

Секция II

НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ИССЛЕДОВАНИИ ВИРУСОВ И ИХ РОЛИ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОПУХОЛЕЙ

Delivery of oncolytic alphavirus into mouse mammary tumor using functionalised magnetic nanoparticles

A. Zajakina, B. Ķūrēna, A. Ezerta, D. Zhulenkov

Latvian Biomedical Research and Study Centre, Riga

The recombinant alphaviruses have a potential to be used for development of efficient self-amplifying RNA vaccines for cancer treatment. The advantages of such type of genetic vaccines are the high level of biosafety, efficient p53 independent transgene expression in cancer cells and low anti-vector immunity for re-administration, comparing to virus particles. However, the application of high virus titres *in vivo* leads to broad distribution of the vector. One solution is to reduce the virus dose and at the same time to enhance the vector targeting and transduction capacity. In this study we applied superparamagnetic nanoparticles (MNPs) to increase the efficiency of Semliki Forest virus (SFV) transduction of TS/A mouse mammary carcinoma cells.

The MNPs/virus complexes, which were formed by electrostatic and hydrophobic interactions between SFV and magnetic core coated with different types of polymers, are easy to generate in contrast to specific ligand – ligand interaction-based complexes requiring chemical modification of the virus and nanoparticles. Among nanoparticles, which were tested in this study, the highest enhancements of SFV transduction have demonstrated two positively charged MNPs types coated with biodegradable aminosilane and chitosan molecules, respectively. Moreover, the method for vector concentration by magnetic nanoparticles was developed. The site specific targeting of magnetically labelled virus particles through externally applied magnetic field gradient was demonstrated *in vivo* in a mouse TS/A breast cancer model.

The proposed mode of SFV magnetic targeting is a promising strategy for controlling the biodistribution

of the vector in clinical applications. Furthermore, the iron accumulation can be clearly visualized by MRI, providing therefore additional vector tracking possibilities.

The viral theory of cancer revisited: a role for the nuclear organization in human lymphomas

T. Tsfasman^{1,2}, D. Germini^{1,2}, R. El-Amine^{1,2}, O. Yarovaia^{1,2}, S. Bury-Moné³, M. Lipinski¹, Y.S. Vassetzky¹

¹UMR8126, Université Paris-Sud, CNRS, Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France;

²CNRS LIA1066 “Laboratoire Franco-Russe de Recherche en Oncologie”, Villejuif, Moscow;

³Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow

Background. Environmental factors play an important role in most human cancer. Burkitt’s lymphoma (BL), a rare B-cell lymphoma caused by specific chromosomal translocations resulting in the juxtaposition of the CMYC oncogene with an immunoglobulin gene locus, is a typical example of cancer strongly affected by environmental factors. BL is associated with the Epstein – Barr virus, human immunodeficiency virus (HIV), malaria and exposure to a *Euphorbiaceae* plant. The molecular mechanisms of these environmental factors remain largely unknown.

Results. One of the major enigmas to solve is why all these factors specifically induce Burkitt’s lymphoma, and no other malignancies? Our data indicate that these factors perturb the nuclear organization of B-cells inducing the prolonged co-localization of potential translocation partners, the IGH and CMYC loci.

Conclusions. HIV and EBV induce changes in the nuclear architecture of B cells. This may specifically provoke BL-specific translocations.

Эпигенетическая регуляция вирусной инфекции

С.В. Винокурова¹, М.Д. Фёдорова¹, В.Г. Хоменков¹,
Л.С. Павлова¹, Н.П. Киселёва¹,
М. фон Кнебель Доберитц², Ф.Л. Киселёв¹

¹Научно-исследовательский институт канцерогенеза ФГБУ
«РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²Гейдельбергский университет, Германия

Актуальность. Вирусы папилломы человека (ВПЧ) высокого риска являются этиологическим фактором рака шейки матки. Нормальный вирусный цикл тесно связан с процессом дифференцировки плоскоклеточного эпителия. Трансформация эпителия инициируется повышенной экспрессией вирусных онкогенов E6 и E7. Однако молекулярные механизмы дерегуляции экспрессии вирусных онкогенов остаются недостаточно изученными. ДНК-метилирование необходимо для регуляции экспрессии и обеспечения репликации многих ДНК-вирусов.

Целью исследования является изучение роли метилирования регуляторных последовательностей ВПЧ 16-го типа генома на экспрессию вирусных онкогенов.

