УДК 636.2.033; 619; 616-006.04

ПОКАЗАТЕЛИ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ У ИНФИЦИРОВАННЫХ BLV И ИНТАКТНЫХ К ВИРУСУ ТЕЛОК СЛУЧНОГО ВОЗРАСТА

П.Н. Смирнов, доктор ветеринарных наук, профессор Т.В. Гарматарова, аспирант Новосибирский государственный аграрный университет E-mail: ngaufiziologi@mail.ru

Ключевые слова: естественная резистентность, лейкозная инфекция (BLV), сывороточные белки крови, альбумины, глобулины, лизоцим, фагоцитоз микрофагов и комплементарная активность сыворотки крови

Реферат. Одной из актуальных проблем эпизоотического благополучия продуктивного животноводства в стране является компрометация дойных стад к лейкозной (BLV) инфекции. В связи с тем, что в соответствии с действующими Правилами о мероприятиях по борьбе и профилактике лейкоза крупного рогатого скота от инфицированных BLV коров молоко подлежит промпереработке таких животных в принципе в стадах не должно быть. Этого требуют и надзорные органы в рамках ГОСТов, предусмотренных всемирной торговой организацией (BTO). BLV-носительство не только сказывается на качестве молока, но одновременно приводит к снижению резистентности коров. Следовательно, такие животные составляют группу риска. Отсюда возникла задача получения объективных научных знаний о влиянии BLV на организм вирусоносителей. Как показали исследования, у телок случного возраста, инфицированных BLV, достоверно снижен синтез сывороточного белка за счет снижения продукции альбуминов, а- и у- глобулинов при одновременном снижении бактерицидности сыворотки крови, продукции фермента мурамидазы и фагоцитарной активности микрофагов. Животные, инфицированные BLV, составляют группу повышенного риска.

В общей системе, обеспечивающей иммунитет и в целом гомеостаз, наиболее древней является макрофагальная система, определяющая фагоцитоз и другие факторы естественной резистентности – комплемент, лизоцим, β-лизины, интерферон, опсонины, пропердин и др. [1]. На более поздних этапах развития постепенно ведущее место начинают занимать клетки иммунокомпетентной системы – Т- и В- лимфоциты. В физиологически оптимальной кооперации и интеграции Т-, В- и А- (макрофаги) клетки обеспечивают специфический иммунный ответ [2, 3].

Касаясь проблемы сопротивляемости животных к инфекции, следует отметить, что она определяется как факторами естественной резистентности (неспецифической), так и степенью специфической (иммунологической) защиты [4–6].

В изучении механизма BLV-инфекции с позиции роли резистентности организма мы исходили прежде всего из того, что нарушение неспецифических защитных механизмов может повлечь за собой и расстройство клеточного взаимодействия,

необходимого для индукции специфического иммунного ответа.

В этой связи для более полной и объективной оценки состояния иммунологической реактивности и естественной резистентности в целом при инфекции BLV у крупного рогатого скота представляется актуальным изучение показателей, характеризующих резистентность животных, причем как в норме, так и при инфекции BLV.

Выбор оптимального количества методов, позволяющих оценить состояние иммунной системы и общей резистентности организма, затем интерпретация этих тестов, их обобщение в целостный диагноз, подробная увязка с механизмом развития инфекционного процесса и в последующем прогноз — это тот перечень проблем, которые необходимо ставить исследователю [7].

Цель исследований – провести сравнительные исследования показателей естественной резистентности телок случного возраста, инфицированных BLV и интактных к этому вирусу.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С учетом опубликованных работ по рассматриваемому вопросу и собственного опыта по проблеме инфекции BLV мы отобрали наиболее информативные тесты, объединив их в особую панель. Добившись повторяемости и воспроизводимости результатов в дублях и триплетах на одних и тех же здоровых животных, приняли методики за основу.

Панель тестов включала определение уровня иммуноглобулинов G, содержания общего белка в сыворотке крови, бактерицидной, лизоцимной и комплементарной активности сыворотки крови, фагоцитарной активности микрофагов.

Отбор перечисленных факторов был обусловлен следующими теоретическими положениями: неспецифическая резистентность обеспечивается важными защитными функциями, среди которых фагоцитозу отводится особое место. Кроме того, существенную роль играют при этом процессы внутриклеточного переваривания (завершенный фагоцитоз, лизоцим), медиаторы, комплемент.

Известно, что неспецифическую (естественную) резистентность определяют и гуморальные факторы, в частности, естественные (нормальные) антитела. Считают, что они представлены в основном иммуноглобулинами класса G. Следовательно, определяя общий уровень иммуноглобулинов данного класса, мы можем дополнительно оценивать общую резистентность животных [8].

Существенным показателем состояния резистентности организма является бактерицидная активность сыворотки крови, которая обеспечивается опсонинами, комплементом, лизоцимом, иммуноглобулинами, т.е. служит своего рода интегральным отражением суммарного защитного эффекта.

