

На правах рукописи

СЕМЕНОВА ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА

**ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ,
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
ПРИ ЛЕЙКОЗЕ НА ФОНЕ АНАПЛАЗМОЗНОЙ ИНВАЗИИ**

16.00.03 - ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология;
06.02.01 - разведение, селекция, генетика и воспроизводство
сельскохозяйственных животных

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



Новосибирск - 2004

Работа выполнена в ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН, Томском сельскохозяйственном институте - филиале Новосибирского государственного аграрного университета

- Научный руководитель: кандидат ветеринарных наук,
старший научный сотрудник
Логинов Сергей Игоревич
- Научный консультант: доктор биологических наук, профессор
Куликова Светлана Геннадьевна
- Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Храмцов Виктор Викторович,

доктор биологических наук
Ильинских Ирина Николаевна
- Ведущая организация: **Уральская государственная
сельскохозяйственная академия (г. Екатеринбург)**

Защита состоится «23» 11 2004 г. в 12 ч. на заседании диссертационного совета Д.006.045.01 в ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН по адресу: 630501, Новосибирская обл., Новосибирский р-н, п. Краснообск, СО РАСХН, ИЭВСиДВ

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНСХБ СО РАСХН

Автореферат разослан «11» 10 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



СИ. Логинов

2005-4

15499

883012

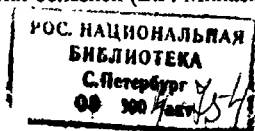
1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность проблемы. Лейкоз крупного рогатого скота - болезнь, вызываемая вирусом лейкоза (ВЛКРС), распространение которого в нашей стране среди восприимчивого скота регистрируется повсеместно (В.П. Шишков, 1977; В.М. Нахмансон, 1986; Л.Г. Бурба, А.Ф. Валихов, В.А. Горбатов и др., 1988; П.Н. Смирнов и др., 1992; Р.С. Москалик, 1992; В.В. Храмцов, 1995; Ю.Л. Смирнов, 1995; И.М. Донник, 1997; Ю.Л. Царев и др., 1997; А.Т. Татарчук и др., 1997; Н.И. Петров, 1998; М.И. Гулюкин, П.Н. Смирнов, 1999; В.В. Разумовская, 2001; В.Л. Тихонов, 2001; М.И. Гулюкин и др., 2002). При этом развитие гематологической стадии заболевания (с переходом в опухолевую) обуславливается предрасполагающими цитогенетическими и иммунологическими нарушениями, развитие которых связано, в том числе, с экзогенным воздействием на организм животных.

В настоящее время основное внимание исследователей при изучении лейкоза крупного рогатого скота сосредоточено на физических и химических факторах риска (В.В. Храмцов, В.С. Федоров, 1994; И.М. Донник, 1997; С.А. Мурватуллов, 1998; Ю.Л. Смирнов, 1999). При этом о биологических факторах приведены весьма отрывочные сведения, в частности о влиянии *M. bovis* (В.В. Смирнова, П.Н. Смирнов, 1980; С.Н. Магер, 1992; Л.М. Ерова, 1996) и вакцинного штамма *Bg. abortus* (В.В. Разумовская, 1992), о влиянии иммунодепрессии у инфицированных ВЛКРС животных на фоне вирусной диареи - болезни слизистых (D.H. Roberts et al., 1988), а также индуцированной гельминтами, на результаты серологической диагностики лейкоза (П.Н. Смирнов, В.А. Апалькин, Ф.А. Волков, 1995).

Поскольку бессимптомное носительство ВЛКРС имеет широкое распространение, и приобрело эпизоотическое значение, то нельзя исключить возможность его сочетанного течения с сопутствующими инфекционными и, в особенности, распространенными паразитарными болезнями. При этом в последнее время выдвинуты концепции о роли различных патогенных ассоциозов гельминто-протозойно-бактериальной этиологии в организме животных, представляющих собой своеобразную экосистему (А.С. Бессонов, 1999; Ю.Ф. Петров, 1999). В медицине рассматривается проблема онкогенности паразитов, которые могут являться предрасполагающим биологическим фактором в активации онкогенов и пролиферации клеток с развитием опухолей (В.Г. Бычков, Л.С. Яроцкий, 1990; Н.Н. Ильинских и др., 1990; Л.В. Калинин, 1995; И.Н. Ильинских, 2002). Причем развитие неоплазм наблюдается преимущественно в местах обитания паразитов, экониах (В.А. Парнес, 1986; С.Ю. Ильин, 1995; Е.Н. Ильинских и др., 2000).

Нас интересовал вопрос влияния анаплазмоза в энзоотичных зонах на показатели крови крупного рогатого скота (в том числе цитогенетические и иммунологические) при лейкозе, в соответствии с приведенными другими авторами примерами сочетанного течения этих болезней (В.Г. Минасян, А.Б. Му-



ромцев, И.И. Русанов, 1998; О.Е.Мальцева, 1998; U.Braun et al., 1987). В представленных работах констатированы факты подобного ассоциативного течения болезней, но патогенетические изменения на организменном уровне не выяснены, лишь отмечено более выраженное проявление анаплазмоза при данной смешанной инфекции.

Хронический анаплазмоз - кровепаразитарная болезнь, в настоящее время имеющая тенденцию к распространению на ранее благополучных территориях (В.А. Седов, В.Д. Певнева, Т.И. Сидоркина, 1998; М.Ш. Акбаев и др., 1998; Н.А. Яременко, В.Т. Заблоцкий, 1999; О.Е. Мальцева, 2002; A. Poncet et al., 1987; J. M. Anidel et al., 1997), в частности, с 1970-х годов в Сибири (С.Н. Никольский и др., 1976; Е.И. Теплова и др., 1983).

Кроме общей территориальной приуроченности, актуальность данного направления определяется тем, что выраженные изменения гематологических, цитогенетических и иммунологических показателей у животных, отмеченные при лейкозе (М.И. Гулюкин, В.А. Горбатов, 1979; Е.Е. Дун, 1982; В.Й. Тамошонас, 1987; П.Н. Смирнов и др., 1992; Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов, 1995), во многом характерны для анаплазмоза, хотя и с другим механизмом развития (Н.И. Степанова и др., 1982; Л.П. Дьяконов, И.В. Орлов, И.В. Абрамов, 1985; К.И. Абуладзе и др., 1990). Это обусловило необходимость разработки дифференциальной гематологической диагностики этих болезней (Х.С. Салимов, А. Гафуров, 1983).

Данные по исследованию современными методами иммунологических и цитогенетических показателей у крупного рогатого скота при анаплазмозе, даже в моноварианте, практически отсутствуют. Кроме того, количество работ с применением скрининговых цитогенетических методик, используемых в онкологии, при патологиях сельскохозяйственных животных весьма ограничено (В.Ю. Кравцов, 1998; С.Н. Прошин и др., 2001).

Результаты исследований в этом направлении, по-видимому, могут внести некоторые коррективы в существующие представления как о роли паразитов в изменении изучаемых показателей у крупного рогатого скота при лейкозе, так и при анаплазмозе в моноварианте.

1.2 Цель и задачи исследований. Цель исследований - оценить роль анаплазмозной инвазии в изменении гематологических, цитогенетических и иммунологических показателей у крупного рогатого скота при лейкозе.

Задачи исследований включали:

1. Стандартизировать микроядерный тест эритроцитов для исследования крупного рогатого скота и изучить частоты эритроцитов с микроядрами и индексы ядрышковых организаторов хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов крови у интактного скота черно-пестрой породы разного возраста.

2. Изучить изменение гематологических, цитогенетических и иммунологических показателей в крови крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза на фоне хронического и острого течения анаплазмоза.

1.3 Научная новизна работы. Впервые проведено комплексное исследование гематологического, цитогенетического и иммунологического статуса крупного рогатого скота черно-пестрой породы на разных стадиях лейкоза на фоне анаплазмозной инвазии.

