



ИННОВАЦИОННОЕ РАЗВИТИЕ АПК

INNOVATIVE DEVELOPMENT OF THE AGROINDUSTRIAL COMPLEX

УДК 619:616–006.446

ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ЛЕЙКОЗЕ ЖВАЧНЫХ¹

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

Новосибирский государственный аграрный университет

Ключевые слова: хроногематологические исследования, цикличность динамики, критические периоды, морфофункциональный статус.

Многими отечественными и зарубежными исследователями доказана этиологическая роль BLV (Bovine leukemia virus) в возникновении лейкоза крупного рогатого скота. Выявлена стадийность заболевания и вероятностная длительность отдельных стадий, особенности динамики антителонесительства к BLV. Вместе с тем существующее в ветеринарной лейкологии представление о временной структуре инфекционного (BLV), в том числе лейкозного, процесса носит достаточно общий, а порой и противоречивый характер. В длительных (до 3 лет) хроногематологических наблюдениях нами выявлена волнообразная, но в общем виде аритмическая динамика гематологических показателей больных лейкозом животных, определенная как цикличность процесса. Каждый цикл включает фазы ремиссии и обострения (временного снижения и повышения лейкоцитоза) той или иной степени выраженности. При переходе лейкозного процесса в опухолевую стадию цикличность изменений гематологических показателей становилась более выраженной, амплитуда колебаний значительно увеличилась. Опухолевая прогрессия лейкоза сопровождалась развитием клинических признаков – увеличением лимфатических узлов, нередко экзофтальмией, прогрессирующим исхуданием. Особенности клинического проявления и скоротечности таких состояний позволили нам определить их как критические. Нами установлено, что длительность наиболее часто регистрируемых (модальных) циклов составляла 3, 9, 12, 15, 21, 27, 42, 69, 81, 108 и 144 суток. Циклы характеризуются плавными, относительно глубокими и длительными ремиссиями, сменяемыми резкими пиками обострений.

CHRONOBIOLOGICAL RESEARCH ON PATHOLOGY OF RUMINANTS SUFFERING FROM LEUCOSIS

P. N. Smirnov, Doctor of Veterinary Sc., Professor, Honorary Scientist of Russia

Novosibirsk State Agrarian University

Key words: chronohematological research, dynamics cycle, critical periods, morphofunctional status.

Many Russian and foreign researchers outline the ethiological effect of BLV (Bovine leukemia virus) in cattle leucosis. The article highlights the stages of diseases, possible periods of concrete stages and

¹ Использованы материалы, полученные при творческом сотрудничестве с А. Т. Левашевым.

features of antibodies' resistance to BLV. The researchers' view of temporary structure of Infection BLV is general and contradictory. The author carried out long-term chronohematological research (3 years) and found out wave-like arrhythmic dynamics of hematological indicators of the animals which suffer from leucosis. Each cycle includes remission stage and exacerbation of different degree. When leucosis results in tumor stage, the dynamics of hematological indicators was more intensified and oscillatory amplitude was higher. Leucosis tumor progression was observed together with development of clinic indicators like lymphadenopathy, exophthalm and rapid losing weight. We define the features of clinical implications and impermanence of this condition as clinical ones. The paper finds out that duration of more often registered cycles was 3,9,12,15,21,27,42,69,81, 108 and 144 days. The cycles are characterized by flexible, deep and long remissions changed by critical periods.

Энзоотический лейкоз до настоящего времени остается одной из наиболее актуальных проблем ветеринарной медицины. Усилиями отечественных и зарубежных исследователей достигнут значительный успех в изучении этой опасной болезни. Этиологический агент (вирус лейкоза крупного рогатого скота) выделен и идентифицирован как ретровирус экзогенного происхождения [1–4]. Изучены физико-химические свойства BLV, его биохимический состав, инфекционность для крупного рогатого скота и для других видов животных, особенности патогенеза гемобластозов жвачных в спонтанном и экспериментальном вариантах [5–14].

