

## ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРИРОДНОГО ШТАММА ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

© 2020 г. Е. В. Шекунов<sup>1</sup>, \*, К. С. Юрченко<sup>1</sup>, А. М. Шестопапов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, 630117 Россия

\*E-mail: egor\_shekunov@mail.ru

Поступила в редакцию 16.08.2019 г.

После доработки 05.11.2019 г.

Принята к публикации 11.11.2019 г.

Онколитические вирусы болезни Ньюкасла (ВБН) представляют одну из непатогенных для человека групп противоопухолевых агентов для экспериментального лечения онкологических заболеваний. Известно, что реализация цитотоксического эффекта штаммов ВБН на опухолевые клетки зависит от особенностей строения вирусного генома, вирулентности штамма и культуры опухолевых клеток (НИН, 2018). При этом механизм ВБН-индуцированной гибели недостаточно изучен. Цель данной работы заключалась в исследовании характера морфологических изменений в опухолевых клетках человека HeLa и Hep-2 (дери́ват HeLa) после инфицирования природным мезогенным штаммом ВБН NDV/Altai/pigeon/770/2011. Подсчет живых опухолевых клеток с помощью МТТ-теста показал, что через 144 ч после инфицирования цитотоксическая активность штамма NDV/Altai/pigeon/770/2011 снижает жизнеспособность клеток до  $13.08 \pm 8.29\%$  (HeLa) и  $4.74 \pm 3.29\%$  (Hep-2 – дериват HeLa). Рутинное окрашивание выявило морфологические признаки деградации зараженных клеток, а морфометрические исследования – увеличение значения ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО). Наличие вируса в опухолевых клетках визуализировано методом иммуноцитохимического окрашивания (ИЦХ) с помощью антител к HN гликопротеину оболочки ВБН. Результаты иммунодетекции фактора некроза опухоли-альфа (TNF $\alpha$ ) позволяют предположить активацию клеточной гибели по пути апоптоза на фоне вирусной инфекции. Полученные результаты свидетельствуют о выраженной цитотоксической активности природного штамма NDV/Altai/pigeon/770/2011 в отношении клеток аденокарциномы HeLa и Hep-2 (дери́ват HeLa) и чувствительности исследуемых клеточных линий к онколитическому действию ВБН.

**Ключевые слова:** вирус болезни Ньюкасла, цитотоксическое действие, опухолевые клетки, апоптоз

**DOI:** 10.31857/S0041377120020066

Применение онколитических вирусов является перспективным методом лечения онкологических заболеваний, вследствие способности вирусных частиц оказывать таргетное цитолитическое воздействие на клетки опухоли, не поражая при этом здоровые клетки. Одним из виротерапевтических агентов является вирус болезни Ньюкасла (ВБН). ВБН относится к парамиксовирусам птиц (род *Avulavirus*, семейство *Paramyxoviridae*), содержит одноцепочечную негативную РНК размером около 15 т. п. о. (Miller et al., 2010). Преимущества данного вируса для виротерапии заключаются в высокой стабильности генома, отсутствии взаимодействия с ДНК клетки-хозяина, слабых побочных эффектах у онкологических больных (Zhao, Liu, 2012). Описаны процессы проникновения вируса в клетку, его репликации

(Puhlmann et al., 2010), однако, механизмы клеточной гибели на фоне онколитической активности ВБН остаются малоизученными. До сих пор поступают противоречивые сообщения о том, какой именно из механизмов является лидирующим. В одном из исследований лентогенного штамма ВБН Hitchner V1 было отмечено, что опухолевые клетки погибают путем вирусопосредованной активации некроптоза (Koks et al., 2015). Анализ клеток A549, инфицированных тремя различными штаммами ВБН: LaSota (лентогенный), Beaudette C (мезогенный) и FMW (велоогенный), продемонстрировал активацию как внешних, так и внутренних апоптотических путей (Bian et al., 2011), в то же время эти данные противоречат результатам, согласно которым лентогенный штамм LaSota в клетках немелкоклеточного рака легкого человека A549 вызывал процесс митофагии с последующим ингибированием апоптоза (Cuadrado-Castano et al., 2015). Такая неоднозначная клиническая картина при использовании

**Принятые сокращения:** ВБН – вирус болезни Ньюкасла, ИЦХ – иммуноцитохимическое окрашивание, ЯЦО – ядерно-цитоплазматическое отношение, TNF $\alpha$  – фактор некроза опухоли-альфа.