

АНТИГЕННАЯ ПЕРЕСТРОЙКА В ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ ПРИ ЛЕЙКОЗЕ И ДРУГИХ ПАТОЛОГИЯХ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

¹П.Н. Смирнов, доктор ветеринарных наук, профессор

²Т.А. Агаркова, кандидат ветеринарных наук, доцент

³В.В. Разумовская, доктор ветеринарных наук

¹Новосибирский государственный аграрный университет

²Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий СО РАН

³Алтайский государственный аграрный университет

Ключевые слова: реакция анафилактики, антигенная перестройка, десенсибилизация, антигенные осложнения, туберкулез, лейкоз, бруцеллез.

Реферат. С помощью реакции анафилактики с десенсибилизацией на морских свинках была изучена антигенная структура лимфоидных органов при лейкозе и других патологиях крупного рогатого скота. Считается, что неоплазия является результатом искажения программы активности генов вследствие внедрения в геном клетки онкогенного вируса, интеграции с другими биологическими объектами или мутации гена. Всё это приводит к возникновению, прежде всего, аномалий количественного характера, выражающихся в непрерывном, неконтролируемом клеточном делении, миграции клеток и изменении их биохимической активности. По всей вероятности, сущность описанных в статье выявленных различий заключается в том, что в биологических жидкостях больных лейкозом коров присутствуют, кроме антигенов BLV, водорастворимые лейкозоассоциированные антигены.

LYMPHOID ORGANS IN LEUKEMIA AND OTHER PATHOLOGIES IN CATTLE

¹P.N. Smirnov, Doctor of Veterinary Sciences, Professor

²T.A. Agarkova, Ph.D. in Veterinary Sciences, Associate Professor

³V.V. Razumovskaya, Doctor of Veterinary Sciences

¹Novosibirsk State Agrarian University

²Siberian Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies SB RAS

³Altai State Agrarian University

Keywords: anaphylaxis reaction, antigenic restructuring, desensitization, antigenic complications, tuberculosis, leukemia, brucellosis.

Abstract. Using the reaction of anaphylaxis with desensitization on guinea pigs, the antigenic structure of lymphoid organs in leukemia and other pathologies of cattle was studied. It is believed that neoplasia is the result of a distortion of the gene activity program due to the introduction of an oncogenic virus into the cell genome, integration with other biological objects, or gene mutation. All this leads to the emergence, first of all, of quantitative anomalies, expressed in continuous, uncontrolled cell division, cell migration and changes in their biochemical activity. In all likelihood, the essence of the identified differences described in the article is that in the biological fluids of cows with leukemia there are, in addition to BLV antigens, water-soluble leukemia-associated antigens.

Располагая высокочувствительным иммунологическим тестом – реакцией анафилактики с десенсибилизацией на морских свинках (РАСД), предложенной Л.А. Зильбером [1] для исследования антигенной структуры опухолевых тканей, мы тем самым получили широкую возможность установления и оценки фенотипических различий между опухолевыми и нормальными тканями крупного рогатого скота.

Суть метода состоит в том, что на сенсibiliзирующий антигенный комплекс биологической жидкости или тканевого препарата крупного рогатого скота морские свинки вырабаты-

вают специфические антитела. Через 24-28 дней после сенсibilизации проводится полная десенсibilизация (дробными дозами) к антигенному комплексу сопоставляемого антигенного препарата. При этом происходит нейтрализация антител, специфичных к сенсibilизирующему антигенному комплексу. И только после этого производится разрешающее введение антигенного препарата, которым морских свинок сенсibilизировали. При этом животные могут проявлять анафилактический шок или оставаться интактными. Наличие шока указывает на то, что десенсibilизирующий антигенный комплекс ткани или биологической жидкости качественно и количественно отличен от сенсibilизирующего. Схематично это можно представить следующим образом: если допустить, что антигенный комплекс селезенки состоит из антигенных детерминант (условно) АВСДЕЖ, а костного мозга – АВСДО, то при десенсibilизации комплексом АВСДО группа специфических детерминант АВСД костного мозга нейтрализует специфические антитела, выработанные морскими свинками на гомологические детерминанты АВСД селезенки. Однако антитела к комплексу ЕЖ выявятся только при разрешающем введении морским свинкам соответствующих им антигенов ЕЖ, каковые содержатся в селезенке или же могут быть и в другом каком-то органе в качестве гетероорганов антигенов. Животные при этом реагируют анафилактическим шоком определенной силы, степень которой прямо пропорциональна величине антигенных различий сравниваемых веществ [2, 3].

