



ВИРУС МИЕЛОБЛАСТОЗА ПТИЦ: ИНФЕКЦИОННАЯ И ЛЕЙКОМОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ

Н.Л.Галахарь

Сектор вирусологии

Институт цитологии и генетики СО РАН
630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10
тел.: (3832) 33–35–57, факс: (3832) 33–12–78
email: gLL@drbit.com.ru

Вирус птичьего миелобластоза (AMV), штамм ВА1-А, представляет собой вирусный сток, состоящий из репликативно дефектного, но онкогенного (онкоген V-myb) собственно AMV и двух вирусов-помощников MAV-1 и MAV-2 [1]. Вирус размножается в различных клетках птиц *in vivo* и *in vitro*, но трансформирует при этом только гематопозитические клетки миеломоноцитарного ряда [2]. При экспериментальном заражении цыплят AMV вызывает у них блок дифференцировки миеломоноцитарных клеток; при этом наблюдается зависимость от дозы заражения («доза-эффект»), возраста и генотипа цыплят [3]. С целью получения препаративных количеств вируса у зараженных цыплят собирают вирусосодержащую вирус плазму крови на пике развития острого миелобластного лейкоза.

Однако известно, что для некоторых вирусов лейкозно-саркоматозного комплекса птиц, к которому принадлежит и AMV, устойчивость к заражению и устойчивость к заболеванию – совершенно самостоятельные характеристики.

Устойчивость к заражению определяется, как правило, наличием вирусспецифических рецепторов на клеточной мембране, а устойчивость к заболеванию – целым комплексом иных механизмов.

Биологическая характеристика любого вируса – характеристика опосредованная, так как вирус проявляет свои биологические свойства [3] только во взаимодействии с клетками-мишенями на уровне клетки или организма.

Цель настоящей работы заключалась в сравнении биологических характеристик вируса птичьего миелобластоза, полученных на цыплятах разного генотипа и их клеточных культурах. Предметом нашего внимания являлись инфекционная и лейкомогенная активность AMV.

Инфекционную активность вируса определяли общепринятым методом и выражали через величину его титра в исследуемой системе *in vivo* или *in vitro* [4]. Активность первой стадии инфекционного процесса проверяли по величине адсорбции вируса на клетках кур исследуемых генотипов [5].

В работе использованы культуры клеток фибробластов куриных эмбрионов (ФЭК), культуры клеток желточного мешка эмбрионов (КЖМ) кур породы белый леггорн (линии Л₄, К₅), цветных сибирских кур (линии О и М), мини-кур (линии В₁₁, В₃₃) и бройлеров. Опыты *in vivo* проводились на цыплятах, перечисленных выше пород и линий в возрасте одних суток.

Методы заражения, титрования вируса, приготовления клеточных культур и учет результатов описаны в работе [5].

Спонтанная контаминация клеточных культур и цыплят вирусами лейкозно-саркоматозного комплекса контролировалась полученными ранее специфическими моноклональными антителами [6].

Лейкомогенную активность AMV определяли: *in vivo* – по числу цыплят, заболевших и погибших от острого миелобластоза при экспериментальном, строго дози-

рованном заражении; *in vitro* – по образованию фокусов трансформации при заражении различными разведениями AMV культуры КЖМ. Культура КЖМ представляет собой гетерогенную популяцию миеломоноцитарных клеток [7]. Использование культуры КЖМ, в которой вирус мог реализовать и инфекционную, и лейкомогенную потенции, позволило нам исключить многочисленные контролирующие механизмы микроокружения, присутствующие в организме, исключить различные гуморальные факторы.

Полученные данные представлены в таблицах. Результаты (табл. 1) продемонстрировали корреляцию инфекционной (выраженной через величину виремии и адсорбции) и лейкомогенной активностей вируса, опосредованных клетками-мишенями, организмом резистентных (цветные сибирские куры) и чувствительных (белые леггорны Л₄, К₅) кур. Частично эти данные были опубликованы нами ранее. Аналогичные результаты, полученные в экспериментах на других высоко- и низко-резистентных породах цыплят, известны [4, 8]. Цыплят мини-кур, линия В₁₁ можно по праву отнести к группе резистентных; в этой системе AMV проявил низкую инфекционную и лейкомогенную активность. Однако выявленное несоответствие активной фазы начальной инфекции (высокий % адсорбции) с последующим низким уровнем репликации AMV в организме и клетках кур В₁₁ требовало подтверждения результатов. Случайные причины, влияющие на эти показатели, были исключены в серии дополнительных опытов. В настоящее время у нас нет объяснения этому факту.

