DOI 10.52368/2078-0109-2023-59-1-92-95
УДК 578:578.52

АНТИГЕННЫЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СОСТАВ РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОГО ВИРУСА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Красочко П.П. ORCID ID 0000-0003-3309-0666, Колесникович К.В. ORCID ID 0000-0002-4129-3781
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Изучены антигенный и генетический состав респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота. Установлено, что среди структурных белков РСВ КРС наиболее значимыми в отношении формирования иммунитета являются белки F и G, которые вызывают выработку вируснейтрализующих антител, а белок F дополнительно стимулирует образование CD8+ цитотоксичных Т-клеток, что сказывается на снижении репликации вируса и выздоровлении животных. ***Ключевые слова:*** *респираторно-синцитиальный вирус, крупный рогатый скот, белки, геном.*

ANTIGENIC AND GENETIC COMPOSITION OF BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS

Krasochka P.P., Kalesnikovich K.V.
EE “Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine”, Vitebsk, Republic of Belarus

The antigenic and genetic composition of bovine respiratory syncytial virus has been studied. It was found that among the structural proteins of RSV in cattle, the most significant in relation to the formation of immunity are proteins F and G, which cause the production of virus-neutralizing antibodies, and the F protein additionally stimulates the formation of CD8 + cytotoxic T cells, which has a reducing impact on the viral replication, and recovery of animals. ***Keywords:*** *respiratory syncytial virus, cattle, protein, genome.*

Введение. Респираторные болезни − важная причина экономического ущерба в молочном скотоводстве. Одним из этиологических агентов бронхопневмоний является респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) крупного рогатого скота (КРС), широко распространенный во всем мире [1].

Независимо от географического положения, уровень инфекционности, как правило, довольно высок; предполагается, что передача вируса - обычное явление в стаде. Крупный рогатый скот является основным резервуаром инфекции, однако также могут заразиться овцы, бизоны [5].

Передача вируса внутри стада обычно происходит воздушно-капельным путем, передача между стадами часто является следствием введения новых инфицированных животных, и непрямая передача происходит через людей, посещающих хозяйство [2]. Одним из основных факторов риска для передачи РСВ является скученность животных. В регионах с умеренным климатом заболевание обычно диагностируется в осенне-зимний период. Заболеваемость достаточно высока, а в некоторых случаях является причиной 60% клинических случаев респираторных заболеваний среди молочных коров [3]. Вспышки РСИ могут стать эпизоотиями, поражающими животных во всех возрастных группах. Важно отметить, что естественная инфекция поражает как мясной, так и молочный скот [2].

Профилактика является ключом к противодействию BRSV инфекции [2]. Несомненным достижением в практике борьбы с инфекционными болезнями животных является внедрение вакцинопрофилактики. Однако вирус респираторно-синцитиальной инфекции не способен накапливаться в высоких титрах в культуре клеток и требует концентрирования вируссодержащего материала для получения высокоактивной вакцины [10]. Выходом из положения является создание рекомбинантного белка-антигена, который можно накопить в значительно больших количествах с помощью экспрессионных систем (бактериальных, дрожжевых или простейших). Такой подход позволит снизить себестоимость специфического антигена, обеспечить более высокий уровень безопасности вакцины ввиду отсутствия побочных веществ при накоплении вирусов.

Однако, на первом этапе работы необходимо проанализировать геном возбудителя с целью выявления генов, кодирующих иммунодоминантные белки, которые вызывают синтез вирус-нейтрализующих антител.

Целью исследования явилось изучение антигенного и генетического состава респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО ВГАВМ.

При анализе генетического состава РСВ использовали общедоступные полногеномные нуклеотидные последовательности вируса из базы нуклеотидных последовательностей (GenBank), выделенных в разных географических регионах.

При анализе антигенного состава и функциональной активности отдельных белков использовали отечественные и зарубежные литературные источники.