У здоровых и инфицированных ВЛКРС животных, содержащихся на энзоотичной по анаплазмозу и лейкозу территории, в период активности клещей выявлены общие особенности гематологической картины, выражающиеся в лейкоцитозе, умеренной эозинофилии (весной), нейтрофилии (летом, у инвазированных в основном за счет палочкоядерных нейтрофилов, у свободных от анаплазм - сегментоядерных), лимфоцитозе и моноцитопении. У гематологически больных лейкозом коров перечисленные изменения наблюдались в более стертой форме при низком содержании моноцитов.

Доказана зависимость повышения частоты эритроцитов с микроядрами в крови крупного рогатого скота от стадии развития лейкозного процесса в связи с осложнением анаплазмозной инвазией (резко выражено повышение показателя при остром течении анаплазмоза).

Выявлено повышение пролиферативной активности лимфоцитов крови по индексам ядрышковых организаторов хромосом (ЯОР) в интерфазных клетках животных (в большей мере у коров с гематологической стадией лейкоза и у инфицированных ВЛКРС при остром течении анаплазмоза), содержащихся на энзоотичной по анаплазмозу и лейкозу территории, по сравнению с интактными животными благополучной территории.

Установлено, что в разгар периода активности клещей (летом) гуморальное звено иммунной системы животных свободных от ВЛКРС и на разных стадиях лейкоза на фоне анаплазмозной инвазии характеризуется активацией, выражающейся повышенной продукцией иммуноглобулинов разных классов, в особенности IgG (в зависимости от стадии развития лейкоза в связи с осложнением хроническим анаплазмозом), а при остром течении анаплазмоза - весной. Также выявлен повышенный уровень сывороточных иммунных комплексов, особенно в весенний период, увеличивающийся в зависимости от стадии развития лейкоза при незначительном превышении в группах, инвазированных анаплазмами.

На интактных животных экспериментально стандартизирован микроядерный тест эритроцитов для исследования крупного рогатого скота. Установлено повышение частоты эритроцитов с микроядрами в крови скота черно-пестрой породы с возрастом, отражающее уровень накопленных генетических повреждений.

На интактном крупном рогатом скоте черно-пестрой породы выявлено снижение индекса ядрышковых организаторов хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов крови с возрастом, свидетельствующее о снижении пролиферативной активности клеток организма в онтогенезе.

1.4 Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в настоящем исследовании данные вносят новые сведения о гематологиче-

ской картине, изменениях цитогенетических и иммунологических показателей у крупного рогатого скота при лейкозе и анаплазмозе и их сочетанном течении, и могут быть использованы в гематологической диагностике лейкоза у животных, содержащихся на энзоотичной по анаплазмозу территории.

Материалы по стандартизации микроядерного теста эритроцитов открывают перспективы для его использования в качестве скринингового при учете цитогенетической нестабильности и формировании групп повышенного риска при лейкозе крупного рогатого скота.

Результаты цитогенетических исследований крупного рогатого скота черно-пестрой породы в норме, в онтогенезе и при патологии вносят вклад в частную генетику этого вида и ветеринарную генетику.

1.5 Апробация полученных результатов. Материалы диссертации доложены и обсуждены на научно-практической конференции «Болезни сельскохозяйственных животных вирусной и других этиологии и меры борьбы с ними» (Иркутск, 2001); 1 международном ветеринарном конгрессе (Алматы, 2002); 5-й Международной научно-практической конференции «Научное обеспечение АПК Сибири, Монголии, Казахстана, Беларуси и Башкортостана» (Абакан, 2002); научно-практической конференции, посвященной 70-летию Иркутской НИВС «Актуальные проблемы ветеринарной медицины Восточной Сибири» (Иркутск, 2002); международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы болезней животных в современных условиях» (Душанбе, 2003); VII международной научно-производственной конференции «Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения» (Белгород, 2003); 2-nd International Conference «Veterinary Genetics. Selection and Ecology» (Novosibirsk, 2003); межрегиональной научно-практической конференции «Повышение устойчивости и эффективности агропромышленного производства в Сибири: наука, техника, практика» (Кемерово, 2003); международной научной конференции, посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ» «Актуальные проблемы инфекционной патологии животных» (Владимир, 2003); региональной научно-практической конференции «Современные проблемы и достижения аграрной науки в животноводстве, растениеводстве и экономике» (Томск, 2004); международной научной конференции «Современные проблемы эпизоотологии» (Краснообск, 2004).

Основные положения, выводы и практические предложения, изложенные в диссертации, обсуждены и одобрены на межлабораторном совещании сотрудников ГНУ ИЭВСиДВ СО РАНХН (2004).

1.6 Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ.

1.7 Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 132 страницах и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, списка литературы, приложений.

Диссертация иллюстрирована 20 таблицами и 4 рисунками. Список литературы включает 222 источника, из них 38 -зарубежных авторов.

1.8 Внедрение результатов исследований. Материалы по оценке изменений гематологических показателей у крупного рогатого скота при лейкозе в энзоотичных по анаплазмозу районах используются в диагностической работе областной и районных ветеринарных лабораторий Томской области.

Результаты исследований используются в программе подготовки студентов факультета ветеринарной медицины по курсам «Эпизоотология и инфекционные болезни животных» и «Паразитология и инвазионные болезни животных» в Томском сельскохозяйственном институте - филиале Новосибирского государственного аграрного университета.

По результатам исследований разработаны методические рекомендации «Использование микроядерного теста эритроцитов и метода выявления ядрышковых организаторов хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов в цитогенетических исследованиях крупного рогатого скота в норме и при лейкозе» (рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ СО РАСХН, пр. №4 от 27.09.2004 г., подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины РАСХН, пр. №21 от 27.09.2004 г.).

1.9 Основные положения, выносимые на защиту.

1. Результаты цитогенетических исследований частоты эритроцитов с микроядрами и индексов ядрышковых организаторов хромосом интерфазных лимфоцитов в крови крупного рогатого скота, отражающих возрастные изменения уровня генетических повреждений и пролиферативной активности клеток организма соответственно.

2. Материалы, доказывающие, что анаплазмозная инвазия при сочетанном течении оказывает влияние на гематологический, цитогенетический и иммунологический статус крупного рогатого скота, инфицированного ВЛКРС и больного лейкозом.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материал и методы. Работа выполнена в 2000-2004 гг. в лаборатории клинической иммунологии ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН, Томском сельскохозяйственном институте - филиале Новосибирского государственного аграрного университета, хозяйствах Бакчарского и Томского районов Томской области.

Исследования по стандартизации микроядерного теста эритроцитов для применения на крупном рогатом скоте и изучение возрастных различий частоты эритроцитов с микроядрами в крови проведены на интактных животных черно-пестрой породы разного возраста (111 голов) в СПК «Воронино» Томского района Томской области, благополучном по хроническим инфекционным заболеваниям. Мазки крови окрашивали по Романовскому-Гимза

(Е.А. Кост, 1975), учет частоты эритроцитов с микроядрами проведен по методу Н.Н. Ильинских и др. (1992) на 10 000 клеток.

Изучение возрастных различий индекса ЯОР в интерфазных лимфоцитах крови крупного рогатого скота проведено на интактных животных черно-пестрой породы разного возраста (63 головы) в СПК «Вороново» Томского района Томской области. Для выявления ЯОР в интерфазных лимфоцитах использовали метод импрегнации серебром мазков крови (Д. Крокер, 1999), проведен учет показателей на 200 клеток.

Предварительная апробация представленных цитогенетических методов на интактном скоте проведена для дальнейшего исследования животных в разных стадиях лейкоза на фоне анаплазмозной инвазии.

Предварительный эпизоотологический анализ распространения лейкоза и анаплазмоза крупного рогатого скота в сельхозпредприятиях Томской области проведен по результатам гематологических исследований на лейкоз 42153 коров и на анаплазмоз - 2989 коров (данные ветеринарной отчетности за 2002 г.).