В последние 10–15 лет проводится изучение генотипического разнообразия BLV провируса по env и gag генам. Выявлены различия в степени агрессивности BLV в зависимости от генотипической принадлежности.

Кроме того, выявлена стадийность заболевания и вероятностная длительность отдельных стадий, особенности динамики антителоносительства к BLV [15], изучены гематологические и биохимические показатели у инфицированных и больных лейкозом животных. Отмечена волнообразность лейкозогенеза, наличие спонтанных ремиссий и обострений в ходе заболевания.

Вместе с тем существующее в ветеринарной лейкозологии представление о временной структуре инфекционного (BLV), в том числе лейкозного, процесса носит достаточно общий, а порой и противоречивый характер.

В настоящее время в связи с получением новых знаний о генотипическом разнообразии BLV и данных о разной степени агрессивности отдельных генотипических форм вируса внимание исследователей уделяется все более глубокому изучению патогенеза с хронобиологических позиций, т.е. с учетом цикличности и ритмичности процессов в живом организме.

Хронобиологический подход предусматривает исследование временных характеристик явлений, ведущее к наиболее объективному описанию биологических процессов.

Существенным моментом понимания механизмов развития патологического процесса как целого являются не сами по себе отдельные элементы хроноструктуры заболевания (ритмы, циклы), а их динамическое взаимодействие.

В ветеринарной онкологии хронобиологический подход к изучаемым патологическим процессам еще не нашел применения. Исследователи, изучающие динамику болезни у животных, пока в малой степени ориентированы на выявление цикличности в патогенезе и изменений нормальных физиологических ритмов в развитии инфекционного процесса.

Цели исследования: используя хронобиологический подход, дать объективную сравнительную патогенетическую характеристику развития инфекции BLV и лимфолейкоза у жвачных по динамике клинко-гематологических и некоторых других показателей; выявить возможные закономерности временной организации лейкозного патологического процесса.

В конечном счете предусматривалось дать интерпретацию полученным хронобиологическим данным с позиций теории функциональных систем и многоуровневости гомеостатических механизмов. На основе полученных эмпирических данных и новых теоретических под-

ходов разработать графические модели развития персистентного лимфоцитоза и опухолевой прогрессии при лимфолейкозе крупного рогатого скота.

Объектом исследований служили жвачные животные – коровы черно-пестрой породы, содержавшиеся в условиях стационара экспериментальной базы ИЭВСиДВ. В их числе были животные с бессимптомной инфекцией BLV, больные (разными формами и в разных стадиях) и интактные (чистый контроль). Причем большинство животных было инфицировано спонтанно, а отдельные – подвергались экспериментальному заражению.

Всего в разные периоды времени под наблюдением находилось 53 головы крупного рогатого скота.

Наблюдения за животными проводили ежедневно – в 9:00 часов (в некоторые периоды – через каждые 2–4 ч). При этом осуществляли клинический осмотр и производили забор проб крови из яремной вены для исследования.

Максимальный срок ежедневных наблюдений за тем или иным животным составил 3 года, а наблюдений с периодичностью 2–4 часа – 1 месяц.

Для качественного и количественного определения форменных элементов в периферической крови использовали общепринятые в гематологии методики в некоторой нашей модификации. Так, дифференцированный подсчет клеток проводили в камере Горяева с использованием фазово-контрастного микроскопирования. Каждую пробу подсчитывали в 200–400 больших квадратах.

В случаях падежа или убоя животных проводили комиссионное патологоанатомическое вскрытие с обязательным протоколированием. Гистологическое исследование биоматериала проведено В.В. Смирновой.

Аналізу подвергали как необработанные временные (динамические) ряды показателей, так и сглаженные взвешенной скользящей средней, вычисляемой по 5–11 точкам. При этом обращали внимание на возможную цикличность хронограмм, наличие как ритмических, так и аритмических составляющих, на форму траекторий, а также взаимное соотношение тенденций изменений различных одновременно измеряемых показателей.