Предметом наших исследований изначально служили биологические жидкости: сыворотка, плазма крови, молоко, в последующем – ткань паренхиматозных органов крупного рогатого скота и эмбрионов.

Результаты трёх опытов позволили выявить антигенные различия сывороток крови, плазмы крови и сыворотки молока больных лейкозом коров в сравнении с аналогичными антигенными препаратами здоровых животных.

Следует заметить, что сыворотки крови больных туберкулезом и бруцеллезом коров, использовавшиеся в качестве контроля, тоже были отличны в антигенном отношении от сывороток здоровых животных, однако различия эти были выражены значительно слабее, чем между лейкозными и здоровыми. При изучении биологических жидкостей коров с другими патологическими процессами (различной природы) антигенных различий (с нормой) не выявлено.

По чувствительности к плазменным и сывороточным антигенам степень реакции у морских свинок существенно не различалась.

По всей вероятности, сущность выявленных различий лейкозных тканей заключается в том, что в биологических жидкостях больных лейкозом коров присутствуют, кроме антигенов BLV, водорастворимые лейкозоассоциированные антигены. Различия антигенов тканей при бруцеллезе и туберкулезе, по-видимому, также заключаются в наличии специфических антигенов, ассоциированных с этими инфекциями. Однако эта часть не представляла для нас прямого интереса.

Функциональное значение антигенов, появляющихся в биологических жидкостях при лейкозах, еще недостаточно раскрыто, тем не менее трудно переоценить значение анализа исследования антигенов, ответственных за противоопухолевый иммунитет [4–6]. Методом иммунофлюоресценции нами обнаружены перекрестно реагирующие антигены в эмбриональных; опухолевых и инфицированных вирусами, но нетрансформированных клетках. Что касается BLV-инфекции, то выше уже было упомянуто, что активной экспрессии вируса в лимфоцитах периферической крови, по-видимому, не происходит. Однако, как предполагается, BLV-антигены экспрессируются все-таки *in vivo* время от времени. Это, возможно, есть результат циклических флуктуаций в уровне блокирующего плазменного фактора.

Важно при этом отметить еще одно возможное обстоятельство. Выход BLV -антигенов в периферическую кровь возможен и при естественном распаде лимфоидных клеток, их элиминации при некротических процессах в лимфоидных органах.

Следовательно, возможность установления антигенных различий вирусной природы в биологических жидкостях при лейкозе вполне обоснована.

Изучая биологические жидкости коров, инфицированных BLV, а также коров с лейкозным процессом, мы отметили, что при лейкозе происходит более активное накопление BLV-антигенов, чем при других процессах (не лейкозной природы), протекающих в ассоциации с BLV -инфекцией.

Одновременно с этим было установлено, что антигенный спектр лейкоцитов больных лейкозом коров, особенно в клинической стадии, шире, чем у здоровых. Причем, в лейкоцитах выявлялся антиген, идентичный антигену BLV (что указывало на экспрессию экзогенного BLV в клетках). Данный опыт проведен совместно с кандидатом биологических наук В.Н. Донченко (ИЭВСиДВ).

Выявление в лейкоцитах больных лейкозом коров антигена, отсутствующего в лейкоцитах здоровых коров, и неидентичного антигенам BLV, указывало на появление какого-то лейкозоассоциированного антигена. Последнее отражает феномен «антигенного усложнения» и согласуется с данными ряда исследователей [7].

В серии специальных опытов, по разработанной нами схеме, мы провели глубокие исследования антигенов тканей лимфоидных органов коров при различных формах гемобластозов (изучалась природа антигенных отличий). В перекрестных опытах было установлено, что ткань селезенки и лимфатических узлов здоровых коров содержит как органоспецифические, так и гетероорганные антигены, т.е., к примеру, в селезенке кроме органоспецифических (селезеночных) антигенов содержатся антигены, преимущественный синтез которых характерен для других органов: печени, почек, сердца, легких и др. Было, кроме того, отмечено, что ткани селезенки, лимфатических узлов и костного мозга имеют незначительное антигенное различие, что объясняется, по-видимому, принадлежностью этих органов к одной функциональной группе – органам кроветворения.

Сравнительное сопоставление антигенного состава одноименных органов разных коров, подобранных по изоантигенной идентичности, показало их сходство, а при сопоставлении гетерологичных органов – их различие.

Одновременно было установлено, что в селезенке и в лимфатических узлах взрослых животных содержатся в определенных количествах эмбриональные антигены. При этом было также показано, что в тканях эмбрионов крупного рогатого скота по мере их роста и развития появляются стадиоспецифические антигены.

