można przyjąć, że opisane zachowanie się enzymów u myszy jest cechą dosyć charakterystyczną dla wszystkich tkanek nowotworowych, tj. rosnących spontanicznie (szczep NZB), przeszczepialnych (białaczka limfatyczna P 388, białaczka L 1210 standard, L 1210/ara-C, L 1210/CH₂G, chłoniak AKSL-4, plazmocytoza ADJPC-5) oraz indukowanych przez onkowirusy (szczep AKR, BALB/Mo), czy chemiczne substancje kancerogenne (octan ołowiu i octan kadmu).

Wykrywanie podwyższonego poziomu biomarkerów, np. enzymów ma znaczenie dla monitorowania terapii. Jeżeli podwyższony poziom przed zabiegiem obniży się do normalnego, wówczas każda zwyżka może być interpretowana jako wznowa nowotworu. Wynika to z faktu, że wahania poziomów biomarkerów uzależnione są od masy nowotworów w stopniu wprost proporcjonalnym. Dlatego też należy stwierdzić, że markery nowotworowe mają duże znaczenie nie tylko w diagnostyce, ale także w monitorowaniu leczenia onkologicznego oraz w obserwacji po leczeniu.

Piśmiennictwo

- Allison A. C.: Proc. R. Soc. Med. 63, 1077, 1970.
- Bartkowiak A., Leyko W.: Post. Hig. 35, 287, 1981.
- Bashama C., Currie G. A.: Br. J. Cancer 29, 189, 1974.
- Bloch K., Vance D.: A. Rev. Biochem. 46, 263, 1977.
- Bosman H. B., Hall T. C.: Proc. natn. Acad. Sci. USA 71, 1833, 1974.
- Brožmanová E., Škorvina B.: Neoplasma 19, 115, 1972.
- Dvorak H. J., Orenstein N. S., Dvorak A. M.: Lymphokins 2, 203, 1981.
- Dnistran A. M., Schwartz M. N.: Clin. Chem. 27, 1737, 1981.
- Dobroszycka W., Osada J., Gerber J., Jabłoński K.: Arch. Immun. Ther. 21, 273, 1982.
- Doll R., Peto R.: J. natn. Cancer Inst. 4, 6, 1981.
- Eccles S. A., Alexander P.: Nature, Lond. 250, 667, 1974.
- Fish R. G., Yap A. K. L., James K.: Clin. Biochem. 15, 4, 1982.
- Ganz P. A., Shek W. E., Tökes Z. A.: J. natn. Cancer Inst. 71, 25, 1983.
- Hartłozinska A., Richter R.: Post. Hig. 33, 1, 1979.
- Hogan-Ryan A., Fennely J. J., Jones M., Cantwell B., Duffy M. J.: Br. J. Cancer 41, 587, 1980.
- Jakielaszek J., Madej J. A., Sobiech K. A.: Pol. Arch. wet. 26, 95, 1986.
- Jaskulska T., Markowska J., Manys G., Baranowski M.: Nowotwory 39, 207, 1983.
- Juško-Grundboeck J., Szewczyk M., Zahor-Honory D.: Pol. Arch. wet. 13, 39, 1970.
- Kafka V., Mustl J.: Neoplasma 24, 101, 1979.
- Kopotodis N.: Cancer Res. 42, 5270, 1982.
- Kotlarek-Haus S.: Enzymologia kliniczna (red. Szczeklik E.), PZWL, 1974.
- Kotonski B., Madej J. A., Sobiech K. A., Kaszubkiewicz C.: Folia Histochem. Cytobiol. 24, 15, 1986.
- Królikowski F. J.: Pharmacology 14, 47, 1976.
- Laj C., Fujiwara A.: Hiroshima J. med. Sci. 26, 297, 1977.
- Leduc E. H., Avrameas S., Bouteille M.: J. exp. Med. 10, 127, 1968.
- Listewicz J., Astaldi C.: Tumori 62, 651, 1976.
- Litin B. S., Grimes W. J.: Cancer Res. 43, 2131, 1983.
- Mabry E. W., Carubelli R.: Experientia 28, 182, 1972.