Таблица 1

Биологическая активность AMV в опытах *in vivo*

Породы и линии зараженных цыплят	Число заболевших, %	Величина адсорбции вируса, %	Титр вируса в плазме крови (ОТ)*	
Белый леггорн	Л ₄ К ₅	95,5±1,1 84,4±2,0	93±0,7 87±1,2	60,6 58,9
Цветные сибирские	О	54,0±3,1	27±1,0	12,1
	М	47,5±1,8	24,5±1,5	9,3
Мини-куры	В ₁₁	56,1±1,7	79,1±1,7	12,5
Бройлеры		94,2±1,0	22,6±2,1	8,7

*ОТ – удельная ревертазная активность суммарной плазмы крови, Нм/мг · мин.

При заражении цыплят-бройлеров и их клеток мы обнаружили своего рода «диссоциацию» двух составляющих биологическую характеристику AMV, его инфекционной и лейкомогенной активностей. При низком уровне адсорбции вируса на клетках бройлеров AMV репродуцировался в низких титрах, но проявлял при этом высокую лейкомогенность для цыплят.

Сравнительные исследования биологических свойств вируса миелобластоза в культурах КЖМ эмбрионов кур разных пород (линий) проводили с использованием для их заражения разных разведений AMV. Культура КЖМ позволяет учитывать одновременно инфекционную и онкогенную активности вируса при заражении. В таблице 2 показаны результаты этих опытов. Как и в экспериментах при заражении цыплят, выявлена корреляция инфекционной (число инфекционных центров) и трансформирующей (число фокусов трансформации) активностей AMV в культуре КЖМ из эмбрионов кур белых леггорнов (линия Л₄), цветных сибирских (линия М) и четкая зависимость «доза-эффект». Вместе с тем в культуре КЖМ мини-кур вирус проявил низкую и инфекционную, и трансформирующую активности, и меньшую зависимость от дозы заражения. Последнее выглядит, как и в опытах *in vivo* с использованием этой породы цыплят, несколько парадоксально, и пока мы не можем объяснить этот парадокс.

Таблица 2

Инфекционная и трансформирующая активность вируса в культуре клеток
желточного мешка эмбрионов кур разных пород и линий

Породы и линии эмбрионов источника – КЖМ	Разведение вируса, использованного для заражения	Число фокусов трансформации (подсчет прямой)	Инфекционные центры (подсчет прямой)*
Белый леггорн Л ₄	Ц	320±3	180±1,2
	10 ⁻¹	40±1,5	36±0,8
	10 ⁻²	5±0,3	4±0,3
	10 ⁻³	–	–
Цветные сибирские М	Ц	40±0,5	32±0,1
	10 ⁻¹	10±1,0	5±0,1
	10 ⁻²	1±0	1±0
	10 ⁻³	–	–
Мини-куры В ₁₁	Ц	20±1,0	20±0,2
	10 ⁻¹	20±1,0	20±0,3
	10 ⁻²	4±0	4±0
	10 ⁻³	1±0	1±0
Бройлеры	Ц	330±5,5	72±1,2
	10 ⁻¹	4,0±1,2	13±0,5
	10 ⁻²	1±0	–
	10 ⁻³	–	–

* Непрямой метод иммунофлюоресценции.

На культуре КЖМ бройлеров отмечена низкая репликативная активность вируса, но высокая трансформирующая. Число фокусов трансформации превышало таковое на культуре высокочувствительной линии Л₄ белых леггорнов. Эти результаты представлены графически (рис.).

Наблюдаемую «диссоциацию» инфекционной и лейкомогенной (трансформирующей) активностей AMV на цыплятах-бройлерах и их клетках можно связать с избирательной чувствительностью клеток именно этой породы кур к разным компонентам вирусного стока AMV. Это обстоятельство не мешает вирусу реализовать свои онкогенные потенции (за что ответственен сам AMV), но не позволяет активно репродуцироваться (кто виноват, MAV-1 или MAV-2?). Удовлетворительный уровень адсорбции вируса на клетках бройлеров исключает версию низкой плотности вирус-специфических рецепторов на мембране клеток бройлеров, снижение активности инфекционного процесса происходит, видимо, на более поздних стадиях.

Естественен вопрос, можно ли рассматривать инфекционную и онкогенную активности AMV при их «диссоциации» в клетках и организме кур определенного генотипа не только как звенья одного процесса, но и как проявление совершенно самостоятельных характеристик. Характеристики, зависящие от организма-хозяина, или вирус играет также определенную роль? Традиционно устойчивость к вирус-индуцированному процессу относят к характеристикам организма-хозяина, в котором вирус реализует свою биологическую программу [9]. Однако новые методические подходы позволили получить новую информацию. Так, точечная мутация в протеазе одного из представителей лейкозно-саркоматозного комплекса (VSR) увеличила его онкогенную активность, но снизила инфекционную [10].