Итак, экспериментальные исследования, проведенные нами в плане изучения антигенной структуры тканей лимфоидных органов (селезенки и лимфатических узлов) крупного рогатого скота при различных формах гемобластозов, не оставили сомнений в том, что в процессе развития лейкозной патологии (малигнизации) в клетках происходят сложные количественные и качественные изменения, которые, по всей вероятности, наступают до появления морфологических изменений. Было установлено, что при хроническом лимфолейкозе антигенные различия в селезенке, в сравнении с гомологичным органом здорового животного, заключаются в увеличении относительного содержания как органоспецифических, так и гетероорганных антигенов, преимущественный синтез которых характерен в норме для лимфатических узлов, костного мозга, печени, легких и, кроме того, селезенки эмбриона.

Следует заметить, что РАсД на морских свинках – реакция не только качественная, но и количественная. Это было продемонстрировано при постановке ее по отработанной нами последовательности (схеме). Последовательным истощением (нейтрализацией) антител *in vivo* антигенами различных органов одного и того же здорового животного (при разрешающем введении препаратов морским свинкам) мы выявили природу антигенной перестройки в тканях лимфоидных органов больных лейкозом коров.

Если в норме, к примеру, в ткани селезенки синтез гетероорганических антигенов находится в какой-то мере в репрессированном состоянии, то при гемобластозах он, по-видимому, переходит в состояние депрессии, что и позволяет их выделить в процессе постановки РАСД на морских свинках. Этот феномен отмечали в своих исследованиях ряд авторов [8].

В лимфатических узлах при лимфоидном лейкозе у коров происходит также антигенная перестройка, характеризующаяся увеличением относительного содержания гетероорганических антигенов, преимущественный синтез которых в норме характерен для костного мозга, и, кроме того, лимфатических узлов эмбриона, и лишь незначительным повышением органоспецифических антигенов.

При лимфосаркоме в селезенке имело место увеличение продукции как органоспецифических, так и гетероорганических антигенов лимфатических узлов, почек, легких взрослого животного и селезенки эмбриона.

Чтобы установить определенную специфичность антигенных различий лимфоидных органов крупного рогатого скота при гемобластозах, необходимо обратиться к результатам контрольного опыта. Так, при изучении тканей коров при туберкулезе было установлено, что в изучаемых нами случаях имело место увеличение продукции органоспецифических (главным образом селезеночных) и гетероорганических антигенов, преимущественный синтез которых характерен в норме для легких и печени. При этом, однако, было замечено, что степень антигенной перестройки в лимфоидных органах находилась в зависимости от характера туберкулезного процесса. При генерализованном процессе антигенные различия с нормой проявлялись более ярко, чем у животного, реагирующего на туберкулин (диагноз на туберкулез подтвержден гистологически). Одновременно с этим обращало на себя внимание и то, что если при гемобластозах в селезенке и лимфатических узлах происходила интенсификация продукции гетероорганических антигенов костного мозга, то при туберкулезе – антигенов ткани легких и печени. Степень изменений соотношения органоспецифических и гетероорганических антигенов селезенки и лимфатических узлов была наиболее выражена при различных формах гемобластозов и менее – при туберкулезе.

Итак, определенная мозаичность выявленных антигенных изменений в лимфоидных органах крупного рогатого скота при гемобластозах, по-видимому, может быть объяснена, с учетом степени дифференцировки клеток и патоморфологической характеристики различных форм заболеваний, различной степенью антигенной активности лейкозно-измененной ткани. Последняя, вероятно, зависит от степени инфильтрации ткани (органа) лимфоидными элементами или недифференцированными клетками, что также находит подтверждение в работе ряда исследователей. Изучая антигенную структуру опухолевой ткани при гепатоме крыс, В.Я. Фель и соавт. [8] отмечали, что анаплазия, или стройная дифференцировка, проявляющаяся морфологическим изменением размера клеток, величины отдельных органоидов, содержания ДНК, числа и форм хромосом, сопровождается, в свою очередь, тканевым атипизмом и утерей тех ферментов, которые принимают участие в образовании специфических продуктов жизнедеятельности клеток.

В характере отдельных гематологических, патоморфологических и биохимических изменений имеются свои особенности, связанные не только с формой гемобластозов, но и со стадией патологического процесса.

Тканевый атипизм при опухолевых гемобластозах отмечали многие авторы [9–11], наблюдавшие злокачественный клеточный полиморфизм в кроветворных органах, пораженных опухолевыми разрастаниями. Данное явление охарактеризовано рядом исследователей как проявление клонального отбора отдельных клеток с более выраженными пролиферативными свойствами. Вероятнее всего, этому явлению можно придать некий относительный универсализм в медицинской и ветеринарной онкологии.