Результаты исследований. РСВ КРС относится к роду *Pneumovirus*, подсемейству *Pneumovirinae* семейства *Paramyxoviridae*. В антигенном и генетическом отношении РСВ близок к респираторно-синцитиальному вирусу человека [10]. Оба вируса имеют липидную оболочку, которая происходит из клеток хозяина при выходе вирионов, и содержит на своей поверхности трансмембранные белки (G и F). Их геном представлен однонитевой несегментированной негативной РНК, длиной около 15 тыс. нуклеотидов. РНК кодирует 11 структурных и неструктурных белков, функции которых отражены в таблице 1, а схематическое изображение в структуре генома - на рисунке 1.

Таблица 1 – Характеристика белков РСВ КРС

Наименование белка	Функция белка
NS1	Неструктурные белки 1 и 2, совместно блокируют активацию регуляторного фактора α- и β-интерферонов
NS2	
N	Формирует нуклеокапсид вируса
P	Фосфопротеин, формирует нуклеокапсид вируса
M	Матричный протеин, формирует нуклеокапсид вируса
SH	Малый гидрофобный протеин, формирует капсид вируса
G	Белок прикрепления, формирует капсид вируса
F	Предшественник белка для проникновения в клетку, формирует капсид вируса
M2-1	Матричные протеины открытых рамок считывания ORF1 и ORF2, кофакторы полимеразы
M2-2	
L	Формирует нуклеокапсид вируса, РНК-зависимая РНК-полимераза

Рисунок 1 – Схема генома РСВ КРС

Основная функция белка G – прикрепление к клетке хозяина путем связывания с остатками сиаловой кислоты, которая широко представлена на поверхности клеток респираторного тракта. Данный белок вызывает образование вируснейтрализующих антител и субпопуляции CD4+ Т-клеток. При репликации РСВ КРС протеин G синтезируется в 2 вариантах: связанном с мембраной и секретируемом. Предполагается, что секретируемая форма взаимодействует с иммунной системой путем связывания нейтрализующих антител, что позволяет вновь образуемым вирионам избегать атаки иммунной системы. Белок G не влияет на репликацию вируса – имеются сведения, что рекомбинантные, делетированные по G протеину вирусы РСВ КРС способны размножаться как в культуре клеток, так и в организме восприимчивых животных [5].

Вирусные белки F и G отвечают за прикрепление и проникновение вируса и доставку нуклеокапсида в цитоплазму клетки хозяина. F-белок участвует в слиянии вирусной и клеточной мембран. Данный вирусный белок (F0) представляет собой неактивный предшественник размером 574 аминокислотных остатка, который расщепляется в аппарате Гольджи протеазой фурином на три части: субъединицы F1 и F2, а также пептид pep27. Субъединицы F1 (49 кДа) и F2 (20 кДа) формируют активный фьюжен-белок, а pep27 далее модифицируется и превращается в биоактивное вещество вирокинин. Белок F стимулирует образование вируснейтрализующих антител и субпопуляций CD4+ и CD8+ Т-клеток [6].

Белок SH не играет роль в репликации вируса. Он выполняет функцию ионного канала и, возможно, обеспечивает проникновение вируса в клетку совместно с F белком. Показано, что рекомбинантный РСВ КРС с делетированным SH-геном становится аттенуированным [9]. Сведения о каком-либо значимом вкладе SH-белка в иммунные реакции отсутствуют.

Внутренняя часть вириона представлена спиральным нуклеокапсидом и состоит из структурных белков N, P, M, M2-1, M2-2, неструктурными белками NS1, NS2, L и одноцепочечной РНК.

Матричный белок M расположен на поверхности капсида и является преобладающим белком в инфицированной клетке. Он, наряду с белками M2-1 и M2-2, участвует в сборке и выходе дочерних вирусов из клетки.

Белки M2-1 и M2-2 являются регуляторными факторами транскрипции и репликации вирусной РНК [4].

Структурные белки N и P отвечают за внутреннюю организацию нуклеокапсида и связаны с РНК. Белок N стимулирует образование CD8+ Т-клеток.