Гематологические, цитогенетические и иммунологические показатели в крови крупного рогатого скота с разной степенью компрометации к лейкозу на фоне хронической анаплазмозной инвазии изучали в производственном опыте на коровах в СПК «Галкинский» Бакчарского района Томской области, неблагополучном по лейкозу и анаплазмозу крупного рогатого скота.

Подопытные животные представлены группой коров черно-пестрой породы в возрасте 2,5-3 года (n=49), в идентичном физиологическом состоянии (после отела). Выполнены 2-кратные исследования в весенний (апрель) и летний периоды активности клещей (июнь). Подразделение животных на 6 групп проведено в следующем порядке:

- инвазированные анаплазмами: 1 гр. - свободные от ВЛКРС (n=12); 2 гр. - инфицированные ВЛКРС (n=12); 3 гр. - гематологически больные лейкозом (n=3);

- свободные от анаплазм: 4 гр. (контрольная) - свободные от ВЛКРС (n=7); 5 гр. - инфицированные ВЛКРС (n=12); 6 гр. - гематологически больные лейкозом (n=3).

Анаплазмоз у инвазированных коров 1-3 групп характеризовался хроническим течением без проявления клинических признаков, наличие кровепаразитов в эритроцитах обнаружено в июне.

Анализируемые показатели у животных были представлены:

- морфологическим составом лейкоцитов крови (лейкоформулой на 200 клеток), подсчитанным по методике Е.А. Кост (1975);

- частотой эритроцитов с микроядрами, определенной по методике Н.Н. Ильинских и др. (1992);

- индексом ЯОР в интерфазных лимфоцитах крови, определенным по методике Д. Крокер (1999) и распределением лимфоцитов по числу ядрышек;

- уровнями сывороточных IgG, IgM и IgA, определенными в реакции радиальной иммунодиффузии по Манчини, описанной В.М. Чекишевым (1977), с использованием «Набора компонентов для количественного определения иммуноглобулинов и оценки иммунного статуса крупного рогатого скота» производства лаборатории иммунологии и биотехнологии ВИЭВ (зав. лабораторией, профессор, член-корреспондент РАСХН Ю.Н. Федоров);

- результатами по наличию вирусспецифических антител к ВЛКРС в сыворотке крови, определенными в реакции иммунодиффузии (РИД) с использованием «Набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота» производства ФГУП «Курская биофабрика - фирма «БИОК»;

- уровнями сывороточных иммунных комплексов, определенными в реакции ПЭГ-преципитации по методике М. Digeon et al. (1977).

Диагноз на анаплазмоз крупного рогатого скота ставили на основании результатов микроскопических исследований мазков крови. Стационарное неблагополучие Бакчарского района Томской области по анаплазмозу подтверждено результатами скрининговых серологических исследований крупного рогатого скота сельхозпредприятий района с использованием «Набора компонентов для диагностики анаплазмоза рогатого скота в реакции длительного связывания комплемента (РДСК)» производства ВИЭВ.

Всего по представленным выше показателям было исследовано 98 проб цельной крови и сыворотки крови.

Исследование изменений гематологических, цитогенетических и иммунологических показателей у крупного рогатого скота при остром течении анаплазмоза проведено в производственном опыте в СПК «Сибирь» Бакчарского района Томской области, неблагополучном по анаплазмозу и лейкозу крупного рогатого скота, в конце апреля 2003 г. (начало периода активности клещей). Сформировано две группы ВЛКРС-инфицированных коров чернопестрой породы по 8 голов в каждой в возрасте 2,5-3 года: 1) подопытная (с острым течением анаплазмоза) и 2) контрольная (свободная от анаплазм).

Схемы отдельных опытов более подробно описаны в соответствующих разделах диссертации.

Статистическую обработку данных с вычислением средней арифметической и ее ошибки, стандартного отклонения и оценку достоверности различий проводили по общепринятым методикам (Г.Ф. Лакин, 1980).

Часть исследований выполнялась при непосредственном участии С.И. Логинова и Н.И. Илюшиной (ГНУ ИЭВСиДВ СО РАСХН).

2.2 Цитогенетические исследования интактного крупного рогатого скота.

2.2.1 Стандартизация микроядерного теста эритроцитов для исследования крупного рогатого скота. Микроядра - это ядерные структуры, которые впервые были обнаружены в эритроцитах. Микроядра в клетках образуются в процессе деления из хромосомного материала, потерявшего контакт с веретеном митотического аппарата. Частота клеток с микроядрами свиде-

тельствует о частоте возникновения клеток с измененными кариотипами и общей цитогенетической нестабильности организма (Н.Н. Ильинских и др., 1992; В.Ю.Кравцов, 1998).

Сущность стандартизации микроядерного теста эритроцитов заключалась в экспериментальном установлении оптимального количества анализируемых клеток, которое обеспечит наибольшую сходимость и воспроизводимость результатов измерений частоты эритроцитов с микроядрами.

Группа подопытных животных была представлена 15 клинически здоровыми коровами 2,5-3-летнего возраста. Микроядра в эритроцитах крови животных подсчитывали 3-кратно в каждом мазке и анализировали на 1 000, 5 000 и 10 000 клеток, то есть каждый мазок просчитывали 9 раз.

Установлено, что наименьший коэффициент вариации, определяющий большую сходимость измерений, имел место при определении частоты эритроцитов с микроядрами на 10 000 клеток. Наиболее значительное варьирование показателей наблюдалось при подсчете в 1 000 эритроцитов. В этом случае имели место даже достоверные уровни значимости ($P < 0,003-0,001$) различных показателей между первым, вторым и третьим измерениями.

Это вполне согласуется с представленным другими исследователями «рядом», согласно которому наибольший уровень эритроцитов с микроядрами наблюдался у бурозубки, ниже идет мышь, крыса, золотистый хомяк, морская свинка, кролик, кошка, собака, обезьяна, крупный рогатый скот и, наконец, человек (Л.Я. Перепечаев и др., 1987; Н.Н. Ильинских и др., 1992).

2.2.2 Частота эритроцитов с микроядрами в крови интактного крупного рогатого скота разного возраста. В опытах по изучению возрастных различий частот эритроцитов с микроядрами в крови крупного рогатого скота черно-пестрой породы были исследованы 10 групп клинически здоровых животных разного возраста ($n=96$) (табл. 1). В каждом мазке анализировали 10 000 клеток, результаты выражали в промилле (%).

Частота эритроцитов с микроядрами с возрастом у животных увеличивалась, с 4-месячного возраста отмечено скачкообразное повышение показателя. У 2-8-летних коров колебания частоты эритроцитов с микроядрами в пределах 0,58-0,75%. Однако по причинам, видимо не связанным с онтогенезом, в группе 4-летних коров имело место повышение показателя. Между тремя группами телят до 2-месячного возраста достоверных различий показателей не отмечено. Имеют место достоверные различия групп телят до 2-месячного возраста с группами старших возрастов ($P < 0,001$). В младших группах телят отмечена высокая вариабельность показателя - 100,0-161,0%, снижающаяся в старших группах коров до 24,4-30,2% (табл. 1).

Полученные результаты подтверждают выявленное другими авторами классическим метафазным методом учета хромосомных aberrаций повышение цитогенетической нестабильности у крупного рогатого скота с возрастом (Б.К. Бегимкулов и др., 2002), и микроядерным анализом - у лабораторных животных (Н.Н. Ильинских и др., 1992; И.В. Урываева, Г.В. Делоне, 1992).