Не исключено, таким образом, что различия в синтезе белка, явившиеся причиной анаплазии, выявленные нами с помощью иммунологической реакции (РАсД), представляют собой не что иное как нарушение нормальной продукции тканевых антигенов.

Сравнительные исследования антигенной структуры лимфоидных органов крупного рогатого скота при лимфоидном лейкозе и лимфосаркоме выявили определенную аналогию в характере их различий с нормальными тканями. Отдельные исследователи, отмечая подобное явление, считают, что происходящая в процессе малигнизации антигенная перестройка клеток может иметь некоторое сходство не только в опухолях одного и того же гистогенеза, но, как показали опыты с гетероорганными антигенами, и в опухолях различного гистогенеза. Все сказанное свидетельствует о том, что синтез гетероорганных антигенов не является привилегией, приобретенной опухолевыми клетками в процессе малигнизации. Гетероорганные антигены могут быть обнаружены в клетках тканей – нормальных аналогов опухолей. Однако, по данным ряда исследователей, в опухолевых клетках синтез гетероорганных антигенов интенсифицируется, приближаясь иногда к уровню тканей, для которых синтез этих антигенов является наиболее характерным. Разница в содержании гетероорганных антигенов в нормальной и малигнизированной ткани носит не качественный, а количественный характер. Количественный характер феномена свидетельствует, по-видимому, о его эпигеномной природе [12].

Таким образом, количественные изменения синтеза гетероорганных антигенов в тканях кроветворных органов при гемобластозах крупного рогатого скота, выявленные нами в проведенных исследованиях, являются, по-видимому, следствием дерепрессии генов, репрессивное состояние которых определяет относительно низкое содержание гетероорганных антигенов в клетках тканей взрослого животного и в конечном счете степень их дифференцировки. Это согласуется с данными ряда исследователей.

К снижению синтеза нормальных клеточных антигенов, по-видимому, ведет репрессия активности тех генов, дерепрессивное состояние которых в обычных условиях определяет уровень дифференцировки дефинитивных тканей и, наоборот, дерепрессия активных центров, находящихся в норме в репрессированном состоянии, ведет к увеличению синтеза нормальных клеточных антигенов. Итак, злокачественно измененная ткань, по аналогии с тканью развивающегося эмбриона, экспрессирует дифференцировочные антигены, являющиеся иммунологически чужеродными для иммунной системы хозяина.

Считается, что неоплазия является результатом искажения программы активности генов вследствие внедрения в геном клетки онкогенного вируса, интеграции с другими биологическими объектами или мутаций гена. Все это приводит к возникновению, прежде всего, аномалий количественного характера, выражающихся в непрерывном, неконтролируемом клеточном делении, миграции клеток и изменении их биохимической активности.

Следует заметить, что одним из важнейших достижений современной иммунологии является установление принципа генетического контроля иммунного ответа, который означает, что высота иммунного ответа, развиваемого индивидуумом, генетически детерминирована. Однако высокий уровень ответа к одному конкретному антигену не означает, что исследуемый индивидуум характеризуется высокой иммунологической реактивностью вообще, т.е. таким образом реагирует и на все другие антигены. Из этого следует, что устойчивость к какому-либо заболеванию автоматически сопровождается устойчивостью к другим заболеваниям. Поэтому с позиций изучения патогенетических особенностей гемобластозов крупного рогатого скота чрезвычайно важным представлялось изучение закономерностей взаимоотношений между опухолью и организмом. Изучая этот процесс, мы помнили о том, что обязательным, хотя и не единственным этиологическим фактором, вызывающим лейкоз крупного рогатого скота, является BLV. В последние несколько лет получены ценнейшие сведения о биологии этого вируса. Установлено, что он является экзогенным, вызывает у крупного рогатого скота В-клеточный лейкоз. Провирус интегрирован в опухолевых клетках, в которых он не экспрессируется.

