

В.В. Макаров, доктор биологических наук, профессор
 Российский университет дружбы народов
 РФ, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6
 E-mail: vvm-39@mail.ru

УДК 619:616.98:578.828.11

DOI: 10.30850/vrsn/2020/2/44-47

ТРАНСМИССИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Обратная стратегия генома вируса лейкоза крупного рогатого скота (ЛКРС) и всех ретровирусов как патогенов представляет предел эволюционного паразитизма с сохранением их биологических видов на уровне только генотипа и полной утратой тривиальных фенотипических признаков (структура, морфология, размножение). Это объясняет многие особенности патобиоза при лейкозе, прежде всего злокачественное перерождение клетки-хозяина и репродукцию вирусного генома в контексте неограниченной пролиферации лимфоцитов, абсолютную иммунную эвазию в отношении эффекторов противовирусной защиты как врожденного, так и приобретенного иммунитета, внутриклеточную передачу инфекции по эпизоотической цепи. Принципиальная особенность эпизоотического процесса и энзоотичности ЛКРС – клинический диморфизм, (i) состояние скрытой инфицированности, абсолютное количественное и хронологическое преобладание инкубационного периода течения, по сути криптической формы инфекции на протяжении всей продуктивной жизни и (ii) собственно болезнь в патологическом смысле, чрезвычайно редкие, спорадические случаи манифестной формы лимфосаркоматоза, возникающие и реально регистрируемые только у старых животных, за пределами продуктивного возраста. В статье с паразито-системных позиций интерпретированы трансмиссия инфекции и патогенез ЛКРС, мало освещенные в отечественной литературе аспекты этой проблемы.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, лейкоз, паразитарная система, передача инфекции, патогенез.

V.V. Makarov, Grand PhD in Biological sciences, Professor
 Peoples' Friendship University of Russia
 RF, 117198, Moskva, ul. Mikluxo-Maklaya, 6
 E-mail: vvm-39@mail.ru

TRANSMISSION AND PATHOGENESIS OF CATTLE LEUKEMIA

The reverse strategy of the genome of the enzootic bovine leucosis (EBL) virus and all retroviruses as pathogens represents the peak of the evolutionary perfection of parasitism with the preservation of their biological species at the level of only the genotype and the complete loss of trivial phenotypic characters (structure, morphology, reproduction). This explains many features of pathobiosis in leucosis, especially the malignant transformation of the host cell and the reproduction of the viral genome in the context of unlimited proliferation of lymphocytes, absolute immune evasion in relation to the antiviral protective effectors of both innate and acquired immunity, and intracellular transmission of the infection by the enzootic chain. The principal feature of EBL is clinical dimorphism, i.e. the status of latent infection an absolute quantitative and chronological predominance of the incubation period of the course, essentially a cryptic form of infection throughout a productive life of the animal, and the illness per se in a pathological sense, extremely rare sporadic cases of a manifest form of lymphosarcomatosis that arise and really recorded only in old animals, outside of productive age. In this article the transmission of infection and the pathogenesis of EBL are interpreted from modern parasitic systemic positions as aspects of this problem that are little being considered in the home publications.

Key words: cattle, enzootic bovine leucosis, parasitic system, transmission of infection, pathogenesis.

Лейкоз крупного рогатого скота (ЛКРС, энзоотический лейкоз) – контагиозный инфекционный рак крови (гемобластоз) вирусной этиологии. Подобная патология поражает млекопитающих и птиц многих видов, но не всех (например, лошади и свиньи не подвержены естественному заболеванию). Вирус ЛКРС (ВЛКРС) относится к роду Deltaretrovirus подсемейства Orthoretrovirinae, семейства Retroviridae, которое включает онкогенные, или ретровирусы, РНК-геномные, репродуцирующиеся через ДНК-интермедиат с помощью обратной транскрипции, с альтернативным диморфным существованием в виде зрелых вирусных частиц (межклеточная передача инфекции) или провируса в геномах зараженных гемопоэтических и иных клеток (персистенция, онкогенез и горизонтальная передача инфекции).