Таблица 1 - Частота эритроцитов с микроядрами у крупного рогатого скота черно-пестрой породы разного возраста, %

Возраст	n	Im	Cv	$\bar{x} \pm s_x$
1 неделя	10	0-0,1	161,0	0,03 ± 0,015
4 недели	10	0-0,3	100,0	0,11 ± 0,035
2 месяца	8	0-0,3	106,9	0,10 ± 0,038
4 месяца	10	0-1,0	55,7	0,52 ± 0,092
6 месяцев	10	0,3-1,1	41,2	0,65 ± 0,085
12 месяцев	10	0,4-0,8	21,0	0,56 ± 0,037
2 года	10	0,3-0,7	26,7	0,58 ± 0,049
4 года	10	0,6-1,4	24,4	1,06 ± 0,082
6 лет	8	0,4-1,0	30,2	0,75 ± 0,080
8 лет	10	0,6-1,2	28,6	0,74 ± 0,067

2.2.3 Индекс ядрышкового организатора хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов крови интактного крупного рогатого скота разного возраста. Ядрышкообразующими районами хромосом называют участки хромосом, в которых локализованы кластеры рибосомных генов, участвующие в формировании ядрышка. Ядрышки являются ответственными за синтез белка в соматических клетках организма животных и растений. Количественное определение ЯОР в интерфазных клетках позволяет судить о пролиферативной активности клеток и используется в гистопатологии для разграничения злокачественных и доброкачественных процессов (Д. Крокер, 1999).

В опытах по изучению возрастных различий индексов ЯОР интерфазных лимфоцитов крови у крупного рогатого скота черно-пестрой породы были исследованы 9 групп клинически здоровых животных разного возраста (n=63) (табл. 2).

Индекс ЯОР интерфазных лимфоцитов с возрастом поступательно снижался. При этом «внутри» трех групп телят до 2-месячного возраста и «внутри» трех групп коров 4-8-летнего возраста достоверных различий не отмечено. Однако имеют место достоверные различия групп телят до 2-месячного возраста с группами старших возрастов. Вариабельность показателей между отдельными животными в каждой группе незначительна - 2,7-8,5% (табл. 2).

Таблица 2 - Индексы ЯОР в интерфазных ядрах лимфоцитов крови крупного рогатого скота черно-пестрой породы разного возраста (в группе n=7)

Возраст	lim	Cv	$\bar{X} \pm S_x$
10 дней	2,3-2,9	7,9	2,59 ± 0,08
4 недели	2,3-2,6	4,4	2,56 ± 0,04
2 месяца	2,3-2,8	6,5	2,59 ± 0,06
4 месяца	2,2-2,5	4,7	2,29 ± 0,04
6 месяцев	2,0-2,5	8,5	2,29 ± 0,07
12 месяцев	2,1-2,6	7,2	2,26 ± 0,06
4 года	2,0-2,2	2,7	2,10 ± 0,02
6 лет	1,9-2,4	6,9	2,11 ± 0,06
8 лет	1,9-2,2	5,6	2,04 ± 0,04

Установлено, что минимальное количество ЯОР в интерфазных ядрах лимфоцитов крови равно 1, а максимальное - 9. С возрастом увеличивается содержание клеток, имеющих в ядре только одно ядрышко, с $14,2 \pm 2,07\%$ (10-дневные телята) до $27,0 \pm 2,51\%$ (8-летние коровы) ($P < 0,01$). Модальный класс клеток для всех групп представлен лимфоцитами с 2-мя ядрышками, относительное количество таких клеток по группам колеблется в пределах 41,0-48,9%. Количество клеток, имеющих от 3 до 7 ядрышек, с возрастом снижается. Имели место единичные случаи обнаружения клеток с 8-9 ядрышками.

Выявленные нами количественные показатели индексов ЯОР интерфазных лимфоцитов крови у коров 4-6-летнего возраста идентичны представленным в работе С.Н. Прошина и др. (2001) по группам здоровых коров, а полученные нами результаты по тенденциям в изменении ЯОР лимфоцитов крови в онтогенезе у крупного рогатого скота согласуются с аналогичными исследованиями человека (Н.И. Воскобойник и др., 1989; Д. Крокер, 1990).

2.3 Гематологические, цитогенетические и иммунологические показатели в крови крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза на фоне анаплазмозной инвазии.

Предварительным эпизоотологическим анализом распространения лейкоза и анаплазмоза крупного рогатого скота в Томской области было выявлено 5 районов неблагополучных по анаплазмозу. В 2002 году в Зырянском, Тегульдетском, Бакчарском, Чаинском и Колпашевском районах по результатам гематологических исследований соответственно зарегистрировано 59,1%; 30,7; 29,1; 17,7 и 14,4% анаплазмозоносителей из числа исследованных животных в этих районах ($n=1799$). Из представленных районов 4 являются одними из наиболее неблагополучных по лейкозу - Тегульдетский, Чаинский, Зырянский, Бакчарский с заболеваемостью коров лейкозом в 2002 году 60,2; 45,8; 34,2 и 24,1 %о (на 1000 голов коров) соответственно. В Колпашевском районе оздоровительная работа по лейкозу на завершающем этапе при незначительном выделении коров с гематологической стадией заболевания.

Для проведения экспериментальной работы в условиях производственного опыта нами был выбран Бакчарский район Томской области.

2.3.1 Гематологические показатели у крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза на фоне хронической анаплазмозной инвазии. Для характеристики изменений гематологической картины у животных в весенне-летний период нами был проанализирован морфологический состав лейкоцитов крови, так как это актуально для гематологической диагностики лейкоза.

Выявлено, что тенденции изменения общего количества лейкоцитов крови идентичны для всех анализируемых групп коров. У животных, не имеющих изменений в крови, характерных для гематологической стадии лейкоза (1, 2, 4, 5 группы), наблюдался лейкоцитоз в пределах верхних границ физиологической нормы или с незначительным превышением нормы ($9,9-12,5 \times 10^9/\text{л}$), у гематологически больных коров 3 и 6 групп колебания в пределах $22,0-29,9 \times 10^9/\text{л}$. Достоверные различия в каждом сезоне отмечены только с груп-

пами коров в гематологической стадии лейкоза независимо от наличия инфицированности ВЛКРС и анаплазм у животных других группках.

Абсолютный и относительный уровень базофилов изменялся незначительно, так как представлен малыми значениями ($0-0,1\%$, $0-0,01 \times 10^9/\text{л}$).

В начале периода активности клещей (весной) у животных всех групп отмечается повышенное содержание эозинофилов (1 группа до $12,2 \pm 1,19\%$; $1,40 \pm 0,22 \times 10^9/\text{л}$) с последующим достоверным снижением летом. В пределах физиологической нормы изменялись показатели только у коров 4 группы. Весной более низкие показатели у коров 4 (контрольная), 3 и 6 (гематологически больные лейкозом) групп обусловили достоверные различия с животными остальных групп. Отмечен достоверно более высокий уровень эозинофилов у коров 1 группы по сравнению с 4 ($6,4 \pm 1,39\%$, $P < 0,01$; $0,67 \pm 0,13 \times 10^9/\text{л}$; $P < 0,05$) еще в весенний период. Летом достоверных различий между животными разных групп не выявлено.

В весенний период у коров 1, 2, 4 и 5 групп содержание нейтрофилов в пределах физиологической нормы ($21,2-28,0\%$; $2,25-3,22 \times 10^9/\text{л}$), достоверность различий между животными разных групп обусловлена только пониженным относительным уровнем у гематологически больных коров.

Общий уровень нейтрофилов характеризовался достоверным повышением в летний период у животных всех групп, за исключением 6 (показатели стабильны, $P > 0,40$). Однако у инвазированных анаплазмами животных 1-3 групп (независимо от степени компрометации к лейкозу) достоверность этого повышения была обусловлена палочкоядерными нейтрофилами, а у свободных от анаплазм 4 и 5 групп - сегментоядерными. У коров 5 группы (инфицированные ВЛКРС) при самом значимом повышении (до $41,4 \pm 3,41\%$; $5,32 \pm 0,76 \times 10^9/\text{л}$) увеличивались показатели нейтрофилов всех форм зрелости. В летний период это повысило уровень значимости различий между показателями животных 2 и 5 групп (инвазированные и свободные от анаплазм инфицированные ВЛКРС). Кроме того, летом достоверно более высокое содержание нейтрофилов отмечено у коров 1 группы (свободной от ВЛКРС) по сравнению со 2 (инфицированной ВЛКРС); животные обеих групп инвазированы анаплазмами. Это соответственно отразилось и на уровне лимфоцитоза.

