

Abstract. The article explores decomposition of ciantraniliprol in derno-podzolic soil in the laboratory conditions. The curve of insecticide degradation shows two-stage process: fast decomposition after applying ciantraniliprol is followed by speeding down. Equation of Gustafson and Holden and bioexponential equation increases the accuracy of description of decomposition in comparison with exponential relation. The design of the effect of ciantraniliprol by means of computer model PEARL in the conditions of Moscow region and standard variants of input data of agricultural regions has shown that this pesticide can migrate into the ground waters; its concentration in the ground waters varies from 0.33 to 15.69 mkg/l in relation to degradation description and duration of pesticide application. This research proves when decomposition differs from first-order kinetics, application of nonlinear equation of degradation is significant for forecasting the remnants of pesticides in soil and ground waters. Bioexponential equation resulted in higher concentrations of ciantraniliprol in 1 m deep ground waters and soil in 8-10 and 1.5-3 times correspondently.

УДК 636.2.034/578.8

ПРИРОДА АНТИТЕЛ К АНТИГЕНУ BLV ПО ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ИХ К ОПРЕДЕЛЕННОМУ КЛАССУ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

¹П.Н. Смирнов, доктор ветеринарных наук, профессор,
заслуженный деятель науки РФ

²В.В. Храмцов, доктор ветеринарных наук, профессор

¹Т.В. Гарматарова, кандидат биологических наук

¹С.И. Логинов, доктор биологических наук, профессор

¹Новосибирский государственный аграрный
университет

²Институт экспериментальной ветеринарии
Сибири и Дальнего Востока

E-mail: ngauфизиологи@mail.ru

Ключевые слова: лейкозная инфекция (BLV), антитела к антигену gp 51 BLV, вторичный иммунодефицит, иммуноглобулины основных классов, 2-меркаптоэтанол

Реферат. Изложены результаты изучения природы антител к антигену gp 51 BLV у инфицированных этим вирусом животных, находящихся в разных стадиях лейкозного процесса. Исследования проведены на животных из изолированных стад с разной эпизоотической ситуацией по лейкозу крупного рогатого скота. Проведенные исследования позволили говорить о том, что при развитии лейкозного процесса специфические противовирусные (BLV) антитела представлены в основном IgG, несущими блокирующую функцию. В случаях, когда мы имеем дело со свежим очагом инфекции BLV, противовирусные антитела представлены в основном IgM. При постановке РИД в агаровом геле с gp 51 антигеном BLV с сыворотками крови, предварительно обработанными 2-меркаптоэтанолом (2-МЭ), повышается чувствительность реакции в среднем на 2,7%. Последнее, по-видимому, связано с тем, что 2-МЭ снижает ингибитор антител, тем самым повышается титр синтеза IgG антител.

Вирусная природа лейкоза крупного рогатого скота к настоящему времени не вызывает сомнений [1–7]. В этой связи состояние инфицированности животных BLV принято считать первой (бессимптомной) стадией лейкоза [8]. Как отмечали З. А. Бутенко, А. А. Фильченков [9], ретровирусы обычно вызывают персистентные инфекции у животных и человека. После интеграции онковирусы редко «покидают» геном инфицированных клеток [10].

Следовательно, инфицированные BLV животные составляют группу риска, хотя синтезируют

специфические (против BLV) антитела. Это нами было показано ранее [11–13].

Теоретический аспект данного вопроса состоит в изучении особенностей синтеза и природы противовирусных антител, причем в спонтанном варианте: по принадлежности к конкретному классу иммуноглобулинов (Ig).

Целью исследований являлось выяснение природы специфических противовирусных (BLV) антител у крупного рогатого скота, отнесенного на основании многократных исследований в группу гематологически больных лей-

козом, а также у рогатого скота с нормальной гемограммой, но реагирующего в РИД (на носительство BLV).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С целью объективной интерпретации результатов массовых исследований природы противовирусных антител у животных отдельных стад мы учитывали особенности эпизоотического состояния ферм, из которых происходили исследуемые животные.

В первом опыте (табл. 1) в одном из хозяйств Новосибирской области, неблагополучном только по лейкозу крупного рогатого скота, при комплексном (клинико-гематологическом) исследовании 500 коров было выявлено 13 животных, подозреваемых в заболевании лейкозом.