Ретровирусы таксономически различаются по видам хозяев и строго видоспецифичны (не отмечено никакой эпидемически значимой естественной полипатогенности), что также может быть обусловлено «сверхспецифичностью» их интимных

паразито-хозяйинных взаимоотношений с клетками на самом глубоком, генетическом и биохимическом уровне паразитизма. ВЛКРС – экзогенный ретровирус, опасности для человека и животных других видов не представляет, всевозможные спекуляции на этот счет не имеют оснований и не заслуживают серьезного обсуждения. [10]

Обратная стратегия генома ВЛКРС и всех ретровирусов как патогенов представляет предел эволюционного совершенства паразитизма с сохранением их биологических видов на уровне только генотипа и полной утратой фенотипических признаков (структура, морфология, размножение). Это объясняет многие особенности патобиоза при лейкозе, прежде всего злокачественное перерождение клетки-хозяина и репродукцию вирусного генома в контексте неограниченной пролиферации лимфоцитов, абсолютную иммунную эвазию в отношении эффекторов противовирусной защиты как врожденного, так и приобретенного иммунитета, внутриклеточную передачу инфекции по эпизоотической цепи.

ПЕРЕДАЧА ИНФЕКЦИИ

Цепная трансмиссия и воспроизведение очередного, нового случая заражения при ЛКРС происходит не за счет зрелого вируса, трансмиссибельным инфектом служат инфицированные лимфоциты коров в состоянии персистентной инфекции или лимфоцитоза с интегрированным в их хромосомы вирусным ДНК-интермедиатом, то есть провирусом (рис. 1, 3-я стр. обл.). Внеорганизменным субстратом выделяемого инфекта могут быть любые жидкости организма с находящимися в них такими лимфоцитами, прежде всего кровь и ее примеси к другим жидкостям, в минимальном объеме которой содержатся многие тысячи клеток, молоко и молозиво, слюна, моча и другие. [6, 7, 11]

Внутриклеточной передачей обуславливается сравнительная сложность горизонтального и вертикального пути распространения инфекции. Клеточная структурная организация инфекта, внутриклеточная персистенция и трансмиссия полностью исключают некоторые банальные элементы инфекционного патобиоза, в частности, вирусную нейтрализацию антителами, колостральную иммунитет, трансплацентарное заражение.

В то же время вероятность «успешного» заражения предполагает целый ряд нетривиальных условий, прежде всего (i) эффективное проникновение аллогенного лимфоцита-инфекта коровы во внутреннюю среду и циркулирующие системы реципиента, а также (ii) максимальное сохранение целостности крайне неустойчивой во внешней среде эукариотической клетки-инфекта в результате теснейшего контакта между организмом-источником инфекции и восприимчивым организмом. Первое реализуется вследствие разнообразных непредсказуемых естественных и особенно искусственных повреждений внешних и внутренних покровов животного-реципиента (кожи и слизистых) независимо от его продуктивных, физических и иных кондиций и гематогенной кросс-контаминации его кровотока жидкостями инфицированных животных. Сюда относятся такие факторы, как кормление молоком и молозивом, открытые травмы, плодные жидкости и все, что сопутствует родам, жалящие насекомые, кровь и другие выделения инфицированных животных. Однако подавляющее большинство случаев перезаражения происходит ятрогенно при многократном использовании инъекционных игл, диагностического, терапевтического, акушерского, хирургического и иного медицинского инструментария, оборудования для искусственного осеменения, обработки копыт, обезроживания, мечения, при вакцинации и иных массовых инвазивных обработках, репродуктивных обследованиях, кастрации. Второе происходит, главным образом, в процессе самых ранних постнатальных отношений «мать → новорожденный теленок», вследствие чего происходит паравертикальное заражение при прохождении родовых путей и далее через молозиво и слюну. Это объясняет ПЦР-положительное тестирование новорожденных телочек с двухнедельного возраста, инфицированность молодняка КРС, высокий коэффициент паравертикальной передачи. [1, 2, 12]

ПАТОГЕНЕЗ

При ЛКРС, как и любом онкологическом заболевании, развитие инфекционного процесса происходит очень длительно, многостадийно с продолжительным инкубационным периодом от нескольких месяцев до нескольких лет.

Прямое проникновение инфекта в кровотоки восприимчивого животного-реципиента за счет гематогенной кросс-контаминации не встречает особых препятствий и вероятность такой передачи достаточно высока в крупных группировках КРС, где обеспечивается необходимая популяционная плотность инфицированного и восприимчивого хозяина как первостепенное условие устойчивости данной паразитарной системы. По-видимому, главное при этом — эффективная инфицирующая доза, то есть количество передаваемых по цепи лимфоцитов, содержащих провирус.

