

ТРАНСФОРМАЦИЯ КЛЕТОК ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА – РЕАЛЬНЫЙ РИСК РАЗВИТИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

Хазипов Н.З.¹, Вафин Р.Р.^{1,2}, Шаева А.Ю.¹, Зайнуллин Л.И.²

¹ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань, Россия (420029, Казань, ул. Сибирский тракт, 35), nariman.xazipov@mail.ru

²ФГАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия (420008, Казань, ул. Кремлевская, 18)

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) – РНК-содержащий ретровирус, вместе с вирусом Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1 и HTLV-2) относится к семейству *Retroviridae*, подсемейству *Oncornaviridae*. ВЛКРС является возбудителем широко распространенной медленной инфекции лейкоза крупного рогатого скота. Это экзогенный вирус, в естественных условиях поражает только крупный рогатый скот. Вирус может размножаться в культурах клеток крупного рогатого скота, овцы, человека, обезьян, собаки, козы и лошади. В процессе патогенеза вызывает дестабилизацию генома клетки, что ведет к образованию синцития, активации *tax* гена, что обуславливает опухолевое перерождение клеточного генома. Указанные явления характерны не только для клеток крупного рогатого скота, но и имеют место при взаимодействии ВЛКРС с клетками других видов животных, в том числе и человека, т.е. при контакте ВЛКРС с клетками человека (в культуре клеток) происходит дестабилизация генома с различными изменениями хромосом. Это в свою очередь является причиной развития опухоли, т.е. трансформация клеток под действием ВЛКРС представляет собой реальный риск развития онкологических болезней человека.

Ключевые слова: ВЛКРС, онкология, геном, дестабилизация.

TRANSFORMATION OF CELLS UNDER THE INFLUENCE OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS IS A REAL RISK OF DEVELOPING THE ONCOLOGICAL DISEASES IN HUMANS

Khazipov N.Z.¹, Vafin R.R.^{1,2}, Shaeva A.Y.¹, Zaynullin L.I.²

¹«Kazan state academy of veterinary medicine», Kazan, Russia (420029, Kazan, Sibirsky Tract, 35), nariman.xazipov@mail.ru

²«Kazan (Volga region) federal university», Kazan, Russia (420008, Kazan, Kremlyovskaya St, 18)

Bovine leukemia virus (BLV) is a RNA-containing retrovirus, with a human T-lymphotropic virus (HTLV-1 and HTLV-2) belongs to the family *Retroviridae*, subfamily *Oncornaviridae*. BLV is the causative agent of widespread slow infection of bovine leukemia. This exogenous virus in natural conditions affects only cattle. The virus can replicate in cell cultures of cattle, sheep, human, monkeys, dogs, goats and horses. During the pathogenesis causes destabilization of the cell genomes, that leads to the formation of syncytia, activation of *tax* gene that causes malignant transformation of a cell genome. These effects are not unique to cells in cattle, but also occur when BLV interaction with cells of other species of animals, including humans, i.e. BLV in contact with human cells (in cell culture) destabilizes the genome with various chromosome changes. This in turn is causing the development of a tumor, i.e. transformation of cells by BLV represents a real risk of developing the oncological diseases in humans.

Keywords: BLV, oncology, genome, destabilization.

Вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) – РНК-содержащий ретровирус, вместе с вирусом Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1 и HTLV-2) относится к семейству *Retroviridae*, подсемейству *Oncornaviridae*. ВЛКРС является возбудителем широко распространенной медленной инфекции лейкоза крупного рогатого скота. Это экзогенный вирус, в естественных условиях поражает только крупный рогатый скот. Вирус может размножаться в культурах клеток крупного рогатого скота, овцы, человека, обезьян, собаки,

kozy и лошади. При контакте с инфицированным крупным рогатым скотом вирус может передаваться буйволу, овце, зебу. В экспериментальных условиях чувствительными к инфекции оказались буйвол, овца, коза, свинья, лошадь, кролик, обезьяны. Вопрос о способности вируса передаваться человеку остается открытым [1]. О возможности заражения человека вирусом лейкоза крупного рогатого скота представлены сведения в обзорах M.J. BurrIDGE (1981) [11], Е.А. Климова и Г.Ю. Косовского (2012) [2].

Изучена антигенная активность белков ВЛКРС и установлено, что антитела, образующиеся против белков ВЛКРС, перекрестно реагируют с антигенами вируса лейкоза человека и иммунодефицита (ВИЧ). Так, Т.Р. Якуповым и др. (2007) [5] установлено, что антитела против антигенов ВЛКРС перекрестно реагируют с антигенами как структурных (p24/25), так и неструктурных белков гена ВИЧ в иммунохимической реакции, и на разных стадиях развития иммунитета при лейкозе крупного рогатого скота спектр свободно циркулирующих в сыворотке крови антител меняется.