Материалы и методы. Для выделения ДНК использовали клинические образцы тканей пациентов, содержащие интраэпителиальные неоплазии и инвазивные карциномы шейки матки, а также прилегающий нормальный эпителий шейки матки. Верификацию участков эпителия с трансформированным эпителием проводили с помощью иммуногистохимического анализа экспрессии p16^{INK4A}. Специфические участки эпителия выделяли методом микродиссекции. Анализ метилирования ВПЧ проводили методом бисульфитного секвенирования с использованием праймеров, перекрывающих регуляторную область ВПЧ (upstream regulatory region, URR). Эффект метилирования на активность URR оценивали путем введения селективного метилирования сайтов связывания транскрипционных факторов и последующего измерения экспрессии генов-репортеров и вирусных онкогенов.

Результаты. Установлено, что паттерн метилирования вирусного генома специфически меняется в процессе дифференцировки плоскоклеточного эпителия. Кроме того, показано, что уровень метилирования URR ВПЧ 16-го типа возрастал в трансформированном эпителии по сравнению с нормальным, в особенности — в сайтах связывания вирусного белка E2, являющегося ключевым вирусным фактором регуляции вирусной транскрипции и репликации. Было установлено, что метилирование одного из сайтов связывания E2 приводит к существенной активации вирусного промотора и увеличению (до 5 раз) экспрессии вирусных онкогенов.

Выводы. Полученные данные позволяют предположить, что метилирование URR ВПЧ 16-го типа яв-

ляется важным механизмом регуляции экспрессии вирусных генов во время нормального вирусного цикла. Кроме того, метилирование сайтов связывания вирусного белка E2 может приводить к активации вирусного промотора и повышенной экспрессии вирусных онкогенов.

Инфицированность вирусами папилломы человека больных воспалительными и хроническими заболеваниями миндалин

О.Ю. Дворянинова¹, Н.В. Литвяков^{1,2}, Е.Л. Чойнзонов^{1,3}

¹ФГБНУ «Томский НИИ онкологии»;

²ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский
Томский государственный университет»;

³ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский
университет» Минздрава России, Томск

Актуальность. Известно, что в 50–85 % случаев рак миндалин (РМ) ассоциирован с инфицированностью вирусами папилломы человека (ВПЧ), тогда как у здоровых лиц и пациентов с инволютивными миндалинами ВПЧ не обнаруживают. Из вышесказанного можно сделать вывод о причастности ВПЧ к инициации/прогрессии злокачественного процесса миндалин.

Цель исследования — оценить частоту встречаемости ВПЧ-позитивной рецидивирующей формы ангины (РФА), хронического декомпенсированного тонзиллита (ХДТ) и папилломатоза миндалин (ПМ) в сопоставительном аспекте с клинико-анамнестическими показателями заболевания.

Материалы и методы. Изучена частота встречаемости ВПЧ 6, 11, 16 и 18-го типов в патологически измененной ткани миндалин у больных с РФА ($n = 5$), ХДТ ($n = 32$) и ПМ ($n = 7$). Контрольная группа представлена 56 лицами без морфологических изменений ткани миндалин. Типирование ВПЧ проведено с использованием коммерческих наборов фирмы «Амплисенс» (ФГУН ЦНИИЭ, Москва).

Результаты и обсуждение. ДНК ВПЧ была выявлена в ткани миндалин 20 % больных РФА, 72 % — ПМ; у больных ХДТ ДНК ВПЧ обнаружено не было. У 1 пациента с РФА обнаружена микст-инфекция из 3 типов ВПЧ (6, 11 и 18), у больных ПМ случаи микст-инфекции были зарегистрированы в 3 раза чаще: у 2 в ткани папилломы определены ВПЧ-6 и -11, и у 1 — ВПЧ-16 и -18. Случаи детекции моноинфекции ВПЧ-6 были характерны только для больных ПМ. В контрольной группе микст-инфекция обнаружена в 3 случаях: в 2 — ВПЧ-6 и -11 и в 1 — ВПЧ-31 и -33. Статистически значимых различий в частоте инфицированности ВПЧ ткани миндалин между группой пациентов с хроническими заболеваниями и контрольной группой не выявлено ($p \geq 0,05$). Таким образом, вклад ВПЧ в иници-

ацию ПМ очевиден, тогда как вопрос о его участии в индукции РФА и ХДТ остается открытым.