Следует подчеркнуть, что в летний период сдвиг ядра влево до палочкоядерных форм нейтрофилов отмечен у коров всех групп (5 группа $12,0 \pm 1,13\%$; $1,56 \pm 0,25 \times 10^9/\text{л}$), однако выражен, как выше показано, в разной степени и менее всего - у коров 4 группы ($5,1 \pm 0,65\%$; $0,56 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$).

По содержанию лимфоцитов стабильные показатели в начале и разгаре периода активности клещей отмечены у гематологически больных лейкозом коров 3 и 6 групп и у инвазированных анаплазмами особей 1 и 2 групп, но у свободных от ВЛКРС (1 группа) - нормативные показатели, а у инфицированных (2 группа) - у верхних границ физиологической нормы ($65,9-67,6\%$; $6,96-7,13 \times 10^9/\text{л}$). Это обусловило достоверные различия между ними по относительному лимфоцитозу за весь период наблюдения ($P < 0,05$). У свободных от

анаплазм коров 4 (свободные от ВЛКРС) и 5 групп (инфицированные ВЖРС) содержание лимфоцитов в летний период падало, за счет более высокой нейтрофилии, а весной показатели животных обеих групп приближались к верхним границам физиологической нормы. Летом между инфицированными ВЛКРС коровами 2 и 5 групп достоверно более высокие относительные показатели отмечены у инвазированных анаплазмами (2 группа). Большая часть достоверных различий в показателях между животными разных групп обусловлена более высоким лимфоцитозом у гематологически больных лейкозом коров (3 и 6 группы), за исключением отмеченных выше случаев.

В весенне-летний период в крови животных всех групп отмечена моноцитопения (0-1,1%, 0-0,11x10%). Достоверно более низкие показатели выявлены у гематологически больных лейкозом коров 3 и 6 групп.

Таким образом, выявленные нами изменения гематологических показателей у коров с разной степенью компрометации к лейкозу и анаплазмозу крупного рогатого скота, содержащихся на энзоотичной территории, характеризуются отличиями от «классической» гематологической картины у крупного рогатого скота, характерной для лейкоза и сезонных колебаний «весна-лето» (Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов, 1995).

2.3.2 Частота эритроцитов с микродрями и индекс ядрышков организаторов хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов крови крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза на фоне хронической анаплазмозной инвазии. В весенний период отмечено поступательное увеличение показателей у животных в порядке «здоровые - инфицированные - гематологически больные лейкозом» как в 1-3 (инвазированные), так и в 4-6 группах (неинвазированные) (табл. 3). В этот период среди неинвазированных выявлены достоверные различия показателей, среди инвазированных - достоверность различий только с повышенными значениями у гематологически больных лейкозом коров (3 группа), между свободными от ВЛКРС и инфицированными животными (1 и 2 группы) еще до появления анаплазм в крови достоверность различий отсутствует. Данная тенденция сохранилась и летом.

Таблица 3 - Изменения цитогенетических показателей у коров разной степени компрометации к лейкозу и хроническому анаплазмозу

Период	Группы коров					
	инвазированные анаплазмами			свободные от анаплазм		
	1	2	3	4	5	6
частота эритроцитов с микродрями в крови. %						
весна	0,78±0,04	0,81±0,08	1,30±0,10	0,67±0,05	0,92±0,05	1,17±0,20
лето	0,83±0,04	1,00±0,08 ²	1,40±0,06	0,67±0,08	0,88±0,05	1,23±0,23
индекс ЯОР в интерфазных ядрах лимфоцитов крови						
весна	2,67±0,06	2,71±0,07	2,87±0,17	2,92±0,12	2,81±0,06	2,94±0,08
лето	2,88±0,06 ¹	2,91±0,07 ¹	2,98±0,24	2,95±0,08	2,89±0,07	3,31±0,07

Примечание: ^{1,2} P < 0,05; < 0,001 уровень значимости различий между весенним и летним исследованиями у животных каждой группы

В летний период у животных всех групп, кроме 4 и 5, имело место повышение частоты эритроцитов с микроядрами, достоверное во 2 группе ($P < 0,001$). Данный процесс был более выражен у коров на фоне хронического анаплазмоза. В это время отмечен достоверно более высокий показатель среди свободных от ВЛКРС коров 1 группы (инвазированная) по сравнению с 4 (свободная от анаплазм) ($P < 0,05$). В группах инфицированных (2 и 5) и гематологически больных лейкозом коров (3 и 6) с разной компрометацией к анаплазмозу также отмечена тенденция к повышению у инвазированных.

Индекс ЯОР в интерфазных лимфоцитах крови коров не имел значительного количества достоверных различий между животными разных групп и по сезонам года, в отличие от предыдущего показателя, хотя общие тенденции были схожими. За весь период наблюдения показатели у свободных от ВЛКРС (1, 4 групп) и инфицированных коров (2, 5 групп) независимо от состояния инвазированности анаплазмами были примерно равными и достоверно отличались от высоких показателей гематологически больных лейкозом коров (3, 6 группы). Однако летом у инвазированных коров 1 и 2 групп имело место достоверное повышение показателей, но без превышения таковых по аналогичным в отношении лейкоза особям свободным от анаплазм 4 и 5 групп (табл. 3).

Увеличение индекса ЯОР происходило за счет перераспределения лимфоцитов с разным числом ядрышек - снижения количества клеток с одним ядрышком и увеличение клеток с 3 ядрышками и более. Модальный класс клеток по числу ядрышек в интерфазном ядре не был четко дифференцирован, как у интактных животных, и был разделен между клетками с 2-3 ядрышками. У гематологически больных коров при увеличении индекса ЯОР выше 3,0 представительное число лимфоцитов имело 4 ядрышка в ядре.

Таким образом, изменения цитогенетических показателей во многом были связаны со степенью развития лейкоза. Однако по частоте эритроцитов с микроядрами в крови наблюдается достоверное увеличение у аналогичных по стадии лейкоза животных на фоне хронического анаплазмоза. Это подтверждает выявленное другими авторами повышение частоты хромосомных aberrаций при лейкозе (Е.А. Дун, 1982; С.С. Бирбин, 1987), хромосомной изменчивости при анаплазмозе (Л.П. Островская, 1975), а также появление телец Жолли у животных при анаплазмозе, отмеченное еще в старых работах гематологов (А.А. Кудрявцев, 1948; Ф.А. Терентьев, А.А. Марков, 1956).

Следует подчеркнуть, что по индексу ЯОР интерфазных лимфоцитов коровы всех групп имели достоверно более высокие значения ЯОР по сравнению с рассмотренными ранее интактными коровами аналогичного возраста на благополучной территории ($2,10 \pm 0,02$; $P < 0,001$). Возможно, это отражает общее повышение пролиферативной активности лимфоцитов, и является характерным признаком для коров в энзоотичной по лейкозу и анаплазмозу зоне. Этим можно объяснить некоторое противоречие с работой С.Н. Прошина и др. (2001), выявивших достоверное повышение показателя у инфицированных ВЛКРС коров по сравнению со здоровыми.