Под эгидой Национального ракового института (США) в штате Айова проведен эпидемиологический мониторинг по выявлению связи между лейкемией человека, популяцией крупного рогатого скота и лимфосаркомой коров. Оказалось, что большую часть случаев лейкемии у человека составляют лимфоидные формы. Острая лимфоидная лейкемия чаще всего встречается в возрасте до 20 и после 60 лет среди мужчин сельской местности, особенно в местах разведения молочного скота, причем существует положительная корреляция между количеством заболевания острой лимфоидной лейкемией людей и наличием стад животных с лимфосаркомами [12].

Известно также, что работники, контактирующие с инфицированным ВЛКРС мясом, в три раза больше рискуют заболеть миелоидной лейкемией, чем контрольные [15]. Кроме того, рабочие мясоперерабатывающих производств больше рискуют болеть раком легких, чем контрольные [14].

В исследованиях G.C. Buehring et al. (2001) [7] показано, что в сыворотке крови людей обнаруживаются антитела к вирусу лейкоза крупного рогатого скота, а с помощью полимеразной цепной реакции эти авторы выявили ВЛКРС в 27 случаях из 30 раковых опухолей груди женщин. С использованием высокочувствительного метода иммуноблотинга G.C. Buehring et al. (2003) [9] исследовали сыворотки крови 257 человек на содержание 4-х изоформ (IgG, IgM, IgA, IgG₄) антител на капсидный (p24) антиген вируса лейкоза крупного рогатого скота. Было установлено, что 74 % исследованных сывороток содержат антитела на капсидный антиген ВЛКРС.

Работами G.C. Buehring et al. (2007) [8] установлено, что из 213 исследованных методом *in situ* PCR ДНК ВЛКРС обнаруживается чаще (59 %) у больных раком молочной

железы женщин, чем из тканей молочной железы женщин, свободных от этой болезни (29 %).

G. Mesa et al. (2013) [17] исследовали методом ПЦР ткани молочной железы у женщин и установили, что в 106 пробах ткани молочной железы в 43 случаях выявляется сегмент гена ВЛКРС, в том числе в 19 пробах в тканях, пораженных раком, в 24 пробах без признаков рака молочной железы. Отрицательный результат на ВЛКРС был в 34 пробах с явлениями рака молочной железы и в 29 случаях без явлений рака молочной железы. Средний возраст женщин составлял 46,4 года пациентов с раком молочной железы и 52,2 года – без явлений рака молочной железы.

Обнаружение в перекрестной реакции антигена ВЛКРС с антителами HTLV-1, и наоборот, объясняется сходством первичной структуры белка. Так, первичная структура р30 (*env*) ВЛКРС имеет 36 % идентичности в аминокислотной последовательности соответствующего белка р24 (*env*) вируса Т-клеточного лейкоза человека [4].

Рассматривая функциональную роль отдельных генов ВЛКРС, следует отметить, что длинные концевые повторы (LTR), состоящие из 530 пар нуклеотидов, так же как у возбудителя лейкоза человека (HTLV1 и HTLV2), выполняют роль усилителя транскрипции – увеличивают экспрессию гена (*tax*-ген). ВЛКРС не содержит нуклеотидных последовательностей клеточных онкогенов и, как результат, не экспрессируется ни в свежих опухолевых клетках, ни в неопластических лимфоцитах, культивируемых *in vitro* как постоянная линия клеток. Другие вирусные гены, кодирующие структурные белки, *gag* и *env*, не экспрессируются в опухолевых клетках [10]. ВЛКРС не содержит ген *onc*, кодирующий специфический белок, трансформирующий клетки, однако он может трансформировать клетки путем активации клеточных генов, что сопровождается высоким уровнем трансформирующего белка, в результате чего следует пролиферация клеток, ведущая к развитию опухоли [4].

Моноклональные антитела к gp51 ВЛКРС взаимодействуют с 8 независимыми эпитопами на молекуле белка, из которых 3 эпитопа (F, G, H) являются биологически активными, определяющими инфекционность вируса и способность вируспродуцирующих клеток формировать синцитий [6].