Частота выявляемости некоторых вирусов у больных раком мочевого пузыря

И.В. Косова¹, О.Б. Лоран², Л.А. Сняжкова², Л.В. Гундорова³, В.А. Косов⁴, Д.Н. Колбасов¹, П.П. Коростелкин¹

¹Урологическое отделение ГБУЗ «Городская клиническая больница № 68 Департамента здравоохранения г. Москвы»;

²кафедра урологии и хирургической андрологии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия

последипломного образования» Минздрава России, Москва;

³патологоанатомическое отделение ГБУЗ ГКБ № 68 ДЗМ;

⁴ГУ «Коми республиканский онкологический диспансер», Сыктывкар

Цель — установить процент выявляемости вирусных ДНК в ткани опухоли мочевого пузыря.

Материалы и методы. Проведено обследование и лечение 79 больных раком мочевого пузыря (58 мужчин и 21 женщина) в возрасте от 38 до 90 лет (средний возраст 65 ± 10 лет). Выполнено стандартное обследование. Ткань опухоли взята для диагностики наличия вирусов методом полимеразной цепной реакции: вируса простого герпеса (HSV) 1-го и 2-го типов, вируса папилломы человека (HPV), цитомегаловируса (CMV), вируса Эпштейна–Барр (EBV).

Результаты. Наличие вирусных ДНК в ткани опухоли было выявлено у 23 (29,1 %) больных. У 15 пациентов в опухоли отмечено наличие ДНК EBV, у 2 — CMV, в 3 случаях — HPV высокого онкогенного риска (типы 16, 39, 45, 52, 59), в 1 — HSV 1-го и 2-го типов. В 2 случаях выявлено 2 вируса (HPV + EBV и EBV + CMV). Среди этих пациентов у 1 диагностирована аденокарцинома сигмовидной кишки, у 1 — плоскоклеточный рак мочевого пузыря, у 13 (56 %) — уротелиальный рак высокой степени злокачественности. Опухоль была рецидивной у 7 (30 %) больных.

Выводы. Наличие вирусных ДНК в ткани опухоли выявлено у 29,1 % пациентов с раком мочевого пузыря, у 56,0 % из которых опухоли были низкодифференцированными.

Вирусы в канцерогенезе рака мочевого пузыря

И.В. Косова¹, О.Б. Лоран², Л.А. Сняжкова², Л.В. Гундорова³, В.А. Косов⁴, Д.Н. Колбасов¹, П.П. Коростелкин¹

¹Урологическое отделение ГБУЗ ГКБ № 68 ДЗМ;

²кафедра урологии и хирургической андрологии ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России, Москва;

³патологоанатомическое отделение ГБУЗ ГКБ № 68 ДЗМ;

⁴ГУ КРОД, Сыктывкар

Цель — установить этиологическую роль вирусов в генезе развития опухолей мочевого пузыря, их влияние на частоту рецидивирования, развитие инвазивных и метастатических форм.

Материалы и методы. Проведено обследование и лечение 79 больных раком мочевого пузыря (58 мужчин и 21 женщина) в возрасте от 38 до 90 лет (средний возраст 65 ± 10 лет). Выполнено стандартное обследование, дополнительно взят анализ крови на иммуноглобулин (Ig) класса G, IgM к вирусу простого герпеса (HSV) 1-го и 2-го типов, цитомегаловирусу (CMV), вирусу Эпштейна–Барр (EBV).

Результаты. У больных с рецидивным течением имело место повышение уровней anti-CMV IgG ($p = 0,001$) и anti-EBV IgG-EBNA ($p = 0,037$); с высоким потенциалом злокачественности — anti-HSV I, II IgG ($p = 0,03$); с местно-распространенным процессом — anti-EBV IgEA ($p = 0,02$) по сравнению с уровнем антител при неинвазивном первичном раке мочевого пузыря низкого потенциала злокачественности. При наличии позитивных лимфатических узлов уровень anti-EBV IgG-EBNA был выше ($p = 0,0257$), чем при их отсутствии. Отмечается высокая корреляция между уровнем anti-CMV IgG и наличием ДНК CMV в опухолевой ткани ($R = 0,354$; $p = 0,001$), рецидивным характером опухоли ($R = 0,351$; $p = 0,002$); умеренные коррелятивные связи со стадией процесса ($R = 0,281$; $p = 0,014$) и уровнем антител к ранним антигенам EBV ($R = 0,285$; $p = 0,015$). В свою очередь, наличие ДНК CMV в опухоли коррелировало с уровнем нуклеарных антител к EBV ($R = 0,3$; $p = 0,008$), а ДНК EBV — с уровнем капсидных антител ($R = 0,354$; $p = 0,002$) и ранних антигенов ($R = 0,261$; $p = 0,027$) к EBV. Уровень IgG к HSV 1-го и 2-го типов коррелировал с уровнем ранних антигенов ($R = 0,306$; $p = 0,009$).

