

УДК 619:616–006.446

РАЗЛИЧИЯ АНТИГЕННЫХ КОМПЛЕКСОВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ЛЕЙКОЗЕ У КОРОВ, ВЫЯВЛЕННЫЕ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ АНАФИЛАКСИИ С ДЕСЕНСИБИЛИЗАЦИЕЙ НА МОРСКИХ СВИНКАХ

П. Н. Смирнов, доктор ветеринарных наук, профессор

Новосибирский государственный аграрный университет

Ключевые слова: реакции анафилаксии с десенсибилизацией, антигенные комплексы, плазма и сыворотка крови.

Проведены сравнительные исследования антигенного состава биологических жидкостей – плазмы и сыворотки крови клинически здоровых и больных разными формами гемобластозов коров с помощью реакции анафилаксии с десенсибилизацией на морских свинках. Выявлен феномен антигенного усложнения у больных хроническим лимфолейкозом и другими формами гемобластозов, а также у больных гемобластозами в ассоциации с туберкулезом и бруцеллезом. Последние в моноварианте антигенных различий не демонстрируют, так же как и при патологиях нелейкозного характера.

DIFFERENCES IN STANDARD ANTIGEN COMPLEXES OF BIOLOGICAL LIQUIDS AND COW LEUCOSIS THAT ARE REVEALED BY MEANS OF ANAPHYLAXIS AND DEALLERGIZATION AT GUINEA PIGS

P.N. Smirnov, Doctor of Veterinary Sc., Professor

Novosibirsk State Agrarian University

Key words: reaction of anaphylaxis and deallergization, antigen complex, plasma and blood serum.

The author explores antigen content of biological liquids (plasma and blood serum) of healthy cows and cows suffering from hemoblastosis. The author applies the reaction of anaphylaxis and deallergization on guinea pigs. The paper finds out the phenomenon of antigen regression in the animals suffering from lymphleucosis and other forms of hemoblastosis and cows suffering from hemablastosis, tuberculosis and brucellosis. The cows suffering from hemablastosis, tuberculosis and brucellosis do not show antigen differences in mono variant and pathologies of non leucosis type.

Независимо от позиций, на которых основывается теория канцеро-(лейкозо-)генеза, общепринятым является факт, что опухолевые клетки, как и нормальные, содержат как общие, так и отличные антигены.

Многочисленными публикациями авторов по материалам работ, выполненных в конце прошлого столетия, был подтвержден взгляд о том, что в опухолях (злокачественных клетках) содержатся антигены, отсутствующие в гомологичных тканях здорового организма, выявляемые с помощью иммунологических методов.

Наряду с наличием в трансформированных клетках новых антигенов, возникающих в результате сложных биохимических процессов, может иметь место утрата некоторых антигенов, присущих нормальной клетке [1–3].

Следовательно, изучение природы антигенных различий тканей (клеток) лимфоидных органов крупного рогатого скота при гемобластозах представляется крайне важной общебиологической задачей.

Цель исследований – в реакции анафилаксии с десенсибилизацией на морских свинках провести сравнительное изучение антигенного состава биологических жидкостей – плазмы и сыворотки крови клинически здоровых и больных разными формами гемобластозов коров.

Как основной иммунологический метод изучения антигенной характеристики лимфоидных органов и биологических жидкостей была использована реакция анафилаксии с десенсибилизацией на морских свинках (РАсД), – высокочувствительный метод, позволивший в свое время Л. А. Зильберу (1959) получить ценные патогенетические сведения, касающиеся природы злокачественных болезней, в том числе лейкозов [4].

Для достижения поставленной цели была разработана рабочая схема, включающая несколько этапов исследований:

- отработка стандартной методики постановки РАСД на морских свинках применительно к изучению антигенов тканей и биологических жидкостей крупного рогатого скота;
- стандартизация изучаемых антигенных препаратов по белку;
- разработка и использование рациональных схем постановки РАСД (в перекрестных вариантах) для изучения природы антигенных различий биологических жидкостей крупного рогатого скота в норме и патологии.

Для изучения антигенов биологических жидкостей было подобрано необходимое количество больных лейкозом, инфицированных BLV животных из стад с известной эпизоотической характеристикой.

На основании результатов гематологических исследований были выделены больные гемобластомами животные, которых затем изолировали и подвергали убою. Патологический материал (кусочки органов) фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, а сыворотку крови хранили в холоде.

Гистологическое исследование патологического материала от убитых коров провела кандидат ветеринарных наук В. В. Смирнова (ИЭВСиДВ).