Особая роль в общей оценке резистентности животных отводится фагоцитозу.

Ко всему сказанному следует добавить ещё, что лизоцим выполняет в организме важные биологические функции, в первую очередь, стимулирующее воздействие на фагоцитоз. Поэтому изменение содержания этого фермента (мурамидазы) может способствовать атипическому течению патологических процессов, развитию вторичных иммунодефицитов.

И, наконец, ещё один показатель — комплемент — относится к неспецифическим гуморальным факторам защиты организма. Особенно выражено его участие в иммунопатологических процессах.

Для реализации поставленной задачи мы подобрали две группы телок случного возраста айрширской породы в ПЗ им. В.И. Чапаева Краснодарского края, на МТФ № 1 (свободной от BLV) и МТФ № 5, где было сконцентрировано поголовье, инфицированное вирусом лейкоза. Пробы крови и сыворотки крови были взяты из подхвостовой вены в пробирки «Моновет» у 24 одновозрастных животных (по 12 голов в группе). Содержание и кормление животных было аналогичным.

Уровень IgG_1 и IgG_2 в сыворотке крови определяли путем электрофореза в геле агарозы В по методике, описанной В. М. Чекишевым [9], в модификации П. Н. Смирнова [10], используя буферные растворы фирмы «Медиген» (г. Новосибирск) из тест-системы для ДНК-диагностики.

Общий белок определяли с помощью рефрактометра марки ИРФ-470; бактерицидную активность (БАСК) и лизоцимную активность (ЛАСК) сыворотки крови исследовали нефелометрически, используя в качестве тест-микроба культуру Staphylococcus albus для БА и культуру Micrococcus lysodeiticus для ЛА, по методике С.И. Плященко и В.Т. Сидорова [11] в некоторой модификации, предложенной нами в процессе работы.

Комплементарную активность сыворотки крови (КАСК) рассчитывали по 50%-му гемолизу эритроцитов, фагоцитарную активность (ФАК) нейтрофилов (микрофагов) исследовали в отношении $E.\ coli.$ Рассчитывали, кроме того, фагоцитарное число (ФЧ) и индекс фагоцитоза (ИФ).

Диагностирование инфекции BLV осуществляли по выявлению специфических антител против антигена gp 51 BLV в тест-системе «РИД в агаровом геле» в соответствии с Методическими рекомендациями по диагностике лейкоза крупного рогатого скота. В процессе постановки тестсистемы нами были использованы некоторые модификации. Так, для расплавления агара вместо водяной бани применили нагревание его в микроволновой печи.

Математическую обработку цифрового материала осуществляли с использованием стандартных компьютерных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В таблице представлены результаты сравнительного изучения естественной резистентности телок случного возраста, инфицированных BLV и свободных от вируса.

Показатели естествени	ной резистентности телон	с случного возраста,		
инфицированных BLV и интактных к вирусу				

Показатель	BLV-инфицированные	BLV-интактные
Общий белок, г/л	$46,8\pm 4,70$	$62,2\pm3,20*$
Альбумины, г/л	$20,5\pm 3,30$	$30,0\pm1,50*$
α-глобулины, г/л	$4,90\pm0,40$	13,1±1,40*
β-глобулины, г/л	$5,50\pm0,70$	$6,40\pm0,30$
γG_1 -глобулины, г/л	$5,80 \pm 0,40$	8,00±0,60*
γG_2 -глобулины, г/л	$4,90 \pm 0,60$	6,50±0,40*
БАСК, %	$15,3\pm0,30$	26,8±2,9*
ЛАСК, %	$3,60\pm0,30$	5,40±0,40*
КАСК, %	$3,00\pm0,08$	4,20±0,60*
ФАК, %	21,0±1,10	40,2±1,40*
ФЧ, ед.	$1,90\pm0,10$	$3,60\pm0,20*$
ФИ, ед.	$8,80 \pm 0,60$	$10,5\pm 2,80$

^{*}P < 0.05

Из таблицы видно, что существенное (достоверное) преимущество имели интактные к BLV животные по таким показателям, как содержание в единице объема сывороточного белка крови, в том числе уровня альбуминов, α -глобулинов, γG_1 - и γG_2 -глобулинов.

Кроме того, инфицированные BLV телки случного возраста имели относительно низкую бактерицидность сыворотки крови, а также достоверно более низкий уровень лизоцима, фагоцитоза микрофагов и комплементарной активности сыворотки крови.

Итак, сравнительные количественные показатели телок обеих групп позволяют нам со всей очевидностью говорить о том, что под влиянием BLV-инфекции у животных этого возраста развилась определенная дефектность в системе естественной резистентности. Телки случного возраста, инфицированные вирусом лейкоза крупного рогатого скота, составляют группу риска.