Определенная самостоятельность инфекционной и онкогенной активностей ретровирусов птиц может представлять и практический интерес.

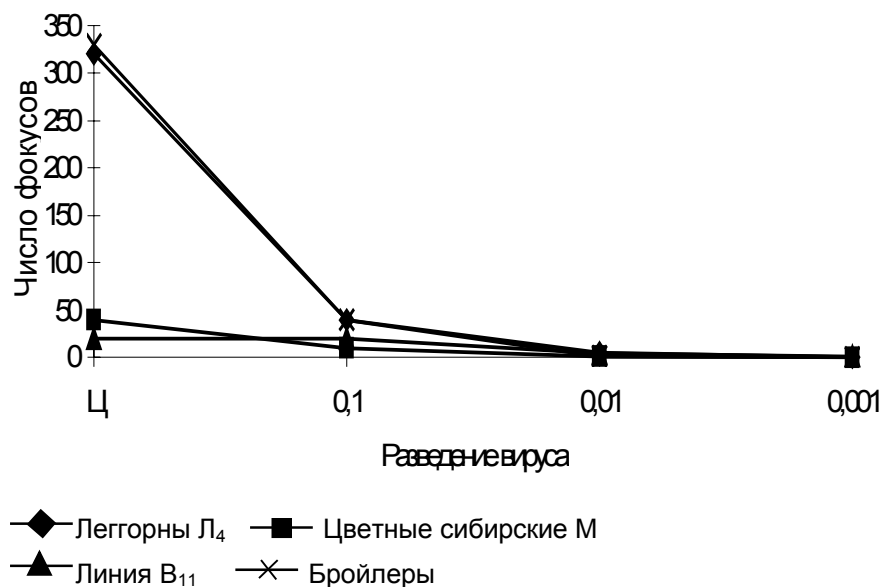


Рис. Фокусиобразующая активность вируса в культуре клеток желточного мешка эмбрионов разных линий кур.

В настоящее время вся селекционная работа с птицей направлена на отбор безвирусных пород. Это обстоятельство имеет большое значение для обеспечения эпизоотического благополучия, но отобранные таким образом особи могут оказаться при спонтанном заражении высокочувствительными к онкогенному действию вируса даже при его невысокой инфекционной активности.

Таким образом, AMV-индуцированный миелобластоз – это не только лейкоз, как результат блока вирусом дифференцировки мономиелоцитов и трансформация этих клеток в культуре, но и одновременно активная вирусная (AMV) инфекция.

При реализации биологической программы вируса на моделях разного генотипа имеют место как сочетание высокой инфекционной и высокой лейкомогенной активностей AMV, так и низкой инфекционной, но высокой лейкомогенной (трансформирующей).

Список литературы

1. Marcel A., Baluda E., Premkumar R. Anatomy of an integrated avian myeloblastosis provirus: structure and function // *Oncogene*. 1994. № 9. P. 2761–2774.
2. Vogt P.K., Koprowski H. Ed. *Retroviruses*. Berlin, 1983.
3. Baba F.W. Humphries E.H. Differential response to avian leukosis virus infection exhibited by two chicken lines // *Virology*. 1984. V. 135, № 1. P. 188–195.
4. Мейхи Б. ред. *Вирусология. Методы*. М., 1988. С. 52.
5. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. *Ветеринарная вирусология*. М.: Колос, 1984. С. 77.
6. Галахарь Н.Л., Дьяченко С.Н. Моноклональные антитела для индикации ретровирусов птиц // *Цитогенетика и биотехнология*. Ленинград. 1989. С. 141–146.
7. Shu-ling Fu, Lipsick J.S. Constitutive Expression of Full-Length c-Myb Transforms Avian Cell Characteristic of Both the Monocytic and Granulocytic Lineages // *Cell Growth Differentiation*. 1997. V. 8, № 1. P. 35–45.

8. *Olli Vainic, Beat A.* Immunology and Developmental Biology of the Chicken // Immunology today. 1995. V. 16. P. 365–370.
9. *Heider G., Möhring R., Peters K.F., Schulze G.* Untersuchungen zur Empfänglichkeit von Hühnerlinien nach experimenteller Infektion mit dem Virus der aviären Myeloblastose // Monatsh. Veterinärmed. 1978. Bd. 33, № 15. S. 574–576.
10. *Arad Gila, Chorev M., Shtorch A. et al.* Point mutation in avian sarcoma leukaemia virus protease which increase its activity, but impairs infectious virus production // J. Gen. Virol. 1995. V. 76, № 8. P. 1917–1925.