Математическая обработка материалов по разработанной программе проведена в СибФТИ совместно с А.Ф. Рябцевым.

Результаты хроногематологического исследования показали, что нормальная регуляция количественного состава клеток периферической крови у крупного рогатого скота подчиняется циркадианной ритмике: некоторое повышение содержания лейкоцитов в дневные часы и снижение ночью. Период колебаний очень точно и стабильно соответствовал 24 часам. В этом отношении животные в стадии бессимптомного вирусоносительства ничем принципиально не отличались от неинфицированных (рис. 1).

Исследуя животных с разной частотой (ежедневно или через каждые 2–4 ч), мы выявили колебательные процессы нескольких порядков (до 5-ти), которые накладывались один на другой и образовывали результирующую кинетическую кривую.

Методом спектрального разложения динамических рядов персистентного лимфоцитоза на отдельных временных участках выявлены ритмы с периодами 35–40, а также 100 дней.

Волнообразная, но в общем виде аритмическая динамика гематологических показателей больных лейкозом животных определена нами как цикличность процесса. Каждый цикл включает фазы ремиссии и обострения (временного снижения и повышения лейкоцитоза) той или иной степени выраженности.

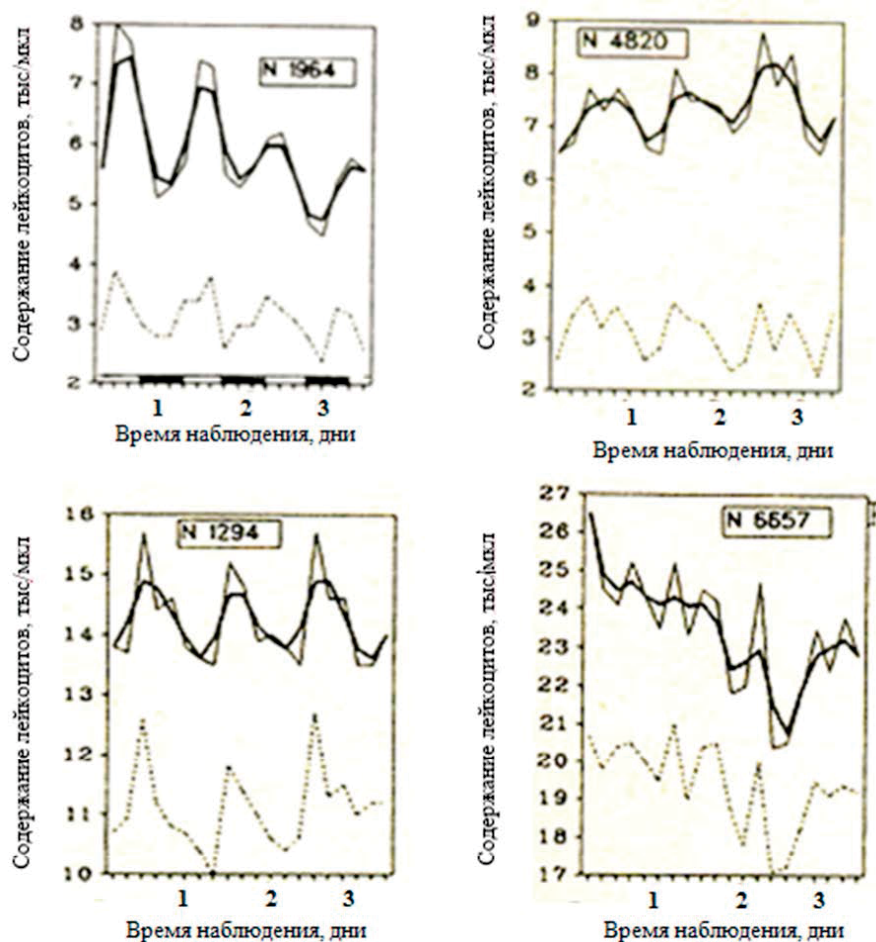


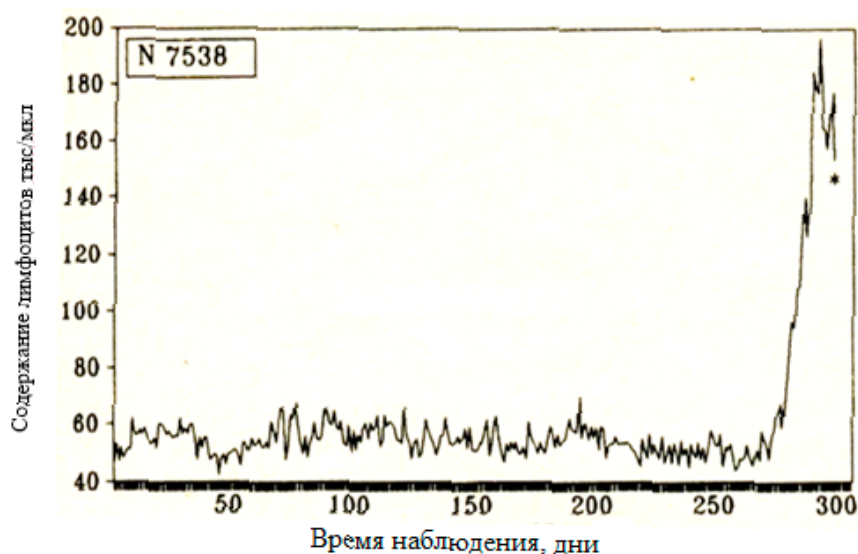
Рис. 1. Суточная ритмика содержания в крови лейкоцитов и лимфоцитов у неинфицированной коровы (№ 1964), с бессимптомным вирусоносительством (№ 4820), при переходе к персистентному лимфоцитозу (№ 1294) и отсутствие ритмики при хроническом лимфолейкозе (№ 6657); лейкоциты сглажены взвешенной скользящей средней

При переходе лейкозного процесса в опухолевую стадию цикличность изменений гематологических показателей становилась более выраженной, амплитуда колебаний значительно увеличивалась.