Однако неизвестны конкретные механизмы инвазивности аллогенного лимфоцита-инфекта, проникающего в восприимчивый организм алиментарно. Исходя из канонических инфекционного патогенеза, инфект в такой форме не может проследовать через желудок. Так же остаются окончательно не выясненными механизмы реактивации в нем провируса, репродукции и экзоцитоза полноценного ВЛКРС «на новом месте», заражения интактных, преимущественно В-лимфоцитов фенотипа CD5⁺IgM⁺ в циркулирующих системах нового организма и в целом судьбы инфицированных аллогенных клеток в этих условиях. Предположительно критическая роль в этом может принадлежать реакциям клеточного иммунитета животного-реципиента на анти(алло)генность последних, о чем косвенно свидетельствует активация образования полноценного вируса при стимуляции инфицированных клеток некоторыми митогенами. [6, 7, 11]

Инкубационный период заболевания протекает в две фазы, отражающие диморфизм существования ВЛКРС. Первичная острая инфекция аллогенных лимфоцитов-инфектов в организме инфицированного реципиента сопровождается репродукцией полноценных вирусных частиц и распространением их в популяции интактных лимфоцитов последнего. Развивающийся вследствие этого клеточный иммунитет в течение нескольких недель прерывает продуктивную инфекцию, осуществляя негативную селекцию лимфоцитов, репродуцирующих полноценный вирус. При этом сохраняются инфицированные лимфоциты с интегрированным провирусом — злокачественно трансформированные, иммортализованные («обессмерченные»), способные начать неограниченную пролиферацию с моно- или олигоклональной экспансией и тем самым репродукцией инфекта, обеспечивая ему абсолютную иммунную эвазию. Инфекция переходит во вторую фазу со становлением персистенции, в течение которой количество лимфоцитов с провирусом достигает 1% общего пула циркулирующих В-лимфоцитов крови, это более 100 тыс. структурных единиц инфекта в 1 мл. [6, 7, 11]

Количественную характеристику инфекционного процесса ЛКРС стало возможным оценивать по **провирусной нагрузке** (ПВН) — числу копий про-

вируса в лимфоцитах в расчете на фиксированное количество последних, определяемому с помощью ПЦР, начиная с самых ранних серонегативных и долейкемических этапов инфицирования, по аналогии с общепринятым титрованием биологической активности прочих возбудителей инфекций. [6, 8, 9] Показано, что ПВН как интенсивный показатель инфекции *in vivo* сильно коррелирует с оценкой инфекционной активности ВЛКРС по другим патогенетическим элементам, в частности, образованию синцитиев и лимфоцитозу (рис. 2, 3-я стр. обл.). У животных с низкой ПВН (число копий провируса до нескольких десятков на 10^5 лимфоцитов) очень низкой была и синцитий-образующая способность (единицы синцитиев на 5×10^6 лимфоцитов). Более высокой ПВН у других животных (от сотен до десятков тысяч) соответствовало высокое число синцитиев (аналогично от сотен до десятков тысяч). Процентное содержание В-лимфоцитов фенотипа $CD5^+IgM^+$ было достоверно выше у животных с ПВН >100 копий на 10^5 лимфоцитов. [9]

В ходе персистентной фазы инкубационного периода развивается гуморальный иммунный ответ на отдельные вирусспецифические антигены — продукты ограниченного и замедленного функционирования вирусного ДНК-интермедиата в составе генома медленно пролиферирующего лимфоцита-хозяина. По этой причине процесс накопления антител достаточно продолжителен: серопозитивность в пределах чувствительности реакции радиальной иммунодиффузии, общепринятой для ее регистрации (стадия РИД-позитивности) как показатель инфицированности животных, возникает через шесть месяцев после заражения. Столь продолжительный отложенный эффект установления инфекции имеет решающее значение в эпизоотологии ЛКРС, так как зараженный в раннем возрасте молодняк, остающийся серонегативным на протяжении полугода, не что иное, как ложно-отрицательный источник инфекции. [1, 2]