Причем у животных с инвентарными номерами 31065, 1250, 1114 (см. табл. 1) при относительно нормальных показателях крови отмечали расстройства функций систем пищеварения и размножения, носившие стойкий характер. Впоследствии по результатам комиссионного убоя у двух из них (№ 1250 и 1114) были установлены лимфоплазмочитарная лимфосаркома и ретикулосаркома. У коровы № 1065 изменений, характерных для лейкоза, не установлено. Причем у первых двух сыворотки

крови в РИД с gr 51 антигеном BLV были отрицательны.

Для изучения природы антител к gr 51 антигену BLV по принадлежности определенному классу иммуноглобулинов мы воспользовались способностью детергента 2-меркаптоэтанола инактивировать IgM-антитела для выявления IgG-антител. Для этого к исследуемой биологической жидкости, в частности к сыворотке крови, в соотношении 1:1 добавили 0,2 М раствор 2-меркаптоэтанола (2-МЭ), оставляли на 2 ч при 36°C, после чего испытуемую сыворотку исследовали в РДП в агаровом теле с gr 51 антигеном BLV в тест-системе, изготовленной Курской биофабрикой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, у всех коров с диагнозом «лейкоз» специфические противовирусные антитела относились к IgG. Во всех остальных случаях, т.е. у коров, реагирующих в РИД, но не имеющих лейкозной патологии, антитела к BLV относились к IgM классу.

Одновременно следует отметить, что РИД была отрицательной у коров, больных лимфо- и ретикулосаркомой, а также в одном случае при начальной стадии лимфоидного лейкоза.

Таблица 1

Природа специфических антител сывороток крови при инфекции BLV

Инв. номер животных	Содержание лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	Содержание лимфоцитов, %	Гистологический диагноз	Природа антител	
				IgM	IgG
1005	19,2	97,0	Начальная стадия лимфолейкоза	-	+
882	16,8	91,0	Лимфолейкоз	-	+
1045	21,0	82,0	«	-	+
168	21,2	83,0	«	-	+
619	14,8	90,0	«	-	+
488	20,6	79,0	Начальная стадия лимфолейкоза	-	-
82	22,0	82,0	Крупозная пневмония	+	-
531	18,8	87,0	Гепатохолангит	-	-
1034	19,2	78,0	Изменений, характерных для лейкоза, нет	+	-
1065	9,2	78,0	То же	-	-
444	33,6	70,0	Лимфосаркома	-	-
1250	6,0	74,0	Лимфоплазмочитарная лимфосаркома	-	-
1114	7,0	76,0	Ретикулосаркома	-	-

Итак, мы преследовали две цели: выявление природы антител к антигену BLV провируса и изучение возможности применения в РИД тест-системы с сыворотками и плазмой крови, обработанными 2-МЭ, для выявления животных с низкими титрами специфических антител, не тестируемых реакцией иммунодиффузии, выполняемой в традиционном варианте.

Для достижения поставленной цели комплексному исследованию (на предмет выявления нужных для изучения животных) был подвергнут крупный рогатый скот пяти хозяйств. Характеризуя животных каждого хозяйства, следует заметить, что все животные из хозяйств 1 и 5 (табл. 2) по ре-

зультатам четырехкратного исследования были отнесены к категории гематологически больных лейкозом, причем все они были положительны в РИД.

Как видно из табл. 2, в хозяйстве № 1 у 12 животных антитела к gp 51 антигену BLV относились к IgG, а у одного – к IgM.

В хозяйстве № 5 из 14 реагирующих в РИД противовирусные антитела были отнесены к категории IgG в 12 случаях, а к IgM в 2.

В хозяйстве № 3 из 13 вирусоносителей (BLV) только у одного обнаружены изменения крови, характерные для лейкоза. Все другие животные оказались не скомпрометированы к лейкозу, но оставались BLV-носителями.

Таблица 2

Дифференциация антител к BLV с сыворотками крови коров из разных хозяйств с различной эпизоотической характеристикой*

Номер хозяйства	Исследовано в РИД, всего, гол.	Выявлено реагирующих в РИД				Природа антител	
		с нативной сывороткой		после обработки 2-МЭ			
		гол.	%	гол.	%	IgM	IgG
1	446	13	2,9	15	3,3	1	12
2*	198	1	0,5	14	7,3	14	-
3	40	8	3,8	13	6,2	12	1
4	160	35	20,7	35	21,8	18	17
5	14	14	100,0	14	100,0	2	12

* В хозяйстве № 2 от животных для исследования в РИД использовали плазму крови.