При подтверждении диагноза на лейкоз из тканей этих животных (ткани хранились в замороженном виде) готовили антигенные препараты по методике В. А. Парнес (1960) в нашей модификации (вместо физиологического раствора использовали 0,25 М раствор сахарозы). В данной статье приведены результаты исследований только биологическими жидкостями (плазма и сыворотка крови).

РАсД на морских свинках основана на том, что свинки, сенсibilизированные одним антигенным комплексом и в последующем полностью десенсибилизированные другим, остаются или интактными, или отвечают анафилактическим шоком на разрешающее введение антигенного комплекса, которым их сенсibilизировали. Проявление анафилактического шока у морских свинок указывает на различие антигенных комплексов биологических препаратов.

Установив антигенные различия между изучаемыми препаратами, мы продолжили дальнейшие исследования по выявлению природы этих различий с помощью РАСД в перекрестном варианте.

Поставлена серия опытов. В I опыте было проведено сравнение антигенного состава плазмы крови здоровых и больных разными формами гемобластозов коров в РАСД на 80 морских свинках (60 опытных и 20 контрольных).

Во II опыте предметом исследований была сыворотка крови коров, больных лейкозом, а также больных лейкозом в ассоциации с туберкулезом, с бруцеллезом, больных некробактериозом, хроническим энтеритом и коровы с аллергическим состоянием (подтверждено гистологически). Опыт проведен на 38 морских свинках, из которых 29 опытных и 9 контрольных.

Итак, в I опыте свинок сенсibilизировали сывороткой крови 14 больных гемобластомами коров, в том числе: 10 – хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ); 3-недифференцируемым (острым) лейкозом (НДЛ) и 1 – хроническим миелолейкозом (ХМЛ). Через 28 дней морских свинок десенсибилизировали плазмой здоровых коров (табл. 1), трехкратно внутрибрюшинно с интервалом 2 часа в нарастающей дозе белка.

После проверки полноты десенсибилизации морским свинкам вводили разрешающую дозу исследуемого антигенного препарата, т.е. того, каковым сенсibilизировали животных, в нарастающей дозе.

Таблица 1

Сравнение антигенного состава плазмы крови здоровых и больных различными формами гемобластозов коров в РАСД на морских свинках*

№ гр. мор-ских свинок	Сенсибилизация		Десенсибилизация		Разрешающее введение		Реакция морских свинок				
	плазма крови, № коров (диагноз)	доза белка (мг)	инвентарный номер здоровой коровы	доза белка (мг) ^{xx}	плазма крови коровы, №	доза белка (мг)	+++	++	+	±	-
1	1632, ХЛЛ	8,9	№ 170	27,0	1632, ХЛЛ	26,7		I	2		
2	2007, ХЛЛ	11,9	«	34,4	2007, ХЛЛ	34,5		2	I		
3	453, ХЛЛ	10,4	«	31,1	453, ХЛЛ	32,0		2	I		
4	3356, ХЛЛ	11,7	«	34,4	3356, ХЛЛ	34,0		I	2		
5	1344, ХЛЛ	6,8	№ 1254	18,6	1344, ХЛЛ	18,5		2	I		
6	91, ХЛЛ	6,8	«	27,0	91, ХЛЛ	27,4		2	I		
7	956, ХЛЛ	7,2	«	27,0	956, ХЛЛ	29,1		2	I		
8	1146, ХЛЛ	8,0	«	18,6	1146, ХЛЛ	20,0	I	2			
9	1351, ХЛЛ	7,4	«	27,0	1351, ХЛЛ	26,0	I	2			
10	414, ХЛЛ	6,7	«	24,9	414, ХЛЛ	23,7		3			
11	1579, ХЛЛ	8,7	№ I	27,0	1579, ХЛЛ	26,7	I	I	I		
12	674, НДЛ	6,7	№ 1254	18,6	674, НДЛ	17,1		2	I		
13	1087, НДЛ	9,0	«	27,0	1087, НДЛ	27,0		2	I		
14	174, НДЛ	7,2	№ 1318	24,9	174, НДЛ	25,2	2	I			
Контроль											
15	120, ХЛЛ+бруцеллез	6,8	№ 1318	14,9	120, ХЛЛ+бруцеллез	23,8		2	I	I	-
16	36, ХЛЛ+туберкулез	6,9	«	«	36, ХЛЛ+туберкулез	24,3			3		
17	98, туберкулез	6,9	«		98, туберкулез	«			I	2	-
18	151, бруцеллез	6,8	«		151, бруцеллез	23,9				2	-
19	76, туберкулез+хрон. энтерит	6,9	«		76, туберкулез+хрон. энтерит	23,5			I	2	-
20	342, хрон. энтерит	7,2	«		342, хрон. энтерит	21,7				3	-

* ХЛЛ – хронический лимфолейкоз; ХМЛ – хронический миелолейкоз;

НДЛ – недифференцируемый лейкоз.