В антигенном отношении ВЛКРС отличается от известных ретровирусов типа С и присутствует у инфицированных животных в непродуктивном состоянии. Отсутствие экспрессии генома ВЛКРС при наличии транскрипционных провирусов в опухолевых клетках дало возможность предположить, что причиной опухолевой трансформации клеток вирусом лейкоза крупного рогатого скота является нарушение структуры клеточного генома [18]. Наличие антител не предотвращает развитие опухолей. ВЛКРС репродуцируется в

перевиваемых хронически инфицированных культурах клеток тканей животных разных видов. Наибольшее распространение в мире имеет перевиваемая линия клеток FLK-BLV [19], полученная путем сокультивирования эмбриональных клеток почки овцы с лимфоцитами лейкозной коровы. Репликация ВЛКРС в культурах клеток не ведет к деструкции чувствительных клеток и разрушению монослоя, однако, в отличие от других известных ретровирусов, ВЛКРС индуцирует образование синцитиев в монослойных культурах нетрансформированных клеток крупного рогатого скота, овец, коз, человека, обезьян и летучих мышей. Наиболее чувствительными клетками-мишенями являются монослойные культуры клеток селезенки эмбриона крупного рогатого скота, на ранних пассажах. Инфицированные ВЛКРС клетки индуцируют формирование синцитиев в монослойных культурах клеток крыс, трансформированных вирусом саркомы Рауса. Бесклеточные препараты ВЛКРС также индуцируют образование синцитиев в чувствительных клетках. Ультрафиолетовое облучение, обработка ультразвуком, прогревание при 56 °С в течение 30 минут, замораживание и оттаивание полностью инактивируют синцитиообразующую активность ВЛКРС [4]. Способность ВЛКРС индуцировать в монослойных культурах клеток образование синцитиев (многоядерных клеток) была использована для разработки специфичного и чувствительного диагностического теста для выявления ВЛКРС [3].

Каждый очаг синцития является результатом действия одной биологически активной инфекционной вирусной частицы и представлен поликариоцитом в результате слияния 5–25 клеток [13]. *Tax* ген ВЛКРС синтезирует большой онкобелок, который ведет к каскаду реакций, ведущих к развитию опухоли, хотя основы трансформации клеточного генома остаются неизученными [16]. Авторы использовали микрочипы для идентификации изменений транскрипции *tax*-гена в двух системах культуры В-клеток лимфоцитов – овец и человека, инфицированных ретровирусом. Применяли микрочипы к-ДНК с известной последовательностью (секвенированные), сравнивали 10336 экспрессированных генов человека, отмечали при этом экспрессию различных генов, включая гены, связанные с апоптозом, ДНК-транскрипцией и репарацией, протоонкогеном, регуляторами клеточных циклов и др. [16]. Гены, связанные с неоплазией, гены малигнизации В-клеток были экспрессированы интенсивно. Эти результаты доказывают, что *tax*_{BLV}-ген нарушает регуляцию внутриклеточных связей раньше, чем простые регуляторные процессы В-лимфоцитов [16].

Следует отметить, что в настоящее время лейкоз является наиболее распространенной вирусной инфекцией крупного рогатого скота. Так, по данным ветеринарной службы Республики Татарстан РФ за 2010 год, инфицированность ВЛКРС в среднем составляла 15,3

% всего поголовья крупного рогатого скота, в том числе: в Пестречинском, Бугульминском, Лениногорском и Мамадышском районах свыше 30 %, в 15-ти районах – 21–30 % поголовья крупного рогатого скота. По данным Минздрава РТ, заболеваемость населения раком молочной железы на 100 тысяч населения составляет в среднем 320, с колебаниями от 130 до 380 в отдельных районах. По средним данным степень инфицированности вирусом лейкоза крупного рогатого скота не коррелирует со степенью заболеваемости и распространенностью рака молочной железы, однако, этот вопрос требует более детального анализа с учетом контакта человека с инфицированными животными и продуктами животноводства.

Обобщая вышеизложенное, можно заключить, что ВЛКРС является возбудителем лейкоза крупного рогатого скота, в процессе патогенеза вызывает дестабилизацию генома клетки, что ведет к образованию синцития, активации *tax* гена, что обуславливает опухолевое перерождение клеточного генома. Указанные явления характерны не только для клеток крупного рогатого скота, но и имеют место при взаимодействии ВЛКРС с клетками других видов животных, в том числе и человека, т.е. при контакте ВЛКРС с клетками человека (в культуре клеток) происходит дестабилизация генома с различными изменениями хромосом. Это в свою очередь является причиной развития опухоли, т.е. трансформация клеток под действием ВЛКРС представляет собой реальный риск развития онкологических болезней человека.