Подводя итог исследованиям, касающимся особенностей резистентности крупного рогатого скота при инфекции BLV, следует, прежде всего, отметить, что благодаря фундаментальным исследованиям иммунологов установлен принцип гене-

тического контроля иммунного ответа. Это означает, что высота иммунного ответа, развиваемого индивидуумом, генетически детерминирована.

Многочисленными работами А. А. Богомольца [12, 13] теоретически обосновано, экспериментально доказано и подтверждено клиническими наблюдениями, что возникновение, развитие, судьба элокачественных новообразований в значительной степени зависят от реактивности организма, его неспецифической резистентности и способности поддержать и восстанавливать гомеостаз.

выводы

- 1. На телках случного возраста айрширской породы в контролируемом опыте выявлены достоверно более низкие показатели естественной резистентности у инфицированных BLV животных, в частности БАСК $-15,3\pm0,3\%$ против $26,8\pm2,9$ у интактных; ЛАСК $-3,6\pm0,3\%$ против $5,4\pm0,4$ у интактных; КАСК -3,0.
- 2. BLV может выступать и как специфический этиологический фактор лейкоза, и как иммунодепрессант.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1. *Дейчман Г.И*. Роль естественной резистентности в реакции организма на возникновение, рост и метастазирование опухолей // Итоги науки и техники: Онкология. М.: ВИНИТИ, 1984. Т. 13. С. 46–97.
- 2. *Петров Р.В., Хаитов Р.М.* Иммунная система и рак // 3-й Всесоюз. съезд онкологов. Ташкент, 1979. С. 584–590.
- 3. Петров Р. В. Иммунология. М.: Медицина, 1982. С. 367.
- 4. *Молекулярные* и иммунологические особенности клеток лимфопоэза в процессе становления лейкоза крупного рогатого скота / А. Д. Белов, Б. З. Иткин, В. Б. Бронштейн, М. Н. Данилова // Роль им-

- мунной системы в патогенезе лимфо-пролиферативных заболеваний: тез. докл. Всесоюз. конф. Новосибирск, 1984. С. 124–127.
- 5. *Гуткин В. С., Горбатов В. А., Феоктистова Т. А.* Лизосомы в антибактериальном иммунитете. М.: Колос, 1984. С. 303.
- 6. *Иммунология* / Е.С. Воронин, А.М. Петров, М.М. Серых, Д.А. Девришов. М.: Колос-Пресс, 2002. С. 406.
- 7. *Лозовой В. П. Шершин С. М.* Структурно-функциональная организация иммунной системы. Новосибирск: Наука. Сиб. отд.-ние, 1981. 224 с.
- 8. Шаяхов Э. Н., Андриеш Л. П. Иммунология. Кишинев: Штиинца, 1985. С. 278.
- 9. *Чекишев В. М.* Количественное определение иммуноглобулинов в сыворотке крови животных: метод. указания / ВАСХНИЛ. Сиб. отд-ние. Новосибирск, 1977. 20 с.
- 10. Панель наиболее информативных тестов для оценки резистентности животных: метод. рекомендации / П. Н. Смирнов, Н. В. Ефанова, В. В. Храмцов [и др.]. Новосибирск, 2011. 27 с.
- 11. *Плященко С.И., Сидоров В.Т.* Естественная резистентность организма животных. Л.: Колос. Ленингр. отд-ние, 1979. 181 с.
- 12. Богомолец А. А. Тер. архив № 1. 1929. Т. 7. С. 108–118.
- 13. Богомолец А. А. Избранные труды № 3. Киев, 1958. С. 295–305.

INDEXES OF NATURAL RESISTANCE IN BLV –INFECTED AND –INTACT HEIFERS OF BREEDING AGE

P.N. Smirnov, T.V. Garmatarova

Key words: natural resistance, leucosis infection (BLV), blood serum proteins, albumins, globulins, lysozyme, phagocytosis of microphages and complementary activity of blood serum

Summary. One of the pressing problems of epizootic welfare in productive livestock-breeding in the country is to compromise milking herds to leucosis (BLV) infection. According to the existing laws on the events of control and preventive measures against cattle leucosis (M., 1999) milk from BLV infected cows is subjected to industrial processing, there are to be in principle no animals of the kind in herds. Surveillance bodies demand to obey the laws in the framework of GOSTs (State Standards); the Standards are provided by World Trade Organization (WTO). BLV-carrying does not only decrease milk quality, but simultaneously, the carrying results in declined resistance in the animals. Consequently, these animals are the group of risk. Hence there emerged the importance to acquire impartial scientific knowledge about the BLV effect on the virus carrier organism. The examinations showed that the BLV infected heifers of breeding age have significantly decreased synthesis of serum protein at the expense of lowered production of albumins, α - and γ - globulins, concomitantly decreased bactericidal action of blood serum, declined production of the enzyme muramidase and phygocyte activity of macrophages. The BLV infected animals make up the group of higher risk.