Именно поэтому выявление инфицированных ВЛКРС животных с помощью ПЦР, позволяющей обнаруживать интегрированный провирусный ген в геноме хозяина задолго до возможности обнаружения инфекции серологическими и иными ретроспективными способами с отложенным результатом, в настоящее время широко используется за рубежом и апробировано в РФ. Применение ПЦР как метода прямой идентификации возбудителя и микробиологической диагностики наиболее эффективно востребовано в системе противолейкозных мероприятий для ускоренного и надежного оздоровления неблагополучных хозяйств. [1, 2, 3, 6, 9]

Клональная пролиферация онкогенно трансформированных лимфоцитов, несущих провирус, гематологически регистрируемая с концентрации > 10000 клеток в 1 мкл крови (стадия ГЕМ-позитивности), развивается только у ~ трети РИД-позитивных. Остальные инфицированные ВЛКРС животные (70 % и более) остаются в алейкемическом состоянии в качестве бессимптомных провирусоносителей. Алейкемические особи могут быть идентифицированы только по антителам к вирусным антигенам и / или наличию провируса с помощью ПЦР. [6, 7, 11]

В отличие от транзиторных лейкоидных реакций при воспалительных процессах, зачастую присутствующих у коров в условиях «не самого лучшего» содержания и эксплуатации (маститы, эндометриты, гнойная патология нижних отделов конечностей) [4], лимфоцитоз при ЛКРС имеет персистентный характер. Стадия ГЕМ-позитивности в обычных условиях отечественного животноводства с относительно непродолжительной продуктивной жизнью молочных коров (в среднем три лактации) не сопровождается какими-либо регистрируемыми клиническими отклонениями.

Но медленно прогрессирующий, неуклонный рост количества циркулирующих лимфоцитов со значительным превышением физиологических уровней (в исключительных случаях до многих десятков тысяч клеток в 1 мкл крови) теоретически может приводить к драматическим последствиям у более старых животных вследствие нарушений иммунной системы, сходных с таковыми при хорошо изученных вирусных иммунодефицитах классического типа — СПИДе человека и кошек (недостаточная защита от условно-патогенных микроорганизмов и оппортунистических инфекций, прежде всего маститов, факторных респираторных и кишечных болезней, гнойно-воспалительной патологии). [6, 11]

Конечная опухолевая, летальная стадия с образованием лимфосарком из-за прогрессивного неконтролируемого накопления злокачественно перерожденных поликлональных инфицированных лимфоцитов, увеличением лимфоидных (лимфоузлов, селезенки) и других внутренних органов наступает, как правило, в возрасте не менее восьми лет лишь у 1...5 %, то есть у старых животных (по данным медицинской статистики преобладающая подверженность онкологической патологии стереотипна для пожилого возраста). [6]

С точки зрения саморегуляции инфекционной паразитарной системы неблагоприятные хозяйственные группировки животных популяционно неоднородны по перечисленным трем стадиям течения ЛКРС в зависимости от их возрастного состава, зоотехнологической структуры, числа лактаций. Установлено, что инфицированность КРС в молочном хозяйстве значительно возрастает, начиная с третьей лактации. [5]

Принципиальная особенность эпизоотического процесса и энзоотичности ЛКРС — клинический диморфизм, (*i*) состояние скрытой инфицированности, абсолютное количественное и хронологическое преобладание инкубационного периода течения, по сути криптоцической формы инфекции на протяжении всей продуктивной жизни и (*ii*) собственно болезнь в патологическом смысле, чрезвычайно редкие, спорадические случаи манифестной формы лимфосаркоматоза, возникающие и реально регистрируемые только у старых животных, за пределами продуктивного возраста. [3, 5, 6]