Выводы. Обнаружено статистически достоверное повышение уровня вирусных антител у больных рецидивным и местно-распространенным раком мочевого пузыря высокого потенциала злокачественности. Выявлены статистически значимые коррелятивные связи между наличием вирусных ДНК CMV и EBV в опухоли, уровнем их антител, стадией процесса и рецидивным характером опухоли.

Проблема полиомавируса SV-40, возможная связь с новообразованиями человека

Б.А. Лапин¹, А.А. Агумава¹, Г.Л. Кобяков²

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», Сочи;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко», Москва

Вирус SV-40 был открыт в 1960 г., когда введение контаминированной этим вирусом полиовакцины мы-

шам индуцировало у последних множественные опухоли. Источником контаминации служила культура клеток почки макаков-резусов, на которых размножался вакцинный вирус, естественно контаминированная ДНК-содержащим вирусом SV-40. В связи со способностью вызывать множественные опухоли, вирус получил название полиомавируса. Вирус был внесен в человеческую популяцию в период массовой иммунизации против полиомиелита контаминированной вакциной. Лицо, инфицированное SV-40, выделяет вирус во внешнюю среду, в связи с чем вирус-носителями могут стать лица, не подвергавшиеся вакцинации контаминированной вакциной. Беспокойство медиков вызывает способность вируса индуцировать множественные опухоли у лабораторных грызунов и обнаружение ДНК вируса в ряде опухолей человека. Этой проблеме посвящено большое количество весьма противоречивых публикаций. Критически рассматриваются как достоверность обнаружения ДНК SV-40, так и его роль в генезе различных новообразований.

Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) нами исследовалась ДНК SV-40 в хирургически удаленных опухолях головного мозга различного гистогенеза (глиомах, астроцитомах, менингиомах). Параллельно исследовались эти опухоли, заключенные в парафин для гистологического исследования, а также кровь больных, полученная до операции. Экстракцию ДНК из ткани опухоли, цельной крови и депарафинизированных блоков проводили протеиназным методом. ПЦР в реальном времени проводили на амплификаторе ROTORGEN Q, используя прямой праймер 5'-GGGTCTTCTACCTT-TCTCTTCTTT-3', обратный праймер 5'-GCAGTGGTGGAAATGCCTT-3' и зонд FAM-AACCTGTTTTGCTCAGAAGAAA-TGCCA-TAMRA. Объем ПЦР-смеси составлял 25 мкл и содержал 10 мкл ДНК, 100 нМ зонда, 0,5 мкл Taq-полимеразы (Интерлабсервис, Taq-F), 2,5 мкл 10-кратного ПЦР-буфера (5 мМ MgCl₂), 200 мкл дНТФ, 500 нМ каждого праймера. Программа амплификации: 95 °С 5 мин и 50 циклов 95 °С 10 с, 60 °С 30 с с определением ОП.

Результаты исследования представлены в таблице.

Материал	Число образцов	Доля SV-40-положительных образцов (%)
Кровь от больных с опухолями мозга	118	33
Нативные опухоли мозга (глиома, астроцитома, менингиома)	181	29
Парафиновые блоки опухоли мозга	70	24

Вирус SV-40 индуцирует неструктурный полипептид — большой опухолевый антиген (TAg), который связывается с белком ретинобластомы (pRb) и супрес-

сором белка p53, блокируя апоптоз инфицированных клеток, что может привести к трансформации клеток, неконтролируемому размножению и возможной малигнизации.