Неструктурные белки NS1 и NS2 играют важную роль в снижении реактивности иммунной системы. Они подавляют активацию интерферонов первого типа, что значительно замедляет распознавание иммунной системой репликацию РСВ КРС [7].

Для РСВ КРС, как и других одноцепочечных РНК-вирусов, характерна высокая изменчивость и как следствие антигенная вариабельность. Эволюция вируса в основном направлена на изменчивость белка G, как одного из наиболее антигенно-значимых. Особенно это прослеживается в регионах, где широко применяются вакцины для профилактики респираторно-синцитиальной инфекции КРС [8].

В настоящее время выделено 4 антигенные группы РСВ КРС (А, В, АВ и промежуточная) и 6 генетических. Однако, широкие исследования живых интраназальных вакцин показывают наличие перекрестной защиты против РСВ КРС различного географического происхождения.

Таким образом, среди структурных белков РСВ КРС наиболее значимыми в отношении формирования иммунитета являются белки F и G. Оба белка вызывают выработку вируснейтрализующих антител, однако, белок F также стимулирует образование CD8+ цитотоксичных Т-клеток, что сказывается на снижении репликации вируса и скорейшем выздоровлении животных.

Заключение. Относительно несложная организация генома и вириона вируса РСВ позволили достоверно определить наиболее значимые для эффективного иммунного ответа белки. Основными кандидатами для создания рекомбинантного белка выступают белки F и G. При этом белок F РСВ помимо стимуляции образования вируснейтрализующих антител также стимулирует образование CD8+ цитотоксичных Т-клеток, что замедляет репликацию вируса и, соответственно, распространение вируса в организме, что ведет к более быстрому окончанию инфекционного процесса и выздоровлению животных.

Conclusion. The relatively simple organization of the genome and virion of the BRSV virus made it possible to reliably determine the most significant proteins for an effective immune response. The main candidates for the creation of recombinant proteins are the F and G proteins. In addition to stimulating the formation of virus-neutralizing antibodies, the BRSV F protein also stimulates the formation of CD8+ cytotoxic T cells, which slows down the replication of the virus and, accordingly, the spread of the virus in the body, which leads to a faster termination of infectious process and the recovery of animals.

Список литературы. *1. Котенева, С. В. Роль респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота в этиологии респираторных болезней на молочных комплексах / С. В. Котенева, А. В. Нефедченко, Т. И. Глотова // Ветеринария сегодня. – 2021. – № 12. – С. 38-43. 2. Ольсон, А. Факторы риска при респираторно-синцитиальной и коронавирусной инфекции крупного рогатого скота / А. Ольсон // Ветеринария. – 2010. – № 8. – 11 с. 3. Ширвани, Е. Эпизоотологическое исследование острых респираторных заболеваний крупного рогатого скота в молочном скотоводстве / Е. Ширвани // Здоровье животных. – 2012. – № 4. – С. 191–195. 4. Bermingham, A. The M2-2 protein of human respiratory syncytial virus is a regulatory factor involved in the balance between RNA replication and transcription / A. Bermingham, P. Collins // Proc. Natl. Acad. Sci., 1999. – Vol. 15, № 9. – P. 59–64. 5. Bukreyev, A. The secreted form of respiratory syncytial virus G glycoprotein helps the virus evade antibody-mediated restriction of replication by acting as an antigen decoy and through effects on receptor-bearing leukocytes / A. Bukreyev, L. Yang, J. Fricke // J. Virol.– 2008. – Vol. 12, №11. – P. 191–204. 6. Karger, A. Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletions of the G or SH genes: G and F proteins binds heparin / A. Karger, U. Schmidt, U. Buchholz // J. Gen. Virol. – 2001. – Vol. 17, № 10. – P. 31–40. 7. Schlender, J. Bovine respiratory syncytial virus nonstructural proteins NS1 and NS2 cooperatively antagonize alpha/beta interferon-induced antiviral response / J. Schlender, B. Bossert, U. Buchholz // J. Virol. – 2000. – Vol. 13, №1. – P. 34–42. 8. Schmidt, U. Mucosal immunization with live recombinant bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and recombinant BRSV lacking the envelope glycoprotein G protects against challenge with wild-type BRSV / U. Schmidt, J. Beyer, U. Polster // J. Virol. – 2002. – Vol. 6, №2. – P. 5–9. 9. Taylor, G. Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletion of the SH gene induces increased apoptosis and pro-inflammatory cytokines in vitro, and is attenuated and induces protective immunity in calves / G. Taylor, S. Wyld, J. Valarcher // J. Gen. Virol. – 2014. – Vol. 10, № 8. – P. 44–54. 10. Valarcher, J. Evolution of bovine respiratory syncytial virus / J. Valarcher, F. Schelcher, H. Bourhy // J. Virol. – 2000. – Vol. 5, №3. – P. 14–28.*