Опухолевая прогрессия лейкоза сопровождалась развитием его клинических признаков – увеличением лимфатических узлов, нередко экзофтальмией, прогрессирующим исхуданием. Кроме того, имел место периодически развивающийся синдром ухудшения общего состояния животного, включающий угнетение, ухудшение аппетита, снижение двигательной активности, учащение дыхания, жвачку без пищевого кома и интенсивные глотательные движения, понижение температуры тела на 1,5–2,0 °С. По мере прогрессии процесса такие состояния случались все чаще и носили все более выраженный характер. Такой симптомокомплекс развивался и исчезал (в случае благоприятного исхода) очень быстро. В тяжелых случаях больное животное в течение считанных часов впадало в коматозное, а затем (непосредственно перед смертью) – в агональное состояние.

Особенности клинического проявления и скоротечности описанных состояний позволили нам определить их как критические.

При наложении «критических дней» на хроногемограмму было показано, что они, как правило, совпадали с фазой снижения лимфоцитоза, скорее после прохождения им определенного максимума (рис. 2), и сопровождалась кратковременными, но выраженными пиками содержания в крови нейтрофилов.



* – критическая точка

Рис. 2. Хронолимфограмма персистентного лимфопоза и опухолевой прогрессии лейкоза у коровы хронологическим лимфолейкозом

Исходя из клинико-гематологической характеристики больных животных в кризисных состояниях и временной приуроченности последних, можно констатировать, что критические точки знаменуют переход патологического процесса из одного цикла в другой. Более или менее острое (по клиническому проявлению) течение болезни может периодически приобретать не только в опухолевой стадии, но и при персистентном лимфоцитозе, хотя и значительно реже (рис. 3). При этом клиническая картина кризиса включает весь симптомокомплекс, характерный для терминальных кризисов.