Вирус Сендай как онколитический агент

А.С. Сидоренко¹, А.В. Терешкова¹, Е.А. Мухина²,
О.В. Матвеева^{1,3}, П.М. Чумаков¹, Г.В. Ильинская^{1,4}

¹ФГБУН «Институт молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта РАН», Москва;

²Клиника онкологии животных, Московский
научно-исследовательский онкологический институт
им. П.А. Герцена — филиал НМИЦ Минздрава России;

³Biopolymer Design, Acton, USA;

⁴НИИ канцерогенеза ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, Москва

Онколитические вирусы — это вирусы, способные вызывать гибель именно злокачественных, но не нормальных клеток. К ним относятся и некоторые представители парамиксовирусов, например вирус Сендай. Раковые клетки в избытке продуцируют гликопротеины, способные служить вирусными рецепторами. Гибель злокачественных клеток может происходить как за счет прямого цитолитического действия вируса Сендай, так и вследствие активации противоопухолевого иммунитета. Вирус может усиливать образование многоядерных клеточных конгломератов (синцитиев), что ускоряет вовлечение новых клеток в инфекционный процесс внутри опухоли и позволяет вирусу «ускользнуть» от нейтрализующего воздействия антител. Частые генетические дефекты раковых клеток в системе интерферонового и апоптозного ответов создают благоприятные условия для репликации вируса именно в злокачественных клетках. Иммуноопосредованная гибель злокачественных клеток обусловлена тем, что вирус является мощным индуктором интерферона и стимулирует противоопухолевую активность различных клеточных компонентов иммунного ответа, таких как дендритные клетки, натуральные киллеры и цитотоксические Т-лимфоциты. При этом не ясно, насколько часто встречаются опухоли, чувствительные к вирусу, и как предсказать эту чувствительность, непонятен способ распространения вируса в организме. Нами проведен анализ сравнительной чувствительности ряда первичных опухолевых культур и клеточных линий. Выявлено, что гибель клеток, обусловленная вирусом, не всегда коррелирует с продукцией вирулентных частиц. С помощью антител показано, что клетки с разной чувствительностью к вирусу одинаково хорошо адсорбируют его на своей поверхности. Лимфоциты и дендритные клетки способны *in vitro* переносить вирус на опухолевые клетки. Получены первые обнадеживающие результаты по лечению собак вирусом Сендай. Внутриопухолевые инъ-

екции вируса у части животных вызвали частичную или полную ремиссию.

Работа поддерживается грантом Минобрнауки России (проект RFMEF160714X0067).

Анализ функциональной активности онкогена *LMP1* вируса Эпштейна–Барр у больных с ВЭБ-ассоциированной патологией и вирусоносителей

К.В. Смирнова

ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ), являясь убиквитарным герпесвирусом человека, ассоциирован с рядом злокачественных новообразований, таких как недифференцированный рак носоглотки, лимфома Беркитта, лимфома Ходжкина и др. В различных географических регионах мира и этнических группах выявлены варианты ВЭБ, для которых характерны определенные наборы мутаций в ключевых генах онковируса, что находит отражение в его трансформирующих свойствах и онкогенном потенциале. Среди этих генов наиболее генетически вариабельным оказался основной онкоген ВЭБ – *LMP1* (кодирующий латентный мембранный белок 1 (*LMP1*)), который, будучи мультифункциональным геном, играет чрезвычайно важную роль в патогенезе ряда злокачественных неоплазий. Молекулярный анализ *LMP1* различного клинического и географического происхождения позволил обнаружить генетические варианты, отражающие в ряде случаев их неодинаковую биологическую активность. **Целью** настоящего исследования стал сравнительный анализ функциональной активности наиболее распространенных вариантов онкогена *LMP1* у больных ВЭБ-ассоциированной патологией – раком носоглотки (РНГ) и хронических вирусоносителей – пациентов с различными опухолями полости рта (ОПР), не ассоциированными с этим вирусом.

Проведенные нами исследования образцов *LMP1* ВЭБ, полученные от больных 2 изучаемых групп, показали их высокую гомологию с описанными ранее в литературе вариантами вирусного онкогена – B95.8/A, Cao/China1, Mediterranean+ (Med+), Med– и North Carolina (NC). Клеточные линии крысиных фибробластов Rat-1, экспрессирующие варианты *LMP1* от больных РНГ и ОПР, по величине формируемых фокусов трансформации и по способности образовывать колонии в жидком агаре практически не различались. Кроме того, уровни активации сигнальных путей клетки (NF-κB, AP1, PI3K), вызываемой вариантами *LMP1* из обеих изучаемых групп, были невысокими, а их различия в сравниваемых группах статистически недостоверны.