Таким образом отсутствие патологии и видимого ущерба создавало и создает реальные препятствия в контроле заболевания и эпизоотической обстановки в целом как с точки зрения профессиональной ветеринарии, так и прежде всего зоотехнологического менеджмента.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Макаров, В.В. Эпизоотологические перспективы лейкоза крупного рогатого скота/ В.В. Макаров, Д.П. Гринишин // Вестник РСХН. – 2005. – № 2. – С. 70–73.
2. Макаров, В.В. ПЦР в диагностике лейкоза крупного рогатого скота/ В.В. Макаров, Д.П. Гринишин // Ветеринария. – 2005. – № 4. – С. 9–11.
3. Макаров, В.В. Эпизоотологические особенности современного лейкоза крупного рогатого скота/ В.В. Макаров, Д.А. Лозовой // Вестник РСХН. – 2020. – № 1. – С. 53–58. DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/53-58.
4. Смирнов, П.Н. Лейкемоидные реакции у крупного рогатого скота: причины, характер проявления и сезонная динамика/ П.Н. Смирнов, И.В. Тростянский, С.М. Чыдым и др. // Инновации и продовольственная безопасность. – 2017. – № 4 (18). – С. 51–55.
5. Bovine leukemia virus. Michigan State University. blv.msu.edu.
6. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2015. Scientific opinion on enzootic bovine leukosis. EFSA Journal 2015;13(7): 4188, 63 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4188.
7. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 8-th Ed. WOAH, 2018, 1833 pp.
8. Mekata H., Yamamoto M., Hayashi T. et al. Cattle with a low bovine leukemia virus proviral load are rarely an infectious source. Japanese J. of Vet. Res. 2018. 66(3): 157–163. doi: 10.14943/jjvr.66.3.157.
9. Panei C., Takeshima S., Omori T. et al. Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis using BLV-CoCoMo-qPCR. BMC Vet. Res. 2013. 9. P. 95. doi: 10.1186 / 1746-6148-9-95.
10. Rodríguez S., Florins A., Gillet N. et al. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV // Viruses 2011. 3(7). – P. 1210–1248. doi: 10.3390 / v30771210.
11. Ruggerio V., Bartlett P., Erskine R. Bovine leukemia virus: the silent thief. michvma.org/resources.
12. Ruiz V., Porta N., Lomónaco M. et al. Bovine Leukemia Virus Infection in Neonatal Calves. Risk Factors and Control Measures. Front. Vet. Sci. 2018. 5:267. doi: 10.3389/fvets.2018.00267.

LIST OF SOURCES

1. Makarov, V.V. E`pizootologicheskie perspektivy` lejkoza krupnogo rogatogo skota/ V.V. Makarov, D.P. Grinishin // Vestnik RSXN. – 2005. – № 2. – S. 70–73.
2. Makarov, V.V. PCzR v diagnostike lejkoza krupnogo rogatogo skota/ V.V. Makarov, D.P. Grinishin // Veterinariya. – 2005. – № 4. – S. 9–11.
3. Makarov, V.V. E`pizootologicheskie osobennosti sovremennogo lejkoza krupnogo rogatogo skota/ V.V. Makarov, D.A. Lozovoj // Vestnik RSXN. – 2020. – № 1. – S. 53–58. DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/53-58.
4. Smirnov, P.N. Lejkemoidny`e reakcii u krupnogo rogatogo skota: prichiny`, xarakter proyavleniya i sezonnaya dinamika/ P.N. Smirnov, I.V. Trostyanskij, S.M. Chy`dy`m i dr. // Innovacii i prodovol`stvennaya bezopasnost`. – 2017. – № 4 (18). – S. 51–55.
5. Bovine leukemia virus. Michigan State University. blv.msu.edu.
6. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2015. Scientific opinion on enzootic bovine leukosis. EFSA Journal 2015; 13(7): 4188, 63 pp. doi:10.2903/j.efsa.2015.4188.
7. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 8-th Ed. WOAH, 2018, 1833 pp.
8. Mekata H., Yamamoto M., Hayashi T. et al. Cattle with a low bovine leukemia virus proviral load are rarely an infectious source. Japanese J. of Vet. Res. 2018. 66(3): 157–163. doi: 10.14943/jjvr.66.3.157.
9. Panei C., Takeshima S., Omori T. et al. Estimation of bovine leukemia virus (BLV) proviral load harbored by lymphocyte subpopulations in BLV-infected cattle at the subclinical stage of enzootic bovine leucosis using BLV-CoCoMo-qPCR. BMC Vet. Res. 2013. 9. P. 95. doi: 10.1186 / 1746-6148-9-95.
10. Rodríguez S., Florins A., Gillet N. et al. Preventive and Therapeutic Strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV // Viruses 2011. 3(7). – P. 1210–1248. doi: 10.3390 / v30771210.
11. Ruggerio V., Bartlett P., Erskine R. Bovine leukemia virus: the silent thief. michvma.org/resources.
12. Ruiz V., Porta N., Lomónaco M. et al. Bovine Leukemia Virus Infection in Neonatal Calves. Risk Factors and Control Measures. Front. Vet. Sci. 2018. 5:267. doi: 10.3389/fvets.2018.00267.