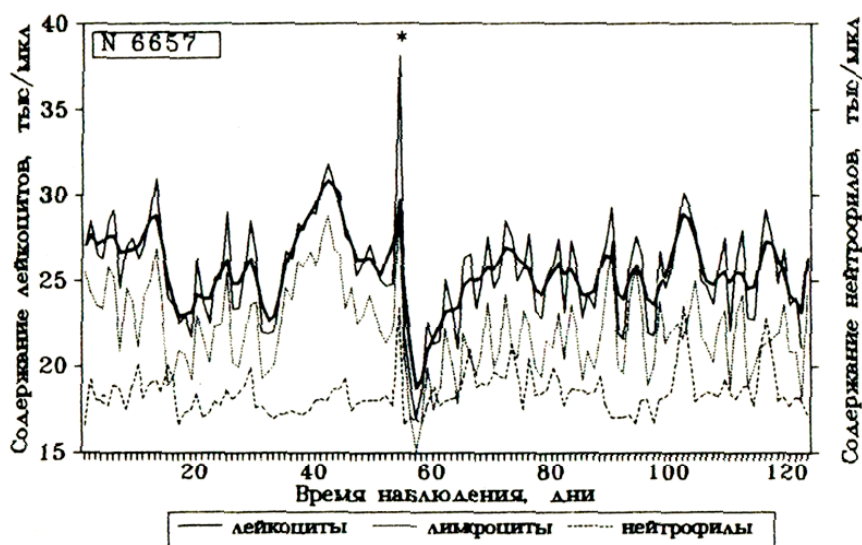


Рис. 3. Хроногемограммы коровы, больной хроническим лимфолейкозом в период смены циклов (кризиса): лейкоциты сглажены взвешенной скользящей средней

Нами установлено, что длительность наиболее часто регистрируемых (модальных) циклов составляла 3, 9, 12, 15, 21, 27, 42, 69, 81, 108 и 144 суток.

Хронобиологические исследования позволили нам выявить особенности течения патологического процесса в конечной стадии при системном и опухолевом лейкозе. Так, при терминальном обострении хронического лимфоидного лейкоза резко выражены относитель-

но простые по форме клинико-гематологические циклы с амплитудой колебания показателей содержания лимфоидных клеток до сотен тысяч в 1 мкл крови. Циклы характеризуются плавными, относительно глубокими и длительными ремиссиями, сменяемыми резкими пиками обострений. В определенные фазы терминальной стадии лимфоидного лейкоза скорость изменения концентрации лимфоидных клеток в кровяном русле была очень высока (до 80 тыс/мкл за 1 сутки).

При опухолевой форме лейкоза (лимфосаркомы различных вариантов, плазмцитомы, лимфома) средний уровень лимфоцитоза, как правило, не превышал 50 тыс/мкл. Траектории показателей были более сложными, чем при системном лейкозе, ремиссии кратковременные, неглубокие, сглаженные. Для последнего месяца жизни животного были характерны резкие кратковременные, с увеличивающейся амплитудой колебания лимфоцитоза («раскачка» амплитуды). Тяжесть клинического проявления патологического процесса не зависела от абсолютного количества лимфоидных клеток в периферической крови.

В результате хронобиологического анализа эмпирических данных о динамике лейкозного процесса с позиций теории функциональных систем можно полагать, что в основе патогенеза вирусиндуцированного лимфолейкоза крупного рогатого скота лежат существенные моменты механизма осуществления в больном организме тканевого и клеточного лимфоидного гомеостаза.

У предрасположенных к заболеванию животных нарушение постоянства внутренней среды организма и изменение морфофункционального статуса лимфоцитов, вследствие ретровирусной инфекции, афферентно воспринимается центральными звеньями гомеостатической функциональной системы (гипоталамическими структурами) как дефицит функции пула лимфоидных клеток. При этом исполнительным механизмам (вегетативным, нервным и гуморальным) задается стимул для приведения лимфоидных клеточных популяций в количественное соответствие оптимальному метаболизму ткани.