Таким образом, проведенные исследования показали, что российские образцы *LMP1* по своим аминокислотным последовательностям близки к описанным ранее вариантам *LMP1* ВЭБ зарубежного происхождения, но обладают рядом уникальных мутационных особенностей. При этом отсутствие специфического варианта *LMP1*, преимущественно ассоциированного с РНГ, свидетельствует о том, что любой персистирующий в популяции штамм ВЭБ с любым вариантом онкогена *LMP1* может инициировать патологический процесс, ведущий к возникновению данной ВЭБ-ассоциированной опухоли, если этот процесс сопровождается воздействием на вирусоносителя вредных факторов внешней или внутренней среды.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 13-04-00063 и № 14-04-01810.

Пилотные исследования по обнаружению RNA-транскриптов *bovine leukemia virus* у доноров крови человека

А.В. Сырцев¹, А.А. Алимов^{2,3}, С.А. Галецкий¹,
Е.В. Огородникова¹, Ю.В. Чув¹, Г.Е. Сулимова³

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва;

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр», Москва;

³ФГБНУ «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН», Москва

Bovine leukemia virus (BLV) является РНК-содержащим ретровирусом, который вместе с вирусами Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1, HTLV-2) относится к семейству *Retroviridae*, роду *Deltaretrovirus*. BLV является возбудителем широко распространенной медленной инфекции лейкоза крупного рогатого скота. Вирус может размножаться в культурах клеток крупного рогатого скота, ряда других млекопитающих, в том числе человека. По своей генетической структуре вирус содержит все гены, присущие семейству HTLV, включая ген *TAX*, который обладает трансактивирующими, трансформирующими функциями и является онкогеном. BLV может представлять собой реальный риск для развития онкологических болезней у человека.

Материалы и методы. Для исследований была выбрана группа доноров крови в количестве 200 человек (97 женщин и 103 мужчины) в возрасте от 18 до 56 лет. Предварительно доноры были тестированы на вирус иммунодефицита человека 1-го и 2-го типов, сифилис, вирусные гепатиты В и С; все пробы были расценены как негативные. От каждого образца лимфоцитарной массы с использованием тризол-метода была выделена РНК и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени синтезирована комплементарная ДНК (кДНК). Последующий пилотный анализ 200 алиquot был проведен методом nested-ПЦР с праймерами к генам *TAX* (200 б. п.), *ENV* (473 б. п.)

и *POL* (178 b. p.) *BLV*. Тестирование проводилось независимо в 2 лабораториях (РОНЦ им. Н.Н. Блохина и Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова).

Результаты. Методом ПЦР и секвенирования кДНК показано наличие РНК-транскриптов *BLV* в клетках 2 (1 %) из 200 здоровых доноров крови человека.

Выводы. Впервые в России получены данные по персистенции *BLV* у доноров крови человека. В связи с актуальностью результатов необходимы дальнейшие молекулярно-генетические исследования *BLV*, проведение филогенетического анализа выявленных позитивных образцов *BLV* у человека, определение их генетического происхождения в соответствии с филогенетической классификацией 8 известных генотипов *BLV*.

Биомолекулярные и лазерные технологии повышения эффективности вирусной терапии рака

В.А. Черешнев¹, А.Н. Бельских², С.Б. Оникиенко²,
А.В. Земляной², В.Ю. Кравцов³, С.В. Абкин³,
О.В. Матвеева⁴, А.Л. Ниворожкин⁵, Г.С. Соколовский⁶

¹ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург;

²ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург;

³АОУ ВПО «Ленинградский государственный университет», Санкт-Петербург;

⁴*Biopolymer Design, Acton, MA, USA;*

⁵*Alternative Innovative Technologies, Boston, USA;*

⁶ФГБУН «Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН», Санкт-Петербург

Введение. Перспективным направлением повышения эффективности онколитической вирусной терапии на основе вируса Сендай (CeV) может быть использование внеклеточных белков теплового шока 70 (БТШ-70). Импульсно-периодическое излучение лазера вызывает мобилизацию эндогенных БТШ-70 при облучении кожи в зоне введения CeV. БТШ-70 активируют дендритные клетки кожи, которые доставляют CeV в опухоль и запускают целевой иммунный ответ. Получены производные БТШ-70 пролонгированного действия на основе конъюгатов БТШ-70 с полиэтиленгликолем (ПЭГ) и Fc-фрагментом иммуноглобулина класса G.