2.3.3 Содержание иммуноглобулинов и иммунных комплексов в сыворотке крови крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза на фоне хронической анаплазмозной инвазии. Иммунологические показатели в весенний период у подопытных животных характеризовались 1) равнозначным уровнем IgG у коров всех групп (21,1-23,5 г/л); 2) нормативным уровнем IgM у коров свободных от ВЛКРС (1, 4 группы) и несколько пониженным у коров, скомпрометированных в отношении лейкоза (2, 3, 5, 6 группы); 3) нормативным уровнем IgA у особей свободных от ВЛКРС при тенденции повышения показателя в зависимости от стадии развития лейкоза; 4) повышенным содержанием иммунных комплексов у коров всех групп (табл. 4).

Таким образом, в весенний период нами не было выявлено угнетения продукции иммуноглобулинов у животных при лейкозе, что было ранее отмечено другими авторами (В.И. Тамошнонас, 1987; А.Б. Моркунас, 1988; Е.В. Кузнецова, 1989), кроме некоторого снижения IgM. Показана тенденция повышения уровня IgA у гематологически больных лейкозом коров, согласующаяся с работой R.M. Jacobs et al. (1980). Повышенные показатели иммунных комплексов у животных являются неблагоприятным признаком и ранее были отмечены при лейкозах (Ю.К. Пешкус и др., 1984; С.И. Логинов, П.Н. Смирнов, А.Н. Трунов, 1999; H. Ungar-Waron et al., 1992).

В летний период содержание IgG достоверно повысилось у инвазированных анаплазмами коров 1 и 2 групп, а также у инфицированных ВЛКРС свободных от анаплазм животных 5 группы до 25,6-27,5 г/л. У коров 4 группы наблюдалась менее выраженная активация синтеза IgG. Среди гематологически больных лейкозом коров при инвазировании анаплазмами в 3 группе содержание IgG имело тенденцию к повышению ($P=0,20$), а у свободных от анаплазм (6 группа) - колебалось на одном уровне (табл. 4).

У инвазированных коров (1,2 группы) активация синтеза IgG более выражена. Летом как между свободными от ВЛКРС животными 1 и 4 групп, так и между гематологически больными лейкозом 3 и 6 групп наблюдались достоверные различия по IgG в связи с компрометацией к анаплазмозу ($P<0,05$; $0,001$). Среди инфицированных ВЛКРС коров (2,5 группы) отмечена тенденция к повышению у инвазированных особей 2 группы ($P=0,28$).

По IgM наблюдалось достоверное повышение показателя у животных всех групп, даже с превышением нормативных значений, но у гематологически больных коров - лишь тенденция, хотя в количественном отношении показатели равны или выше таковых у животных других групп (табл. 4). По сезонам, в отличие от IgG в летний период, достоверных различий по содержанию IgM между животными разных групп не зарегистрировано.

Изменения IgA также характеризовались повышением показателей у коров в летний период, достоверным по инвазированным анаплазмами животным 1 и 2 групп и у особей 4 группы (табл. 4). У гематологически больных лейкозом коров он продолжал оставаться высоким. Достоверных различий между животными разных групп в рассмотренных сезонах года не отмечено.

Таблица 4 - Изменения иммунологических показателей у коров разной степени компрометации к лейкозу и хроническому анаплазмозу

Период	Группы коров					
	инвазированные анаплазмами			свободные от анаплазм		
	1	2	3	4	5	6
	IgG, г/л					
весна	23,5±0,64	22,0±1,45	23,1±2,19	21,1±0,95	22,6±0,73	23,4±1,16
лето	27,2±3,98 ³	26,7±0,86 ²	27,1±1,56	23,7±0,83 ¹	25,6±0,61 ²	22,8±0,13
	IgM, г/л					
весна	2,76±0,17	2,30±0,12	2,51±0,36	2,84±0,38	2,54±0,18	2,64±0,43
лето	3,98±0,25 ³	3,54±0,28 ³	3,98±0,37	3,89±0,34 ³	3,57±0,22 ²	4,52±1,06
	IgA, г/л					
весна	0,36±0,04	0,32±0,07	0,42±0,21	0,32±0,04	0,52±0,09	0,59±0,14
лето	0,44±0,04 ¹	0,54±0,07 ²	0,45±0,06	0,45±0,04 ¹	0,48±0,09	0,54±0,17
	иммунные комплексы, у.е.					
весна	137,8±7,66	121,5±10,31	156,7±2,19	112,7±10,83	145,9±7,12	125,7±9,22
лето	78,6±4,62 ³	100,8±7,85	128,3±23,65	78,3±7,22 ²	93,0±7,32 ³	121,7±6,39

Примечание: ^{1, 2, 3} P ≤ 0,05; ≤ 0,01; ≤ 0,001 уровень значимости различий между весенним и летним исследованиями у животных каждой группы

Уровень сывороточных иммунных комплексов характеризовался отличной от иммуноглобулинов динамикой. Самые высокие показатели у коров всех групп имели место весной 112,7-156,7 у.е. (табл. 4). При этом достоверные различия между животными разных групп в этот период были обусловлены их повышенным содержанием у инфицированных ВЛКРС (5 группа) и гематологически больных лейкозом (3 группа).

В разгар периода активности клещей произошел резкий спад уровня иммунных комплексов, однако, у коров инвазированных анаплазмами в разных стадиях лейкоза (2, 3 группы) и у гематологически больных лейкозом свободных от анаплазм (6 группа) отмечена лишь тенденция снижения (табл. 4). Уровень значимости различий показателей между животными разных групп, в первую очередь, зависел от стадии лейкоза, однако у инвазированных коров 2 и 3 групп данный показатель был недостоверно выше, чем у животных 5 и 6 групп аналогичных по стадии лейкоза. У особей свободных от ВЛКРС (1,4 группы) в летний период показатели примерно равны.

Из иммунологических показателей только уровень IgG связан со стадией развития лейкоза у животных в связи с осложнением хроническим анаплазмозом. Уровни IgM и IgA отражали общую активацию иммунной системы у животных всех групп и, возможно, имели сезонную тенденцию. Уровень иммунных комплексов, в большей мере, был связан со степенью развития лейкоза.

Отмеченная нами активация гуморального звена иммунной системы у животных на фоне хронического анаплазмоза в период активности клещей согласуется с ранее полученными другими авторами данными о повышенном содержании у-глобулинов при анаплазмозе (Н.И.Степанова и др., 1982; М.Э. Марданов и др., 1986) и повторном иммунологическом эффекте, свя-

занным с образованием антител при реинвазиях в энзоотичных зонах (Н.И. Степанова, 1971), при этом тяжелые последствия активации иммунной системы имеет формирование аутоиммунитета (Л.П. Дьяконов и др., 1985). В нашем примере неблагоприятным признаком у животных являлся высокий уровень иммунных комплексов на фоне анаплазмозной инвазии, в особенности, у коров в гематологической стадии лейкоза.

2.3.4 Гематологические, цитогенетические и иммунологические изменения в крови крупнорогатого скота инфицированного ВЛКРС при остром течении анаплазмоза. Исследования проведены однократно весной в то же время, что и у животных с хроническим течением анаплазмоза в другом хозяйстве. У животных с острым течением анаплазмоза были выражены клинические признаки болезни.

В сравнении с контролем лейкоформула животных с клиникой анаплазмоза характеризовалась: несколько пониженным числом лейкоцитов ($8,3 \pm 1,23 \times 10^9/\text{л}$), более высоким количеством эозинофилов ($8,2 \pm 1,11\%$, $P < 0,001$; $0,67 \pm 0,13 \times 10^9/\text{л}$, $P < 0,05$), нейтропенией ($13,2 \pm 2,18\%$, $P < 0,01$; $1,02 \pm 0,17 \times 10^9/\text{л}$, $P < 0,05$) и относительным лимфоцитозом ($78,0 \pm 2,40\%$, $P < 0,05$), у 3 коров из 8 коров относительное количество лимфоцитов в пределах 83,0–86,0%. Кроме того, у коров обеих групп, как у животных с хроническим анаплазмозом (раздел 2.3.1), отмечена моноцитопения ($0,6-1,1\%$, $0,04-0,10 \times 10^9/\text{л}$). Большинство изменений характерны для острого анаплазмоза (А.А. Кудрявцев и др.; Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов, 1995).