В результате вся система гомеостаза постепенно (позапно) переводится на новый уровень с соответствующим новым условиям уровнем содержания в крови лимфоцитов. По мере достижения «положительного» для организма результата, т.е. повышения содержания в крови лимфоцитов, данный показатель относительно стабилизируется (персистентный лимфоцитоз); при дальнейших изменениях внутренних условий возможен аналогичный переход лимфоцитоза на другие, более высокие уровни или возврат на более низкие (ремиссии) – в зависимости от того, увеличивается или спонтанно уменьшается сила дисбаланса в лимфоидной системе. В терминальной стадии лейкоза степень морфофункциональных изменений у клеток опухолевого клона настолько значительна (включая автономность их пролиферативных свойств от регуляторных сил организма), что стабилизация лимфоцитоза на каком-либо уровне невозможна, процесс постоянно прогрессирует и в относительно короткий срок завершается смертью животного. Критичность состояния больного животного обуславливается гиперреактивностью регуляторных механизмов на популяцию лейкозных клеток при переводе («попытке» перевода) системы крови на уровень здоровья.

Четкая временная структура гомеокинеза (перехода системы гомеостаза на другой уровень) в виде циклического алгоритма задается (детерминируется) центральным звеном функциональной системы, а пространственная (по количественному клеточному составу лимфоидной клетки) – определяется исполнительными регулирующими механизмами, исходя из силы компенсируемого дисбаланса в системе крови.

Из проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Использование хронобиологического подхода к изучению патогенеза лейкоза крупного рогатого скота позволяет получать наиболее объективную информацию о динамике процесса и открывает перспективу прогнозирования хода заболевания.

2. Болезнь протекает циклически; каждый цикл по клинико-гематологической характеристике включает в себя фазы ремиссии и обострения различной выраженности. Длительность наиболее часто регистрируемых (модальных) циклов составляет 3, 9, 12, 15, 21, 27, 42, 69, 81, 108 и 144 суток. Последовательность циклов в общем виде имеет аритмический характер. Наряду с этим выявлена ритмичность изменений гематологических показателей с периодами 35–40 и 100 дней. У больных животных с сублейкемической и лейкемической картиной крови циркадная ритмика показателей клеточного состава отсутствует.

3. Каждый цикл развития заболевания завершается критическим состоянием больного организма различной степени проявления, оцениваемого клинически; на хронограммах показателей животного это выражается наличием критического периода (времени постепенного, волнообразного нарастания противоречия в системе «организм – опухоль») и критической точки (момента собственно кризиса), завершающей цикл.

4. Клинически выраженные критические состояния могут периодически развиваться как в терминальной стадии, так и (реже) при доброкачественном течении заболевания (персистентном лимфоцитозе). Степень клинического проявления кризиса прямо зависит от длительности (порядка) завершающегося цикла. Симптомокомплекс кризисного состояния развивается и исчезает в течение нескольких часов и включает в себя угнетение, учащение дыхания, жвачку без пищевого кома и интенсивные глотательные движения. При тяжелых, не совместимых с жизнью кризисах, отмечаются судороги, истечения из естественных отверстий, кома и агональное состояние, завершающееся смертью от остановки сердца.

5. Выявлены особенности клинико-гематологических изменений в терминальной стадии при разных формах лейкоза: при системном лимфолейкозе довольно глубокая ремиссия или персистентный лимфоцитоз переходят в резкое и значительное, но индивидуальное для каждого животного, терминальное обострение (бластный криз); животное, как правило, до самой смерти остается относительно упитанным и физиологически активным; при опухолевой форме лейкоза терминальные ремиссии кратковременны, неглубоки, сглажены; за 1–2 месяца до смерти начинается прогрессирующее исхудание, локальное выпадение шерстного покрова; последние 1–2 недели животное не встает. Тип терминальной стадии не зависит от характера и степени увеличения лимфатических узлов и уровня лимфоцитоза.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Miller J.M., Van der Maaten M.J. Infectivity tests of secretions and excretions from cattle infected with bovine leukemia virus // J. Nat. Cancer. Inst. – 1979. – Vol. 62, N 2. – P. 425–428.