Материалы и методы. Онколитическая вирусная терапия включала лазерное облучение участков кожи пациента с последующим внутривокожным введением в эти зоны CeV. Лечение проводили еженедельно в течение 12 нед у больных местно-распространенным и метастатическим раком ($n = 28$) при отсутствии у них эффекта от традиционной терапии. CeV применяли в сочетании с БТШ-70, БТШ-70–ПЭГ или БТШ-70–Fc.

Критерии эффективности вирусной терапии: регрессия опухоли, снижение онкомаркеров, селективная репликация CeV в клетках опухоли, выявление прямого цитопатического действия вируса на эти клетки, вторичных поражений в них, связанных с действием клеток-эффекторов иммунной системы.

Результаты. В группе контроля (изолированное применение CeV) положительный эффект получен у 7 из 77 пациентов, в основной группе – у 13 из 28 больных. БТШ-70, БТШ-70–ПЭГ, БТШ-70–Fc и излучение лазера значительно повышают целевой эффект CeV. Активируются вирус-специфические и иммунные механизмы гибели опухолевых клеток. Повышение перфорина и гранзима B (HScore = 250–300) в клетках-эффекторах иммунной системы сопровождается активацией механизмов гибели клеток опухоли. Резкое снижение их уровня (HScore = 30–50) сопровождается снижением эффективности вирусной терапии, гиперсекрецией воспалительных цитокинов и развитием системного воспалительного ответа.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о значительном повышении эффективности вирусной терапии рака при использовании инновационных биомолекулярных и лазерных технологий.

Рак молочной железы и вирусная инфекция Эпштейна–Барр

Е.А. Шляхтунов, А.В. Савченко

УО ВГМУ ордена Дружбы народов, Республика Беларусь

В настоящее время не прекращаются поиски новых предикторов течения опухолевого процесса при раке молочной железы. Ассоциация вирусов и опухолевых процессов в организме продолжает интересовать и волновать многие научные сообщества во всем мире.

Цель работы – исследовать в опухолевой ткани карциномы молочной железы персистенцию вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) как возможного нового прогностического фактора опухолевой прогрессии.

Материалы и методы. В исследование было включено 178 образцов опухолевой ткани карцином молочной железы, в том числе 40 образцов – для ретроспективного анализа и 138 – для проспективного исследования. Проводилось определение наличия ядерного антигена ВЭБ (EBNA-1) в ткани карциномы молочной железы иммуногистохимическим (ИГХ) методом ($n = 40$ – ретроспективно, $n = 70$ – проспективно), а также выполнялся поиск ДНК вируса методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) ($n = 68$).

Результаты. В 53,5 % образцов опухолевой ткани подтверждено наличие вирусного ядерного антигена методом ИГХ и в 42,6 % образцов – методом ПЦР. Наиболее часто EBNA-1 и ДНК ВЭБ определялись

в материалах пациенток, имеющих метастазы в регионарные лимфатические узлы (N+), больных с опухолями высокой и средней степени злокачественности (G2–3), имеющих лимфовенозную инвазию (LVSI+), а также при гиперэкспрессирующих HER-2/neu раках и высоком индексе пролиферативной активности (Ki-67 > 50 %). Риск прогрессирования опухолевого процесса после завершения специального лечения в сроки до 21 мес повышается у 69,2–96,6 % женщин, у которых выявлена персистенция ВЭБ в опухолевой ткани. У 87,5 % пациенток с наличием вирусного генома (EBNA-1), подтвержденного ИГХ-методом, имеется риск умереть от рака молочной железы в течение 5 лет после установления диагноза.

Заключение. Ассоциация ВЭБ может рассматриваться как негативный прогностический фактор, способствующий прогрессированию опухолевого процесса и повышающий риск смерти от рака молочной железы. До настоящего времени не установлен патогенетический механизм влияния ВЭБ на опухолевую ткань карциномы молочной железы и способность данного вируса влиять на развитие лекарственной устойчивости к различным группам химиопрепаратов, применяемых для лечения рака данной локализации. Дальнейшее исследование этих механизмов с использованием культуры опухолевых клеток позволит оптимизировать подходы к лечению рака молочной железы.