References. *1. Koteneva, S. V. Rol respiratorno-sincitialnogo virusa krupnogo rogatogo skota v etiologii respiratornyh boleznej na molochnyh kompleksah / S. V. Koteneva, A. V. Nefedchenko, T. I. Glotova // Veterinariya segodnya. – 2021. – № 12. – S. 38-43. 2. Olson, A. Faktory riska pri respiratorno-sincitialnoj i koronavirusnoj infekcii krupnogo rogatogo skota / A. Olson // Veterinariya. – 2010. – № 8. – 11 s. 3. SHirvani, E. Epizootologicheskoe issledovanie ostryh respiratornyh zabolevanij krupnogo rogatogo skota v molochnom skotovodstve / E. SHirvani // Zdorove zhivotnyh. – 2012. – № 4. – S. 191–195. 4. Bermingham, A. The M2-2 protein of human respiratory syncytial virus is a regulatory factor involved in the balance between RNA replication and transcription / A. Bermingham, P. Collins // Proc. Natl. Acad. Sci., 1999. – Vol. 15, №9. – P. 59–64. 5. Bukreyev, A. The secreted form of respiratory syncytial virus G glycoprotein helps the virus evade antibody-mediated restriction of replication by acting as an antigen decoy and through effects on receptor-bearing leukocytes / A. Bukreyev, L. Yang, J. Fricke // J. Virol. – 2008. – Vol. 12, №11. – P. 191–204. 6. Karger, A. Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletions of the G or SH genes: G and F proteins binds heparin / A. Karger, U. Schmidt, U. Buchholz // J. Gen. Virol. – 2001. – Vol. 17, №10. – P. 31–40. 7. Schlender, J. Bovine respiratory syncytial virus nonstructural proteins NS1 and NS2 cooperatively antagonize alpha/beta interferon-induced antiviral*

response / J. Schlender, B. Bossert, U. Buchholz // J. Virol. – 2000. – Vol. 13, №1. – P. 34–42. 8. Schmidt, U. Mucosal immunization with live recombinant bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and recombinant BRSV lacking the envelope glycoprotein G protects against challenge with wild-type BRSV / U. Schmidt, J. Beyer, U. Polster // J. Virol. – 2002. – Vol. 6, №2. – P. 5–9. 9. Taylor, G. Recombinant bovine respiratory syncytial virus with deletion of the SH gene induces increased apoptosis and pro-inflammatory cytokines in vitro, and is attenuated and induces protective immunity in calves / G. Taylor, S. Wyld, J. Valarcher // J. Gen. Virol. – 2014. – Vol. 10, №8. – P. 44–54. 10. Valarcher, J. Evolution of bovine respiratory syncytial virus / J. Valarcher, F. Schelcher, H. Bourhy // J. Virol. – 2000. – Vol. 5, №3. – P. 14–28.

Поступила в редакцию 13.12.2022.

