

Оценка цитопатического эффекта мезогенного штамма вируса болезни Ньюкасла при трансдукции опухолевых клеток человека

Научный руководитель – Шестопалов Александр Михайлович

Шекунов Егор Вячеславович

Аспирант

Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины,
Новосибирск, Россия

E-mail: e.shekunov@alumni.nsu.ru

В современном мире для борьбы с онкологическими заболеваниями существует ряд методик, к которым можно отнести резекцию, химио- и лучевую терапию, а также использование онколитических вирусов. Одним из таких вирусов является вирус болезни Ньюкасла (ВБН). Он относится к семейству *Paramyxoviridae* и способен таргетно поражать опухолевые клетки из-за нарушенного в них механизма интерферонового ответа.

Цель работы: Изучить цитопатический эффект штамма ВБН NDV/Altai/pigeon/770/2011 на опухолевые клетки в системе *in vitro*.

В данной работе был исследован цитопатический эффект мезогенного дикого штамма ВБН NDV/Altai/pigeon/770/2011. Эффективность изучаемого штамма *in vitro* оценивали на линиях опухолевых клеток человека: HeLa (аденокарцинома шейки матки) и Her-2 (аденокарцинома гортани) с помощью МТТ- теста через 24,72 и 144 часа. Производили подсчет ядерно-цитоплазматического отношения по истечению 24 и 72 часов ($ЯЦО = Sя/Sц$, где $Sя$ это площадь ядра, а $Sц$ это площадь цитоплазмы) при рутинном окрашивании. Детекция ВБН и типа апоптоза производилась с помощью непрямого иммуноцитохимического окрашивания через 24 часа с использованием набора Rabbit specific HRP/DAB (ABC) Detection IHC Kit ab64261 и поликлональных антител (IgG фракция кроличьих антисывороток), полученных из крови иммунизированных штаммом NDV/Altai/pigeon/770/2011 животных (1:500), а так же моноклональных Anti-TNF alpha antibody ab6671, Anti-Bcl-2 antibody ab59348 (1:50). Результаты ММТ-теста и ЯЦО статистически обрабатывали с помощью t-критерия Стьюдента (различие считалось достоверным при $p < 0,05$).

Данные МТТ- теста свидетельствуют, что уровень максимальной клеточной гибели фиксируется через 144 часа, составляя 82% для клеток HeLa и 88% у клеток Her-2. В свою очередь, морфологические изменения, заключаются в снижении объемов цитоплазмы, изменении клеточной формы, увеличении размеров ядер, а так же приобретении характерной вирусной зернистости. Данные клеточные перестройки отражаются в подсчетах ЯЦО, которое возрастает для клеток HeLa на 62%, а для линии Her-2 на 126%. Далее нами была подтверждена способность ВБН поражать опухолевые клетки, а так же проведена оценка превалирующего пути клеточной гибели. Для обеих клеточных линий рецептор опосредованный путь апоптоза являлся основным, так как была отмечена активация белкового фактора апоптоза $TNF\alpha$, в то время как активация Bcl-2 отсутствовала.

Таким образом, клеточная линия Her-2 более чувствительна к цитопатическому действию штамма NDV/Altai/pigeon/770/2011. При воздействии ВБН в обеих клеточных линиях на раннем этапе преобладает рецептор-опосредованный путь апоптоза.