Характерной особенностью являлось то, что в 12 случаях из 13 антитела к BLV были отнесены к категории IgM.

Особый интерес представили животные из хозяйства № 4. Так, из 35 коров, прореагировавших в РИД, среди которых были как гематологически больные лейкозом, так и реагирующие на туберкулин, а также больные некробактериозом, у 18 коров антитела к BLV принадлежали к IgM, а у 17 – к IgG.

Животные хозяйства № 2 были представлены телками, родившимися от племенных коров, свободных от BLV, однако содержащихся с 6-месячного возраста в общих гуртах, где имелось до 20% BLV-носителей. В плазме крови всех 14 телок были выявлены IgM-специфические к BLV антитела.

По результатам проведенных исследований мы можем говорить о том, что при развитии лейкозного процесса у крупного рогатого скота (в ассоциации с BLV-инфекцией) специфические противовирусные антитела представлены в основном IgG. Последние, по данным ряда ученых [14–19], выполняют блокирующую функцию.

В развитии любой инфекции, вероятно, имеется генетически детерминированная последовательность иммунного ответа на чужеродные (бактериальные, вирусные, опухолевые и пр.) антигены. Как отмечали в свое время А. И. Агеенко [18], В. А. Горбатов [19], вначале, по-видимому, специфически реагируют иммунные лимфоциты, которые в основном определяют судьбу опухоли в организме. Затем начинается продукция цитотоксических гуморальных антител (IgM), после чего синтезируются блокирующие (IgG-антитела). Последние способствуют росту и прогрессии опухоли.

В наших исследованиях против-BLV антитела у крупного рогатого скота во всех гистологически подтвержденных случаях развития лимфоидного лейкоза относились к категории IgG.

И еще один аспект проблемы следует отметить. Так, постановка РИД с сыворотками, предварительно обработанными 2-меркаптоэтанолом, повышает чувствительность реакции, как было установлено ранее, в среднем на 2,7%. Вероятно, в сыворотках крови иммунных к BLV животных содержится ингибитор антител [21, 22], который

снимается воздействием детергента, тем самым титр РИД в период синтеза IgG-антител в обработанных пробах повышается.

Можно предположить, таким образом, что часть антител, обнаруживаемых в сыворотке крупного рогатого скота, видимо, из-за связи с ингибитором имеет низкую активность.

Присутствием ингибитора можно объяснить и развитие длительного латентного периода в иммунном ответе [21]. Следует заметить, что впервые явление ингибирования активности IgM было обнаружено Н. В. Журавлёвой и М. В. Земсковым в 1977 г. [21] и было названо естественной ингибирующей активностью (ЕИА) сыворотки крови. По данным Г. М. Черноусовой и А. К. Родосской [22], продолжительность ЕИА увеличивается в случаях длительного воздействия BLV на организм, что ведет к развитию вторичного иммунодефицита.

ВЫВОДЫ

1. При общей оценке природы антител, выявляемых при массовых исследованиях неблагополучных по лейкозу стад, тест с 2-меркаптоэтанолом может служить прогностическим тестом, так как гематологически больные BLV-носители синтезируют, как правило, антитела, относящиеся к категории IgG.