^{xx} Приведена последняя десенсибилизирующая доза белка.

Как видно из табл. 1, в преобладающем большинстве случаев на разрешающее введение испытуемой плазмы крови морские свинки отвечали анафилактическим шоком от легкой до тяжелой степени, что указывало на антигенные различия плазмы больных лейкозом коров, в сравнении с таковой здоровых животных. То есть плазма от больных представлена антигенным набором плазмы здоровых коров и, кроме того, в ней содержатся еще какие-то антигенные компоненты, отличные от компонентов здоровой плазмы.

Для контроля специфичности проявления реакции на биоматериал у больных лейкозом коров, мы выбрали 6 коров, больных лейкозом в ассоциации с туберкулезом, с бруцеллезом и хроническим энтеритом.

Как видно из табл. 1, на разрешающее введение исследуемых плазм крови морские свинки отвечали анафилактическим шоком в основном легкой степени. Однако из 18-ти опытных свинок у 10-ти реакция была сомнительной, отмечали лишь легкое понижение температуры тела на 1–1,5°C.

Итак, результаты по данной группе позволили нам сделать заключение о том, что антигенный спектр сыворотки крови коров при туберкулезе, бруцеллезе и хроническом энтерите существенно не отличается от антигенного состава плазмы здоровых коров.

В случаях ассоциации ХЛЛ с туберкулезом или бруцеллезом различия хотя и имели место, но в той степени выраженности, которая была выявлена в случаях моноинфекции (только лейкозного процесса).

Следующим этапом исследований было сравнительное изучение антигенного состава сыворотки крови больным ХЛЛ, недифференцируемым лейкозом (НДЛ) и лимфосаркомой (ЛС) в сравнении с сыворотками здоровых коров (табл. 2, 3).

Опыт поставлен на 109 морских свинок, из которых 83 опытных и 26 контрольных.

Таблица 2

Сравнение антигенного состава сыворотки крови здоровых и больных различными формами гемобластозов коров в РАСД на морских свинках

№ гр морских свинок	Сенсибилизация		Десенсибилизация		Разрешающее введение		Реакция морских свинок			
	сыворотка крови коровы (гистол. диагноз)	доза белка (мг)	инвентарный номер здоровой коровы	доза* белка (мг)	сыворотка крови коровы (гистол. диагноз)	доза белка (мг)	++	+	±	-
21	508, ХЛЛ	10,0	1195	28,0	508, ХЛЛ	30,0	I	3		
22	884, ХЛЛ	9,0	«	«	884, ХЛЛ	27,0		3		
23	467, ХЛЛ	8,4	1264	12,5	467, ХЛЛ	25,2	2	I		
24	956, ХЛЛ	7,4	3436	28,3	956, ХЛЛ	26,1	I	3		
25	91, ХЛЛ	7,7	«	«	91, ХЛЛ	26,9	2	2		
26	2200, ХЛЛ	7,8	«	«	2200, ХЛЛ	27,5		3		
27	414, ХЛЛ	7,1	7850	21,0	414, ХЛЛ	21,5	2	2		
28	171, ХЛЛ	7,4	«	17,8	171, ХЛЛ	18,2	I	2		
29	514, ХЛЛ	6,1	«	«	514, ХЛЛ	18,3		3		
30	1270, НДЛ	7,5	«	20,7	1270, НДЛ	21,5	2	2		
31	281, НДЛ	7,9	1264	24,5	281, НДЛ	23,7	2	I		
32	1087, НДЛ	8,1	3436	28,3	1087, НДЛ	28,3	I	2		
33	174, НДЛ	«	7850	21,0	174, НДЛ	20,3	2	I		
34	949, ЛС	8,5	1264	24,5	949, ЛС	25,2		3		
35	699, ЛС	7,8	3436	28,3	699, ЛС	27,2		3		
36	443, ЛС	9,7	«	«	443, ЛС	29,2	I	I	I	-
37	120, ХЛЛ+бруцеллез	6,8	7850	21,0	120, ХЛЛ+бруцеллез	20,2	I	2		
38	36, ХЛЛ+туберкулез	6,6	«	«	36, ХЛЛ+туберкулез	20,1	I	2		

* Представлена последняя десенсибилизирующая доза белка.