Список литературы

1. Гулюкин, М.И. Экспериментальное заражение кроликов вирусом лейкоза крупного рогатого скота / М.И. Гулюкин, Л.А. Иванова, Е.А. Шишкина, А.В. Шишкин, Л.Б. Прохватилова // Ветеринария. – 2008. – № 11. – С. 23-27.
2. Климов, Е.А. К вопросу о возможности заражения человека вирусом лейкоза крупного рогатого скота / Е.А. Климов, Г.Ю. Косовский // Ветеринарная медицина. – 2012. – № 2. – С. 9-10.
3. Крикун, В.А. Специфическая профилактика лейкоза крупного рогатого скота. / В.А. Крикун, Т.В. Щекотурова // Бюлл. ВИЭВ. – 1996. – В. 77. – С. 49-51.
4. Сюрин, В.Н. Лейкоз крупного рогатого скота / В.Н. Сюрин и др. // Ветеринарная вирусология. – М., 1998. – С. 383-404.
5. Якупов, Т.Р. Изучение активности антител против ВЛКРС в иммунохимической реакции с антигенами ВИЧ / Т.Р. Якупов, Н.З. Хазипов, В.П. Коксин // Вятский медицинский вестник. – 2007. – № 4. – С. 79-80.

6. Bruck, C. Monoclonal antibodies define eight independent antigenic regions on the bovine leukemia virus (BLV) envelope glycoprotein gp51 / C. Bruck, S. Mathot, D. Portetelle, C. Berte, J.D. Franssen, P. Herion, A. Burny // *Virology*. – 1982. – V. 122. – P. 342-352.
7. Buehring, G.C. Bovine leukemia virus in human breast tissues / G.C. Buehring, K.Y. Choi, H.M. Jensen // *Breast Cancer Res.* – 2001. – 3 (Suppl. 1): A14.
8. Buehring, G.C. Bovine leukemia virus infection is significantly associated with risk of breast cancer / G.C. Buehring, H.M. Shen, H.M. Jensen, G. Block // *Proc. American Assoc. Cancer Res.* – 2007. – V. 48. – P. 1747.
9. Buehring, G.C. Humans have antibodies reactive with Bovine leukemia virus. / G.C. Buehring, S.M. Philpott, K.Y. Choi // *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* – 2003. – V. 19. – P. 1105-1113.
10. Burba, L.G. Principles of hemoblastosis control in cattle using serological study methods / L.G. Burba, V.P. Shishkov // *Arch. Exp. Veterinarmed.* – V. 40. – N. 3. – P. 313-316.
11. BurrIDGE, M.J. The zoonotic potential of bovine leukemia virus. / M.J. BurrIDGE // *Vet. Res. Commun.* – 1981. – V. 5. – P. 117-26.
12. Donham, K.J. Epidemiologic relationships of the bovine population and human leukemia in Iowa / K.J. Donham, J.W. Berg, R.S. Sawin // *Am. J. Epidemiol.* – 1980. – V. 112. – P. 80-92.
13. Guilleman, B. et al. 5 inter. symp. on bovine leukosis. Tubingen, 1984.
14. Johnson, E.S. Cancer mortality among workers in abattoirs and meatpacking plants: an update / E.S. Johnson, D. Dalmas, J. Noss, G.M. Matanoski // *Am. J. Ind. Med.* – 1995. – V. 27. – P. 389-403.
15. Johnson, E.S. Occurrence of cancer in women in the meat industry / E.S. Johnson, H.R. Fischman, G.M. Matanoski, E. Diamond // *Br J Ind Med.* – 1986. – V. 43. – P. 597-604.
16. Klener, P. Insights into gene expression changes impacting B-cell transformation: cross-species microarray analysis of bovine leukemia virus tax-responsive genes in ovine B cells / P. Klener, M. Szynal, Y. Cleuter, M. Merimi, H. Duvillier, F. Lallemand, C. Bagnis, P. Griebel, C. Sotiriou, A. Burny, P. Martiat, A. Van den Broeke // *J. Virol.* – 2006. – V. 80. – P. 1922-1938.
17. Mesa, G. Bovine Leukemia Virus Gene Segment Detected in Human Breast Tissue / G. Mesa, J.C. Ulloa, A.M. Uribe, M.F. Gutierrez // *Open Journal of Medical Microbiology.* – 2013. – V. 3. – P. 84-90.
18. Van den Broeke, A. Even transcriptionally competent proviruses are silent in bovine leukemia virus-induced sheep tumor cells / A. Van den Broeke, Y. Cleuter, G. Chen, D. Portetelle, M. Mammerickx, D. Zagury, M. Fouchard, L. Coulombel, R. Kettmann, A. Burny // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 1988. – V. 85. – P. 9263-9267.

19. Van Der Maaten, M.J. Replicating type-C virus particles in monolayer cell cultures of tissues from cattle with lymphosarcoma / M.J. Van Der Maaten, J.M. Miller, A.D. Boothe // J. Natl. Cancer Inst. – 1974. – V. 52. – P. 491-497.

Рецензенты:

Госманов Р.Г., д.вет.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, г. Казань.

Ахметов Т.М., д.б.н., доцент кафедры технологии животноводства Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана, г. Казань.