2. В случаях инфицирования крупного рогатого скота BLV (без показаний на лейкозный процесс – бессимптомное BLV-носительство) чаще всего выявляются антитела класса IgM. Однако это не является безусловным, поскольку в процессе развития лейкозной патологии могут иметь место периоды переключения продукции антител с 7S на 19S и обратно. Последнее, по-видимому, является отражением более глубоких процессов, происходящих в больном организме, и зависит, по всей вероятности, как от эндо-, так и экзогенных факторов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Храмцов В. В., Двоеглазов Н. Г., Туманов Ю. В. Изучение эффективности применения антигенов при выявлении антител к вирусу лейкоза методом ИФА // *Инновации и продовольственная безопасность*. – 2013. – № 2. – С. 81–85.
2. Смирнов П. Н., Гарматарова Т. В. Показатели естественной резистентности у инфицированных BLV и интактных к вирусу телок случного возраста // *Вестн. НГАУ*. – 2014. – № 4 (33). – С. 146–150.
3. Валихов А. Ф., Галеев Р. Ф. Динамика иммунного ответа у телят при введении инактивированного иммуногена на основе гликопротеида вириона ретровируса лейкоза // *Бюл. ВИЭВ*. – 1982. – Вып. 48. – С. 12–13.
4. Иммуноферментный метод определения антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота / В. П. Шишков [и др.] // *Бюл. ВНИИ эксперимент. ветеринарии*. – 1985. – Т. 58. – С. 23–25.
5. Смирнов П. Н. Патогенез гемобластозов крупного рогатого скота: иммунологические аспекты: дис. ... д-ра вет. наук. – Казань, 1988. – 444 с.
6. Дейгман Г. И. Современные концепции иммунологических взаимоотношений опухоли и организма // *Опухолевый рост как проблема биологии развития*. – М.: Наука, 1979. – С. 208–231.
7. Бергольц В. М., Кисляк Н. С., Еремеев В. С. Иммунология и иммунотерапия лейкоза. – М.: Медицина, 1978. – 404 с.
8. Симонян Г. А. Разработка и совершенствование оздоровительных противолейкозных мероприятий // *Ветеринария*. – 2007. – № 7. – С. 3–7.
9. Бутенко З. А., Фильченков А. А. Современные представления о вирусном онкогенезе: фундаментальные и прикладные аспекты // *Эксперимент. онкология*. – 2000. – № 22. – С. 239–245.
10. Киселев Ф. Л. Вирус-ассоциированные опухоли человека // *Биохимия*. – 2000. – № 65. – С. 68–77.
11. О путях передачи лейкоза крупного рогатого скота / П. Н. Смирнов [и др.] // *Ветеринария*. – 1988. – № 12. – С. 28–31.
12. Смирнов П. Н., Храмцов В. В., Смирнова В. В. Практические аспекты лейкоза крупного рогатого скота // *Ветеринария*. – 1998. – № 8. – С. 6–8.
13. Природа антител к BLV у крупного рогатого скота: по принадлежности к конкретному классу иммуноглобулинов / П. Н. Смирнов, В. В. Храмцов, Т. В. Гарматарова, Н. В. Батенёва // *Сб. науч. тр. Всерос. НИИ овцеводства и козоводства*. – 2014. – Т. 3, № 7. – С. 506–511.