Таблица 3

РАСД на морских свинках с сыворотками крови коров с различными патологическими процессами, в сравнении с сыворотками здоровых животных

№ гр. морских свинок	Сенсибилизация		Десенсибилизация		Разрешающее введение		Реакция морских свинок		
	сыворотка крови коровы, № (гистол. диагноз)	доза белка (мг)	инвентарный номер здоровой коровы	доза* белка (мг)	сыворотка крови коровы (диагноз)	доза белка (мг)	+	±	-
39	2164, продуктивный лимфаденит	9,5	1195	28,0	2164, продуктивный лимфаденит	28,5		1	2
40	688, амилоидоз печени	9,8	«	«	688, амилоидоз печени	29,5		2	1
41	1192, гломеруло-нефрит	10,0	«	«	1192, гломеруло-нефрит	30,0		2	1
42	98, туберкулез	11,1	7850	21,0	98, туберкулез	22,2	1	2	
43	151, бруцеллез	7,2	«	«	151, бруцеллез	21,6	1	2	
44	76, туберкулез+хрон. энтерит	7,8	«	«	76, туберкулез+хрон. энтерит	19,5		3	
45	342, хрон. энтерит	8,0	«	«	342, хрон. энтерит	20,2		3	
46	147, некробактериоз	8,5	«	«	147, некробактериоз	21,3			3

* Приведена последняя десенсибилизирующая доза белка.

Как видно из таблиц 2 и 3, в большинстве случаев морские свинки отвечали анафилактическим шоком от средней до легкой степени на разрешающее введение сывороток крови коров, больных разными формами гемобластозов, а также больных ХЛЛ в ассоциации с туберкулезом и бруцеллезом. Лишь в одном случае имела место сомнительная реакция (группа 36).

Интересно отметить, что совершенно иная картина наблюдалась при введении в качестве разрешающей дозы сывороток крови коров с разной патологией, но нелейкозной природы (морские свинки 39–41, 45, 46 групп). При этом, как правило, реакция была сомнительной или же отрицательной.

При введении сыворотки крови коров, больных туберкулезом, бруцеллезом (в моноварианте) отмечали в 30% случаев легкий анафилактический шок и в 70% случаев – сомнительную реакцию.

Результаты проведенных исследований указывают на различия антигенного состава сывороток крови больных лейкозом коров в сравнении с сыворотками здоровых. Аналогичные данные имели место и при изучении сывороток крови больных лейкозом в ассоциации с туберкулезом и бруцеллезом. Однако при патологических процессах другой природы различий (в сравнении со здоровыми) не установлено.

Из проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. В биологических жидкостях зарегистрирован феномен антигенного усложнения у коров при гемобластозах, а также в ассоциации с туберкулезом и бруцеллезом. Последние в моноварианте антигенного усложнения не формируют;

2. Результаты опытов позволяют говорить о том, что РАСД на морских свинках с плазмой крови не может служить специфическим диагностическим тестом в выявлении лейкоза круп-

ного рогатого скота в хозяйстве, неблагополучном одновременно по гемобластозам, туберкулезу и бруцеллезу;

3. РАСД может быть использована для прижизненной диагностики лейкозов и других инфекционных заболеваний, при которых имеют место различия антигенных комплексов биологических жидкостей в сравнении с аналогичными препаратами здоровых животных;

4. В хозяйствах, неблагополучных только по гемобластозам крупного рогатого скота, с помощью РАСД можно прижизненно диагностировать лейкозы и другие гемобластозы и инфекцию BLV, используя плазму или сыворотку крови, что особенно перспективно для завершающего этапа оздоровления неблагополучного по лейкозу стада.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Авдеев Г. И.* Изучение органной специфичности опухолей щитовидной железы человека // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 1965. – Т. 59, № 6. – С. 77–81.
2. *Авдеев Г. И.* О гетероорганных антигенах рака желудка человека // Вопросы онкологии. – 1974. – Т. 20, № 2. – С. 36–40.
3. *Агеев А. И., Ерхов В. С., Гордиенко С. П., Авясов Р. М.* Иммунитет к эмбриональным стадиоспецифическим антигенам при вирусном канцерогенезе // Эксп. онкол. – 1985. – № 2. – С. 38–39.
4. *Зильбер Л. А.* Изучение антигенов опухолей // Вопросы онкологии. – 1959. – Т. 5, № 3. – С. 265–271.