- Madej J. A.: Badania nad wpływem wybranych czynników egzogennych w patomechanizmie białaczek limfatycznych u myszy. Praca hab., Wrocław, 1982.
- Madej J. A., Konopa M., Klimentowski S., Mazurkiewicz M.: Medycyna Wet. 39, 552, 1983.
- Madej J. A., Bereżecka J., Sobiech K. A., Klimentowski S., Kaszubkiewicz C., Jopek Z.: Arch. Immun. Ther. 33, 429, 1985.
- Madej J. A., Klimentowski S., Radzanowska G., Mazurkiewicz M.: Medycyna Wet. 41, 139, 1985.
- Madej J. A., Szymczak J.: Medycyna Wet. 41, 691, 1985.
- Madej J. A., Szymczak J., Klimentowski S.: Expl. Path. (in press).
- Madej J. A., Kaszubkiewicz C., Radzanowska G.: Pol. Arch. wet. (w druku).
- Madej J. A., Kaszubkiewicz C., Jopek Z.: Zeszyty Naukowe, Weterynaria, Wrocław (w druku).
- Madej J. A., Jopek Z.: Zeszyty Naukowe, Weterynaria, Wrocław (w druku).
- Miki K., Oda T., Suzuki H., Lino S., Nüsa H.: Cancer Res. 36, 4266, 1976.
- Malkian A., Schwab J. H.: Science 159, 880, 1968.
- Mehrishi J. N.: prog. Biophys. Biol. 25, 3, 1972.
- Moss A.: Urology 13, 182, 1979.
- Nathanson L., Fishman W. H.: Cancer, Philad. 27, 1388, 1971.
- Nind A. P., Matheurs N., Pihl E. A. V., Robland J. M., Nairan R. C.: Br. J. Cancer 31, 620, 1975.
- Obertey L. W., Buettener G. R.: Cancer Res. 39, 1141, 1979.
- Pande S. V., Mead J. F.: J. biol. Chem. 23, 6180, 1968.
- Peskin A. V., Barsky L. B., Konstantinow A. A.: Dokl. Akad. Nauk SSSR 229, 751, 1976.
- Peskin A. V., Koen Y. M., Zbarsky I. B.: Febs Lett. 78, 41, 1977.
- Przewlocki T.: Pat. Pol. 1, 99, 1982.
- Tadeusiak W., Sadłowska B., Krawczyński M. J.: Pol. Tyg. lek. 52, 845, 1986.
- Schwarz M. K.: Clin. Chem. 19, 10, 1973.
- Shamberger R. J.: J. clin. chem. Biochem. 22, 647, 1982.
- Silver H. K. P.: Cancer Res. 39, 5036, 1979.
- Sobiech K. A., Madej J. A., Fischer L., Mazurkiewicz M.: Arch. Immun. Ther. 34, 35, 1986.
- Sobiech K. A., Stouńska R., Madej J. A., Mazurkiewicz M.: Folia Histochem. Cytobiol. 1, 61, 1987.
- Sobiech K. A., Madej J. A.: Expl. Path. (in press).
- Stambough W. R., Weinhouse S.: Cancer Res. 9, 1, 1963.
- Stefanelli N.: J. Cancer Res. clin. Oncol. 109, 55, 1985.
- Strober S.: Transp. Rev. 2, 164, 1975.
- Sugahara K.: Clinica chim. Acta 108, 493, 1980.
- Szewczuk A., Albert Z.: Folia Histochem. Cytochem. 11, 75, 1973.
- Szymandera J.: Pol. Tyg. lek. 40, 1, 1985.
- Unanue E. R., Askanas B. A.: Immunology 15, 287, 1968.
- Warwas M., Dobroszycka W., Gerber J., Pietkiewicz A.: Neoplasma 28, 485, 1981.
- Warren L., Buch C. A., Tuszyński G. P.: Biochim. biophys. Acta 516, 97, 1978.
- Weber G., Jackson R. C., Williams J. C., Goulding F. J., Eberts T. J.: Adv. Enzyme Regul. 15, 53, 1977.
- Weiss L.: Cell Biophys. 1, 331, 1979.
- West M., Berger C., Rony H., Zimmermann H. J.: J. Lab. clin. Med. 57, 946, 1964.
- Yachi A.: Sapporo Med. J. 17, 389, 1960.
- Yamanaka N., Kato T., Nishida K., Shimizu S., Fukushima M., Ota K.: Cancer Res. 40, 2051, 1980.

Adres autora: doc. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław

KIMURA M., NAKAO T., MORIYOSHI M., KAWATA K.: Niedobór fazy lutealnej jako przypuszczalny powód powtórzeń u krów mlecznych. (Luteal phase deficiency as possible cause of repeat breeding in dairy cows). Br. vet. J. 143, 560—566, 1987 (6)

U 21 powtarzających krów przeprowadzono analizę profilu progesteronu w mleku po sztucznej inseminacji (AI) i w fazie lutealnej. U 8 (38%) zwierząt profil progesteronu był prawidłowy (wzrost stężenia w mleku odtuszczonego do 1 ng/ml lub powyżej w okresie 5 dni po AI, stopniowy wzrost do 2 ng/ml lub powyżej w środku fazy lutealnej). U 62% krów profil ten był wyraźnie zaburzony, co wskazuje na deficyt fazy lutealnej (u 54% krów opóźniony wzrost progesteronu w mleku do 6—11 dni po AI, u 15% względnie niski lub poniżej 2 ng/ml w fazie lutealnej, zaś u 31% opóźnienie i względnie niskie stężenie progesteronu w mleku w fazie lutealnej). Po sztucznym unasiennieniu ciąży wystąpiła u 63% krów z normalnym profilem progesteronu w mleku, natomiast żadna z krów z zaburzeniami w poziomie progesteronu nie była zacielona.

G.