14. Меркулова Н. Н., Хромова Е. А., Минеева Н. В. Сравнительная оценка использования сульфидредуцентов для выявления IgG антител к антигенам эритроцитов системы АВО // Гематология и трансфузиология. – 2004. – № 3. – С. 16–18.
 15. *Случаи* выявления редких вариантов антигена А / Н. В. Минеева, Н. Н. Меркулова, Е. А. Хромова, Н. Н. Бодрова // Гематология и трансфузиология. – 2003. – № 1. – С. 39–41.
 16. Moller E., Moller G. Quantitative studies of the sensitivity of normal and neoplastic mouse cells to the cytotoxic action of isoantibodies // J. Exptl. Med. – 1963. – Vol. 115. – P. 527–533.
 17. Moller E. Antigenetic effects of humoral isoantibodies on the in vitro cytotoxicity of immune lymphoid cells // J. Exper. Med. – 1965. – Vol. 122. – P. 11–23.
 18. Агеев А. И. Молекулярная биология и иммунология вирусного канцерогенеза. – М.: Медицина, 1974. – 328 с.
 19. Горбатов В. А. Митотическая активность клеток периферической крови у здорового и больного лейкозом крупного рогатого скота // Бюл. ВИЭВ. – 1974. – Вып. 17. – С. 39–40.
 20. Кондауров Б. И. Ингибция и синтез антител у животных после внедрения бруцелл // Сб. науч. работ Сиб. н-и. вет. ин-та. – Омск, 1975. – С. 46–51.
 21. Журавлева Н. В., Земсков М. В. Явление ингибирования активности антител // Открытия в СССР. – М., 1978. – С. 33–35.
 22. Черноусова Г. М., Родоская Н. К. Исследование естественной ингибирующей активности сыворотки крови у больных острым лейкозом // Мед. иммунология. – 2009. – Т. 11, № 6. – С. 577–580.
-
1. Khrantsov V.V., Dvoeglazov N.G., Tumanov Yu.V. *Innovatsii i proizvod'stvennaya bezopasnost* [innovation and food security], no. 2 (2013): 81–85.
 2. Smirnov P.N., Garmatarova T. V. *Vestnik NGAU* [Bulletin of NSAU], no. 4 (33) (2014): 146–150.
 3. Valikhov A. F., Galeev R. F. *Byulleten* VIEV, Vyp. 48 (1982): 12–13.
 4. Shishkov V. P. i dr. *Byulleten* VNII eksperiment. veterinarii, T. 58 (1985): 23–25.
 5. Smirnov P.N. *Patogenez gemoblastozov krupnogo rogatogo skota: immunologicheskie aspekty* [Dissertation]. Kazan, 1988. 444 p.
 6. Deygman G. I. *Opukholevyy rost kak problema biologii razvitiya*. Moscow: Nauka, 1979. pp. 208–231.
 7. Bergol'ts V.M., Kislyak N. S., Eremeev V. S. *Immunologiya i immunoterapiya leykoza* [Immunology and immunotherapy of leukemia]. Moscow: Meditsina, 1978. 404 p.
 8. Simonyan G. A. *Veterinariya*, no. 7 (2007): 3–7.
 9. Butenko Z. A., Fil'chenkov A. A. *Eksperimental'naya onkologiya*, no. 22 (2000): 239–245.
 10. Kiselev F. L. *Biokhimiya* [Biochemistry (Moscow)], no. 65 (2000): 68–77.
 11. Smirnov P.N. i dr. *Veterinariya*, no. 12 (1988): 28–31.
 12. Smirnov P.N., Khrantsov V.V., Smirnova V.V. *Veterinariya*, no. 8 (1998): 6–8.
 13. Smirnov P.N., Khrantsov V.V., Garmatarova T. V., Bateneva N. V. *Sbornik nauch. trudov Vseros. NII ovtsevodstva i kozovodstva*, T. 3, no. 7 (2014): 506–511.
 14. Merkulova N. N., Khromova E. A., Mineeva N. V. *Gematologiya i transfuziologiya*, no. 3 (2004): 16–18.
 15. Mineeva N. V., Merkulova N. N., Khromova E. A., Bodrova N. N. *Gematologiya i transfuziologiya*, no. 1 (2003): 39–41.
 16. Moller E., Moller G. Quantitative studies of the sensitivity of normal and neoplastic mouse cells to the cytotoxic action of isoantibodies. *J. Exptl. Med.*, Vol. 115 (1963): 527–533.
 17. Moller E. Antigenetic effects of humoral isoantibodies on the in vitro cytotoxicity of immune lymphoid cells. *J. Exper. Med.*, Vol. 122 (1965): 11–23.
 18. Ageenko A. I. *Molekulyarnaya biologiya i immunologiya virusnogo kontserogeneza* [Molecular biology and immunology of viral cancerogenesis]. Moscow: Meditsina, 1974. 328 p.
 19. Gorbatov V. A. *Byulleten* VIEV, Vyp. 17 (1974): 39–40.
 20. Kondauror B. I. *Sbornik nauch. rabot Sib. n-i. vet. in-ta*. Omsk, 1975. pp. 46–51.
 21. Zhuravleva N. V., Zemskov M. V. *Otkrytiya v SSSR*. – Moscow, 1978. pp. 33–35
 22. Chernousova G. M., Rodoskaya N. K. *Med. Immunologiya*, T. 11, no. 6 (2009): 577–580

**THE ORIGIN OF ANTIBODIES TO ANTIGEN BLV TO THEIR REFERENCE
TO THE CLASS OF IMMUNOGLOBULINS**

Smirnov P.N., Khramtsov V.V., Garmatarova T.V., Loginov S.I.

Key words: leukemic infection (BLV), antibodies to gp 51 to antigen BLV, secondary immunodeficiency, immunoglobulins, of иммуноглобулины основных классов, mercaptoethanol

Abstract. The article reveals the results on investigation the origin of antibodies to antigen gp 51BLV in the infected animals experiencing different stages of leucosis. The experiment was conducted on the animals from isolated herds with different epizootic condition of cattle leucosis. The research demonstrates that specific antiviral antibodies (BLV) are represented as IgG which have blocking function. When we deal with new nidus of BLV infection, antibodies are represented as IgM. The authors observed lower reaction resistance (2.7 %) when gp 51 dealing with blood serums treated with mercaptoethanol. This is caused by the fact that mercaptoethanol eliminates the inhibitor of antibodies and increases the synthesis of IgG antibodies.

ВЕТРАСТЕД