DOI 10.52368/2078-0109-2023-59-1-95-99
УДК 619:618.2:636.2

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ БЕРЕМЕННЫХ КОРОВ, ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К РАЗВИТИЮ ГЕСТОЗА

Михалёв В.И. ORCID 0000-0001-9684-4045, Савченко Л.В. ORCID 0000-0002-5378-4078, Сашнина Л.Ю. ORCID 0000-0001-6477-6156, Моргунова В.И. ORCID 0000-0002-7148-7624
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Российская Федерация

В статье представлены материалы изучения клинико-лабораторных показателей беременных коров в 60 дней гестации, предрасположенных к развитию гестоза. У коров с синдромом задержки развития плода в 2 месяца беременности, впоследствии осложнённым гестозом, установленные морфо-биохимические изменения свидетельствуют о нарушении у них белкового обмена, функционирования печени и почек, системы кровообращения, интенсивным накоплением продуктов ПОЛ, при снижении активности ферментативного и неферментативного звена АОЗ. Развитие синдрома задержки плода происходит на фоне нарушения трофики развивающегося зародыша, что клинически проявляется на ранних этапах беременности уменьшением полости рога плодовместилища на 22,2-34,2%, длины плода – на 41,5-48,9%, диаметра корпуса – на 19,9-28,9%, размеров жёлтого тела яичника – на 15,7-24,1%. ***Ключевые слова:*** *коровы, синдром задержки развития плода, гестоз, метрические показатели, морфо-биохимический статус.*

CLINICAL AND LABORATORY INDICATORS OF PREGNANT COWS PRONE TO THE DEVELOPMENT OF GESTOSIS

Mikhalev V.I., Savchenko L.V., Sashnina L.Yu., Morgunova V.I.
FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy", Voronezh, Russian Federation

The article presents materials on studying clinical and laboratory indicators of pregnant cows at 60 days of gestation, prone to the development of gestosis. In cows with the uterine fetal growth retardation syndrome at 2 months of pregnancy, subsequently complicated by gestosis, the established morphobiochemical changes indicate failures in the protein metabolism, functioning of the liver, kidneys, and the circulatory system. The changes also show an intensive accumulation of lipid peroxidation products, with a decrease in the activity of the enzymatic and non-enzymatic link of the AOD. The development of the fetal intrauterine growth retardation syndrome occurs against the background of a trophism disorders in the developing embryo. This at early stages of pregnancy is clinically manifested by a decrease in the size of the uterine horn cavity by 22.2-34.2%, the length of the fetus – by 41.5-48.9%, the body diameter – by 19.9-28.9%, the size of the corpus luteum of the ovary – by 15.7-24.1%. ***Keywords:*** *cows, fetal intrauterine growth retardation syndrome, gestosis, metrics, morphobiochemical status.*

Введение. Среди многочисленных проблем современного высокотехнологичного животноводства на одно из ведущих мест выдвигается проблема повышения плодовитости и сохранения продуктивного долголетия молочных коров, являющаяся основой для рентабельного ведения данной отрасли. Повышение плодовитости молочного скота сдерживается целым рядом факторов, главное место среди которых принадлежит нарушениям раннего эмбриогенеза – синдром задержки и гибель эмбриона и плода [1, 2]. Степень регистрации эмбриопатий в последнее время имеет тенденцию к увеличению, особенно у высокопродуктивных животных. Синдром внутриутробной задержки развития плода диагностируется у 28,7-35,9%, эмбриональная смертность – у 12,3-16,9% коров [3, 4].

Основной причиной развития эмбриопатий является нарушение синтеза прогестерона, являющегося основным гормоном беременности. Низкий уровень прогестерона в ранний период гестации не обеспечивает условия для питания развивающегося зародыша, что приводит к задержке развития или его гибели [5, 6].

В более поздние сроки гестации у животных диагностируется гестоз (поздний токсикоз беременных) – патологическое состояние беременных животных, проявляющееся синдромом полиорганной функциональной недостаточности. При гестозе в патологический процесс вовлекаются почки, пе-