2. Валихов А. Ф. Морфология, антигенные свойства вируса и серологическая диагностика онкорнавирусной инфекции крупного рогатого скота: автореф. дисс. ... канд. вет. наук. – М., 1978. – 15 с.

3. Исследование наличия вирусспецифических последовательностей BLV и ДНК лейкоцитов крупного рогатого скота со спонтанным и экспериментально индуцированным хроническим лимфолейкозом / Р.А. Кукайн, Л.И. Нагаева, А.Т. Дьяченко [и др.] // Вирусы рака и лейкоза. – М., 1987. – С. 64–65.

4. Bovine leukemia virus: An exogenous RNA oncogenic virus / R. Kettmann, D. Portetelle, M. Mammerickx [et al.] // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1976. – Vol. 73, N 4. – P. 1014–1018.

5. Бурба Л. Г. Основные результаты научных исследований по проблеме лейкозов сельскохозяйственных животных и птиц, проводимых странами-членами СЭВ // Бюл. Всесоюз. ин-та эксп. ветеринарии. – М., 1977. – Вып. 30. – С. 4–12.

6. О генетической предрасположенности к лейкозу, внутриутробной и «горизонтальной» передачи его у крупного рогатого скота / В.А. Бусол, Н.Н. Доронин, Н.С. Мандыга [и др.] //

Вирусологические аспекты изучения этиологии лейкоза крупного рогатого скота: тез. докл. Всесоюзн. конф. – Рига. – 1983. – С. 32–33.

7. *Авторадиографические* исследования при лимфолейкозе крупного рогатого скота / М.И. Гулюкин, Т.П. Кудрявцева, В.А. Горбатов [и др.] // Ветеринария. – 1983. – № 2. – С. 29–32.

8. *Крикун В.А., Рожнова Н.В.* Оценка функциональной активности иммунокомпетентных клеток у инфицированных ретровирусом и больного лейкозом крупного рогатого скота с помощью реакции ингибиции прилипания лейкоцитов // Роль иммунной системы в патогенезе лимфопролиферативных заболеваний: тез. докл. Всесоюзн. конф. – Новосибирск, 1984. – С. 141–142.

9. *Лемеш В.М., Лучко В.П.* Влияние некоторых экзогенных и эндогенных факторов на заболеваемость крупного рогатого скота лейкозом // Труды Белорусского НИИЭВ. – 1979. – № 17. – С. 23–25.

10. *Смирнов П.Н.* Патогенез гемобластозов крупного рогатого скота: иммунологические аспекты: автореф. дисс. ... д-ра наук. – Казань, 1987. – 35 с.

11. *Тамошиюнас В.И.* Иммунобиологическая характеристика Т- и В- лимфоцитов крупного рогатого скота: автореф. дис. ... докт. биол. наук. – М., 1985. – 33 с.

12. *Симонян Г.А., Колчин П.Д.* Метод иммунодиагностики в системе мероприятий по борьбе с лейкозами крупного рогатого скота // Иммунология и иммунотерапия лейкозов человека и животных: тез. докл. Всесоюзн. конф. Самарканд, 9–11 октября, 1984. – Ташкент. – 1984. – С. 163–164.

13. *Horizontal* transmission studies on enzootic bovine leukosis / Straub O.C. [et. al.] // Ann. Rech. Vet. – 1987. – Vol. 9. – P. 809–813.

14. *Van Der Maaten M.J., Miller J.M.* Replicating type-C virus particles in monolayer cell cultures of tissues from cattle with lymphosarcoma // J. Nat. CancerInst. – 1974. – Vol. 52, N 26. – P. 491–497.

15. *Смирнов П.Н.* Болезнь века: Лейкоз крупного рогатого скота. – Новосибирск, 2007. – 302 с.