Отмечено выраженное достоверное увеличение в крови частоты эритроцитов с микроядрами: $2,06 \pm 0,20\%$ у коров подопытной группы по сравнению с $0,66 \pm 0,05\%$ в контроле ($P < 0,001$), с коровами с хроническим анаплазмозом всех групп (раздел 2.3.2) ($P < 0,001$) и интактными животными аналогичного возраста (раздел 2.2.2) ($P < 0,001$), у половины коров с острым анаплазмозом показатели в пределах 2,3–2,8%.

Индекс ЯОР интерфазных лимфоцитов недостоверно увеличивался у коров с острым анаплазмозом: $3,07 \pm 0,09$ (в контроле $2,81 \pm 0,06$, $P = 0,08$). Вариабельность показателя незначительна ($\text{lim} - 2,79-3,62$, $\text{Cv} - 8,5\%$ для коров подопытной группы, и $\text{lim} - 2,59-3,05$, $\text{Cv} - 5,7\%$ в контроле). Обе группы имели достоверно высокие значения ЯОР по сравнению с интактными коровами аналогичного возраста на благополучной территории (раздел 2.2.3) ($2,10 \pm 0,02$; $P < 0,001$) и с инфицированными ВЛКРС коровами при хроническом анаплазмозе весной (раздел 2.3.2): $P < 0,01$ с животными 2 группы, $P < 0,05$ - 5 группы.

Содержание иммуноглобулинов в обеих группах было примерно равным: IgG - 24,1–25,6 г/л, IgM - 2,32–2,46 г/л, IgA - 0,29–0,30 г/л. При сравнении показателей с таковыми весной у инфицированных ВЛКРС коров с хроническим анаплазмозом (раздел 2.3.3) выявлено, что уровни IgG коров с клиникой анаплазмоза достоверно выше ($P < 0,05$ со свободными от анаплазм жи-

вотными 5 группы); IgM - соответствует таковому у инфицированных ВЛКРС коров с хроническим анаплазмозом; IgA.- понижен и у коров с клиникой анаплазмоза, и у контрольных ($P < 0,05$ со свободными от анаплазм животными 5 группы).

В содержании иммунных комплексов наблюдалась «парадоксальная» картина - достоверно пониженное содержание у коров подопытной группы ($116,9 \pm 6,15$ у.е.) по сравнению с контролем ($167,5 \pm 6,27$ у.е.). По-видимому, снижение уровня иммунных комплексов у коров с острым анаплазмозом вызвано действием верибена, которым обработали больных животных в хозяйстве за 48 ч до взятия крови (опыт производственный). По сообщениям других исследователей, диминазин (активное вещество препарата) в используемой концентрации ($3,5$ мг/кг массы тела животного) вызывает понижение общего белка в сыворотке крови (А.Д. Рыбкина, 1964).

Следует заметить, что уровни иммунных комплексов у контрольных коров достоверно превышали таковые весной у инфицированных ВЛКРС коров с хроническим анаплазмозом (раздел 2.3.3): по инвазированным животным 2 группы $P < 0,001$, по свободным от анаплазм животным 5 группы $P < 0,05$.

Таким образом, у инфицированных ВЛКРС коров при остром анаплазмозе по сравнению с показателями у инфицированных ВЛКРС коров с хроническим анаплазмозом отмечены следующие отличия: выраженный относительный лимфоцитоз при более низком общем содержании лейкоцитов, эозинофилов, нейтрофилов; повышенная частота эритроцитов с микроядрами; высокие показатели ЯОР интерфазных лимфоцитов; повышение содержания IgG при низком уровне IgA; повышенные уровни сывороточных иммунных комплексов у контрольных животных.

3. ВЫВОДЫ

1. Для крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза, содержащегося на энзоотичной по анаплазмозу и лейкозу территории, характерны изменения гематологических, цитогенетических и иммунологических показателей крови, связанные с осложнением анаплазмозной инвазией.

2. Предварительными цитогенетическими исследованиями интактного крупного рогатого скота черно-пестрой породы благополучной территории установлено, что оптимальным при постановке микроядерного теста эритроцитов для крупного рогатого скота является учет микроядер в 10 тыс. клеток; частота эритроцитов с микроядрами с возрастом имеет тенденцию к поступательному повышению у животных старших групп (с $0,03 \pm 0,015\%$ у 7-дневных телят до $0,74 \pm 0,067\%$ у 8-летних коров, $P < 0,001$), отражая уровень накопленных генетических повреждений. Наибольшая вариабельность признака ($C_v = 100,0-161,0\%$) отмечена у телят до 2-месячного возраста.

3. Индекс ЯОР в интерфазных ядрах лимфоцитов крови интактного крупного рогатого скота черно-пестрой породы с возрастом поступательно

уменьшается (с $2,59 \pm 0,08$ у 10-дневных телят до $2,04 \pm 0,04$ у 8-летних коров, $P < 0,001$), отражая снижение пролиферативной активности клеток организма. Количественные изменения индекса ЯОР происходят за счет перераспределения долей лимфоцитов с разным числом ядрышек: при увеличении показателя - сокращение доли клеток с 1-2 ядрышками и возрастание доли клеток с 3 ядрышками и более; при снижении - обратная тенденция. Вариабельность признака у одновозрастных животных незначительная ($Cv = 2,7-8,5\%$).

4. Гематологическая картина у крупного рогатого скота черно-пестрой породы свободного и инфицированного ВЛКРС, содержащегося на энзоотичной по анаплазмозу и лейкозу территории, в период активности клещей характеризуется следующими общими особенностями: лейкоцитоз ($9,9-12,5 \times 10^9/\text{л}$); умеренная эозинофилия весной (до $12,2 \pm 1,19\%$, $1,40 \pm 0,22 \times 10^9/\text{л}$); нейтрофилия в летний период со сдвигом ядра влево (палочкоядерные нейтрофилы до $12,0 \pm 1,13\%$, $1,56 \pm 0,25 \times 10^9/\text{л}$), у неинвазированных преимущественное увеличение нейтрофилов за счет сегментоядерных клеток; лимфоцитоз в пределах верхних границ физиологической нормы (до $71,2 \pm 4,40\%$; $8,00 \pm 1,24 \times 10^9/\text{л}$); моноцитопения ($0,5-1,1\%$, $0,05-0,11 \times 10^9/\text{л}$).

У коров в гематологической стадии лейкоза сходные, но менее выраженные, изменения протекают при повышенном лейкоцитозе ($22,0-29,9 \times 10^9/\text{л}$) и лимфоцитозе ($80,3-87,5\%$) с низким уровнем моноцитов.

5. Частота эритроцитов с микроядрами у крупного рогатого скота в зависимости от степени развития лейкозного процесса достоверно поступательно увеличивается в группах животных в порядке «здоровые - инфицированные ВЛКРС - гематологически больные лейкозом». В летний период отмечается достоверное увеличение частоты эритроцитов с микроядрами у коров свободных от ВЛКРС и на разных стадиях лейкоза в связи с осложнением хронической анаплазмозной инвазией.

6. Индекс ЯОР в интерфазных лимфоцитах крови у крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза, в том числе свободного от ВЛКРС, содержащегося на энзоотичной по анаплазмозу и лейкозу территории, в период активности клещей характеризуется достоверным повышением, более выраженным в группах гематологически больных лейкозом коров (до $3,31 \pm 0,07$).