Статья посвящается памяти В.В. Смирновой, внесшей неоценимый вклад в изучение рассматриваемой проблемы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Зильбер Л.А. Основы иммунитета. – М.: Медгиз, 1948. – 494 с.
2. Зильбер Л.А., Абелев Г.И. Вирусология и иммунология рака. – М.: Медгиз, 1962. – 457 с.
3. Парнес В.А. Иммунология лейкоза. – М.: Медгиз, 1960. – 242 с.
4. Вардосанидзе Э.Ш., Мenedрия В.В. Влияние эмбриональных антигенов типа 12 // Материалы советско-болгарского симпозиума по иммунологии опухолей. – М., 1973. – С. 8–9.
5. Затула Д.Г. Сходство антигенов у микроорганизмов и клеток злокачественных опухолей. – Киев: Наукова думка, 1982. – 247 с.
6. Смирнова В.В., Кудрявцева Т.П. Патоморфологические изменения при лимфосаркоме крупного рогатого скота // Науч.-техн. бюл. / ВАСХНИЛ. Сиб. отд-ние. – Новосибирск, 1983. – Вып. 37. – С. 15–19.
7. Горбатов В.А. Митотическая активность клеток периферической крови у здорового и больного лейкозом крупного рогатого скота // Бюл. ВИЭВ. – М., 1974. – Вып. 17. – С. 39–40.
8. Характеристика гетероантигенов экспериментальных опухолей крыс / В.Я. Фель, В.А. Иванов, Ю.Б. Вахтин, И.Н. Швембергер, Ю.М. Оленов // Клеточная наследственность и злокачественный рост. – Л., 1966. – С. 146–153.
9. Кудрявцева Т.П. Лейкоз животных. – М.: Россельхозиздат, 1980. – 156 с.
10. Смирнова В.В. Патоморфология, эпизоотология и вопросы иммунологии гемобластозов крупного рогатого скота в Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – М., 1984. – 24 с.
11. Смирнова В.В., Кудрявцева Т.П. Патоморфологические изменения при лимфосаркоме крупного рогатого скота // Науч.-техн. бюл. / ВАСХНИЛ. Сиб. отд-ние. – Новосибирск, 1983. – Вып. 37. – С. 15–19.
12. Лейкемоидные реакции у крупного рогатого скота: причины, характер проявления и сезонная динамика / П.Н. Смирнов, И.В. Тростянский, С.М. Чыдым, М.А. Леонова, М.А. Амироков // Инновации и продовольственная безопасность. – 2017. – № 4 (18). – С. 51–55.

REFERENCES

1. Zil'ber L.A. *Osnovy immuniteta* (Basics of immunity), Moscow: Medgiz, 1948, 494 p.
2. Zil'ber L.A., Abelev G.I. *Virusologiya i immunologiya raka* (Virology and immunology of cancer), Moscow: Medgiz, 1962, 457 p.
3. Parnes V.A. *Immunologiya lejkoza* (Immunology of leukemia), Moscow: Medgiz, 1960, 242 p.
4. Vardosanidze E.Sh., Menedriya V.V., *Materialy sovetsko-bolgarskogo simpoziuma po immunologii opuholej*, Moscow, 1973, pp. 8–9. (In Russ.)
5. Zatula D.G. *Skhodstvo antigenov u mikroorganizmov i kletok zlokachestvennyh opuholej* (Similarity of antigens in microorganisms and malignant tumor cells), Kiev: Naukova dumka, 1982, 247 p.
6. Smirnova V.V., Kudryavceva T.P., *Nauch.-tekhn. byul.*, Novosibirsk, 1983, Issue 37, pp. 15–19. (In Russ.)
7. Gorbatov V.A. *Byul. VIEV*, Moscow, 1974, Issue 17, pp. 39–40. (In Russ.)
8. Fel' V.Ya., Ivanov V.A., Vahtin Yu.B., Shvemberger I.N., Olenov Yu.M., *Kletochnaya nasledstvennost' i zlokachestvennyj rost*, Leningrad, 1966, pp. 146–153. (In Russ.)
9. Kudryavceva T.P. *Lejkoz zhivotnyh* (Leukemia of animals), Moscow: Rossel'hozizdat, 1980, 156 p.
10. Smirnova V.V. *Patomorfologiya, epizootologiya i voprosy immunologii gemoblastozov krupnogo rogatogo skota v Zapadnoj Sibiri* (Pathomorphology, epizootology and immunology of bovine hemoblastoses in Western Siberia), Extended abstract of candidate's thesis, Moscow, 1984, 24 p. (In Russ.)
11. Smirnova V.V., Kudryavceva T.P., *Nauch.-tekhn. byul.*, Novosibirsk, 1983, Issue 37, pp. 15–19. (In Russ.)
12. Smirnov P.N., Trostyanskij I.V., Chydym S.M., Leonova M.A., Amirokov M.A., *Innovacii i prodovol'stvennaya bezopasnost'*, 2017, No. 4 (18), pp. 51–55. (In Russ.)