7. В летний период у крупного рогатого скота на разных стадиях лейкоза, в том числе свободного от ВЛКРС, на фоне хронической анаплазмозной инвазии отмечается активация гуморального звена иммунной системы: повышение уровня IgG (до $27,1 \pm 1,56$ г/л) при высоких показателях TgM и IgA. Повышенное содержание иммунных комплексов (до $156,7 \pm 2,19$ у.е.) у животных, содержащихся на энзоотичной по анаплазмозу и лейкозу территории, отмечается, в особенности, весной в зависимости от стадии лейкоза при незначительной тенденции увеличения показателя на фоне хронического анаплазмоза.

8. Отличительными особенностями изученных показателей при остром течении анаплазмоза у инфицированных ВЛКРС коров черно-пестрой породы в весенний период являются нейтропения (общее содержание $13,2 \pm 2,18\%$,

1,02±0,17×10⁹/л); относительный лимфоцитоз (78,0±2,40%, до 83,0-86,0% у отдельных животных); выраженное повышение частоты эритроцитов с микроядрами (2,06±0,20 %) и индекса ЯОР в интерфазных лимфоцитах крови (3,07±0,09); увеличение содержания IgG (25,6±1,16 г/л) и в контрольной группе иммунных комплексов (167,5±6,27 у.е.); пониженная концентрация IgA (0,30±0,02 г/л).

9. Из изученных показателей крупного рогатого скота, содержащегося на энзоотичной по анаплазмозу и лейкозу территории, частота эритроцитов с микроядрами в крови и уровень сывороточных IgG являются характеристиками, наиболее взаимосвязанными со стадией развития лейкозного процесса в связи с осложнением анаплазмозной инвазией.

10. При проведении гематологических исследований на лейкоз крупного рогатого скота принимать во внимание наличие территориальной приуроченности к анаплазмозу, проявляющейся у инфицированных и свободных от ВЛКРС животных лейкоцитозом и относительным лимфоцитозом в весенне-летний период активности клещей.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

По результатам исследований разработаны методические рекомендации «Использование микроядерного теста эритроцитов и метода выявления ядрышковых организаторов хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов в цитогенетических исследованиях крупного рогатого скота в норме и при лейкозе» (рассмотрены и утверждены ученым советом ГНУ ИЭВСиДВ СО РАСХН, пр. №4 от 27.09.2004 г., подсекцией «Инфекционная патология животных в регионе Сибири и Дальнего Востока» отделения ветеринарной медицины Россельхозакадемии, пр. №21 от 27.09.2004 г.).

5. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Стандартизация микроядерного теста для исследования крупного рогатого скота / Соавт.: СИ. Логинов, Н.Н. Ильинских // Болезни сельскохозяйственных животных вирусной и других этиологии и меры борьбы с ними: Матер, науч.-практ. конф. (Иркутск, 6-7 сентября 2001 г.). - Новосибирск, 2001. - С. 76-78.

2. Стандартизация микроядерного теста для исследования крупного рогатого скота и возрастная динамика уровня эритроцитов с микроядрами / Соавт. СИ. Логинов //I Междунар. ветеринар, конгресс (Алматы, 10-11 октября 2002 г.). - Алматы, 2002. - С. 30-34.

3. Отсутствие связи между уровнями эритроцитов с микроядрами и клеток лейкоцитарного ряда в крови у крупного рогатого скота при лейкозе / Соавт.: А.С Опанасж, СИ. Логинов, А.Н. Горский // Научное обеспечение

АПК Сибири, Монголии, Казахстана, Беларуси и Башкортостана: Матер. 5-й Междунар. науч.-практ. конф. (Абакан, 10-12 июля 2002 г.). - Новосибирск, 2002. - С. 447-449.

4. Возрастная динамика уровня эритроцитов с микроядрами в крови крупного рогатого скота / Соавт. СИ. Логинов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины Восточной Сибири: Матер, науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию Иркутской НИВС (Иркутск, 25-26 сентября 2002 г.). - Иркутск, 2002. - С. 79-80.

5. Цитогенетические изменения у крупного рогатого скота при анаплазмозе / Соавт. СИ. Логинов // Актуальные проблемы болезней животных в современных условиях: Матер. Междунар. науч.-практ. конф. (Душанбе, 27-28 ноября 2003 г.). - Душанбе, 2003. - С. 96-99.

6. Возрастные изменения числа ядрышковых организаторов в интерфазных ядрах лимфоцитов крови крупного рогатого скота / Соавт.: СИ. Логинов, Е.А. Байкова, Н.И. Илюшина, С.Г. Куликова // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных: Матер. Междунар. науч. конф., посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ» (Владимир, 30-31 октября 2003 г.). - Владимир, 2003. - С. 470-473.

7. Изменения уровня эритроцитов с микроядрами у крупного рогатого скота в онтогенезе / Соавт. СИ. Логинов // Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения: Матер. VII Междунар. науч.-произв. конф. (Белгород, 25-28 марта 2003 г.). - Белгород, 2003. - С. 162.

8. Количество ядрышковых организаторов в интерфазных ядрах лимфоцитов крови и эритроцитов с микроядрами при анаплазмозной инвазии у крупного рогатого скота / Соавт.: СИ. Логинов, С.Г. Куликова // Повышение устойчивости и эффективности агропромышленного производства в Сибири: наука, техника, практика: Матер, межрегион, науч.-практ. конф. (Кемерово, 21-24 октября 2003 г.) - Кемерово, 2003. - С. 132-134.

9. The level of nucleolus organizer regions in interphase cell under cattle anaplasmosis / Co-auth.: S.G. Kulikova, S.I. Loginov // Veterinary Genetics, Selection and Ecology: Proceedings of the 2-nd International Conference (Novosibirsk, November 12-14, 2003) / Novosibirsk SAU. - Novosibirsk, 2003. - Vol. 2. - P. 18-19.

10. Age-related changes in the number of nucleolus organizers at interphase karyon of cattle blood lymphocytes / Co-auth.: S.I. Loginov, L.A. Baykova, N.I. Iljushina et al. // Veterinary Genetics, Selection and Ecology: Proceedings of the 2-nd International Conference (Novosibirsk, November 12-14, 2003) / Novosibirsk SAU. -Novosibirsk, 2003. - Vol. 2. - P. 24-25.

11. Haematological indexes and the number of erythrocytes with micronuclei in anaplasmosis invaded cattle / Co-auth.: S.I. Loginov, S.G. Kulikova // Veterinary Genetics, Selection and Ecology: Proceedings of the 2-nd International

Conference (Novosibirsk, November 12-14, 2003) / Novosibirsk SAU. - Novosibirsk, 2003. - Vol. 2. - P. 46-47.

12. Ядрышковые организаторы в интерфазных лимфоцитах и микроядерные эритроциты при анаплазмозной инвазии у крупного рогатого скота / Соавт.: СИ. Логинов, Н.И. Илюшина // Современные проблемы эпизоотологии: Матер. Междунар. науч. конф. (Краснообск, 30 июня 2004 г.). - Новосибирск, 2004. - С. 137-140.

13. Количественный анализ ядрышкообразующих районов хромосом у крупного рогатого скота в норме и при патологии / Соавт.: СИ. Логинов, Н.И. Илюшина, С.Г. Куликова, Н.В. Унагаева // Сиб. вестн. с.-х. науки. - 2004. - №3 (153). - С. 103-106.

14. Гематологические, цитогенетические и иммунологические показатели крупного рогатого скота при лейкозе, осложненном хроническим анаплазмозом / Соавт. СИ. Логинов // Современные проблемы и достижения аграрной науки в животноводстве, растениеводстве и экономике: Матер, регион, науч.-практ. конф. - Томск, 2004. - С. 81-84.

15. Активность ядрышкообразующих районов хромосом при физиологических и патологических состояниях у крупного рогатого скота / Соавт.: СИ. Логинов, Н.И. Илюшина, С.Г. Куликова // Актуальные проблемы биологии: Сб. науч. работ. / Сиб. госуд. мед. университет. - Т. 3, №1. - Томск, 2004. - С. 40-42.

№18850

3 |

РНБ Русский фонд

2005-4

15499

754